

N° d'ordre :

## Thèse de Doctorat en Biologie

présentée devant

**l'Université de Bretagne Occidentale**

par

Gabriel QUERREC

Équipe d'accueil 3883 (UBO, ENIB)  
*Laboratoire d'Ingénierie Informatique (LI2)*  
*Ecole Nationale d'Ingénieurs de Brest (ENIB)*  
*Centre Européen de Réalité Virtuelle (CERV)*

Titre : Simulation des phénomènes complexes en Oncologie :  
Application aux Myélomes Multiples

Soutenance le 9 mai 2005 devant la commission d'examen :

M. :	Guy	NONOTTE	<i>Président</i>
MR. :	François	KÉPÈS	<i>Rapporteurs</i>
MM. :	Catherine	GARBAY	
MM. :	Jean-François	ABGRALL	<i>Examineurs</i>
	Régis	BATAILLE	
	Vincent	RODIN	



---

Simulation des phénomènes  
complexes en Oncologie :  
Application aux Myélomes  
Multiples

*Mémoire de thèse*

---

GABRIEL QUERREC — EA3883 (UBO, ENIB)

---

---

## **Équipe d'Accueil 3883 (EA 3883)**

Gabriel QUERREC  
e-mail : gabriel.querrec@enib.fr  
url : [http ://www.cerv.fr/~gquerrec/](http://www.cerv.fr/~gquerrec/)  
tel : +33 (0)2 98 05 89 51

## **Laboratoire d'Informatique des SYstèmes Complexes**

### **Centre Européen de Réalité Virtuelle**

Technopôle Brest-Iroise  
25, rue Claude Chappe  
BP 38 F-29280 Plouzané, France  
( [http ://www.cerv.fr/](http://www.cerv.fr/) )

Cette thèse a été financée par Brest Métropole Océane (ex Communauté Urbaine de Brest)

---

---

# Chapitre 1

---

---

## Remerciements

Je suis heureux de pouvoir témoigner de ma gratitude à ceux qui m'ont soutenu tout au long de mes études.

Je tiens donc, dans un premier temps, à remercier Jean-François ABGRALL et Jacques TISSEAU, respectivement pour avoir accepté de diriger ma thèse et pour m'avoir accepté au sein du LISyC.

Bien sur, je tiens aussi à remercier Vincent RODIN pour son encadrement et la confiance qu'il m'a accordée durant ces années.

Ces travaux n'auraient jamais pu être réalisés sans le soutien scientifique de Régis BATAILLE et financier de « Brest Métropole Iroise » (ex-CUB).

Je remercie vivement ces différentes personnes pour la dynamique qu'ils ont développée dans le domaine de la simulation des phénomènes complexes en biologie.

Tant de personnes m'ont apporté leurs compétences lors de ma thèse qu'il m'est difficile de les citer tous. Je tiens quand même à insister sur l'aide que m'ont fournie Marie-Jo, Isabelle, Valery, Patoche, Cykril, Poirot, Vaness et Pascal. Je pense aussi à mon frère, Ronan, qui m'a toujours conseillé et m'a permis de m'intégrer pleinement au sein du laboratoire.

J'insiste aussi sur l'ambiance et la qualité de vie au sein du CERV pour cela j'aimerais exprimer toute ma reconnaissance à l'ensemble du laboratoire. J'ai eu de la chance aussi de rencontrer des gens d'exception que ce soit au sein du CERV mais aussi en dehors et même bien avant d'être rentré au LI2. Je ne pourrais donc tous les citer (par exemple Marie, Gaïa, Nico,...).

Enfin, j'aimerais souligner le rôle de ma famille pour le soutien qu'ils m'ont toujours apporté. Je pense donc à mes parents, Myriam, Patrick, Christine, Marine et Emma. Sans eux et sans Delphine, je n'aurais certainement pas pu cloturer cette thèse.



---

---

# Table des Matières

---

---

<b>1 Remerciements</b>	<b>iii</b>
<b>Table des Matières</b>	<b>v</b>
<b>Liste des Figures</b>	<b>ix</b>
<b>2 Introduction</b>	<b>1</b>
2.1 La progression et la dynamique tumorale, vers une « cancérologie systémique » . . . . .	2
2.2 Les Myélomes Multiples : un modèle pour l'étude des cancers . . . . .	6
2.3 Organisation de ce mémoire . . . . .	8
<b>I Le contexte</b>	<b>9</b>
<b>3 Les Myélomes Multiples</b>	<b>11</b>
3.1 Présentation des myélomes multiples . . . . .	11
3.1.1 Définition . . . . .	11
3.1.2 La découverte des myélomes multiples . . . . .	12
3.1.3 Classification et physiopathologie . . . . .	12
3.1.4 Epidémiologie des myélomes multiples . . . . .	14
3.2 Les myélomes dans leur micro-environnement . . . . .	14
3.2.1 Rôle du micro-environnement médullaire sur les MM . . . . .	15
3.2.2 Rôle des cellules myélomateuses sur le remodelage osseux . . . . .	16
3.3 La cellule myélomateuse . . . . .	18
3.3.1 Cytogénétique, génétique et épigénétique dans les MM . . . . .	18
3.3.2 La prolifération cellulaire . . . . .	20
3.3.3 L'apoptose dans la cellule myélomateuse . . . . .	25
3.4 Stratégie dans la recherche des myélomes multiples . . . . .	26
3.4.1 Les lignées cellulaires . . . . .	26

3.4.2	Les modèles animaux . . . . .	27
3.4.3	Les modèles formels et numériques . . . . .	28
<b>4</b>	<b>La modélisation des systèmes biologiques complexes</b>	<b>33</b>
4.1	La complexité biologique . . . . .	34
4.1.1	Généralité sur la complexité . . . . .	34
4.1.2	La complexité biologique . . . . .	34
4.2	Étudier la complexité par la systémique . . . . .	35
4.2.1	Définition de la systémique . . . . .	36
4.2.2	Origine de la systémique . . . . .	36
4.2.3	La simulation des systèmes complexes . . . . .	37
4.3	La biologie systémique . . . . .	38
4.3.1	Définition de la biologie systémique . . . . .	38
4.3.2	Les systèmes biologiques complexes . . . . .	39
4.3.3	La simulation en biologie systémique . . . . .	43
4.4	Expérimentations <i>in virtuo</i> de systèmes biologiques complexes . . . . .	45
4.4.1	Les environnements virtuels . . . . .	45
4.4.2	Autonomisation des modèles . . . . .	46
4.4.3	L'expérimentation <i>in virtuo</i> et son intérêt pour la biologie systémique . . . . .	47
<b>II</b>	<b>Les modèles</b>	<b>49</b>
<b>5</b>	<b>Un modèle Multi-Agents pour les systèmes biologiques</b>	<b>51</b>
5.1	Simulation multi-agents de systèmes biologiques complexes . . . . .	51
5.1.1	Agent . . . . .	52
5.1.2	Les Systèmes Multi-Agents . . . . .	52
5.1.3	La plate-forme multi-agents : oRis . . . . .	53
5.2	Système multi-agents et biologie . . . . .	54
5.2.1	Les agents-entité . . . . .	54
5.2.2	Réification des interactions . . . . .	58
5.3	Un modèle générique de simulation des systèmes biologiques complexes	64
5.3.1	Un modèle « Organisation-Entité-Interaction » pour les systèmes biologiques . . . . .	64
5.3.2	L'agent-organisation . . . . .	65
5.4	conclusion . . . . .	66
<b>6</b>	<b>La cellule virtuelle</b>	<b>67</b>
6.1	La cellule : système biologique complexe . . . . .	67
6.1.1	La cellule : système hiérarchique modulaire . . . . .	67
6.1.2	Les flux dans la cellule . . . . .	69
6.1.3	La régulation des processus cellulaires . . . . .	71
6.2	La simulation des processus cellulaires . . . . .	74
6.2.1	La régulation des réseaux macromoléculaires . . . . .	74



---

6.2.2	Les réseaux membranaires . . . . .	78
6.3	Modélisation d'une cellule virtuelle . . . . .	79
6.3.1	Simulation de comportement globale d'une cellule . . . . .	79
6.3.2	Modèle multi-agents de cellule virtuelle . . . . .	80
6.3.3	Exemple d'implémentation d'une machine virtuelle de transmission intracellulaire . . . . .	81
<b>III</b>	<b>L'application</b>	<b>87</b>
<b>7</b>	<b>Le Myélome « <i>in virtuo</i> »</b>	<b>89</b>
7.1	La modélisation et la simulation des cancers . . . . .	89
7.1.1	Modélisation microscopique des cellules cancéreuses . . . . .	90
7.1.2	Modélisation macroscopique des tumeurs cancéreuses par équations différentielles . . . . .	95
7.1.3	Modélisation des tumeurs par automates cellulaires . . . . .	98
7.2	Le Myélome « <i>in virtuo</i> » . . . . .	101
7.2.1	Le modèle biologique . . . . .	101
7.2.2	Prototypage du modèle de MM . . . . .	104
7.3	Discussion . . . . .	116
<b>8</b>	<b>Conclusion et perspectives</b>	<b>121</b>
8.1	Expérimentation <i>In Virtuo</i> , modèle OEI et la cellule virtuelle : conclusion	121
8.2	Le modélisation de la cellule cancéreuse : perspective pour de nouvelles cibles thérapeutiques . . . . .	122
8.2.1	La modélisation des réseaux de régulation de la cellule cancéreuse	124
8.2.2	La modélisation du cycle cellulaire . . . . .	124
8.2.3	L'apoptose dans les cellules . . . . .	125
8.3	Cancers, syndrômes para-néoplasiques et stigmergie . . . . .	125
8.3.1	Cancers et stigmergie : perspective . . . . .	126
8.3.2	Applications thérapeutiques et perspectives . . . . .	126
8.4	Perspective : le projet BIMSCO . . . . .	128
	<b>Glossaire</b>	<b>131</b>
	<b>Références bibliographiques</b>	<b>139</b>
	<b>Résumé</b>	<b>159</b>



---

---

# Liste des Figures

---

---

3.1	Classification de Salmon et Durie . . . . .	13
3.2	Classification de Durie . . . . .	13
3.3	Facteurs pronostiques . . . . .	13
3.4	Comparaison entre les molécules d'adhésion entre plasmocytes tumoraux et normaux. . . . .	15
3.5	Partenaire du gène de l'IgH lors de la translocation. . . . .	19
3.6	Modèle de l'oncogénèse des myélomes multiples. . . . .	20
3.7	Voies de transmission stimulées par l'IL-6 dans les cellules myélomateuses. . . . .	21
3.8	Voies de transmission stimulées par l'IGF-1 dans les cellules myélomateuses. . . . .	24
3.9	Modèle « cellules souches et cellules différenciées » . . . . .	29
3.10	Modèle en plusieurs étapes basé sur des données issues de la technique d'hybridation <i>in Situ</i> . . . . .	30
3.11	Modèle en plusieurs étapes basé sur les données de micro-array . . . . .	30
5.1	Simulation multi-agents du PFA-100 . . . . .	56
5.2	Résultat de la simulation du PFA-100. . . . .	57
5.3	Modèles biologiques de la voie des MAPK . . . . .	60
5.4	Code <i>oRis</i> pour l'implémentation des modèles de MAPK par agents-réaction. . . . .	61
5.5	Résultats des simulations des modèles de MAPK . . . . .	62
5.6	Évolution de la concentration en MAPK avec intervention en cours de simulation ; un exemple d'expérimentation « <i>In Virtuo</i> ». . . . .	63
5.7	Modèle UML pour la modélisation multi-agents de systèmes biologiques. . . . .	65
6.1	Modèle UML de cellule virtuelle. . . . .	81
6.2	Exemple de carte cognitive. . . . .	83
6.3	Définition d'une carte cognitive floue . . . . .	84
6.4	Association d'un agent à un Graphe d'Influence Flou. . . . .	85
6.5	GIFs pour la modélisation de la voie des MAPK . . . . .	85
6.6	Résultats des simulations de la voies des MAPK avec des GIF . . . . .	86
7.1	Le cycle cellulaire . . . . .	91

7.2	Contrôle du point $G_1/S$ . . . . .	92
7.3	Contrôle du point $G_2/M$ . . . . .	92
7.4	Régulation du MPF . . . . .	93
7.5	Évolution du MPF lors du cycle cellulaire. . . . .	94
7.6	l'évolution tumorale . . . . .	96
7.7	Modèle de réaction-diffusion de l'invasion tissulaire. . . . .	97
7.8	Evolution de la diffusion des cellules tumorales en 2D. . . . .	98
7.9	Représentation schématique de la croissance tumorale par automate cellulaire	99
7.10	Influence du CD45 sur la survie des patients . . . . .	102
7.11	Les différentes stades du myélome en fonction du CD45 . . . . .	103
7.12	Influence du CD45 sur le choix du « carburant » pour la croissance myélomateuse . . . . .	103
7.13	Le micro-environnement médullaire . . . . .	105
7.14	Modèle UML de l'organisation physique . . . . .	106
7.15	La discrétisation du milieu et la gestion des collisions. . . . .	107
7.16	Les différents phénotypes de CD45 présents dans notre simulation . . . . .	108
7.17	Modèle UML de l'organisation biologique . . . . .	109
7.18	Modèle du réseau de transmission pour les cellules myélomateuses . . . . .	110
7.19	Modèle du réseau de transmission pour les cellules myélomateuses. . . . .	111
7.20	Evolutions des modèles IL6/IGF1/TNF . . . . .	112
7.21	Modèle du réseau de transmission pour les cellules myélomateuses . . . . .	113
7.22	Evolution de la tumeur en fonction du temps. . . . .	114
7.23	Représentation visuelle de l'évolution tumorale au cours du temps. . . . .	115
7.24	Apparition des cellules CD45neg en fonction de la cinétique de dimérisation du CD45. . . . .	115
7.25	Un modèle de progression myélomateuse . . . . .	117
8.1	Exemple d'expérimentation <i>In Virtuo</i> . Au cours de la simulation, il est possible de sélectionner une cellule et d'éditer son réseau de signalisation. Dans cet exemple, le lien entre Ras et IKK est supprimé afin de modifier le comportement de la cellule sélectionnée. Cette modification peut être transmise aux clones de la cellule mutée. . . . .	123
8.2	Les voies de transmission dans les cellules du remodelage osseux . . . . .	127
8.3	Résultat de la simulation du remodelage osseux . . . . .	127
8.4	Construction d'un modèle générique de cellule cancéreuse . . . . .	128

---

---

# Chapitre 2

---

---

## Introduction

L'imposant héritage informationnel issu des 30 dernières années d'études en cancérologie a permis de nombreuses avancées thérapeutiques et scientifiques. Ces études se basent sur le dogme simpliste « Le cancer est une maladie génétique ». Ainsi, les premiers modèles de progression tumorale<sup>1</sup> développés durant cette période se basent, essentiellement, sur l'étude réductionniste des altérations génétiques conduisant à l'apparition de cancers. Cette vision néglige l'ensemble des interactions entre la cellule cancéreuse et son environnement. Une nouvelle approche se dessine donc maintenant. Elle consiste à étudier la progression et la dynamique de la tumeur en interaction étroite avec son micro-environnement. Cette approche se base sur les dernières considérations dogmatiques en cancérologie « la tumeur est un système complexe » [Salomon, 1991, Schwab and Pienta, 1996, Waliszewski, 1997, Waliszewski et al., 1998].

L'idée de l'étude des processus biologiques en tant que systèmes complexes n'est pas nouvelle mais n'a pu être véritablement instituée faute de données suffisantes. Depuis l'arrivée de la biologie à « haut débit », ces données s'accumulent, et la possibilité d'étudier ces processus sous la lumière de la complexité se concrétise au sein d'une discipline : « la Biologie Systémique<sup>2</sup> ».

La contribution du Laboratoire Informatique des Systèmes Complexes (ea3883, ENIB, CERV) à l'étude de ces systèmes est développée sous forme d'expérimentations « *In Virtuo* » ; cette approche basée sur la technologie multi-agents autorise la simulation informatique orientée par l'expérimentation d'hypothèses. Les premières applications en biologie datent de 1998, grâce à la collaboration avec le CHU de Brest (CHU Brest). Cette dernière se perpétue et a conduit à la création de l'équipe *In Virtuo*. Depuis, de nouvelles collaborations sont venues enrichir l'équipe notamment la collaboration

---

<sup>1</sup> La progression tumorale peut être anatomique ou biologique. La progression anatomique correspond à l'envahissement de l'organe puis de l'organisme où il a pris naissance. La progression biologique est l'apparition des différents événements impliquant la transformation de la cellule normale vers la cellule cancéreuse.

<sup>2</sup> La biologie systémique propose d'étudier les phénomènes biologiques en tant que systèmes *i.e.* un ensemble d'entités en interaction

avec le centre anti-cancéreux René Gauducheau de Nantes (CAC Nantes) et l'équipe INSERM U461, dirigés tous deux par le professeur Régis Bataille. Grâce à l'expertise de ces équipes (CHUBrest, CACNantes, INSERM U461 et Lisyc), il nous est désormais possible d'étudier les cancers de façon globale conduisant à une étude systémique des cancers. La « cancérologie systémique »<sup>3</sup> fait partie de l'évolution du cadre des pensées scientifiques dans l'étude des processus vivants, à l'image de la « *Biologie Systémique* ». Ceci se concrétise à travers cette thèse, réalisée au sein du Lisyc, par la simulation informatique des phénomènes complexes observés au niveau des Myélomes Multiples (MM).

Dans cette introduction, nous présentons dans un premier temps, la réflexion qui a conduit à considérer la progression et la dynamique tumorale sous l'angle de la complexité. Ensuite, nous expliquons l'intérêt des MM pour notre étude. Enfin, nous décrivons, dans la dernière section de cette introduction, la structure de ce mémoire.

## 2.1 La progression et la dynamique tumorale, vers une « cancérologie systémique »

La vision usuelle de la cancérogenèse admet que le cancer se développe en un point précis de l'organisme et tend à se généraliser. L'origine cellulaire des cancers a été proposée en 1914 par Boveri et est admise par la majorité des médecins et des biologistes. Dans les années 1950, les premières études mathématiques par Nordling [Nordling, 1952, 1953, 1955], Armitage et Doll [Armitage and Doll, 1954, 1957] ont pu mettre en évidence une corrélation entre l'âge et la fréquence d'apparition des cancers. Ces études proposent une progression en plusieurs étapes. Le développement tumoral impliquerait donc une suite d'altérations génétiques ou épigénétiques, suivie d'un processus de sélection naturelle conduisant à l'apparition d'une nouvelle espèce cellulaire ayant la capacité de se développer indéfiniment. Cependant, l'origine de la première altération reste sujette à controverse et deux hypothèses ont été proposées : l'aneuploïdie<sup>4</sup> cellulaire ou les mutations de gènes de régulation. L'étude cytogénétique<sup>5</sup> de l'évolution cancéreuse a été développée depuis le début du siècle et supporte les premiers modèles de progression tumorale. Boveri développe une première théorie, il propose que l'origine des caractéristiques et des comportements tumoraux est due à la distribution irrégulière des chromosomes résultant de phénomènes mitotiques

---

<sup>3</sup> Nous utilisons le terme « cancérologie systémique » par analogie à la « biologie systémique ». La « cancérologie systémique » implique l'étude des cancers comme des systèmes biologiques complexes

<sup>4</sup> L'aneuploïdie chromosomique résulte aussi bien de la perte complète ou partielle d'un (monosomie) ou des deux (nullosomie) chromosomes d'une paire, que de leur duplication complète ou partielle (trisomie, tétrasomie, etc.).

<sup>5</sup> La cytogénétique est l'étude de la génétique de la cellule, en particulier de ses chromosomes

aberrants. Cette théorie, développée à l'époque, sous le nom de « la théorie génétique du cancer » est connue, actuellement, sous le nom de « la théorie chromosomique des cancers ». Elle n'eut pas un grand impact car pour les chercheurs de l'époque, la mitose aberrantes leurs semblait être l'effet plutôt que la cause. Cette dernière fut considérée par la majorité des chercheurs comme vaine. En effet, à cette époque, l'origine de tous les cancers semblait être environnementale. La découverte du chromosome « Philadelphie », issu d'une translocation entre le chromosome 9 et 22, dans la leucémie myéloïde chronique fut, elle aussi, longtemps considérée comme sans grande signification. Pourtant, les techniques de biologie moléculaire ont pu mettre en évidence l'oncogène **abl** sur la zone transloquée du chromosome 9 ; or, ce gène associé à une zone voisine du Chromosome 22 provoque l'apparition d'une protéine anormale qui contribue à la genèse et la progression de la maladie. De nos jours, les cancérologues ne se contentent plus d'étudier les anomalies de structure de l'ADN mais aussi, grâce aux progrès de la cytogénétique moléculaire<sup>6</sup>, les altérations chromosomiques. Certains auteurs proposent des modèles de progression cancéreuse associés en partie à l'étude des aberrations chromosomiques<sup>7</sup>. Par exemple, Iida [Iida and Ueda, 2003] et Davies [Davies et al., 2003] proposent deux modèles de progression myélomateuse où les aberrations chromosomiques sont des événements précoces dans le développement de la tumeur. La théorie de l'instabilité précoce peut expliquer l'aneuploïdie rapide observée dans de tels cancers. Des gènes indispensables à la reproduction correcte des cellules seraient touchés très tôt dans le processus de cancérisation impliquant l'apparition de chromosomes aneuploïdes. Les anomalies s'accumulant de génération en génération, la concentration en protéines est modifiée. Malgré quelques candidats, aucun des gènes impliqués dans cette théorie n'a pu être mis en évidence. Duesberg et Li [Duesberg and Li, 2003] ont donc proposé un modèle où l'aneuploïdie est l'événement déclenchant le processus de cancérisation. Il en résulte de nombreuses perturbations dans le transcriptome de la cellule. Ces perturbations causent la mort de la majorité des cellules, celles qui survivent transmettent leurs caractères aneuploïdes et leurs instabilités génomiques à leurs cellules filles qui diffèrent ainsi de leur cellule mère. Comme la biologie en général, la cancérologie a longtemps suivi la voie de la génétique et les chercheurs ont réussi à montrer que les cancers résultent, bien souvent, de l'apparition de mutations sur certaines régions de l'ADN. La théorie classique de la cancérisation implique donc la succession d'altérations génétiques qui provoquent l'activation dominante des oncogènes<sup>8</sup> et l'inactivation récessive des anti-oncogènes<sup>9</sup> (Hypothèse de la « double-frappe<sup>10</sup> » [Knudson, 1974]). La cancérisation implique donc qu'une même cel-

---

<sup>6</sup> La cytogénétique moléculaire se situe à une échelle de résolution intermédiaire entre la cytogénétique et la biologie moléculaire. Elle se base principalement sur les techniques d'hybridation in situ par fluorescence (FISH) autorisant une analyse fine de la structure des chromosomes.

<sup>7</sup> Les aberrations chromosomiques sont caractérisées soit par le gain ou la perte d'un ou d'une partie d'un chromosome (délétion ou addition), soit par le transfert d'un morceau de chromosome vers un autre (translocation).

<sup>8</sup> Gènes dont la présence et le fonctionnement dans une cellule contribuent à sa transformation cancéreuse

<sup>9</sup> Gènes dont l'absence ou le mauvais fonctionnement favorise l'apparition d'un cancer

lule subisse de nombreuses mutations. Or, Loeb [Loeb, 1991] a montré qu'en moyenne, dans une vie, une seule mutation aléatoire peut apparaître dans une cellule donnée à un endroit donné. Ainsi, dans le cadre de cette théorie, l'apparition de la cellule néoplasique<sup>11</sup> nécessite la présence de carcinogènes<sup>12</sup> provoquant un nombre important de mutations. Lors des premiers stades du cancer, le nombre de mutations aléatoires est de l'ordre de 10000 à 100000 par cellule. Il n'est donc pas aberrant d'imaginer que dans cette vision de la cancérisation, les premiers gènes touchés seraient ceux impliqués dans le maintien de l'intégrité de l'ADN. Cette théorie impliquerait donc une relation uni-directionnelle transitive entre la structure des gènes, la structure des chromosomes et la structure des tissus supportant les tumeurs.

Que l'origine de la première altération soit une mutation ou l'aneuploïdie de la cellule, des doutes persistent sur l'origine purement aléatoire de l'acquisition des caractéristiques néoplasiques de la cellule. De nombreux chercheurs proposent que l'environnement biologique où baigne la cellule soit en partie responsable des premières perturbations [Salomon, 1991]. Pour étayer ces propositions, prenons l'exemple d'expérimentations originales et peu connues : la cancérisation par greffes hétérotopiques et la cancérisation par insertion d'une lame de plastique dans la peau d'une souris. Les travaux de Biskin et Biskin [Salomon, 1991] montrent que la greffe d'un ovaire dans la rate d'une souris provoque l'apparition, à terme, d'une tumeur si le deuxième ovaire a été enlevé. En revanche, si la même opération a été réalisée sur une souris dans laquelle le deuxième ovaire n'a pas été retiré, aucune tumeur ne se développe. L'auteur propose que la levée de la rétro-inhibition de l'ovaire sur la sécrétion des hormones hypophysaires serait responsable de la cancérisation. L'insertion d'une plaque de plastique dans la peau d'une souris provoque aussi, irrémédiablement, l'apparition d'un cancer [Salomon, 1991] après l'avoir pourtant toléré pendant une douzaine de mois sans manifestations pathologiques. Par contre, si la plaque est percée en de nombreux endroits aucune tumeur n'est observée. Ces deux cancers « sans cause » semblent, en partie du moins, incriminer l'environnement de la tumeur dans le processus de cancérisation. Quant aux cancers avec une origine mutationnelle, il est aussi possible que l'environnement y joue un rôle non négligeable. Les travaux précurseurs de Cairns en 1988 [Cairns et al., 1988] sont la base de la théorie de « l'adaptation mutationnelle ». Ils montrent en effet que l'environnement peut chez *E. Coli* stimuler l'apparition de mutations ciblées. Les observations cytogénétiques de cultures cellulaires montrent de nombreuses altérations chromosomiques [Salomon, 1991]. Ceci montre bien le rôle de l'environnement sur l'état de la molécule d'ADN.

---

<sup>10</sup> Basée sur des données épidémiologiques et cliniques, l'hypothèse de la « double-frappe » admet que deux mutations sont suffisantes pour initier le développement du rétinoblastome. Dans le cas de rétinoblastome héréditaire, une mutation est transmise par les parents, l'autre mutation est somatique. Dans le cas de Rétinoblastome non-héréditaire les deux mutations sont somatiques. Ce principe s'appliquerait à tous les gènes suppresseurs de tumeur.

<sup>11</sup> Néoplasique est un synonyme de tumoral. Ces adjectifs qualifient aussi bien les tumeurs cancéreuses (malignes) que les tumeurs non cancéreuses (bénignes), comme les cellules et tissus qui les composent.

<sup>12</sup> Un carcinogène est un agent chimique, physique ou viral qui provoque l'apparition de cancer ou qui augmente leur incidence.



La biologie cellulaire et moléculaire traditionnellement réductionnistes assurent que les cellules suivent les lois déterministes de la physique et de la chimie. Pour illustrer ce point, nous prenons pour preuve la génétique mendélienne. Dans ce cas, il existe une relation bijective entre le génotype d'une cellule et son phénotype. En pratique, il existe des propriétés cellulaires émergentes qui ne peuvent être expliquées par l'ensemble des lois de causalité biologique. De nombreuses études tendent à prouver que la cellule peut être considérée comme un système moléculaire complexe, dynamique, auto-organisé, non-linéaire et en non-équilibre thermodynamique. Les expérimentations de biologie cellulaire prouvent que la relation génotype-phénotype n'est ni injective, ni surjective [Waliszewski, 1997, Waliszewski et al., 1998]. Prenons, tout d'abord, l'exemple des expérimentations de Knock-out et de transfection; la population cellulaire issue de ces pratiques n'est pas homogène ainsi la considération mendélienne « un génotype, un phénotype » ne peut s'appliquer. Pour illustrer le second point, prenons l'exemple de la résistance et de la sensibilité des différentes lignées cellulaires cancéreuses aux chimio-thérapies. Deux cellules à sensibilité égale aux agents thérapeutiques n'ont pas toujours le même phénotype. Ainsi, les processus cellulaires suivent les lois de la nature; cependant, il existe des propriétés uniques qui ne peuvent être expliquées comme une conséquence directe de ces lois et semblent refléter l'organisation avancée de la cellule eucaryote. La cellule peut donc être décrite comme un système complexe. La dynamique non-linéaire mise en évidence dans la cellule nous pousse à étudier la tumeur comme un système complexe avec un comportement chaotique. Des études récentes introduisent d'ailleurs la notion de fractale comme un paramètre utile pour l'évaluation de la différenciation et l'organisation cellulaire ou encore de la dynamique de la progression tumorale. La présence de fractales a été mise en évidence lors de l'étude de dynamique gompertzienne caractéristique de la croissance tumorale [Waliszewski et al., 2001] et l'étude des patterns de croissance de la tumeur indique que la croissance cellulaire dans l'espace suit une loi de puissance avec une dimension fractale [Waliszewski and Konarski, 2001, Kikuchi et al., 2002, Sedivy et al., 2002, Grizzi et al., 2003]. De plus, Waliszewski a mis en évidence qu'il existait une relation entre la dimension fractale temporelle et la dimension fractale spatiale [Waliszewski et al., 2001]. Il montre aussi qu'il existe une relation entre la dimension fractale de l'espace-temps, la connectivité et le volume restant dans l'espace Euclidien. À l'image de nombreuses autres maladies, l'étude de la dynamique chaotique, via l'étude de la dimension fractale montre que la gravité du cancer est associée à une diminution de la complexité du système associé à une perte de connectivité [Waliszewski et al., 2001]. L'autonomie de la tumeur est un concept largement répandu dans l'esprit des cancérologues cependant, comme le montrent les études précédentes, celle-ci n'est que relative et s'acquiert au fur et à mesure de la progression tumorale. Ainsi, il existe de nombreuses raisons qui justifient une approche systémique pour l'étude des cancers. Premièrement, la tumeur exhibe un comportement chaotique temporel et spatial dû essentiellement aux interactions entre composants du système tumoral et entre le système et son environnement. De plus, la tumeur peut être présentée comme un système hiérarchique composé de cellules, elles-mêmes étant des systèmes complexes [Atlan., 2003]. Ainsi, nous reprenons ici la vision de Salomon [Salomon, 1991] qui propose de

« considérer la cancérogenèse comme un déplacement de l'équilibre fonctionnel de l'organisme qui s'accompagne du développement de tumeur ». Cette vision des cancers implique donc de les étudier de façon globale et ceci dans leur environnement. Notre réponse est une modélisation multi-agents des cancers. Pour cela, nous avons besoin d'un modèle biologique ; nous avons choisi les Myélomes Multiples. Exposons les raisons de notre choix.

## 2.2 Les Myélomes Multiples : un modèle pour l'étude des cancers

Il existe plus d'une centaine de type de cancers. L'ensemble des phénotypes impliqués semble refléter six altérations essentielles dans la physiologie de la cellule. L'association de ces altérations guide la cellule sur la voie de la cancérisation. Six traits communs sont partagés par la majorité des cancers :

- l'auto-suffisance en signaux de croissance,
- l'insensibilité aux signaux inhibiteurs de la croissance,
- la résistance à l'apoptose<sup>13</sup>,
- le potentiel de division illimité,
- l'angiogénèse<sup>14</sup>,
- l'invasion tissulaire et la métastase<sup>15</sup>.

Ainsi, notre modèle d'étude se doit de respecter l'ensemble de ces caractéristiques. Notre choix s'est porté sur les MM pour plusieurs raisons.

Premièrement, les MM respectent l'ensemble des caractéristiques énoncées précédemment. En effet, les MM sont auto-suffisants en signaux mitotiques. Ils tirent profit de nombreux facteurs de croissance naturellement présents dans le micro-environnement médullaire IL-6<sup>16</sup>, IGF-1, IL-10 etc. [Lu et al., 1995, Urbanska-Rys et al., 2000, Mitsiades et al., 2002, Podar et al., 2002, Lauta, 2003]. Les deux premiers sont les principaux carburants associés à la croissance myélomateuse. Si ils sont tous présents physiologiquement dans la moelle, les MM peuvent en plus stimuler leurs productions dans le milieu, soit par stimulation autocrine<sup>17</sup> [Kawano et al., 1988, 1989, Lauta, 2003], ou par stimulation du micro-environnement [Cook and Campbell, 1999, Davies and Anderson, 2000, Derksen et al., 2003] et action paracrine<sup>18</sup> de ces signaux.

---

<sup>13</sup> L'apoptose est la mort programmée des cellules.

<sup>14</sup> L'angiogénèse est la création de nouveaux vaisseaux sanguins. C'est un phénomène qui est physiologique mais qui existe aussi dans des cas pathologiques.

<sup>15</sup> La métastase est le processus par lequel les cellules tumorales se disséminent pour établir des colonies secondaires distantes.

<sup>16</sup> Les interleukines (IL) sont des cytokines, *i.e.* une variété de polypeptides sécrétés qui contrôlent la prolifération, la différenciation et le développement des cellules hématopoïétiques. Elles agissent soit de façon autocrine, soit de façon paracrine.

<sup>17</sup> Une stimulation autocrine est une stimulation par un facteur produit par la même cellule.

L'activation constitutive d'oncogène (Ras, Myc, FGFR3) est aussi un élément important pour stimuler la prolifération myélomateuse [Neri et al., 1989, Sawada et al., 1989, Paquette et al., 1990, Onwuazor et al., 2002]. Si le premier est un évènement plutôt tardif dans la progression tumorale, l'activation de Myc serait un évènement important dans l'acquisition des caractères myélomateux [Neri et al., 1989, Paquette et al., 1990, Hallek et al., 1998, Iida and Ueda, 2003, Davies et al., 2003]. De nombreux facteurs bloquent la progression de la cellule dans son cycle de division  $pRB$ ,  $p^{15INK4B}$ ,  $p^{16INK4A}$  etc. Dans le cas des MM, ces gènes peuvent être délétés ou éteints par hyper-méthylation [Dao et al., 1994, Tasaka et al., 1997, Drexler, 1998, Chen et al., 2002, Iida and Ueda, 2003, Kramer et al., 2002, Galm et al., 2004, Chim et al., 2004]. Le potentiel de division est contrôlé par la télomérase; or, dans les myélomes, son activité est réduite par l'action des cytokines présentes naturellement dans la moelle [Akiyama et al., 2002]. La résistance à l'apoptose est aussi un élément important dans la malignité des myélomes [Oancea et al., 2004, Gouill et al., 2004]. Il semblerait que dans notre cas, la résistance aux signaux apoptotiques soit due principalement à Mcl-1 [Derenne et al., 2002, Jourdan et al., 2003]. Dans toutes les tumeurs, la croissance est limitée par le manque de place et de nutriments. Les Myélomes surpassent ce problème par l'acquisition de nouvelles capacités que sont la métastase et l'angiogénèse. La métastase peut s'acquérir par l'indépendance des cellules par rapport aux signaux anti-apoptotiques et de prolifération. Ceci peut être réalisé par des mutations sur le gène Ras [Hallek et al., 1998, Iida and Ueda, 2003] ou par l'utilisation d'un carburant systémique. L'angiogénèse peut être stimulée par la synthèse de messagers tel que vEGF [Uneda et al., 2003].

Deuxièmement, les MM semblent être le siège de phénomènes complexes, au même titre qu'un bon nombre d'autres cancers. Bien qu'à notre connaissance, aucune étude n'ait été consacrée à cet aspect des myélomes, il a été montré que les MM évoluaient suivant une dynamique gompertzienne [Sullivan and Salmon, 1972, Swan, 1985, Hokanson et al., 1986]. D'après l'étude de Waliszewsky [Waliszewski et al., 2001], ceci tendrait à prouver que la croissance tumorale est soutenue par des phénomènes complexes. Le deuxième élément représentatif de la complexité myélomateuse est la non-bijection entre génotype et phénotype. La lignée cellulaire myélomateuse MM.1 est issue d'une même cellule et est caractérisée par une translocation  $t(14,16)(q32,q23)$  [Greenstein et al., 2003]. De cette lignée, trois nouvelles lignées ont pu être isolées en fonction de leurs sensibilités aux gluco-corticoïdes :

- MM.ls, sensibles aux gluco-corticoïdes,
- MM.lre, résistantes aux gluco-corticoïdes,
- MM.lrl est une lignée dont la résistance apparaît plus tardivement dans le processus de développement de la tumeur.

Ainsi, une même lignée cellulaire peut conduire à trois lignées aux phénotypes différents. *A contrario*, les tumeurs myélomateuses de type IgA sont hétérogènes d'un point de vue cytogénétique : elles peuvent être soit  $t(4;14)$ , soit  $t(14;16)$  [Avet-Loiseau et al., 2002]. Par conséquent, pour un phénotype donné, il est impossible de retrouver les anomalies cytogénétiques associées, ceci rend plus difficile la classification, et par conséquent le

---

<sup>18</sup> La stimulation est paracrine si la cellule est stimulée par ses voisines.

pronostic et la thérapie à adopter.

Le dernier point qui nous pousse à utiliser les MM comme sujet d'étude est un aspect plus pratique. En effet, nous avons entamé depuis 2001 une collaboration avec Régis Bataille, responsable de l'équipe 5 INSERM U461 de Nantes. Comme le montrent les nombreuses publications de cette équipe, cette dernière est l'une des meilleures dans le concert international pour l'étude des MM. Cette collaboration se poursuit avec la création du Groupement d'Intérêt Scientifique (GIS) « Biologie Intégrative et Modélisation des Systèmes Complexes en Oncologie » (BIMSCO).

## 2.3 Organisation de ce mémoire

Ce mémoire s'articule autour de trois grandes parties; le contexte qui décrit notre cas d'étude (chapitre 2) et qui présente les concepts qui fondent notre approche (chapitre 3), les modèles et les outils (chapitres 4 et 5) qui sont utilisés pour l'application qui nous inspire (chapitre 6).

Dans le chapitre 2, « Les Myélomes Multiples », nous présentons cette pathologie caractérisée par une accumulation médullaire de plasmocytes monoclonaux. Nous y décrivons les différents aspects de la maladie et nous y présentons les moyens d'investigation traditionnellement utilisés pour l'études des myélomes.

Le chapitre 3, "La modélisation des systèmes biologiques complexes", traite de la complexité biologique et de la biologie systémique, discipline en renouveau. De plus, nous y présentons l'approche développée au sein du laboratoire, les expérimentations "In Virtuo".

Le chapitre 4, "Un modèle multi-agents pour les systèmes biologiques complexes" décrit les systèmes multi-agents, outil sur lequel nous nous basons pour l'étude des systèmes biologiques complexes et leur application en biologie. Forts de l'expérience du laboratoire, nous proposons un modèle générique pour la simulation de systèmes biologiques.

Les cancers sont des pathologies "multi-échelles" caractérisées par des implications au niveau moléculaire, cellulaire et tissulaire. Ainsi, les tumeurs ne peuvent être étudiées en faisant abstraction du comportement de la cellule. Le chapitre 5, "La cellule virtuelle" se base sur les différents réseaux de régulation pour proposer un modèle autorisant la simulation du comportement complexe de la cellule.

Une application de nos modèles est présentée pour l'étude des MM. Le chapitre 6, "Le myélome in Virtuo", présente les différents aspects de la simulation informatique en cancérologie et le développement de modèles multi-agents de progression tumorale des MM. Nous concluons, dans ce chapitre, sur certains aspects de la dynamique myélomateuse.

Ce projet est une première étape, nous concluons donc sur des considérations théoriques et techniques qui pourront être développées plus avant dans le cadre du GIS BIMSCO.

# Partie I

## Le contexte



---

---

# Chapitre 3

---

---

## Les Myélomes Multiples

Le Myélome Multiple (MM) est une maladie caractérisée par l'accumulation de plasmocytes tumoraux dans la moelle osseuse. Il est responsable d'1% des décès par cancer. L'intérêt pour l'étude du MM réside surtout par l'accès « facile » au matériel biologique et dans le fait que le MM est un « modèle » de tumeur. Ce chapitre présente donc les MM. Dans un premier temps, nous présentons de façon générale les MM, puis leur biologie. Nous terminons ensuite par l'étude des moyens d'investigation traditionnellement mis en œuvre pour l'étude des MM.

### 3.1 Présentation des myélomes multiples

#### 3.1.1 Définition

Le myélome multiple (MM) est une maladie caractérisée par une infiltration médullaire de cellules plasmocytaires malignes (les cellules myélomateuses). Les plasmocytes sont des cellules productrices d'anticorps. Ainsi, les plasmocytes tumoraux dérivant tous d'une même cellule, leur présence se manifeste par un pic sérique et/ou urinaire d'une immunoglobuline monoclonale [Kyle and Rajkumar, 2004, Penev and Evans, 2004, Mitsiades et al., 2004]. Cependant cette simple observation ne suffit pas à diagnostiquer un myélome et des études complémentaires doivent être menées. Par exemple, une gammopathie monoclonale de signification indéterminée (MGUS) est aussi caractérisée par ce pic [Chaibi et al., 2002, Kyle and Rajkumar, 2003]. Et seuls 30% des patients atteints de MGUS développeront les signes caractéristiques d'un myélome.

Le myélome est souvent appelé maladie de Kähler, du nom du premier auteur à avoir publié une description clinique détaillée du myélome, ou myélomes multiples, du fait de l'accumulation des cellules myélomateuses à différents endroits de la moelle. Cette

maladie est d'apparence homogène mais très hétérogène du point de vue clinique, épidémiologique et pronostique. Le MM est à ce jour encore incurable, la durée médiane de survie des patients est de deux à trois ans [Kyle and Rajkumar, 2004, Penev and Evans, 2004, Mitsiades et al., 2004]. Avant d'étudier ces aspects, dressons un bref historique de la découverte des MM.

### 3.1.2 La découverte des myélomes multiples

Les premières observations cliniques de MM datent de 1844 par William Macintyre et Samuel Solly qui l'appellent « *mollities et fragilas ossium* » (os mous et fragiles). C'est deux ans plus tard qu'un chirurgien du nom de John Dalrymple remarque que ces os contiennent un grand nombre de cellules. Henry Bence Jones publie, en 1848, ses observations sur les problèmes urinaires inhabituels du patient précédemment diagnostiqué par Macintyre. Aujourd'hui encore, lorsque la chaîne légère de l'immunoglobuline est observée dans les urines (en provoquant au passage des lésions urinaires), le myélome est appelé MM de Bence Jones.

Le terme « myélome multiple » est introduit en 1873 pour décrire la présence de multiples lésions osseuses d'origine plasmocytaire et c'est en 1889, que Otto Khaler propose une description clinique détaillée du MM. En 1900, Wright découvre que les cellules du MM sont des plasmocytes qui seront présentés comme les cellules responsables des atteintes osseuses par Weber, 9 ans plus tard. Il faudra attendre les années 30 pour que le dépistage et le diagnostic soient efficaces. Les premiers espoirs et succès de la chimiothérapie datent des années 1950-1960 mais depuis aucune autre chimiothérapie n'a pu prouver sa supériorité sur celles proposées à cette époque (i.e. melphalan et prednisone).

Depuis, les progrès observés ont été réalisés par les greffes (1982) mais surtout au niveau du diagnostic et de la classification.

### 3.1.3 Classification et physiopathologie

En 1975, Salmon et Durie [Salmon and Durie, 1975] développent une classification en trois stades caractérisés par la masse tumorale :

- Myélome de faible masse tumorale *i.e.* le nombre de cellules est inférieur à  $0.6 * 10^{12}$  cellules/ $m^2$ ,
- Myélome de masse tumorale intermédiaire *i.e.* le nombre de cellules est compris entre  $0.6 * 10^{12}$  cellules/ $m^2$  et  $1.2 * 10^{12}$  cellules/ $m^2$ ,
- Myélome de forte masse tumorale *i.e.* le nombre de cellules est supérieur à  $1.2 * 10^{12}$  cellules/ $m^2$ .

Ils proposent aussi une corrélation entre ces différents stades et les paramètres cliniques présentés dans le tableau 3.1.

Au début des années 1980, le « Labelling Index » (LI) <sup>1</sup> commence à être utilisé pour



Stade I	hémoglobine supérieure 100g/l calcémie normale ou inférieure à 2.60mmol/l structure osseuse normale à la radiographie taux faible de composants M
Stade II	Tout ce qui ne correspond ni au I ni au III
Stade III	hémoglobine inférieure à 85g/l calcémie supérieure à 3.00mmol/l lésions osseuses avancées Taux élevé de composants M

Figure 3.1: Classification de Salmon et Durie [Salmon and Durie, 1975].

l'étude des MM [Durie et al., 1980] et en 1983, Bataille et Durie proposent l'utilisation de la  $\beta_2$ macroglobuline pour le diagnostic [Bataille et al., 1983]. Durie propose donc en 1991 [Durie, 1991], l'utilisation de la classification du tableau 3.2.

Bataille et al [Bataille et al., 1992] proposent d'utiliser la protéine C-réactive dont

Stade I	LI% et $\beta_2$ macroglobuline sérique bas
Stade II	un des paramètres élevé/bas
Stade III	LI% et $\beta_2$ macroglobuline sérique bas

Figure 3.2: Classification de Durie [Durie, 1991].

la présence est étroitement liée à l'activité de l'IL-6, et la  $\beta_2$ macroglobuline sérique comme facteurs pronostiques (tableau 3.3).

Depuis de nombreux facteurs pronostiques ont été mis en évidence, comme par exemple

faible	protéine C-réactive et $\beta_2$ macroglobuline sérique bas
moyen	un des paramètres élevé/bas
élevé	protéine C-réactive et $\beta_2$ macroglobuline sérique bas

Figure 3.3: Facteurs pronostiques selon Bataille [Bataille et al., 1992].

le CD45 [Moreau et al., 2004]. En effet, les patients traités par une thérapie à haute dose présentant des cellules myélomateuses n'exprimant pas le CD45 (cellule CD45<sub>Neg</sub>) ont une espérance de vie inférieure à ceux ne présentant pas ces cellules.

---

<sup>1</sup> Le Labelling Index est une mesure du pourcentage de cellules en phase S, *i.e.* en phase de synthèse.

### 3.1.4 Epidémiologie des myélomes multiples

L'incidence des MM est d'environ 4/100000 dans les pays industrialisés occidentaux mais n'est que de 1/100000 en Chine. En France, il représente presque 1% de la mortalité par tumeur chez l'homme et 2% chez la femme. Aux États-Unis, on observe 13500 nouveaux cas chaque année. Selon l'origine ethnique, l'incidence de ce cancer peut varier : par exemple dans le comté de Los Angeles, le taux est de 9,8/100000 chez les noirs et de 4,3/100000 chez les hommes de type caucasien [Benjamin et al., 2003, Kyle and Rajkumar, 2004, Penev and Evans, 2004, Mitsiades et al., 2004]. De même, il existe une forte corrélation entre l'incidence des MM et l'âge (99% des cas des patients diagnostiqués le sont après 45 ans). Un autre facteur important est le sexe du patient. En effet, le rapport homme/femme est de 3/2 [Kyle and Rajkumar, 2004, Penev and Evans, 2004, Mitsiades et al., 2004].

L'ensemble de ces données semble montrer que l'apparition des MM est liée en partie à des facteurs environnementaux mais aussi à des prédispositions génétiques. Les éléments chimiques habituellement présents dans les pesticides peuvent être à l'origine de l'apparition de MM, notamment chez les agriculteurs où l'incidence des MM est de 3 à 4 fois supérieure à celle de la population. D'autres éléments chimiques tels que les dioxines ou le benzène semblent être des déclencheurs. L'apparition des MM comme la majorité des cancers peut être provoquée ou facilitée par les radiations ou certains virus. Enfin, comme nous l'avons déjà dit et observé, il existerait sans doute des prédispositions génétiques [Kyle and Rajkumar, 2004, Penev and Evans, 2004, Mitsiades et al., 2004].

## 3.2 Les myélomes dans leur micro-environnement

Les cellules myélomateuses grandissent dans la moelle osseuse, où le micro-environnement supporte leur croissance et les protège de l'apoptose. Cependant, l'accumulation de cellules myélomateuses dans la moelle est associée à une augmentation du remodelage osseux.

Molécule	Plasmocytes normaux	Plasmocytes tumoraux	Références
$\beta 1$ integrin	Présent	idem	[I. Van Riet and Camp., 1991]
VLA-4	Présent	idem	[I. Van Riet and Camp., 1991]
VLA-5	Présent	inférieur	[Kawano et al., 1993]
LFA-1	Présent	inférieur	[Pellat-Deceunynck et al., 1995]
LFA-3	Absent	Présent	[Cook et al., 1997]
NCAM	Absent	Présent sauf extra-médullaire	[Harada et al., 1993]
Syndecan-1	Présent	idem	[J. Wijdenes and Dore., 1996]
CD44	Présent	idem	[H. F. Barker and Franklin., 1992]

Figure 3.4: Comparaison entre les molécules d'adhésion entre plasmocytes tumoraux et normaux.

### 3.2.1 Rôle du micro-environnement médullaire sur les MM

Il est généralement accepté qu'après le « switch<sup>2</sup> » initial, les cellules myélomateuses migrent des noeuds lymphatiques vers la circulation sanguine et au fur et à mesure de leur maturation, elles acquièrent un certain nombre de molécules d'adhésion favorisant leur installation dans la moelle où elles trouvent un environnement propice au développement tumoral.

#### *Les molécules d'adhésion*

Ces molécules autorisent les cellules myélomateuses à s'installer au niveau de la moelle. Il a été mis en évidence que les lignées et les échantillons fraîchement prélevés chez les patients expriment fortement CD49d, sous-unité de la  $\beta 1$ -intégrine. VLA-5 est faiblement exprimée dans les cellules myélomateuses, mais son expression est fortement corrélée au phénotype immature prolifératif. C'est aussi le cas de LFA-1 qui est exprimée par les plasmocytes normaux mais aussi par les plasmocytes tumoraux immatures. Une autre molécule d'intérêt est NCAM. Cette dernière, tout comme LFA-3, ont été mises en évidence sur les cellules myélomateuses alors qu'elles sont absentes sur les cellules normales. La particularité de NCAM est que son expression est perdue chez des patients avec des myélomes échappant à la moelle. L'ensemble de ces molécules stimule indirectement la croissance tumorale en activant les cellules du micro-environnement médullaire. L'activation des cellules médullaires a pour conséquence un

---

<sup>2</sup> Une cellule B exprime d'abord des IgM à sa surface puis, au cours de sa différenciation, pourra exprimer une autre classe d'Ig (IgG, IgE ou IgA) ; ce mécanisme est appelé commutation de classe ou « switch » d'isotype.

échange fourni de messages par l'intermédiaire de cytokines et d'hormones.

### **Le réseau de cytokines**

La clarification des phénomènes moléculaires accompagnant la progression tumorale, a fait passer au second plan l'étude du réseau de cytokines. Malgré la prédominance de l'IL-6 et de l'IGF-1 dans la pathogénéicité des MM, il existe de nombreux autres messagers impliqués dans la croissance, la progression et la dissémination de la maladie. Ce réseau inclut l'IL-1, l'IL-2, son récepteur soluble, l'IL-3, l'IL-4, l'IL-6, son récepteur soluble, l'IL-10 et l'IL-11.

L'IL-1 stimule la prolifération de la lignée cellulaire DP-6 et agit indirectement sur la production d'IL-6 par les cellules myélomateuses *via* une boucle prostaglandine  $E_2$  [Lu et al., 1995]. L'interféron  $\alpha$  stimule la croissance de certaines cellules IL-6-dépendantes [Usui et al., 2004] alors que l'interféron  $\gamma$  diminue l'expression des récepteurs à l'IL-6 [Portier et al., 1993]. Il a été montré que l'IL-3 peut, *in vitro*, stimuler la prolifération myélomateuse [Lee et al., 2004] mais il est principalement associé à la différenciation des monocytes plasmiques en plasmocytes matures [Young et al., 1990]. L'IL-4 semble aussi stimuler la différenciation des monocytes [Littman et al., 1989]. Cependant, cette molécule semblerait inhiber la production d'IL-6 [Szabo et al., 1991]. L'IL-10 est le facteur de différenciation des lymphocytes B le plus puissant. Il semblerait qu'il agisse aussi comme un facteur de prolifération dans le cas d'une culture myélomateuse privée d'IL-6 [Otsuki et al., 2002]. L'IL-11 stimule la croissance dans les plasmocytomes murins mais ceci ne semble pas être le cas chez l'homme [Urbanska-Rys et al., 2000]. L'IL8 est un facteur puissant pour le chimiotactisme des cellules myélomateuses. Enfin, le dernier élément influençant la prolifération est le récepteur soluble à l'IL-6 qui peut lui aussi stimuler gp130 [Kyriakou et al., 1997].

Nous venons de voir que le micro-environnement médullaire osseux joue un rôle considérable dans la prolifération myélomateuse. Mais cette prolifération peut, quant à elle, perturber l'homéostasie du remodelage osseux, il est donc important de voir le rôle de la tumeur sur ce dernier.

### **3.2.2 Rôle des cellules myélomateuses sur le remodelage osseux**

Une perturbation du remodelage osseux est associée à une augmentation de l'activité ostéoclastique et à une diminution de la formation osseuse.

### 3.2.2.1 Augmentation de l'activité ostéoclastique par les MM

Le voisinage des tumeurs myélomateuses est caractérisé en partie par un recrutement accentué des cellules ostéoclastiques et une augmentation de l'activité de ces dernières. Le fait que ceci soit un événement localisé semble indiquer que les facteurs activant les ostéoclastes sont soit synthétisés par les cellules myélomateuses, soit par les cellules du stroma médullaire. Deux systèmes de régulation responsables ont pu être isolés : Le système RANKL/OPG et la MIP-1.

#### ***RANKL/OPG***

Toutes les cytokines et hormones régulant le remodelage osseux semblent converger vers ce système. L'activation d'ostéoclastes à partir des cellules monocytes est contrôlée par l'expression coordonnée de RANKL, le ligand au récepteur d'activation de NF- $\kappa$ B (TRANCE, OPGL, TNFRSF11B), et de l'ostéoprotégérine (OPG, TNFRSF11B), récepteur soluble de RANKL [Giuliani et al., 2004]. RANKL se fixe sur son récepteur ostéoclastique, stimulant ainsi la différenciation et l'activation des ostéoclastes [Brown et al., 2004, Giuliani et al., 2004, Roux and Mariette, 2004]. OPG est un antagoniste de RANKL, il fixe ce dernier et préserve donc l'os de la dégradation ostéoclastique [Giuliani et al., 2001, Wittrant et al., 2004, Giuliani et al., 2004]. Ainsi, c'est le ratio entre concentration de RANKL et concentration de OPG qui détermine l'activité ostéoclastique.

L'activité de cette balance dans les MM a montré que ces derniers stimulent l'expression de RANKL et inhibent l'expression d'OPG [Giuliani et al., 2001, Wittrant et al., 2004, Giuliani et al., 2004]. Une incertitude règne encore quant aux sources de RANKL dans la moelle de patients [Giuliani et al., 2004]. Dans [Roux et al., 2002, Roux and Mariette, 2004], il a été montré que RANKL était exprimé par les cellules stromales et non par les cellules myélomateuses. De plus, aucune lignée cellulaire humaine de myélomes ne semble l'exprimer bien qu'une co-culture avec les cellules stromales prouve qu'elles en ont la possibilité [Giuliani et al., 2004]. D'ailleurs, ceci a été observé chez certains patients et dans la lignée myélomateuse murine 5T2MM [Libouban et al., 2003]. Malheureusement, aucun facteur impliquant l'expression de RANKL n'a pu être identifié de façon certaine. Parallèlement, il existe une diminution de la concentration en OPG dans le milieu [Giuliani et al., 2004]. Ceci peut être réalisé par deux phénomènes différents : l'inhibition de la synthèse stromale par les MM et la séquestration de l'OPG par les cellules myélomateuses.

#### ***La chemokine MIP-1***

Il a été mis en évidence que les cellules myélomateuses peuvent sécréter deux isoformes de MIP-1 (macrophage inflammatory protein-1) [Roodman and Choi, 2004]. De plus, MIP-1 $\alpha$  serait surexprimé dans les tumeurs myélomateuses [Uneda et al.,

2003]. MIP-1 agit comme un attracteur et un activateur des monocytes. Il a été montré que les cellules stromales et les ostéoclastes expriment à leur surface CCR5, le récepteur à MIP-1 [Roodman and Choi, 2004]. La fixation de MIP-1 sur son récepteur induirait la synthèse de RANKL et par conséquent augmenterait l'activité de résorption osseuse. MIP-1 est une cytokine pléiotropique, son rôle ne se limite pas seulement à l'activation de la résorption osseuse. En effet, MIP-1 $\alpha$  inhiberait l'érythropoïèse et MIP-1 $\beta$  augmenterait l'apoptose des pré-lymphocytes B. De plus, CCR5 est aussi exprimé à la surface des cellules myélomateuses autorisant une action paracrine de MIP-1 [Abe et al., 2002, Lentzsch et al., 2003], notamment, sur la migration, la survie et la prolifération myélomateuse [Lentzsch et al., 2003].

Les effets des MM sur la matrice ne se limitent pas à une augmentation de l'activité ostéoclastique. Il semblerait que les MM provoquent aussi une diminution de l'activité ostéoblastique.

### 3.2.2.2 La diminution de l'activité ostéoblastique

Dans tous les MM, il est maintenant évident que l'activité ostéoclastique est stimulée. La principale différence, *in vivo*, entre patients atteints de lésions osseuses et les autres, est l'activité ostéoblastique qui est fortement réduite dans le premier cas. Peu d'inhibiteurs ostéoblastiques ont pu être mis en évidence dans les MM. Le rôle de DKK1, inhibiteur de la voie de différenciation et d'activation ostéoblastique Wnt, serait un de ces inhibiteurs [Tian et al., 2003]. Un deuxième élément aurait été isolé : les molécules d'adhésion NCAM/CD56. En effet, il existe une corrélation entre les MM exprimant NCAM et les lésions osseuses [Ely and Knowles, 2002].

Dans la prochaine section, nous présentons les aspects moléculaires et cellulaires de la cellule myélomateuse. Nous faisons, dans un premier temps, une description génétique et cytogénétique, avant de nous intéresser aux voies de transmission des signaux de prolifération et le « signalling » de cette cellule.

## 3.3 La cellule myélomateuse

### 3.3.1 Cytogénétique, génétique et épigénétique dans les MM

Le myélome multiple est souvent considéré comme une maladie unique dont la cytogénétique est très hétérogène [Avet-Loiseau et al., 2002]. L'instabilité génétique intrinsèque aux plasmocytes et qui augmente avec la progression tumorale, semblerait en être en partie responsable. La croissance myélomateuse semble être un processus de transformation en plusieurs étapes [Hallek et al., 1998, Davies et al., 2003, Iida and

partenaire	Oncogènes	Fonctions
11q13	Cyclin D1 myeov	Régulateur du cycle cellulaire Fonction inconnue
4p16	FGFR-3 MM-SET	Récepteur tyrosine kinase de l'hormone de croissance Régulateur épigénétique de la transcription
16q23	C-maf	Facteur de transcription
6p21	Cyclin D3	Régulateur du cycle cellulaire
6p25	MUM1 ou IRF4	Régulateur de la transcription de IFN
20q11	Maf-B	Facteur de transcription

Figure 3.5: Partenaire du gène de l'IgH lors de la translocation.

Ueda, 2003]. C'est grâce à l'élaboration des techniques de FISH que l'étendue des anomalies cytogénétiques dans les MM est apparue [Dao et al., 1994, Avet-Loiseau et al., 2002, Onwuazor et al., 2002]. Mais l'étude cytogénétique des MM reste compliquée du fait de la difficulté d'obtenir des cellules en mitose analysables représentatives de la maladie, en raison du faible pourcentage habituel de cellules tumorales et de la faiblesse de l'index de prolifération. La fréquence et l'étendue des anomalies mises en évidence sur le caryotype sont corrélées avec le stade de la maladie, la durée et la réponse au traitement. 20% des patients du stade I ont des caryotypes anormaux, 60% au stade II et plus de 80% au stade III.

D'après [Bastard., 2003], l'analyse cytogénétique des MM permet de scinder la population de patients en deux groupes au pronostic très différent :

- un groupe de bon pronostic caractérisé par le gain non aléatoire des chromosomes 3, 5, 7, 9, 11, 15 et 19, aboutissant à un caryotype hyper-diploïde avec monosomie 13 peu fréquente et peu d'anomalies de structure, en particulier sur la région des gènes codant pour les Ig en 14q32 ;
- un groupe plus hétérogène avec un mauvais pronostic, hypo-diploïde ou pseudo-diploïde avec ou sans duplication, avec un fort pourcentage de monosomie 13 et un nombre élevé d'anomalies de structure atteignant en particulier la région 14q32.

Le point de départ de la progression tumorale est la translocation primaire de l'IgH qui peut s'apparier illégitimement avec les chromosomes 4, 6, 11 ou 14. Associée à la délétion du chromosome 13, la translocation de 14q32 est une caractéristique importante des MM car elle représente 50% des cas [A. Vacca and Dammacco., page in Press, 2004]. Il est possible de retrouver les gènes impliqués dans la translocation (voir tableau 3.3.1). L'étude statistique des anomalies chromosomiques associées aux MM [Avet-Loiseau et al., 2002] montre que les deux plus fréquentes anomalies, la translocation du 14q32 et la délétion du 13, ne sont pas distribuées aléatoirement mais inter-connectées. De plus, il a été mis en évidence par la même étude qu'il était possible de définir quatre catégories de patients (voir figure 3.6) corrélées à leur statut immunologique.

Une classification, appelée « classification translocation-cyclin », présentée par Hide-

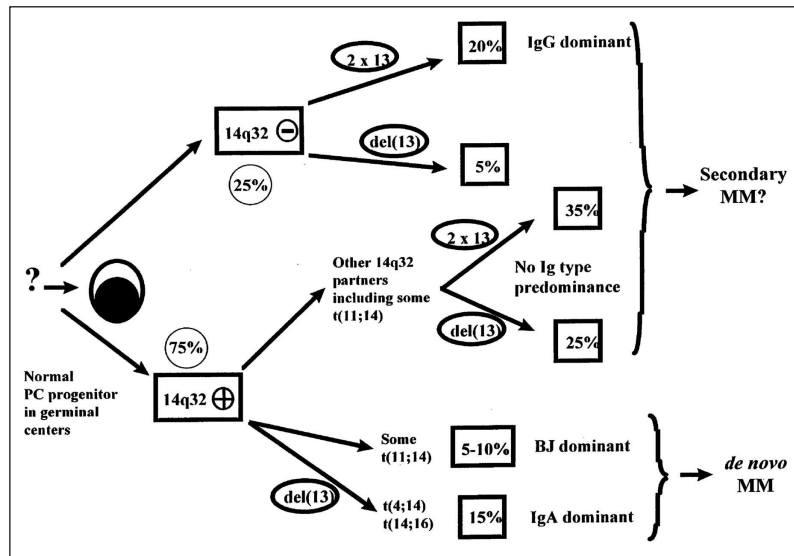


Figure 3.6: Modèle de l'oncogénèse des myélomes multiples.

shima et al.[Hideshima et al., 2004], se propose de classer les différentes pathologies selon l'expression de certains gènes et les translocations associées. Les tumeurs de type TC1 (18% des patients) expriment un taux élevé de cycline D1 et D3 résultant respectivement de  $t(11;14)$  et  $t(6;14)$ .

La majorité des anomalies observées par les techniques classiques de cytogénétique est associée aux patients du stade III ou plus de la maladie, mais rarement à l'émergence de celle-ci. L'étude des anomalies cytogénétique requiert des études plus approfondies et des méthodes plus sophistiquées pour appréhender toutes les anomalies.

Il existe aussi des anomalies de structure ou d'expression d'un certain nombre de gènes. Ainsi, l'étude des gènes inhibiteurs des cyclines D kinase montre que ceux-ci peuvent être parfois inhibés par phosphorylation (par exemple la  $P16^{INK4A}$ ) [Kramer et al., 2002] ou délétés ( $P15^{INK4A}$ ,  $P16^{INK4A}$  et  $P18^{INK4A}$ ) [Tasaka et al., 1997, Drexler, 1998].

## 3.3.2 La prolifération cellulaire

### 3.3.2.1 L'interleukine 6

L'interleukine 6 (IL-6) est une cytokine pléiotropique<sup>3</sup> qui agit comme un stimulateur de la prolifération des progéniteurs hématopoïétiques [Veldhuis et al., 1996, Naka et al., 2002]. L'IL-6 est aussi un acteur important pour de nombreuses cellules mais c'est son rôle dans la différenciation des plasmocytes qui lui a valu d'être clonée [Hi-

<sup>3</sup> Un cytokine pléiotropique est une cytokine qui affecte plusieurs caractéristiques d'un système.



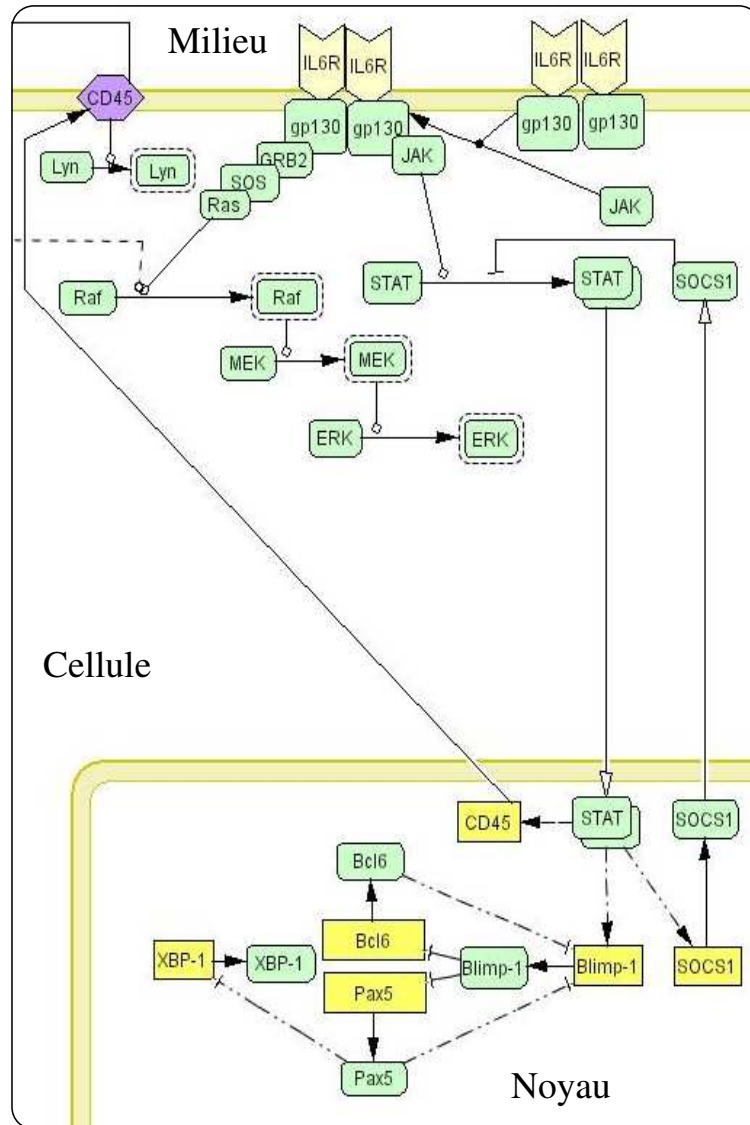


Figure 3.7: Voies de transmission stimulées par l'IL-6 dans les cellules myélomateuses.

rano et al., 1986]. Elle appartient à une famille composée du ciliary neutrophilic factor (CNTF), le leukemia inhibitory factor (LIF), l'oncostatine M (OSM), l'interleukine-11 (IL-11) et la cardiotrophine-1 (CT-1) [Heinrich et al., 2003]. Les récepteurs de cette famille utilisent tous une sous-unité transductrice du signal commune, la chaîne gp130. Pour certaines cytokines, comme l'IL-6 ou l'IL-11, le récepteur est constitué d'un homodimère gp130. Pour les autres récepteurs, le gp130 se dimérise avec une chaîne spécifique à l'hormone [Heinrich et al., 2003]. Mais ce sont les signaux en aval du récepteur qui permettent de mieux comprendre la physiopathologie des MM au niveau moléculaire. En effet, l'IL-6 active de nombreux facteurs de transcription *via* un certain nombre d'évènements intra-cytoplasmiques [Naka et al., 2002, Heinrich et al., 2003]. Voyons donc maintenant les voies de transmission des signaux de l'IL-6 dans la cellule (figure 3.7).

Le complexe récepteur de l'IL-6 est constitué de deux sous-unités. L'unité  $\alpha$  ou gp80 peut se lier à l'IL-6 mais ne transmet pas le signal. Pour que le signal puisse être transmis, il faut que la chaîne  $\alpha$  se dimérise avec le gp130 (chaîne  $\beta$ ). Cette dernière partagée avec les autres récepteurs de la famille ne peut fixer l'IL-6 mais peut induire le signal dans la cellule. Dépourvue de domaine tyrosine kinase, c'est par des kinases de la famille des Janus Kinase (JAK) que la phosphorylation va pouvoir être réalisée. Il existe un autre isoforme de la chaîne  $\alpha$  du récepteur privé de sa partie trans-membranaire mais qui est quand même capable d'activer le gp130 [Naka et al., 2002, Heinrich et al., 2003].

Sans même que les récepteurs soient activés, il existe des protéines de la famille de JAK qui sont associées au gp130. L'activation de JAK1, JAK2 et Tyk2 sera possible lors de l'homo-dimérisation de gp130 suivant la fixation du ligand sur son récepteur. Le rapprochement des JAK les autorise à se phosphoryler. Une fois activées, les JAK vont phosphoryler le gp130 sur les 5 résidus C-terminaux de la gp130. Ce sont les points d'ancrage des protéines STAT, Shc, Grb2 ou SHP2 [Naka et al., 2002, Heinrich et al., 2003].

Les STATs sont des facteurs de transcription qui forment des hétéro-dimères par l'interaction entre leur domaine SH2 et la tyrosine phosphorylée. Dans notre cas, les STAT1 et 3 se fixent sur les tyrosines phosphorylées 3 et 6 avant d'être elles aussi phosphorylées par les JAKs. Les STATs phosphorylées vont alors former un homo (STAT3-STAT3) ou hétéro-dimère (STAT1-STAT3). Ces dimères vont ensuite migrer vers le noyau pour s'y fixer sur une séquence spécifique. Il a été mis en évidence que la STAT1 active directement Bcl- $X_l$ , p21 ou ICE; STAT3 active l'IgM, SOCS-1, Bcl- $X_l$  ou C-myc. Bien que son rôle soit indispensable pour la survie et certainement pour la prolifération des cellules myélomateuses, la voie recrutant les STAT ne peut suffire pour la prolifération cellulaire [Schindler and r. Darnell JE, 1995, Barahmand-pour et al., 1996, Heinrich et al., 1998, Horvath, 2000, French et al., 2002, Horvath, 2004].

Une autre voie est activée par l'IL-6, c'est la voie des ras-MAPK. C'est une voie mise en jeu par de nombreux signaux de prolifération. Il semblerait qu'il en soit de même dans les MM. Plusieurs mécanismes d'activation sont décrits dans la littérature. Tous mettent en œuvre la protéine Shc qui peut soit être recrutée directement par gp130 soit indirectement par SHP2. Shc est phosphorylée sur une tyrosine puis recrute Grb2

pour former un complexe Shc/Grb2/Sos qui permettra la transformation de Ras-GDP en Ras-GTP. Cette dernière est à l'origine de l'activation de la voie des MAPK. La phosphorylation de Raf-1 active MEK-1 qui active ERK1 et 2 lesquelles activent les facteurs de transcription [Thabard et al., 2001, Kawano et al., 2002, French et al., 2002, Lentzsch et al., 2004]. Cependant, il a récemment été mis en évidence que dans la lignée cellulaire IL-6 dépendante, U266, l'absence de CD45 empêche la prolifération induite par l'IL-6 [Mahmoud et al., 1998, Kawano et al., 2002, Bataille et al., 2003, Ishikawa et al., 2003a, Zhou et al., 2004].

L'étude des mécanismes moléculaires associés à CD45 semble indiquer que le rôle de CD45 sur la prolifération IL-6-dépendante passe par le recrutement de Lyn. Le rôle régulateur de Lyn pour les signaux proliférateurs issus de l'IL-6 n'est pas encore bien défini. Mais il est évident que pour que le signal de prolifération de l'IL-6 dans des conditions physiologiques soit suffisamment important, Lyn doit être déphosphorylé par une phosphatase qui semblerait être CD45 [Kawano et al., 2002, Bataille et al., 2003, Ishikawa et al., 2003a].

### 3.3.2.2 L'IGF-1

Le rôle de l'IGF-1 a été mis en évidence du fait qu'il existe des cellules tumorales capables de proliférer en l'absence d'IL-6 [Akiyama et al., 2002, Podar et al., 2002, Zhang and Fenton, 2002]. En effet, il a été montré que seules 40% à 60% des cellules myélomateuses répondent à un signal de prolifération via IL-6. Il a été observé que les cellules dépendantes ou indépendantes vis-à-vis des signaux de prolifération à IL-6 sont sensibles à des signaux de type IGF-1 [Ge and Rudikoff, 2001, Bataille et al., 2003, G. Descamps and Amiot., 2004].

Deux voies semblent principalement activées par l'IGF-1 : la voie des MAPK et celle de PI3K/Akt. Cette dernière est la principale voie activée mais il semble exister une relation avec la voie des MAPK. En effet, l'inhibition de la voie PI3K induirait une inhibition de la voie des MAPK et les cibles de celle-ci. Nous avons vu dans la précédente sous-section la voie des MAPK, voyons donc maintenant celle des PI3K et AKT.

La fixation d'IGF-1 sur son récepteur induit l'activation par phosphorylation de l'Insulin Response Substrat 1 qui lui même va activer la PI3K (figure 3.8). Cette dernière va alors phosphoryler Akt qui est, lui, régulé par PTEN, un gène suppresseur de tumeur. L'étude des cibles d'Akt montre qu'il existe un certain nombre d'effecteurs intervenant dans la prolifération cellulaire. C'est le cas, par exemple, de FKHL1, facteur de transcription contribuant à la croissance cellulaire et de P70S6 qui stimule la synthèse protéique [Y.W. Qiang and Rudikoff., 2002]. Récemment, il a été mis en évidence que l'activation de la voie des PI3K/Akt est tributaire de l'absence de CD45. Il semblerait même qu'il existe une interaction physique directe entre CD45 et IGF-1 [G. Descamps and Amiot., 2004].

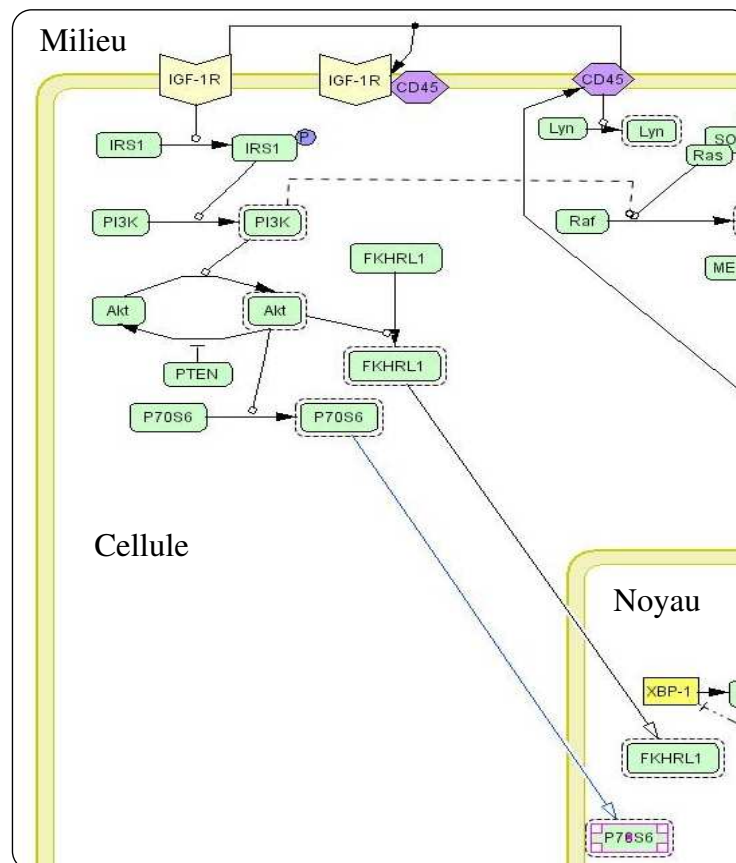


Figure 3.8: Voies de transmission stimulées par l'IGF-1 dans les cellules myélomateuses.

### 3.3.2.3 Les autres cytokines

Le TNF (tumor necrosis factor) est aussi classé parmi les cytokines. C'est un médiateur de l'immunité naturelle car sa sécrétion ne nécessite pas l'intervention d'antigènes. D'après [Merico et al., 1993, Hideshima et al., 2001, Brenne et al., 2004, Shapiro-Shelef and Calame, 2004], le TNF $\alpha$  sécrété par les cellules myélomateuses aurait une action directe ou indirecte sur la croissance tumorale. Il stimulerait la sécrétion d'IL-6 par les cellules stromales de la moelle osseuse et provoquerait l'expression de molécules d'adhésion (LFA-1, ICAM-1...) sur les cellules myélomateuses. Par contre, l'effet direct sur la prolifération des cellules myélomateuses serait modeste.

Les cellules myélomateuses expriment aussi des récepteurs à l'IL-10. Contrairement à l'IL-6 le rôle varie dans les cellules myélomateuses par rapport aux cellules normales. L'IL-10 soutient la croissance des plasmocytes normaux et tumoraux. La cellule myélomateuse tirerait profit de l'action physiologique de l'IL-10 [Merico et al., 1993, Urbanska-Rys et al., 2000, Otsuki et al., 2002, Klein et al., 2003, Lauta, 2003]. L'IL-10 stimulerait aussi l'expression du récepteur à IL-11 et LIF qui se dimérisent avec le gp130 [Urbanska-Rys et al., 2000, Otsuki et al., 2002, Heinrich et al., 2003, Lauta, 2003, Muller-Newen, 2003]. Ceci a pour conséquence d'autoriser une activation autochrone de la cellule myélomateuse par l'oncostatine, qui est constitutivement sécrétée par la cellule myélomateuse et qui peut se fixer sur l'hétérodimère LIF-gp130.

Les facteurs de croissance autres que l'IGF-1 sont des éléments connus de la prolifération tumorale. Le récepteur à l'Hépatocyte Growth Factor (HGF), connu sous le nom de c-Met, est un facteur important dans l'oncogénèse de l'ostéosarcome. De plus, c-Met est surexprimé dans un certain nombre de tumeurs. Son rôle dans la prolifération myélomateuse a par conséquent été aussi étudié. Une boucle autocrine a d'ailleurs été observée dans une lignée cellulaire fraîchement isolée et pourrait avoir un rôle dans la prolifération et la survie des cellules que ce soit directement ou indirectement [Borset et al., 1996, Seidel et al., 1998, Derksen et al., 2003]. Il a été récemment montré que les cellules myélomateuses catalysent l'activation de c-Met par l'expression d'une sérine protéase spécifique à c-Met. L'HGF peut stimuler l'expression de métallo-protéases MMP-9 et de facteurs d'adhésion qui faciliteront la migration des cellules.

Il a été montré que la translocation du récepteur au FGF est un événement chromosomique relativement fréquent. Ceci conduit à une sur-expression de ce récepteur, or, il est connu que l'on retrouve dans la moelle osseuse du FGF [Otsuki et al., 1999, Chesi et al., 2001, Onwuazor et al., 2002, Iida and Ueda, 2003, Hideshima et al., 2004].

### 3.3.3 L'apoptose dans la cellule myélomateuse

L'apoptose est un processus organisé de mort cellulaire préprogrammée. Il peut être induit par des récepteurs de surface (voie extrinsèque) ou par une série d'événements intracellulaires (voie intrinsèque). C'est un processus important dans les cancers car les chimio et radiothérapies stimulent cette voie pour induire la mort

des cellules cancéreuses. L'inhibition de ce processus conduit donc à une résistance vis-à-vis des traitements anti-tumoraux habituels.

Une fois le processus initié, il peut induire l'activation de la voie des caspades qui va dégrader de nombreuses protéines et la molécule d'ADN. Cette voie est régulée par les protéines de la famille de BCL2. Elles peuvent être classées en deux catégories :

- les molécules pro-apoptotiques (Bcl- $x_S$ , Bax, Bad, Bag, Bak),
- les molécules anti-apoptotiques (Bcl- $x_L$ , Bcl-2, Mcl-1, A1).

C'est par ces molécules que les cellules vont devenir sensibles ou résistantes aux signaux apoptotiques. Ainsi, l'expression de ces différentes molécules a été largement étudiée dans les MM mettant en évidence le rôle de certaines molécules dans la résistance des cellules myélomateuses.

NF- $\kappa$ B est un facteur de transcription activé par des lipopolysaccharides bactériens et les cytokines pro-inflammatoire tel que TNF- $\alpha$  ou l'IL-11. Une fois libérée des protéines inhibitrices I $\kappa$ B, cette protéine peut migrer dans le noyau où elle va activer des gènes anti-apoptotiques. Dans le cas des MM, on retrouve donc des molécules anti-apoptotiques en excès : cFLIP, Bcl- $x_L$ , IEX1 et XIAP.

Cependant, grâce à l'utilisation d'ARN anti-sens, il a été montré que la résistance apoptotique est majoritairement associée au Myeloid cell factor-1 (Mcl-1), membre de la famille de Bcl-2. Mcl-1 expliquerait ainsi le rôle prépondérant de l'IL-6 dans la résistance apoptotique. En effet, STAT3, facteur de transcription activé par IL-6, stimule la synthèse de Mcl-1.

Enfin, la résistance aux traitements anticancéreux peut être induite par l'IGF-1. En effet, comme le montre la figure 3.8, la voie des PI3K-AKT, activée par les facteurs de croissance comme IGF-1, peut inhiber les signaux de mort cellulaire.

## 3.4 Stratégie dans la recherche des myélomes multiples

L'étude des symptômes est insuffisante pour progresser dans la connaissance des pathologies. Grâce aux techniques de biologie moléculaire, il est maintenant possible de comprendre le fonctionnement de la cellule. Pour cela, il est nécessaire d'utiliser des modèles. Voyons tout de suite les deux types de modèles les plus utilisés dans le cas des myélomes.

### 3.4.1 Les lignées cellulaires

La cellule est l'unité élémentaire malade à l'origine des cancers ; grâce aux dernières innovations technologiques, l'investigation de la cellule est de plus en plus poussée. Les techniques de cultures cellulaires autorisent l'extraction de cellules cancéreuses de leur milieu d'origine, leur déplacement et leur croissance dans un autre site permettant

des observations qui sont impossibles au sein de la tumeur primitive. Ces cultures permettent un contrôle très précis du milieu. Il est alors possible de contrôler les différents signaux stimulant ou inhibant la croissance tumorale. L'analyse du milieu de culture, *a posteriori*, permet de mettre en évidence les substances sécrétées par la cellule cancéreuse. L'analyse du caryotype de la cellule est aussi facilitée. C'est à partir de lignées cellulaires définies que sont étudiés les mécanismes d'action des médicaments anticancéreux, ainsi que les phénomènes de chimiorésistance et de radio-résistance. Les cultures de cellules cancéreuses ont des applications cliniques. Des cellules provenant de malades sont soumises, dans des conditions variables, à l'action des rayonnements ionisants pour préciser leur radiosensibilité. De même, on peut ajouter au milieu de culture des médicaments anticancéreux à des concentrations variables pour observer leur chimiosensibilité mais ces études n'ont eu que des résultats limités.

La purification et l'expansion *in vitro* de lignées fraîchement isolées sont encore difficiles. Heureusement, il existe des lignées humaines de cellules myélomateuses (HMCL) qui autorisent l'étude de leur biologie [Portier et al., 1993, Pellat-Deceunynck et al., 1995, Jourdan et al., 2003]. L'isolement de lignées cellulaires à partir de la moelle ou du sang périphérique conduit à deux types de lignées :

- les lignées lymphoblastiques (LCL) qui résultent de l'immortalisation des cellules saines par un virus d'Epstein-Barr,
- les véritables HMCL qui sont issues de l'immortalisation de cellules tumorales partageant le même réarrangement génétique de l'immunoglobuline.

Il est important de noter que l'utilisation de LCL peut conduire à des résultats controversés quant à la biologie des MM. L'étude phénotypique des différentes lignées cellulaires a permis de mettre en évidence les cas où l'utilisation de LCL peut s'avérer malheureuse :

- l'étude de l'interaction entre les cellules tumorales et les cellules stromales,
- le mécanisme de remodelage osseux,
- le rôle du CD40 dans les MM,
- le rôle de CD16.

L'intérêt des lignées est grand lorsqu'il s'agit de l'étude de la biologie de la cellule. Cependant, les tumeurs ne peuvent être isolées de leur environnement et nécessitent souvent des modèles animaux.

### 3.4.2 Les modèles animaux

Il existe pléthore d'études *in vivo* et *in vitro* sur les lignées humaines de MM. Ces études ont clairement montré le rôle remarquable de l'IL-6 et de l'IGF1 dans les MM. Par contre, il existe peu d'études réalisées sur les animaux. Ceci est certainement dû au fait qu'aucun modèle animal de MM n'est parfait. Or le développement de nouveaux modèles pour l'étude des MM pourra certainement clarifier les mécanismes d'activation, de prolifération et de métastase des cellules myélomateuses. Dans les cas de modèles animaux de MM, ils se doivent de respecter un certain nombre de critères :

- ils doivent reproduire les aspects caractéristiques des myélomes humains,

- il doivent reproduire les mêmes symptômes cliniques et anomalies,
- les thérapies efficaces chez l’homme doivent l’être chez l’animal et *vice versa*.

Gado [Gado et al., 2001] discute l’intérêt du plasmocytome murin comme modèle de MM (MPC). En effet, le MPC se rapproche pour certains points des MM.

L’apparition spontanée de MPC est rare chez la souris. Cependant, une méthode consistant à injecter du prispane dans la cavité intra-péritonéale provoque l’apparition de MPC chez 60% des souris traitées lorsqu’elles sont placées dans des conditions normales. Par contre, si ces souris vivent dans un milieu dans un environnement libéré de tout virus, cette proportion diminue largement. Les plasmocytomes murins induits par le prispane partagent de nombreuses caractéristiques avec les MM. Ce modèle autorise l’étude du rôle de la dérégulation de *C-myc*, les mécanismes conduisant aux changements cytogénétiques impliqués par les gènes aux immunoglobulines, le rôle des facteurs inflammatoires chroniques, le rôle de l’IL-6, de l’IGF-1 et les voies de transmission conduisant aux phénomènes néoplasiques. Par contre, les caractéristiques cliniques myélomateuses classiques, telles les lésions osseuses, l’anémie et les répercussions rénales, n’ont pas été observées dans un tel modèle.

Des plasmocytomes murins peuvent être aussi générés par des souris manipulées génétiquement. L’expression du transgènes peut être restreinte à une lignée particulière. Les modèles transgéniques les plus développés sont  $E\mu$ -v-abl,  $E\mu$ -IL-6 et  $E\mu$ -bcl-2 qui peuvent développer des MPC avec une fréquence variable. Par contre, ce sont des modèles très lourds à mettre en œuvre.

Les lignées murines de type C57BL/KaLwRij [Libouban et al., 2003] sont connues pour développer une gammopathie monoclonale avec une fréquence de 0.5% chez les rats âgés de plus de 2 ans. Ce modèle ressemble aux MM par de nombreux points tels une maladie disséminée, des lésions osseuses et rénales caractéristiques. De plus, les effets des agents thérapeutiques usuels ont été montrés. En revanche, le point négatif de cette maladie est la faiblesse d’apparition des tumeurs.

Les lignées murines SCID, *i.e.* présentant une immunodéficiences sévère, constituent un modèle efficace pour l’étude des tumeurs humaines [Roodman, 1997, Mahmoud et al., 1999]. Il est possible d’inoculer des cellules myélomateuses à ces souris, montrant une certaine ressemblance aux MM humains *in vivo*.

### 3.4.3 Les modèles formels et numériques

Pour rendre intelligible un processus biologique, le chercheur formalise sa vision sous forme de modèle. Celui-ci l’autorise donc à faire des expérimentations théoriques ou numériques. Dans le cas des myélomes, les premiers modèles proposés se sont basés sur la cinétique de la progression tumorale. Les modèles cinétiques facilitent la compréhension de la physiopathologie de la tumeur mais surtout aident le clinicien à mettre en place une thérapie optimale. L’élaboration d’un tel modèle nécessite une estimation du nombre de cellules; ceci est aisé dans le cas des MM car les cellules produisent de nombreuses protéines. Ainsi, dans [Sullivan and Salmon, 1972], le marqueur est le composant M de l’immunoglobuline dont la concentration varie



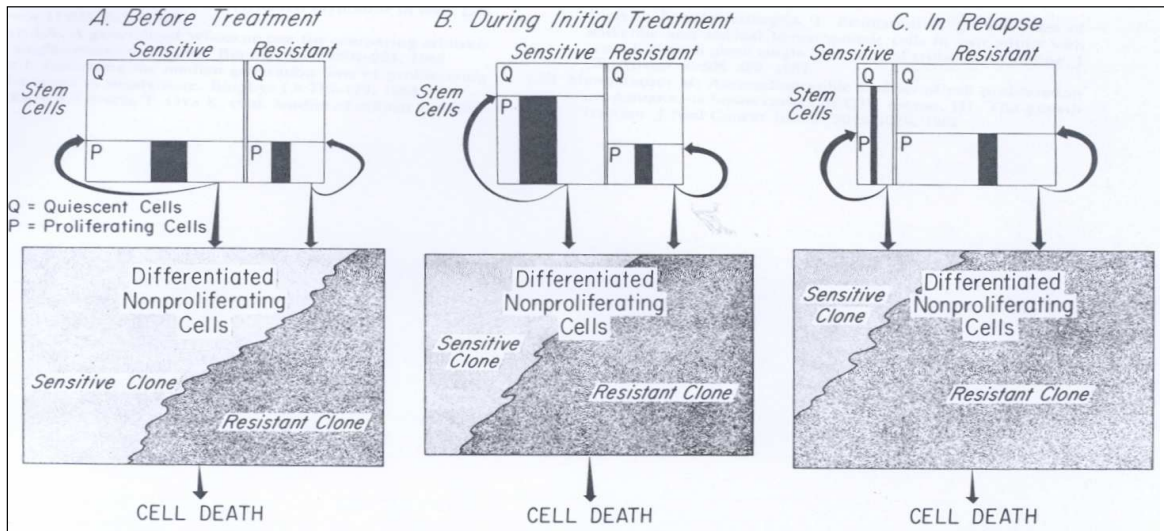


Figure 3.9: Modèle « cellules souches et cellules différenciées » d'après [Drewinko and Alexanian, 1977].

linéairement avec le nombre de cellules. Grâce à ces valeurs, l'auteur montre que la croissance myélomateuse lors de la phase de rechute suivant l'arrêt du traitement, évolue suivant une courbe de Gompertz.

Contrairement à la précédente étude où la population est considérée comme homogène, Drewinko et Alexanian proposent un modèle basé sur deux populations classées selon leur réponse aux traitements [Drewinko and Alexanian, 1977]. Cette hypothèse leur permet d'expliquer leur modèle de croissance en double exponentielle [Hokanson et al., 1977]. Dans [Drewinko and Alexanian, 1977], ils concluent par un modèle basé sur les concepts de cellules souches et de cellules différenciées non-proliférantes (cf figure 3.9). Chaque groupe est divisé en cellules sensibles et résistantes. Les compartiments souches, sensibles ou résistants, sont encore divisés en deux selon que les cellules soient quiescentes ou proliférantes. Les proportions de chacun de ces compartiments, notamment la portion proliférante [Drewinko et al., 1981], peuvent varier selon les patients et les traitements. L'application du modèle « correlated résistance » (CR) aux MM [Hokanson et al., 1986] autorise pour la première fois l'introduction de l'influence de l'environnement dans le modèle, via le temps de génération de la population (GT). Pour cela, il est nécessaire d'introduire la notion de l'hérédité des caractéristiques cinétiques (CI) permettant de calculer le GT des cellules filles comme suit :

$$GT(\text{fille}) = CI * GT(\text{mere}) + (1 - CI) * GT(\text{population})$$

Le modèle CR implique que les cellules à GT court sont plus sensibles aux traitements que celles avec un GT supérieur. La simulation de ce modèle montre que l'environnement (GT(population)) influe sur le résultat des traitements. L'inconvénient des modèles phénoménologiques présentés ci-dessus est qu'ils ont un faible pouvoir explicatif. Nous allons donc détailler des modèles formels explicatifs basés sur des

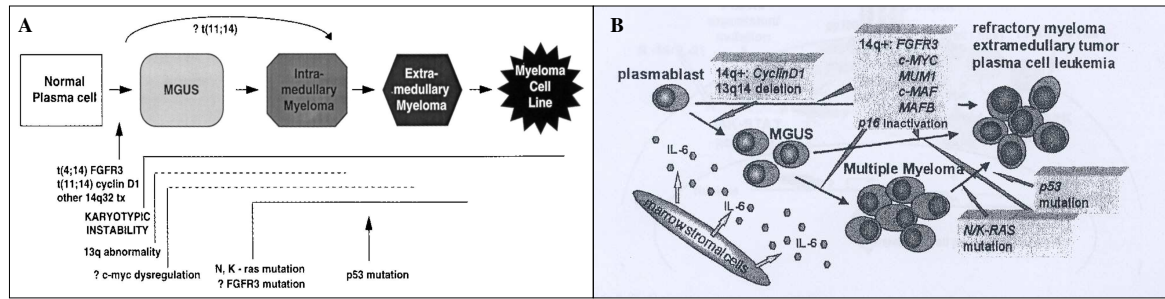


Figure 3.10: Modèle en plusieurs étapes basés sur des données issues de la technique d'hybridation *in Situ*. La figure A a été proposée par Hallek [Hallek et al., 1998] et la figure B par Iida [Iida and Ueda, 2003].

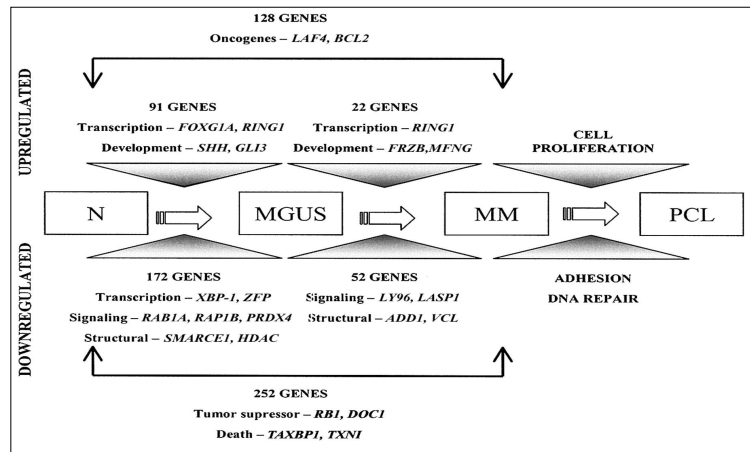


Figure 3.11: Modèle en plusieurs étapes basé sur les données de micro-array [Davies et al., 2003].

théories de carcinogénèse.

L'étude des phénomènes de génétique moléculaire impliqués dans la carcinogénèse facilite aussi la compréhension de la physiopathologie des MM. Il a été proposé que les tumeurs myélomateuses se développent à travers une série d'altérations génétiques. L'utilisation des techniques de FISH pour les anomalies cytogénétiques a permis le développement de tels modèles (cf figure 3.10) [Hallek et al., 1998, Iida and Ueda, 2003]. Grâce à l'avènement de la biologie moléculaire et la technologie des puces à ADN de nouvelles données ont pu enrichir ce modèle(cf figure 3.11) [Davies et al., 2003]. Les modèles formels que nous venons de présenter ont un pouvoir explicatif supérieur aux modèles mathématiques de cinétique tumorale. Par contre, cette vision des tumeurs fait abstraction de l'environnement.

Le myélome est un cancer incurable affectant les lymphocytes B différenciés en plasmocytes. Les MM sont les modèles idéaux pour l'étude des phénomènes tumoraux, d'une part du fait qu'ils sécrètent de nombreuses protéines et, d'autre part du fait

de leur sensibilité au micro-environnement médullaire. Ce dernier point nécessite des modèles qui puissent présenter le même comportement que la tumeur. Or les modèles biologiques de leur environnement sont difficiles à mettre en œuvre et aucun modèle formel ou numérique ne s'est intéressé à ce point. La majorité de ces modèles peut être considérée comme réductionniste. Dans cette thèse, nous proposons un modèle de MM en nous basant sur le paradigme systémique, en insistant sur l'environnement et les signaux qui y sont produits.



---

---

## Chapitre 4

---

---

# La modélisation des systèmes biologiques complexes

Il ne fait aucun doute que la biologie moléculaire est le progrès majeur de la fin du siècle dernier pour l'étude des cancers et plus généralement de la biologie. L'avènement des technologies liées à cette nouvelle discipline fut grand pourvoyeur de données. Cependant, ses détracteurs lui reprochent sa vision « réductionniste » qui lui fait étudier les organismes comme des catalogues de molécules. Il est vrai que la vie est plus que cela et qu'il est parfois difficile d'expliquer les processus vitaux à travers l'étude de leurs composants atomiques.

Dès lors une partie de la communauté scientifique venant de divers horizons (biologie, médecine, physique, mathématiques...) s'est penchée sur cette question, ce qui a donné naissance à une nouvelle « science » : la complexité. L'objectif de cette thèse est la modélisation des myélomes multiples (MM) en tant que systèmes biologiques complexes. La modélisation de tels phénomènes est récente dans l'histoire des sciences car elle a nécessité d'une part des progrès techniques et d'autre part des progrès épistémologiques.

Dans ce chapitre nous allons proposer une méthodologie basée sur notre approche de la réalité virtuelle pour la modélisation des MM que l'on peut considérer comme des systèmes biologiques complexes. Dans un premier temps il nous faut définir les notions de complexité et de systèmes biologiques. Nous nous attacherons dans une deuxième temps à décrire notre approche de la réalité virtuelle basée sur l'autonomisation des modèles et de la multi-modélisation.

## 4.1 La complexité biologique

### 4.1.1 Généralité sur la complexité

La notion de complexité n'a fait son apparition que récemment dans la communauté scientifique. Elle était jusqu'ici plus utilisée dans le vocabulaire courant que dans les publications scientifiques. C'est dans les années 1970-1980 qu'elle commença à être employé par les chercheurs. Sous l'impulsion de nombreux auteurs venant de différentes origines scientifiques (Morin, De Rosnay...), certains furent même tentés d'en faire une science transversale. En 1984, un institut fut même créé à Santa Fé pour y étudier la complexité. La complexité est maintenant devenue un enjeu majeur pour la communauté scientifique comme le montre la création du réseau européen pour la pensée complexe et l'importance de la littérature scientifique sur le sujet. Le magazine de vulgarisation « Pour la science » titre pour son édition spéciale de décembre 2003 : « La complexité, la science du *XXI<sup>ème</sup>* siècle ». Cependant, cet enthousiasme mérite d'être tempéré tant il est encore difficile d'en donner une définition rigoureuse et précise satisfaisant l'ensemble de la communauté.

De nombreuses définitions existent selon le domaine d'application [Clergue., 1997, Manson., 2001]. Le concept de complexité peut être appliqué aussi bien en mathématiques, thermodynamique, économie, informatique et bien sûr notre domaine d'intérêt la biologie. Ainsi donc, pour certains auteurs, il existerait plusieurs complexités selon le domaine d'étude. Cependant toutes respectent le sens commun de complexité qui est un avertissement à l'entendement, elle exprime la difficulté d'expliquer ou de décrire simplement le phénomène. Dès lors, la complexité est un obstacle et il a été jusqu'ici préféré de contourner cette complexité en simplifiant le problème. Dans cette thèse plutôt que parler de plusieurs complexités nous préférons parler d'une complexité qui montre plusieurs visages selon ce que l'on cherche à étudier. Dès lors il est possible de retrouver dans la structure hiérarchique, spatiale et dans la dynamique du processus complexe un certain nombre de caractéristiques que nous allons expliciter dans le paragraphe suivant. Mais avant cela nous allons essayer d'aller plus loin dans la notion de complexité mais dans le cadre limité de la biologie.

### 4.1.2 La complexité biologique

Comme nous l'avons vu dans la section précédente, il est difficile de définir de façon consensuelle la notion de complexité tellement celle-ci présente de visages. Il est plus facile de définir ce que n'est pas la complexité plutôt que ce quelle est vraiment. Ainsi, la complexité n'est pas complication, i.e. la caractéristique de ce qui contient beaucoup d'éléments. Ainsi avec beaucoup de patience et de rigueur, il serait possible de venir à bout du problème en le décomposant en sous-problèmes et jusqu'à en obtenir

les composants atomiques du phénomène. Ensuite, Descartes propose d'étudier chaque élément atomique afin de comprendre le processus dans sa totalité.

Quelque soit le domaine dans lequel on s'intéresse à la complexité celle-ci s'oppose à la décomposition. Le problème en question ne peut donc être résolu par une suite d'axiomes. Atlan propose donc d'étudier le complexus; ce mot est l'origine latine du mot complexité et signifie « Ce qui a été tissé ensemble ». Ainsi donc il n'est pas possible de décomposer le tissu sans en dénaturer sa fonction.

Dès lors il existe des propriétés qui existent dans la globalité et qui disparaissent lorsque que celle-ci est désolidarisée. On parle donc de propriété « émergente ». L'émergence est complémentaire du réductionnisme tant l'émergence semble apparaître lorsque le réductionnisme échoue. Si l'on calcule la richesse potentielle d'un processus ( $H(X, Y)$ ) en fonction des richesses de ses constituants atomiques ( $H(X)$  et  $H(Y)$ ), l'approche réductionniste peut être alors notée :

$$H(X, Y) = H(X) + H(Y)$$

Ici,  $H(X, Y)$  n'est qu'un ensemble résultant de l'union de deux sous ensembles  $H(X)$  et  $H(Y)$ , le processus ainsi décrit peut donc être étudié en observant ses constituants. Dans, le cas contraire où :

$$H(X, Y) = H(X) + H(Y)$$

si la différence entre  $H(X, Y)$  et  $H(X) + H(Y)$  est négative, on parle d'intégration et de redondance dans la richesse de chaque élément. Par contre, si cette différence est positive, on peut alors parler d'émergence.

Pour résumer, la complexité biologique est caractéristique des structures et des comportements qui émergent de la base vers le niveau immédiatement supérieur. Ce genre de phénomène ne peut donc être étudié par réductionnisme sans en dénaturer la fonction. Nous allons donc développer une approche qui permet d'étudier cette complexité que ce soit en biologie mais aussi dans de nombreuses autres disciplines.

## 4.2 Étudier la complexité par la systémique

L'étude des phénomènes biologiques complexes a consisté pendant des années en une simplification des problèmes provoquant ainsi la perte de certaines propriétés du phénomène. Il était donc de plus en plus pressant de trouver un nouvel outil pour l'étude de la complexité, à l'instar du microscope et du télescope pour l'étude de l'infiniment petit et de l'infiniment grand. De Rosnay [Rosnay., 1975] propose l'utilisation d'un microscope. Celui-ci doit être capable de capter la complexité de n'importe quels phénomènes quelqu'en soit son origine, grâce à une vision globale de celui-ci. Cet « outil » n'a rien de matériel, cet « outil » est un mode de pensée capable d'une vision holistique des phénomènes et dont les principes sont apparus simultanément dans plusieurs disciplines dans la première moitié du  $XX^{ième}$  siècle. Cet outil est maintenant connu sous le nom de systémique.

## 4.2.1 Définition de la systémique

La systémique est une approche symbolique qui consiste à étudier les processus sous forme de systèmes. Le concept de système s'est dégagé dans de nombreuses branches des sciences et techniques dans la deuxième moitié du siècle dernier. Ce mot vient du latin *systema* qui signifie « *ensemble organisé* ». Pour De Saussure, le système est « *une totalité organisée, faite d'éléments solidaires ne pouvant être définis que les uns par rapport aux autres en fonction de leur place dans cette totalité* ». Von Bertalanffy définit un système comme un « *ensemble d'unités en interrelations mutuelles* ». Cette définition se rapproche donc de celle proposée par Lesourne qui le décrit comme un « *ensemble d'éléments liés par un ensemble de relations* ».

De Rosnay insiste sur la notion de dynamique, le système serait alors : « *un ensemble d'éléments en interactions dynamiques, organisés en fonction d'un but* ». La notion d'organisation dans les systèmes a quant à elle été mise en exergue par Morin : « *unité globale organisée d'interrelations entre éléments, actions ou individus* ». Enfin, citons Ladrière qui revient à notre point de départ, c'est-à-dire la complexité : un système serait alors un « *objet complexe formé de composants distincts reliés entre eux par un certain nombre de relations* ».

On a donc quatre concepts importants dans la notion de système :

- l'interaction, qui n'est pas vue ici comme une simple action causale contrairement aux sciences classiques. En effet, elle peut prendre de nombreuses formes plus au moins complexes comme les rétro-actions.
- la globalité, un système est un tout non réductible. Ceci fut montré dans un premier temps par Von Bertalanffy avant que cette idée ne soit reprise et imagée par d'autres grâce à des néologismes tels que le holon, l'intégron et le complexus.
- l'organisation qui est l'agencement des individus et des interactions pour former un tout aux propriétés émergentes. Celle-ci peut d'ailleurs être émergente et prend alors le nom d'auto-organisation.
- la complexité. C'est sur ce constat que l'on a entamé cette démarche afin de l'étudier.

## 4.2.2 Origine de la systémique

La systémique est l'héritière d'une grande lignée scientifique dont les prémisses se retrouvent chez les philosophes grecs de l'antiquité qui voyaient l'univers comme un tout dont les parties sont interdépendantes les unes des autres. Comme « la méthode d'étude de notre temps » proposée par Gian Ballesta Viso en 1708, la « méthode de Léonard de Vinci » peut être elle aussi qualifiée de systémique, malheureusement ses travaux ne furent accessibles qu'à la fin du  $XX^{ième}$  siècle. Leurs enseignements ont été mis de côté par les philosophes du siècle des Lumières au détriment de l'approche réductionniste proposée par Descartes.

Par la suite, le développement des sciences modernes s'est réalisé par le chemin de



l'expérimentation empirique, qui divisait les objets étudiés en parties les plus petites possibles pour mieux contrôler le processus de recherche et ainsi assurer la validité des résultats. Au début du *XIX<sup>ième</sup>* siècle, A. Bogdanov aurait pu être le grand initiateur de la systémique grâce à son « traité de tectologie, science universelle de l'organisation ». L'ensemble de ces travaux pour maintes raisons (succès des autres paradigmes, faible distribution...) n'ont pas eu l'impact suffisant pour instituer la systémique comme une discipline scientifique. Dans les années 1920-1950, face à la division et à la croissance constante des spécialités, des scientifiques cherchèrent des principes autour desquels pourraient s'intégrer les sciences naturelles et sociales. Le premier auteur à avancer l'idée des lois des systèmes semble avoir été A. Lotka, en 1925, à Baltimore. R. Defay, en Belgique, en 1929, appliqua le concept de système dans l'étude de la thermodynamique. Ludwig Von Bertalanffy, un biologiste, était convaincu de la nécessité d'identifier les règles qui « *organisent les relations dans les interactions entre les parties des organismes* », et qui font que « *les comportements de ces éléments sont différents quand ils sont étudiés en isolation ou à l'intérieur de l'organisme* ». Il développa les éléments de la théorie générale des systèmes dès 1932 mais ne put les publier en raison de la guerre qu'en 1950. Il complète son texte en 1955, texte qui pris sa forme définitive en 1968 : « *General System Theory* ». Il critiquait le réductionnisme des sciences naturelles, et disait que « *les organismes vivants ne suivent pas les mêmes règles que la physique* » ; par conséquent « *on ne peut réduire les niveaux biologiques, comportementaux et sociaux au niveau de la physique* » : les premiers sont des systèmes ouverts, et le dernier est un système fermé. Il soulignait la nécessité de sortir de la mécanique pour s'orienter vers la relativité et la complexité. Il tentait également d'éliminer les contradictions entre les différentes théories en développant des principes applicables à tous les phénomènes observés. Il proposa de les identifier comme « *des systèmes, ou ensembles d'éléments en interrelations entre eux et avec l'environnement* ». Il faudra attendre les années 1970 et la conjonction de la cybernétique et du structuralisme, pour voir apparaître vraiment la systémique. La cybernétique initiée par le mathématicien américain Norbert Wiener, et est la discipline qui se rapporte à la théorie de la conception et du comportement des systèmes complexes finalisés. Le structuralisme tire son origine du Cours de linguistique générale (1916) de Ferdinand de Saussure qui envisage d'étudier la langue comme un système dans lequel chacun des éléments n'est définissable que par les relations d'équivalence ou d'opposition qu'il entretient avec les autres.

### 4.2.3 La simulation des systèmes complexes

La conception et la simulation d'un modèle, i.e. représentation artificielle d'un processus ou d'un objet, sont des outils essentiels de l'approche systémique [Rosnay., 1975] tant ceux-ci ne peuvent être intuitivement intelligibles. Il est alors possible grâce à la simulation, de tester le comportement du modèle face aux actions que l'on peut

lui appliquer. La mise en place de ce modèle est appelée prototypage [Harrouet, 2002]. Le prototypage débute par une phase d'intégration de connaissances et de données pour concevoir le premier modèle. Ensuite, il consiste en une boucle interruptible entre conception et simulation. Si le modèle réussit à décrire efficacement le système, il est possible de considérer qu'il s'approche de la réalité.

La systémique est un concept qui se veut scientifique mais qui est à ce stade est encore philosophique. Outre les applications dans les sciences humaines, peu de disciplines scientifiques font appel à ce concept. Pour résoudre les problèmes de complexité, la biologie commence à faire appel aux systèmes. Dans la section suivante, nous allons donc développer la notion de biologie systémique.

## 4.3 La biologie systémique

Les avancées de la biologie à haut-débit rendent désormais possible l'élaboration de cartes d'identités moléculaires d'une cellule ou d'un tissu biologique, par le dénombrement de ses composants biochimiques (gènes, protéines, etc.). Il est maintenant clair que les différentes voies de signalisations sub-cellulaires sont interconnectées et que l'étude de sous-systèmes isolés a atteint sa limite explicative. De plus, la topologie des compartiments cellulaires ne peut plus être ignorée, ni considérée comme figée. Si on veut comprendre les mécanismes de la biologie, l'intégration de données très hétérogènes, allant des données cinétiques aux descriptions géométriques, est absolument nécessaire. Cela requiert l'accumulation en quantité importante de données numériques de qualité.

### 4.3.1 Définition de la biologie systémique

La révolution biologique commencée au siècle dernier et qui a connu son apogée ces 20 dernières années avec l'avènement de la biologie moléculaire, a fourni aux chercheurs de nombreuses données et de nouvelles techniques d'investigation. Les chercheurs ont donc eu besoin de connaissances et de savoir faire de plus en plus précis et spécifiques à leur thème de recherche. Il s'en est suivi une structuration de plus en plus prononcée de la biologie. Il s'est donc avéré nécessaire d'intégrer une grande quantité de données dans un cadre modélisateur pouvant traduire la complexité biologique. C'est dans les années 1960 que les premiers chercheurs s'intéressèrent à l'approche systémique pour y trouver des lois générales capables d'appréhender la complexité biologique à l'instar de la physique. Si le terme « *biologie systémique* » est largement accepté dans la communauté biologique, il existe un certain nombre de disciplines similaires telles que la *biologie intégrative* et l'*analyse des systèmes biologique*. La biologie systémique se propose donc d'étudier les processus biologiques comme des systèmes [Kitano, 2002]. Auffray

[C. Auffray and Hood., 2003] propose une définition plus réductrice : « la biologie systémique est l'étude itérative, intégrative et orientée des systèmes biologiques ». C'est une étude intégrative car cela nécessite l'intégration d'un maximum de données issues de la recherche. C'est une étude itérative car elle nécessite un va et vient entre le modèle et l'expérimentation. Et enfin, elle est orientée par rapport à une hypothèse. Il propose donc l'approche suivante pour l'étude des systèmes biologiques :

- rassembler toutes les données sur le sujet et proposer un premier modèle,
- définir tous les éléments du système,
- perturber génétiquement les éléments centraux du système et étudier celui-ci dans différents milieux, pour enfin, collecter le maximum de données disponibles et si possible à différents niveaux de granularité,
- intégrer l'ensemble de ces données et les comparer à l'évolution du modèle.

Kitano [Kitano, 2002] explique que l'étude de systèmes biologiques au niveau du système peut être dérivée en quatre propriétés :

- l'étude de la structure du système, comme par exemple les réseaux génétiques et biochimiques et les mécanismes par lesquels ces interactions modifient les propriétés physiques des structures intra et extra-cellulaires,
- l'étude de la dynamique du système à travers le temps et selon les conditions dans lesquelles sont placés les systèmes,
- les mécanismes de contrôles de la cellule de sorte que cela permette de trouver des cibles thérapeutiques,
- les stratégies permettant de modifier ou même de construire des systèmes de telle sorte qu'ils se comportent selon nos désirs.

## 4.3.2 Les systèmes biologiques complexes

La biologie systémique est un domaine de la biologie qui se propose d'étudier la biologie en tant que système et non en étudiant chacune des entités (gènes, protéines, cellules,...) indépendamment les unes des autres [Kitano, 2002]. Elle tient donc compte des interactions entre les différents éléments. Wolkenhauer [Wolkenhauer., 2001] définit la biologie systémique comme l'application de la théorie des systèmes à la biologie, c'est-à-dire la recherche des lois et des propriétés générales gouvernant la matière vivante. Nous étudions ici quatre de ces propriétés.

### 4.3.2.1 Les propriétés des systèmes biologiques complexes

#### *La robustesse*

D'après Kitano [Kitano, 2002], la robustesse est une des caractéristiques essentielles des systèmes biologiques. Ainsi de nombreux auteurs ont montré que les systèmes biologiques sont capables de conserver les propriétés fonctionnelles du système malgré

différentes perturbations et ceci peut être réalisé par quatre stratégies différentes. Premièrement, la mise en place de schémas de contrôle (par exemple la rétroaction) limite l'effet de la modification de paramètres cinétiques de voies de transmission [Barkai and Leibler, 1997, Bhalla and Iyengar, 1999]. Deuxièmement, la redondance des gènes codant pour des fonctions biologiques importantes (gènes homéotiques, facteurs de transcription...) permet de conserver cette fonction en cas de mutation d'un exemplaire de ce gène. A *contrario*, l'anti-redondance rend certaines cellules hypersensibles aux mutations. Ceci permet d'éliminer rapidement les cellules touchées dans un système multicellulaire [Krakauer and Plotkin, 2002]. Enfin, une architecture modulaire telle que la cellule, évite l'effondrement du système si l'un de ses modules est touché.

### ***L'émergence***

L'expression « l'ensemble est mieux que la somme des entités qui la composent » s'applique parfaitement aux systèmes biologiques. En effet, il existe des comportements qui sont issus de l'interaction entre les modules et non du seul comportement de ces modules. Ceci est observé par Bhalla et Iyengar [Bhalla and Iyengar, 1999] lors de la modélisation de différentes voies de transduction en interaction. De même, un grand réseau thalamique permettrait l'émergence de pics d'activation réguliers sans qu'il existe nécessairement de neurones régulateurs [Wang et al., 1995].

### ***L'auto-organisation***

Le concept d'auto-organisation dans les organismes vivants a été proposé par Kant. Son intuition était alors que les organismes vivants s'organisaient par eux-mêmes. Cette notion fut alors reprise au début de la cybernétique avec les réseaux de neurones. Ashby présente alors le système nerveux comme « auto-organisateur ». C'est certainement Foerster qui apporta le plus son expérience à l'édifice de l'auto-organisation par ses études et les colloques qu'il organisa sur ce thème. La représentation détaillée la plus marquante fut la théorie des « structures dissipatives » élaborée par Prigogyne à partir de systèmes physiques et chimiques mais inspirés par ses réflexions sur la nature de la vie. Il s'intéressa au cas typique d'auto-organisation connu sous le nom « d'instabilité de Bénard ». Grâce à l'analyse détaillée des cellules de Bénard, structures hexagonales observées lorsque l'on chauffe une fine couche d'eau, Prigogyne mis en évidence qu'en s'éloignant toujours plus de l'équilibre thermique, le système atteint un point critique d'instabilité qui déclenche l'émergence de structure hexagonale uniforme.

L'exemple typique du concept d'auto-organisation dans les systèmes biologiques est la formation *in vitro* des micro-tubules à base de tubuline. Ces préparations s'auto-organisent par un processus de réaction-diffusion. Leur morphologie dépend alors de la présence de gravité à un moment précis du phénomène. Un motif strié se forme lorsque les cuves sont placées verticalement, alors qu'un motif concentrique apparaît lorsque les cuves sont placées horizontalement. Une fois formées, ces structures restent stables et ceci quelque soit l'orientation de la cuve.

Ces observations ont donné naissance aux notions d'hyper-structure, grosse structure composée de diverses molécules. Il existe deux types :

- les hyper-structures en équilibre dont leur existence ne dépendent pas de leur utilisation,
- les hyper-structures en non-équilibre, comme les micro-tubules, dont l'existence dépend de leur fonction.

### ***L'adaptabilité***

Les systèmes biologiques ont des propriétés d'émergence, d'auto-organisation mais aussi d'adaptation. Cette capacité est nécessaire pour la survie du système en cas de changement d'environnement. Le processus d'adaptation en biologie peut être défini comme un processus qui permet à l'organisme d'ajuster son comportement ou sa structure à un nouvel environnement.

Le temps nécessaire pour l'adaptation à un nouvel environnement s'étale de quelques minutes au niveau cellulaire à quelques millénaires au niveau d'un écosystème.

Prenons l'exemple d'une cellule. celle-ci est entourée d'une barrière phospho-lipidique semi-perméable qui laisse passer un flux d'eau en cas de gradient osmotique. Ce flux est nécessaire car la cellule ne peut tolérer un gradient de pression hydrostatique trop important. Cependant une trop grande modification du volume intracellulaire provoquée par une modification de l'osmolarité intra ou extra-cellulaire, à pour conséquence l'altération des processus métaboliques.

L'adaptation des cellules à un nouvel environnement où l'osmolarité diffère par rapport à l'environnement initial est effectuée par un certain nombre de pompes ou canaux ioniques présents dans la membrane. C'est notamment le cas des érythrocytes de poisson [Egée., 1998] qui, dans des conditions provoquant le gonflement cellulaire, va réguler son volume par le rejet de KCl et d'osmolyte organique comme, par exemple, la taurine dans son environnement

On observe donc dans ce cas un phénomène d'adaptation acquis au cours de l'évolution provoquée par l'augmentation du patrimoine génétique [Azzone., 1997].

Outre cette théorie basée sur la sélection des mutations aléatoires par l'environnement, il existe une autre théorie de modification génétique qui elle n'est pas aléatoire et que l'on peut observer au cours du vieillissement et de la famine. En effet, il a été mis en évidence que la topologie du réseau de régulation génétique peut être modifiée en cas d'absence de certains métabolites. Cette modification de type spatial sur la chromatine diminue la transcription de certains gènes. Dès lors, il est possible que certains noeuds du réseau génétique soient isolés et par conséquent le comportement de ce système s'en trouvera modifié.

### **4.3.2.2 La dynamique des systèmes biologiques complexes**

La dynamique des systèmes biologiques a été modélisée jusqu'au début du  $XX^{ième}$  siècle comme des équations linéaires. Dès qu'une équation de type non-linéaire appa-

raissait, elle était aussitôt linéarisée. Par conséquent, ces équations ne pouvaient décrire les systèmes biologiques dans toute leur complexité. Ce n'est que dans les 30 dernières années que les scientifiques admirent que les systèmes biologiques se comportaient véritablement de façon non-linéaire. Les progrès réalisés pour l'étude des systèmes d'équations non-linéaire mirent en évidence qu'un système apparemment simple peut contenir une grande richesse de comportements.

Cette dynamique repose sur la mise en jeux de motifs de rétro-actions, de réservoirs et de flux dans les phénomènes de régulation du systèmes.

Une des sources de non-linéarité dans les systèmes biologiques est la présence de rétro-actions. La notion de rétro-action est héritée de la cybernétique. Elle traduit l'influence du résultat sur l'entrée du système. D'un point de vue mathématique, les feed-back peuvent être vue comme une itération, ceci implique qu'une fonction s'applique à elle même. Les rétro-actions sont ubiquitaires dans les systèmes biologiques, leur présence notamment dans les réseaux de transmission intracellulaire et génétiques en font un des motifs les plus influants sur le comportement de ces réseaux. La mise en jeu de ces motifs conduise à deux types de régulations :

- l'homéostasie est la résultante de la présence de boucle de rétro-actions négatives. Cette régulation est responsable du maintien des paramètres vitaux dans une fourchette de valeurs dans laquelle la vie est possible. Un des exemples est la stabilité de la température corporelle par la sudation ou la vasodilatation périphérique lors de l'élévation de la température.
- la différenciation est conduite par les boucles de rétro-action positive en renforçant son effet perturbateur de la valeur initiale. Pour Thomas [Thomas., 1996], cette régulation peut avoir le nom de régulation épigénétique tant la différenciation dans les systèmes vivants semblerait être d'origine essentiellement épigénétique.

Dans les systèmes biologiques les rétro-actions sont des moteurs de la complexité. L'étude des systèmes d'équations non-linéaires bien que simple et déterministe est du plus grand intérêt. Poincaré fut le premier a montré qu'un tel système implique souvent un comportement complexe traduit par la présence dans l'espace des phases d'attracteurs étranges.

Parallèlement à l'étude de cette théorie dite « des chaos », Mandelbrot propose l'utilisation de la géométrie fractale pour l'étude de la forme des systèmes biologiques. Les fractales, figures géométriques continues qui ne peuvent être dérivées en aucun point, ne peuvent être étudiées précisément de manière quantitative. C'est à ce niveau que se rejoignent une première fois théorie du chaos et géométrie fractale. En effet, il est difficile voire impossible de les étudier précisément de manière quantitative. L'autre point permettant de rejoindre les deux théories est que les attracteurs étranges résultants de systèmes non-linéaires déterministes sont eux même des fractales. Ainsi, nous voyons donc que bien que le système soit en apparence très simple, celui-ci peut avoir des comportements très complexes.

Enfin, l'étude de tels systèmes montre que ceux-ci sont très sensibles aux conditions initiales. Cette sensibilité connue sous le nom de « effet papillon » provoque de très grandes variations dans le comportement du système malgré une faible perturbation

initiale. Par conséquent, négliger les interactions entre les différents modules d'un système en les isolant, pour les étudier comme le fait le réductionnisme, ne peut informer le chercheur sur l'étonnante variété de comportements du système, même si celui-ci est apparemment simple.

Par conséquent la modélisation de tels systèmes doit tenir compte de ces éléments pour pouvoir être simulée correctement. Voyons maintenant qu'elles sont les méthodes de simulation en biologie systémique.

### 4.3.3 La simulation en biologie systémique

La biologie systémique est une étude orientée de systèmes biologiques complexes. Ceci signifie donc que l'étude de ces derniers est dirigée par une suite d'hypothèses proposées par l'expérimentateur et est issue d'une dialectique entre expérimentations biologiques et expérimentations sèches (mathématiques, informatiques, graphiques...). Ainsi donc la simulation ne doit pas être une simple exécution du modèle, mais plutôt une expérimentation du modèle où il est possible d'interagir avec celui-ci au cours de son déroulement.

L'échange entre les deux types d'expérimentation se fait par l'intermédiaire de données biologiques et de modèles. L'échange de connaissances aussi hétérogènes est un challenge pour le « biosystémicien ». SBML, langage basé sur le protocole XML, a été développé sur la base de sept simulateurs de réseaux biochimiques. Ce langage permet l'échange des données indispensables à la simulation de réseaux biochimiques. Cependant, bien qu'il soit appelé à évoluer, il n'a aucune vocation explicative.

Pour cela, il existe de nombreux logiciels, utilisant SBML, qui peuvent être classés en six principales catégories :

- logique : ce sont les modèles basés sur les réseaux booléens ou des représentations logiques plus ou moins développées qui conviennent facilement aux réseaux génétiques,
- équations différentielles ordinaires (ODE) : celles-ci impliquent l'utilisation d'un ensemble d'équations différentielles. Chaque ODE représente alors l'évolution d'une molécule impliquée dans le réseau,
- équations différentielles algébriques : ce genre d'architecture mathématique est proche des architectures à base d'ODE mais il existe sur celle-ci des contraintes comme par exemple la concentration en molécules qui doit rester dans une fourchette donnée,
- équations aux dérivées partielles : une telle modélisation est nécessaire quand plusieurs variables (concentrations et positions) sont nécessaires pour décrire le comportement global du système,
- modèles hybrides : on classe dans cette catégorie des modèles basés sur des ODE mais avec des contraintes temporelles qui peuvent alors provoquer de brusques changements dans le comportement du système,
- modèles stochastiques : ces modèles sont plus proches de la réalité. Les modèles stochastiques les plus connus se basent pour beaucoup sur les algorithmes de

Gillespie [Gillespie, 1976, 1977, Gibson, 2000] (ou variante). D'autres méthodes telles que *stochSim* [Morthon-Fith, 1998] peuvent être aussi utilisées dans le cadre de SBML.

Outre ces six types, d'autres modèles existent et ne peuvent être omis. Tous les modèles basés sur des graphes comme les réseaux de Pétri, les *state-charts* et les réseaux bayésiens, sont susceptibles d'être utilisés dans la simulation qualitative ou quantitative de réseaux de régulation biochimique. Certains utilisent aussi les langages de formalisation informatique comme les algèbres de processus pour la simulation de tels réseaux.

Pour faciliter, la modélisation de tous les systèmes biologiques complexes, et pas seulement les réseaux de régulation, Johnson propose l'utilisation de la programmation orientée objet. De plus, il existe un langage de description pour la programmation orientée objet (UML) qui peut alors être appliqué aux systèmes biologiques.

Ce genre de modélisation laisse apparaître les prémisses de la simulation individu-centrée (IC) (qui se préoccupe de modéliser le comportement de l'objet incriminé plutôt que de décrire l'effet de ses actions sur l'environnement, modélisation phénoménologique).

L'approche IC la plus développée dans la littérature est basée sur les automates cellulaires (AC). C'est une méthode mathématique discrète (d'un point de vue spatial et temporel) et déterministe. La dynamique de l'automate est basée sur les interactions locales à chaque élément de la simulation. Introduit par Von Neumann dans les années 50, comme un simple modèle biologique d'autoreproduction, les AC sont des modèles capables de modéliser les systèmes et les processus biologiques complexes constitués d'un grand nombre d'entités et leurs interactions avec leur environnement.

Pour Liachinski c'est en modélisant les interactions au niveau local qu'il est possible de capturer la complexité, la coopérativité et l'auto-organisation des systèmes réels. Du jeu de la vie aux tumeurs solides, les AC sont principalement utilisés dans l'étude de la morphogenèse dans les systèmes biologiques mais peuvent être utilisés dans de nombreux autres cas (par exemple la modélisation de réseaux biochimiques). Le développement d'un automate nécessite la création d'une matrice pour discrétiser l'espace et le choix de règles de comportement des différentes entités de la simulation. Les limites de ce genre de simulation résultent de la discrétisation du milieu et du synchronisme qui limite l'autonomie des entités du modèle.

De l'étude de la littérature, un certain nombre de propriétés doivent être prises en compte pour la simulation de systèmes biologiques. Premièrement, le parallélisme des différents processus biologiques qui peut expliquer certaines propriétés des systèmes biologiques. Deuxièmement, l'asynchronisme des actions peut en partie expliquer l'indéterminisme des phénomènes biologiques. Troisièmement, la modularité observée dans la majorité des systèmes biologiques et qui joue un rôle non négligeable dans la robustesse de ces systèmes. Ensuite, la simulation doit être une véritable expérimentation et non seulement une exécution du modèle. Par conséquent, l'interactivité avec la simulation peut être un apport non négligeable pour la compréhension du système. Enfin, il ressort aussi qu'il n'est pas possible du fait de différentes échelles spatio-temporelles de modéliser entièrement un système par une seule et même méthode d'où l'intérêt de la multi-modélisation, *i.e.* l'intégration au sein d'une même simulation de différentes



méthodes. C'est sur l'ensemble de ces constatations que nous avons développé les expérimentations *in virtuo* de systèmes biologiques.

## 4.4 Expérimentations *in virtuo* de systèmes biologiques complexes

La progression dans l'intelligibilité du réel peut être facilitée de façon remarquable par la confrontation entre les observations et le modèle que l'observateur a du phénomène observé. Cette représentation, ou modèle, n'a rien de réel, on peut donc parler de représentation virtuelle de la réalité. Les expérimentations « *in virtuo* » défendues par Tisseau [Tisseau, 2001] sont donc des expérimentations réalisées dans le virtuel. Cette expression, « *in virtuo* », est construite par analogie avec les expressions « *in vivo* », dans le vivant, et « *in vitro* », dans le verre. Intéressons nous pour commencer à la notion d'environnements virtuels

### 4.4.1 Les environnements virtuels

Les environnements virtuels sont des représentations d'environnements réels, symboliques ou imaginaires de l'environnement dans lequel il est possible d'exploiter les différents modèles peuplant cet univers, afin de rendre intelligible tout ou partie de cet environnement.

Pour Tisseau [Tisseau, 2001], l'exploitation des modèles se fait principalement par la perception, l'expérimentation et la modification du modèle par l'utilisateur. L'auteur affirme que chacune de ces modalités correspond à une des trois médiations exprimées par les philosophes :

- La perception du modèle représente la médiation des sens. C'est l'animation interactive qui va permettre à l'utilisateur de percevoir le modèle de façon à le reconnaître et s'imaginer au cœur de celui-ci grâce à l'ensemble de ses canaux sensitifs (ouïe, vue, odorat, toucher et le goût).
- La médiation de l'action met en jeu l'expérimentation du modèle. Grâce à des interfaces adaptées, l'utilisateur peut tester la réactivité et la cohérence du modèle. L'expérimentation met donc l'accent sur l'interaction avec les modèles.
- La dernière médiation, celle de l'esprit, correspond à la modification du modèle en cours d'exécution par l'utilisateur. C'est le domaine du prototypage interactif.

Ainsi donc, plus l'interaction avec le modèle est importante, plus il est possible d'exploiter celui-ci et de le rendre intelligible pour l'homme.

L'ensemble des techniques de rendu, d'interaction et d'immersion issues de l'informatique graphique, de la CAO (Conception Assistée par Ordinateur), de l'animation, de la télé-opération, etc. est mis à contribution pour la mise en scène d'environnements virtuels.

La création des scènes virtuelles est réalisée par le traitement de modèles que ce soit pour la forme, l'aspect ou le comportement.

Concernant la géométrie des objets, le problème consiste essentiellement à décrire sous une forme mathématique les limites de l'objet. Ensuite, selon les applications liées à cet environnement, il peut être nécessaire de calculer l'aspect de l'objet en fonction des propriétés de la surface et de la lumière.

Dans le cas des expérimentations « *in virtuo* », c'est le comportement de l'objet qui nous intéresse le plus. La forme et l'aspect sont deux propriétés qui permettent l'intelligibilité du phénomène en donnant une représentation graphique à l'utilisateur mais seul le comportement des modèles peut donner une idée de la dynamique du système.

Dans la littérature, on peut distinguer trois classes de modèles comportementaux :

- *les modèles descriptifs* : ce sont des modèles exclusivement phénoménologiques qui décrivent les effets du comportement des modèles sur les environnements. Le comportement du modèle est alors préenregistré. Il est donc difficile d'interagir avec le modèle, il n'est pratiquement possible que de contrôler les conditions initiales à moins de modéliser un très grand nombre de comportements du modèle.
- *les modèles générateurs* : ils s'attachent à tenir compte des causes du mouvement en représentant, sous forme d'équations, l'ensemble des comportements possibles. Ils sont très adaptables car ils contiennent en eux l'ensemble des réactions possibles. L'action de l'utilisateur est traduite par une entrée du modèle et cette action est prise en compte au moment de la nouvelle résolution du système d'équations. Par contre, ces modèles sont très coûteux en temps de calcul car nécessitent généralement l'utilisation d'équations différentielles linéaires ou non-linéaires.
- *Les modèles comportementaux* : Ce type de modèles a pour but de donner de l'autonomie aux objets de la simulation. Fondamentalement, l'objet doit avoir une perception de son environnement, il doit avoir la capacité de décider et enfin il doit pouvoir agir sur le monde virtuel. Le principal intérêt de tels modèles est leur capacité à produire de l'autonomie. Cette autonomie est largement utilisée pour simuler des phénomènes émergents.

L'expérimentation « *in virtuo* » peut donc être vue comme un prototypage interactif d'un univers virtuel peuplé par des modèles autonomes permettant ainsi de simuler des systèmes biologiques complexes. Il nous reste donc un dernier point à définir : l'autonomie des modèles.

## 4.4.2 Autonomisation des modèles

Ici encore, nous nous basons sur les travaux de Tisseau [Tisseau, 2001] qui met l'accent sur trois types d'autonomie :

- l'autonomie par essence telle qu'elle est caractérisée par les organismes vivants. Cette autonomie est possible par le fait que ces entités vivantes perçoivent leur environnement par des capteurs. Une fois qu'ils ont perçu un certain nombre

d'informations, ils décident du comportement à adopter en fonction de leur perception du monde et de leur état interne. Enfin, ils agissent en conséquence grâce aux effecteurs disponibles.

- l'autonomie par nécessité pour permettre aux modèles de percevoir les changements dans le milieu en cours d'exécution. En effet, dans la nature, les conditions extérieures varient constamment, le modèle doit par conséquent pouvoir s'adapter à ces bouleversements.
- l'autonomie par ignorance qui caractérise notre incapacité à comprendre un monde trop complexe par nos méthodes réductionnistes traditionnelles. Pour cela, il est nécessaire de distribuer les tâches en modules autonomes.

Pour le même auteur, la constatation qu'un déficit sensoriel, moteur ou mental provoque une perte d'autonomie, implique que pour doter les modèles d'autonomie, on doit leur ajouter les trois modalités de perception, décision et action.

### 4.4.3 L'expérimentation *in virtuo* et son intérêt pour la biologie systémique

Les expérimentations *in virtuo* ont pour objectif de permettre une activité cognitive sur un univers peuplé de modèles autonomes représentant le système qui intéresse le modélisateur. Nous avons décidé de doter l'utilisateur d'interfaces sensori-motrices afin que celui-ci soit capable de percevoir l'activité du modèle mais aussi de tester la réactivité et la cohérence de celui-ci en le perturbant en cours de simulation.

Plus qu'un phénomène de mode qui pousse à l'utilisation de la réalité virtuelle (RV) dans de nombreux domaines, la RV peut être un outil intéressant pour l'implémentation d'expérimentations *In virtuo* et par conséquent peut devenir une approche complémentaire à celles déjà utilisées pour la biologie systémique. Pour cela, revenons à la finalité de la réalité virtuelle selon Fuchs : « *La finalité de la RV est de permettre à une personne (ou plusieurs) une activité sensori-motrice dans un monde artificiel, qui est soit imaginaire, soit symbolique, soit une simulation de certain aspect du réel.* »

Ainsi, la RV peut aller au delà du réel. Elle peut s'affranchir des contraintes matérielles et spatio-temporelles pour permettre la visualisation de phénomènes inaccessibles du fait de leur taille, de leur durée ou de leur emplacement. Par conséquent, la RV peut permettre d'observer des phénomènes invisibles pour l'œil de l'expérimentateur, comme la diffusion de molécules dans un milieu. Elle nous permet aussi de visualiser le comportement d'une cellule dans son micro-environnement et ceci quel que soit la vitesse du phénomène.

L'autre intérêt de la RV pour l'expérimentation *in virtuo* et la biologie systémique est la possibilité d'« *activités sensori-motrices* » sur l'environnement. D'après [Fuchs et al., 2001], si l'on veut faire de la réalité virtuelle, c'est aussi pour modifier certains aspects de la réalité. Dépassant la simple observation de l'exécution du modèle numérique sur l'ordinateur, l'utilisateur peut tester la réactivité de l'adaptabilité du modèle en cours

de fonctionnement. Dès lors, il est possible de tester en cours de simulation le comportement du modèle lors de l'ajout de composants actifs ou de modifications du modèle. Nous avons donc essayé de tirer les éléments essentiels de l'étude de la complexité biologique. Pour cela, nous avons décidé de l'étudier avec une vision systémique. Les expérimentations *in virtuo*, vues comme des expérimentations dans un environnement peuplé de modèles numériques autonomes, trouvent un champ d'application intéressant dans l'étude de systèmes biologiques complexes tels que les cancers. L'étude des phénomènes complexes en cancérologie implique de s'intéresser à tous les niveaux de complexité. Il est donc nécessaire de s'intéresser aux cellules en tant que systèmes biologiques complexes afin d'en étudier leur comportement dans toute leur complexité.

# **Partie II**

## **Les modèles**



# Un modèle Multi-Agents pour les systèmes biologiques

La biologie moléculaire a bouleversé le paysage de la recherche dans le domaine de la biologie. Les résultats issus de l'étude du génome, du transcriptome et du protéome s'accumulent dans des bases de données spécialisées. Parallèlement, les progrès informatiques ont permis la simulation de modèles de plus en plus compliqués. Enfin, le domaine de la modélisation et de la simulation des phénomènes biologiques est en plein essor proposant ainsi régulièrement de nouveaux modèles, de nouvelles méthodes et de nouveaux outils. Cependant, nous en sommes encore qu'aux prémises de notre domaine et nous voyons pourtant déjà se profiler des difficultés. En effet, comment espérer comprendre le fonctionnement global d'un système biologique avec des données partielles et hétérogènes ? Nous espérons au travers de cette thèse apporter des éléments à la multi-modélisation de systèmes biologiques grâce aux systèmes multi-agents.

## 5.1 Simulation multi-agents de systèmes biologiques complexes

L'expérimentation *in virtuo*, vue comme une simulation participative à un univers virtuel peuplé de modèles autonomes en interaction, trouve un support idéal dans les systèmes multi-agents (SMA). Les SMA apportent une solution nouvelle aux concepts de modèles et de simulations en biologie systémique par la distribution des connaissances, des contrôles, des compétences et de la planification.

Les premiers travaux sur les SMA datent des années 1980 sous l'influence de l'Intelligence Artificielle, des sciences du vivant, de la robotique et du développement des systèmes informatiques distribués. L'utilisation des SMA en biologie est motivée par la constatation suivante : « il existe dans la nature des systèmes capables d'accomplir des

tâches collectives complexes dans un environnement dynamique sans contrôle externe ni coordination centrale » [Tisseau, 2001].

Dans cette section, nous allons définir la notion d'agents et de SMA, et nous décrirons *oRis*, une plateforme de simulation multi-agents développée au laboratoire.

### 5.1.1 Agent

La notion d'agent recouvre plusieurs acceptations selon le domaine de recherche et les auteurs. Cependant, toutes mettent l'accent sur la notion d'entités autonomes dotées de capacités de communication.

D'après Ferber [Ferber, 1995, 1999], on appelle agent une entité physique ou informatique capable de percevoir et d'agir sur son environnement. En outre, un agent peut communiquer avec les autres agents de la simulation mais poursuit un objectif individuel. Un agent possède des compétences et peut éventuellement se reproduire. Toujours d'après cet auteur, le comportement de l'agent est la conséquence de ses objectifs, de sa perception, de ses représentations, de ses compétences et des communications qu'il peut avoir avec son environnement.

Pour Demazeau [Demazeau, 1995], une entité réelle ou virtuelle peut être qualifiée d'agent lorsqu'elle est capable de contrôler tout ou partie de son fonctionnement, de sa perception, de son raisonnement, et du déclenchement de ses actions.

Dans [Tisseau, 2001], l'auteur précise que chaque agent peut être assimilé à un moteur à trois temps : perception, décision et action. Il insiste aussi sur la notion d'asynchronisme des interactions entre l'agent et son environnement, condition fondamentale pour l'autonomie des modèles.

Pour conclure, l'agent peut être aussi défini comme un objet informatique avec des capacités supplémentaires de recherche de satisfaction et de communication par un langage évolué.

La notion d'agent étant définie; nous pouvons maintenant nous intéresser à celle de SMA.

### 5.1.2 Les Systèmes Multi-Agents

Lorsqu'un grand nombre de ces agents sont réunis pour travailler dans un environnement commun, ils forment un SMA. Les simulations multi-agents permettent de modéliser des situations complexes dont la structure globale émerge des interactions entre individus. On parle parfois de modèles micro-analytiques ou de modèles individus-centrés.

Les SMA sont composés d'un environnement contenant un ensemble d'objets en interaction dont certains peuvent être actifs. On retrouve dans le système un ensemble d'opérations disponibles pour les agents [Ferber, 1995, 1999].



Pour Demazeau [Demazeau, 1995], un SMA peut être décrit par ses quatre facettes (les voyelles AEIO) :

- Agent : les entités autonomes sont douées de capacités de perception, décision et d'action ;
- Environnement : c'est le support des actions des agents, le jeu des interactions entre agents modifie cet environnement ;
- Interaction : le comportement du système étant vu comme une somme de comportements localisés, il faut définir les interactions entre ces comportements locaux ;
- Organisation : le comportement et les interactions entre agents sont modifiés par la prise en compte (ou non) de l'organisation des agents.

Tisseau [Tisseau, 2001] propose d'y ajouter la notion d'utilisateur (voyelle U) nécessaire aux expérimentations *In virtuo*. Ainsi, le modélisateur pourra interagir avec les agents de la simulation pour tester la réactivité du modèle.

### 5.1.3 La plate-forme multi-agents : oRis

L'implémentation, *i.e.* la mise en œuvre informatique, d'un système multi-agents est supportée par l'utilisation d'une plateforme multi-agents. Le choix d'une plateforme ne peut être décorrélé de la conception d'un SMA, car la plateforme impose un certain nombre de choix : synchronisme, interactivité, granularité etc. Pour implémenter nos expérimentations *in virtuo*, notre choix s'est porté sur la plateforme logiciel **oRis** car elle dispose de caractéristiques nécessaires pour l'implémentation des modèles proposés. De plus, comme elle est développée au sein de notre laboratoire, il nous est possible d'y intégrer les techniques dont nous avons besoin et qui ne sont pas forcément disponibles dans d'autres plateformes.

**oRis** ([Harrouet, 2002],[Harrouet et al., 2002]) est un environnement de simulation interactive : c'est à la fois un langage de programmation par objets actifs et un environnement d'exécution de ce langage. Le langage **oRis** est dynamiquement interprété, sa granularité est celle de l'instance. Il a de nombreuses similitudes avec les langages **C++** et **Java**, ce qui facilite son apprentissage. De plus, **oRis** dispose d'une interface vers ces langages, ce qui permet de compiler certains paquetages pour améliorer les performances d'exécution. En **oRis**, un SMA est composé d'agents (à la base : des objets actifs) de l'environnement et du temps. L'environnement est constitué d'objets, éventuellement situés dans l'espace (2D ou 3D). **oRis** offre une solution homogène pour les interactions qu'elles soient implémentées par appel de méthode, lien réflexe, ou envoi de messages (en point-à-point ou diffusion, avec traitement immédiat ou différé par son destinataire).

**oRis** est une plateforme généraliste pour l'implémentation de systèmes multi-agents, plus particulièrement dédiée à la simulation et qui permet d'intervenir en cours de simulation pour observer le modèle, interagir avec les agents ou sur l'environnement et les modifier en ligne, c'est à dire au cours de l'exécution.

oRis implémente trois modes de gestion des flots d'activité :

- Un objet actif dispose d'une méthode `main` représentant le point d'entrée de son comportement. Lorsqu'une instance est créée, cette méthode est immédiatement prête à s'exécuter. Quand la fin de la méthode est atteinte, elle est automatiquement relancée à son début.
- La primitive `start` permet de dédoubler un flot d'exécution, elle sert principalement à attribuer plusieurs activités à un même agent.
- L'intervention de l'utilisateur (externe à tout bloc de code) utilise également le mot-clef `start`.

L'ordonnanceur garantit un partage équitable du temps entre ces flots. **oRis** est stable et opérationnel. Il a été utilisé dans de nombreux projets et constitue le cœur de la plateforme **ARéVi** (Atelier de Réalité Virtuelle). Les SMA sont à la base de nombreux modèles qu'ils soient biologiques, écologiques, sociaux ou économiques. Les modèles basés sur les SMA permettent de mettre en œuvre de nombreux modèles (englobés dans des agents) en interaction.

## 5.2 Système multi-agents et biologie

La biologie est un domaine de prédilection pour la modélisation orientée agent. L'analogie entre cellule et agent est le point de départ du projet *In Virtuo* au sein du Lisyc. Cette vision agent = entité a largement été développée dans la littérature. Nous allons présenter les simulations agents en biologie en développant, dans un premier temps, les agents-entité, puis dans un deuxième temps, en décrivant les agents-interaction.

### 5.2.1 Les agents-entité

Le développement d'agents-entité est la première approche implémentée dans les simulations individus-centrées. Selon la granularité du modèle, ces agents peuvent être des molécules, des organites, des cellules ou des organismes. Quel que soit le niveau de modélisation, chaque entité se doit, comme tout agent, de posséder les trois temps de celui-ci : perception, décision et action. Afin de mieux comprendre le concept d'agent-entité en biologie, nous allons prendre l'exemple d'un agent-cellule au travers d'une étude de l'hémostase primaire.

#### 5.2.1.1 Implémentation d'un agent-cellule

Cette approche a été utilisée, notamment, en microbiologie, hématologie, immunologie et oncologie. Dans le cas où l'on désire visualiser la simulation, la première

étape dans la conception d'un agent-cellule consiste à choisir la forme géométrique qui constituera la membrane cellulaire. La représentation la plus classique est le rond dans le cas d'une visualisation en 2D ou une sphère pour une visualisation en 3D. Ceci facilite véritablement la gestion des collisions dans la simulation.

Il faut ensuite implémenter la perception de l'agent. Il est alors possible de réifier, *i.e.* représenter explicitement, le récepteur et de le placer sur la membrane. Ballet [Ballet et al., 1998a,b] propose, ainsi, un récepteur qui perçoit les autres agents de la simulation. Il calcule son affinité (discrète ou continue) avec le potentiel ligand selon la forme de celui-ci. Le complexe ligand-récepteur activera ensuite l'agent-cellule. Cette méthode ignore la dimension biochimique (concentration du ligand, compétition avec d'autres ligands...) des liaisons récepteurs-ligands. Si l'on veut pouvoir tester l'effet d'agonistes, d'antagonistes ou autres phénomènes de compétition, il faut alors réifier le récepteur comme une réaction chimique. Cela peut se faire par l'intermédiaire d'agent interaction [Querrec et al., 2003b,a] (voir paragraphe 5.2.2) ou par tout autre algorithme de simulation de réactions biochimiques, par exemple StockSim [Morthon-Fith, 1998].

Certains ne réifient pas cette perception. Dans ce cas, les agents-cellule accèdent directement aux variables de l'environnement. Kreft [J.U. Kreft and Wimpenny., 1998] modélise le comportement de colonies bactériennes en fonction, entre autre, de nutriments. Dans cette simulation, les agents-cellule accèdent directement à la variable de l'environnement pour calculer la prise de glucose par la bactérie. Jonker [Jonker et al., 2002] propose d'implémenter un modèle *croissance, désir et intention* (BDI) pour les agents-cellule. Si l'agent-cellule observe un fait, il crée une croyance sur ce fait. Cette croyance est persistante jusqu'à ce l'agent ait observé un autre fait qui supprime le premier.

Une fois la perception implémentée, il est nécessaire de définir un comportement à cette cellule. En fonction des objectifs de modélisateur, différentes approches peuvent être utilisées pour implémenter le comportement des agents-cellule. Le comportement peut être vu comme une suite d'actions qualitatives à réaliser (en fonction, bien sûr, des conditions internes ou externes à la cellule). Ceci est alors facilement implémenté par de simples algorithmes [Ballet, 2000, Morthon-Fith, 1998]. Par contre, les simulations multi-agents quantitatives peuvent nécessiter le calcul de fonctions mathématiques ou la résolution d'équations différentielles [Ballet, 2000]. Des approches plus originales comme l'intégration d'un modèle basé sur celui du BDI [Jonker et al., 2002], ou l'utilisation d'un autre SMA (à base d'agents-entité ou d'agents-interaction), peuvent être utilisées pour modéliser le comportement de la cellule.

La partie action d'un agent consiste en une modification soit de lui même par modification de paramètres internes à la cellule, soit de l'environnement, en y modifiant une entité, un paramètre de l'environnement [J.U. Kreft and Wimpenny., 1998, Jonker et al., 2002] ou même en y créant de nouvelles entités [Ballet, 2000].

Pour illustrer la conception d'un modèle multi-agents à base d'agent-entité, prenons l'exemple d'un simulateur d'un appareil de mesure en hématologie : Le PFA-100.

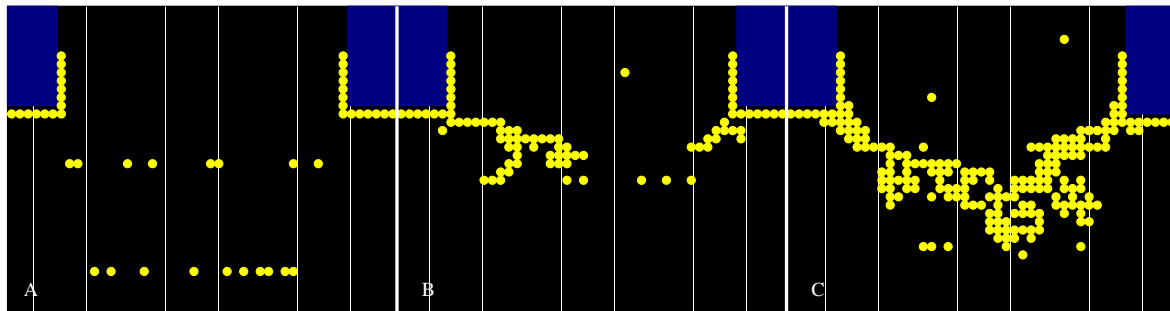


Figure 5.1: Simulation multi-agents du PFA-100; on peut observer en jaune les plaquettes, en bleu les parois de l'appareil. Par contre, les vWF ne sont pas visibles. A : Début de la simulation ; B : Fermeture progressive de la brèche ; C : fin de la simulation.

### 5.2.1.2 Simulation du PFA-100

Cet appareil est destiné à détecter rapidement des pathologies de l'adhésion et de l'agrégation plaquettaire sur des faibles quantités de sang. L'appareil projette le sang avec une force de cisaillement élevée sur une membrane biologiquement active dans laquelle on trouve une petite ouverture. Les plaquettes vont fermer progressivement cette ouverture. Un temps d'occlusion qui diffère de la normale peut indiquer des pathologies et nécessite la prescription d'investigations plus poussées.

Le simulateur est modélisé comme sur la figure 5.1. Trois agents sont réifiés dans notre simulation : les facteurs de Von Willebrand (agent-vWF), les plaquettes (agents-plaquette) et le flux (agent-flux).

Le comportement des agents-vWF et agents-plaquette de cette simulation est relativement simple. Leur perception se résume à vérifier si il existe un support sur lequel ils peuvent se fixer (plaquette et membrane pour les facteurs ; facteur pour les plaquettes). Si tel est le cas, ils calculent selon leur affinité si ils peuvent ou non se fixer. En outre, en cas de fixation d'un agent-plaquette, celui ci envoie un message au flux pour qu'il soit informé de l'état de l'ouverture sur la membrane. Le rôle du flux consiste à indiquer aux entités de la simulation dans quelle direction ils sont entraînés par le flux. Ce dernier est mis à jour à chaque message d'adhésion reçu. Il met aussi à jour le nombre de cellules fixées pour permettre de terminer la simulation (par exemple, 200 cellules fixées).

La figure 5.1 montre l'évolution de la simulation. On observe sur cette simulation que les plaquettes se fixent au fur et à mesure sur la membrane et ceci jusqu'à complète obturation de l'ouverture. Par contre, sur ces visualisations, il est difficile d'observer les agent-vWF représentés par des points du fait de la différence d'échelle avec la plaquette.

Nous avons dans un deuxième temps utilisé ce modèle pour étudier le rôle de la quantité et de l'affinité des facteurs. Les résultats sont représentés dans la figure 5.2. On y observe que l'affinité et/ou la quantité de facteurs influence les résultats. Ainsi plus

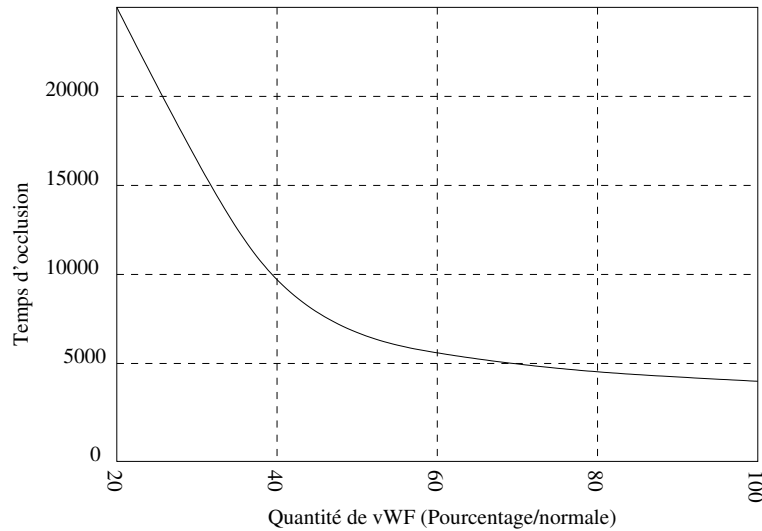


Figure 5.2: Résultat de la simulation du PFA-100.

l'affinité ou la concentration en facteur diminue, plus la phase d'agrégation plaquettaire augmente. L'ensemble des résultats convergent vers ceux observés médicalement sur des patients atteints de pathologies associées aux facteurs de Von Willebrand [Z.M., 1999].

On a pu montrer grâce à cette étude qu'avec un modèle multi-agents simple, il est possible de retrouver des résultats montrés cliniquement. Ainsi, on a pu mettre en évidence que l'affinité et la quantité de vWF influent sur le résultat donné par le PFA-100.

### 5.2.1.3 Conclusion sur les agents-entité

L'approche individus-centrée par des systèmes multi-agents est radicalement différente de ce que l'on retrouve en général dans les domaines de la biologie. Cette approche a prouvé son efficacité, dans un premier temps pour la simulation en éthologie. Ici, la granularité est différente et les agents ne représentent pas des systèmes écologiques mais des systèmes au niveau cellulaire et moléculaire.

Que ce soit des modèles quantitatifs ou simplement qualitatifs, les modèles basés sur des SMA ont un pouvoir explicatif très important. De plus, il existe dans de tels modèles deux niveaux de validations i.e. au niveau individuel et au niveau du système [H. Van Dyke Parunak and Riolo., 1998]. Bien qu'il ne soit pas toujours nécessaire de simuler quantitativement les systèmes complexes pour les comprendre, il existe des cas où il est encore nécessaire de jouer avec des nombres importants d'entités dans le système. Or, c'est là que réside le facteur limitant d'une telle approche, surtout dans le cas de simulations multi-échelles à base de cellules ou de molécules. La simulation quantitative de la coagulation plasmatique par Ballet[Ballet et al., 2000] illustre bien ce problème. En effet, dans un volume de  $2 * 10^6 m^3$ , il existe 24 cellules fibroblastes et  $1.06 * 10^{19}$

molécules de fibrinogènes. Ainsi, l'égalité un agent = une entité ne peut être respectée. L'auteur propose donc l'utilisation de nuage de molécules où un agent =  $1.06 * 10^{17}$  molécules. Une autre alternative est la modélisation par agent de l'interaction plutôt que de l'entité. Il est alors possible de simuler un système constitué d'un grand nombre d'entités par l'utilisation de formules déterministes [Gibson, 2000].

Dans le paragraphe suivant, nous allons décrire cette approche agent=interactions. Nous allons ensuite l'illustrer par la réification des réactions chimiques dans un agent.

## 5.2.2 Réification des interactions

Bien que mise en œuvre pour la première fois que récemment, la réification des interactions par des agents est déjà une approche très utilisée. Celle-ci permet de contrer les limites informatiques dues aux grands nombres d'entités des simulations. Ainsi, les premières études se sont attachées à simuler des cascades de réactions biochimiques [Kerdélo et al., 2002, Querrec et al., 2003b], en encapsulant les formules de cinétique chimique classiques dans un agent. Cellulat [P. P. Gonzalez and Lagunez-Otero., 2003], simulateur de processus biochimique par agents-interaction, reprend le même principe mais autorise, en plus, l'incorporation de réseaux de neurones afin de simuler un ensemble de réactions comme une « boîte noire ». BioDyn [et L. Marcé P. Ballet., 2004], quant à lui, est un simulateur orienté agent qui réifie, par agent, les interactions entre deux nœuds d'un graphe dynamique. Ainsi, il est possible de simuler les forces existantes entre deux entités.

Nous allons maintenant présenter une application des agents-interaction pour la simulation de réactions biochimiques.

### 5.2.2.1 La simulation de réactions biochimiques par des agents-réaction

La modélisation multi-agents autorise l'utilisation d'une grande variété de modèles pour la simulation de réactions biochimiques. Ainsi, la modélisation d'une cascade de réactions biochimiques commence par le choix du niveau de modélisation :

- Le niveau *microscopique* est le plus bas niveau et le plus général. Il permet facilement d'intégrer des informations spatiales par une équation différentielle déterministe utilisant les lois de Newton. Par contre, celle-ci nécessite six variables par molécule (trois pour la position et trois pour le moment) ce qui rend difficile la modélisation de grands systèmes.
- Le niveau *mésoscopique* tient toujours compte du nombre de molécules mais ne se préoccupe plus ni de leurs positions ni de leurs moments cinétiques. Cette variable est discrète. On calcule la probabilité de collision entre deux molécules par unité de temps et de volume. On parle alors de probabilité de réaction. A ce niveau, la modélisation de larges systèmes est plus aisée.

- Le niveau *macroscopique* est le plus haut niveau de modélisation d’une cascade biochimique. La concentration de chaque molécule varie de façon continue. On ne parle plus de probabilité de réaction mais de vitesse de réaction. On garde toujours l’hypothèse du milieu homogène.

Dans ce qui suit, nous exposons les différents aspects des agents-réaction où une réaction biochimique est représentée par un agent : l’individu est la réaction. Ainsi, le nombre de réactions à modéliser est largement plus faible que le nombre de molécules qu’il aurait fallu modéliser si l’on avait réifié la molécule. Une modélisation de ce type est très facilement envisageable compte tenu de la puissance des ordinateurs actuels mais nécessite la connaissance des constantes cinétiques des vitesses de réaction.

Les agents-réaction sont définis par un cycle à trois temps : décision, perception et action. Dans le cas des agents-réaction voici les différentes étapes du cycle :

- la *perception* : chaque agents-réaction lit dans l’environnement la concentration de toutes les molécules intervenant dans cette réaction.
- la *décision* : les agents-réaction calculent la vitesse de réaction grâce aux formules de cinétique chimique classique. L’agent calcule ensuite la quantité de chaque réactif qui apparaît ou disparaît grâce à une méthode dérivée de la méthode d’Euler.
- l’*action* : la concentration des réactifs et des produits est mise à jour en accord avec les calculs effectués précédemment.

### 5.2.2.2 Simulation de la voie des MAPK

Nous avons choisi de modéliser la voie des MAPK du fait de leur rôle dans le cycle et la croissance cellulaire. La voie des MAPK est composée de trois kinases hautement conservées : Raf, MEK, et ERK. Un modèle de référence (figure 5.3a) a été proposé par Huang et Ferrel [Huang and Ferrel, 1996]. Ce modèle décrit l’activation de la voie des MAPK dans l’ovocyte de xénope. L’entrée de ce modèle est une enzyme théorique E1 qui est la cible de la rétro-inhibition (figure 5.3b) proposée ensuite par Kholodenko [Kholodenko, 2000]. Cette dernière hypothèse peut provoquer l’apparition d’oscillation de la concentration de MAPK activée (MAPK-PP). Dans cette section, nous proposons une méthode multi-agents, pour modéliser et simuler la cinétique de réactions biochimiques de deux types :

- les agents-réaction enzymatiques

$$V = \frac{V_{max} * [P]}{K_M + [S]}$$

où  $V$  : la vitesse de réaction,  $V_{max}$  : vitesse maximal,  $[S]$  : la concentration en substrat et  $K_m$  les constantes de Michaelis-Menten.

- les agents-réaction rétro-inhibition qui découlent du modèle de Kholodenko sont déjà une abstraction dans la mesure où ils expriment plusieurs étapes qui se

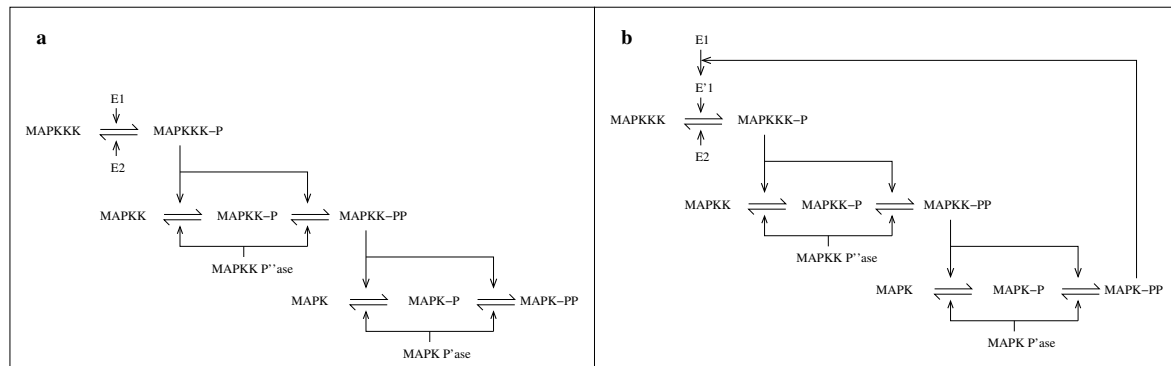


Figure 5.3: Modèles biologiques de la voie des MAPK. A : Modèle de Huang et Ferrell ; B : Modèle de Kholodenko.

passent à une vitesse négligeable par rapport aux autres réactions :

$$V = \frac{[E1]}{1 + \frac{[MAPK^{**}]}{K_{Loop}}}$$

où  $K_{Loop}$  : une constante,  $[MAPK^{**}]$  : la concentration en MAPK activée et  $[E1]$  : la concentration en E1.

Les agents-réaction peuvent alors communiquer par une structure de données partagées de type blackboard [P. P. Gonzalez and Lagunez-Otero., 2003] qui représente tout simplement le milieu dans lequel baigne les réactions.

Une fois les agents-réaction implémentés, il est alors facile de créer un modèle. Dans la figure 5.4 est présenté le code de la modélisation des différents modèles de MAPK. La première étape consiste à ajouter au milieu les différentes molécules avec leurs concentrations. Ensuite, on y ajoute les différentes réactions avec le nom des différentes molécules qui interviennent et les paramètres cinétiques.



```

// Ajout des agents-réaction dans le milieu
_cytosol->createReagent("MAPKKK",3);
_cytosol->createReagent("MAPKKK-P",0);
_cytosol->createReagent("MAPKK",1200);
_cytosol->createReagent("MAPKK-P",0);
_cytosol->createReagent("MAPKK-PP",0);
_cytosol->createReagent("MAPKK P'ase",0.3);
_cytosol->createReagent("MAPK",1200);
_cytosol->createReagent("MAPK-P",0);
_cytosol->createReagent("MAPK-PP",0);
_cytosol->createReagent("MAPK P'ase",120);
_cytosol->createReagent("E2",0.3);
_cytosol->createReagent("E1",0.0);
_cytosol->createReagent("E'1",0.3);

// Model de reference : Huang et Ferrell
R1: new EnzymaticReaction(_cytosol,"Phospho1",
E1,"MAPKKK","MAPKKK-P", Km1, Vmax1)
R2: new EnzymaticReaction(_cytosol,"DePhospho1",
"E2","MAPKKK-P","MAPKKK", Km2, Vmax2)
R3: new EnzymaticReaction(_cytosol,"Phospho2a",
"MAPKKK-P","MAPKK","MAPKK-P", Km3,Vmax3)
R4: new EnzymaticReaction(_cytosol,"DePhospho2a",
"MAPKK P'ase","MAPKK-P","MAPKK", km4, Vmax4)
R5: new EnzymaticReaction(_cytosol,"Phospho2b",
"MAPKKK-P","MAPKK-P","MAPKK-PP", km5, Vmax5)
R6: new EnzymaticReaction(_cytosol,"dePhospho2b",
"MAPKK P'ase","MAPKK-PP","MAPKk-P", km6, Vmax6)
R7: new EnzymaticReaction(_cytosol,"Phospho3a",
"MAPKK-P","MAPK","MAPK-P", Km7,Vmax7)
R8: new EnzymaticReaction(_cytosol,"DePhospho3a",
"MAPK P'ase","MAPK-P","MAPK", km8, Vmax8)
R9: new EnzymaticReaction(_cytosol,"Phospho3b",
"MAPKK-P","MAPK-P","MAPK-PP", km9, Vmax9)
R10: new EnzymaticReaction(_cytosol,"dePhospho3b",
"MAPK P'ase","MAPK-PP","MAPK-P", km10, Vmax10)

// Ajout de la réaction de rétro-action
R11: new FeedBackReaction(_cytosol,"NegFeedBackLoop",
"MAPK-PP","E'1","E1", km11, Vmax11);

```

Figure 5.4: Code *oRis* pour l'implémentation des modèles de MAPK par agents-réaction.

## Résultats

Pour évaluer nos modèles, nous avons utilisé les courbes implémentées dans [Bluthgen, 2001] par des équations différentielles ordinaires (ODE). Les courbes obtenues par ODE et SMA convergent très rapidement (voir figure 5.5). Contrairement aux ODE où toutes les réactions sont traitées en même temps, notre modèle traite les réactions les unes après les autres. Ainsi, il est nécessaire de choisir un pas de temps suffisamment petit pour obtenir des résultats cohérents avec les ODE.

Les petites différences observées peuvent s'expliquer pas le fait que l'ordre dans lequel sont traitées les réactions est chaotique. Par conséquent, les simulations ne sont pas complètement déterministes.

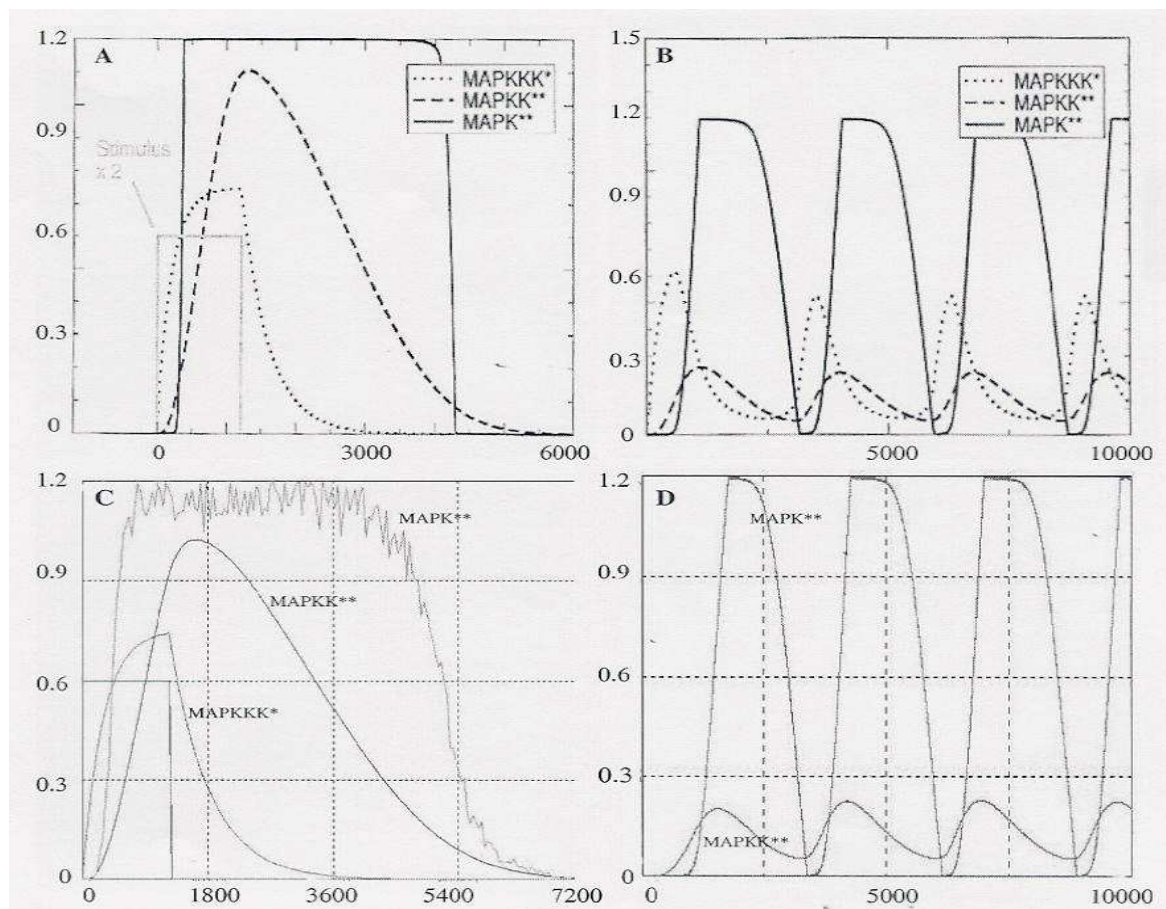


Figure 5.5: Résultats des simulations des modèles de MAPK, par ODE (courbe A et B) et SMA (courbe C et D).

### 5.2.2.3 Conclusion sur les agents-interaction

Nous avons donc vu une application développée grâce aux agents-réaction. Une étude en cours dans notre laboratoire tend à montrer que les deux méthodes convergent

à partir de l'ordre 2. L'approche agents-réaction développée au sein du laboratoire peut être aussi généralisée à l'ensemble des interactions [P. P. Gonzalez and Lagunez-Otero., 2003, et L. Marcé P. Ballet., 2004]. Dans ce cas, il existe dans chaque agents-réaction un modèle simulant un ensemble de réactions, de forces etc. De même que pour les agents-réaction, une validation mathématique des agents-interaction est en cours au sein du laboratoire.

L'intérêt de cette approche réside dans l'autonomie des interactions insérées dans le modèle. Ceci autorise ainsi l'intégration au sein d'une seule et même simulation de multiples modèles facilitant, du coup, la modélisation de phénomènes complexes difficile à simuler avec une seule méthodologie. Ainsi, Gonzalez Pérez propose de modéliser le réseau de transmission de l'EGF par des agents-interaction encapsulant des formules de cinétique ou des réseaux de neurones [P. P. Gonzalez and Lagunez-Otero., 2003]. L'autre aspect de l'autonomie dans une telle simulation est la robustesse du système en cas de perte d'un ou plusieurs agents. Par exemple, grâce à *oRis*, il est possible d'intervenir sur le modèle en cours de simulation. Nous pouvons illustrer ce point par la suppression de la rétro-inhibition sur le modèle de Kholodenko. La figure 5.6 montre l'évolution de la concentration en MAPK-PP avec suppression de la réaction R11 au temps  $T1 = 5500$  ce qui supprime le signal cyclique, puis le retour de R11 à  $T2 = 7000$ , ce qui provoque la réapparition du signal cyclique.

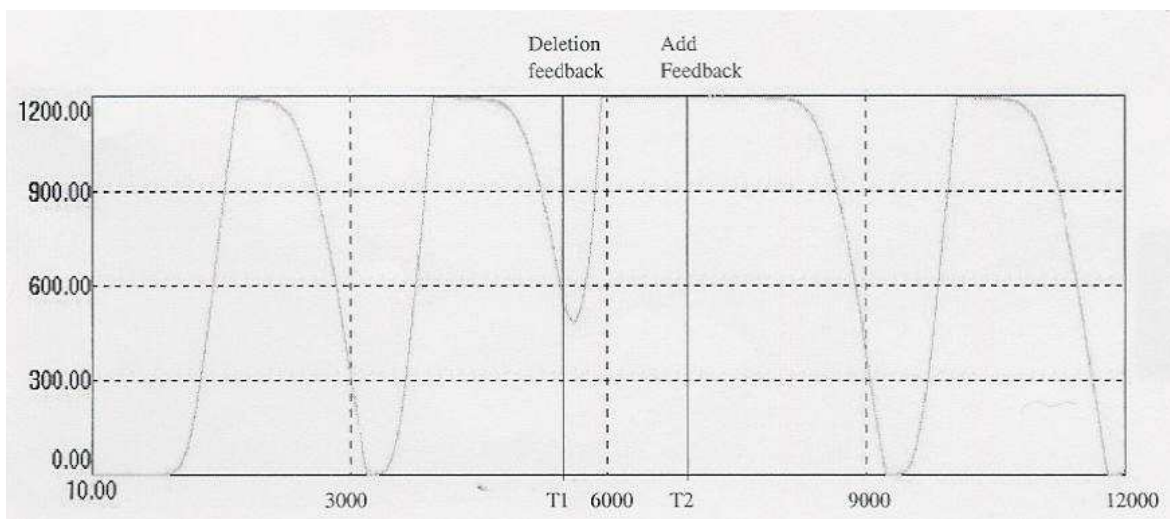


Figure 5.6: Évolution de la concentration en MAPK avec intervention en cours de simulation ; un exemple d'expérimentation « *In Virtuo* ».

Nous avons présenté dans cette section, les différentes approches orientées agents pour la simulation des phénomènes biologiques. Les deux principales approches sont complémentaires. Ainsi, dans la section suivante, nous allons proposer un modèle générique couplant les deux types d'agents : agents-interaction et agents-entité. Ceci va nous permettre de profiter de la complémentarité des deux approches surtout pour des expérimentations « *in virtuo* » multi-échelles.

## 5.3 Un modèle générique de simulation des systèmes biologiques complexes

La complexité est un enjeu. C'est un enjeu tel, que comprendre, créer et modifier des systèmes complexes peut ouvrir de nouvelles perspectives technologiques, thérapeutiques et scientifiques. Notre approche pour l'étude de la complexité se base sur la multi-modélisation et l'adaptabilité du modèle. Ainsi, grâce à la création d'univers virtuels peuplés de modèles autonomes, il nous est possible d'intégrer de nombreux modèles hétérogènes qu'ils soient interactions ou entités. Ainsi, les systèmes multi-agents sont des supports intéressants pour de telles simulations. Dans cette section, nous allons proposer un modèle générique qui va nous guider pour l'implémentation de nos simulations multi-agents. Notre modèle se base sur la notion de système. Ainsi, il nous faut nous intéresser aux notions d'entité, d'interaction et d'organisation dans les systèmes multi-agents.

### 5.3.1 Un modèle « Organisation-Entité-Interaction » pour les systèmes biologiques

Dans un premier temps, notre modèle générique doit permettre la réification de l'organisation. De l'étude de l'organisation dans les SMA, on peut en déduire que celle-ci peut être [Querrec et al., 2001] :

- Explicite : les rôles sont définis *a priori*. Avant la simulation, le concepteur connaît la structure organisationnelle.
- émergente : les rôles sont observés *a posteriori*. Aucune structure organisationnelle n'est connue du concepteur. C'est en observant la simulation qu'il se fait une représentation de la structure organisationnelle.

Plusieurs modèles d'organisation pour les SMA ont été développés dans la littérature (AGR [Gutknecht and Ferber, 1998], MOISE [Hannoun et al., 1999], MASCARET [Querrec et al., 2001]). Cependant, ces modèles sont implémentés pour des organisations explicites comme par exemple la simulation de procédures de pompiers [C. Buche and Chevaillier., 2004]. Ainsi, les modèles MOISE [Hannoun et al., 1999] et MASCARET [C. Buche and Chevaillier., 2004] réifient les trois entités suivantes : Organisations, Rôle et Agent.

Dans le cas de systèmes biologiques complexes, l'organisation est émergente. Par conséquent, on ne connaît pas les rôles et il est donc impossible de les réifier. Nos expérimentations nécessitent des simulations multi-échelles, pour cela, nous avons décidé d'intégrer des agents-entité et des agents-interaction dans notre modèle générique. Notre modèle qui s'inspire de ceux proposés pour les organisations explicites est présenté sur la figure 5.7. Ce modèle nécessite la réification d'agents-entité, d'agents-interaction et d'agent-organisation.

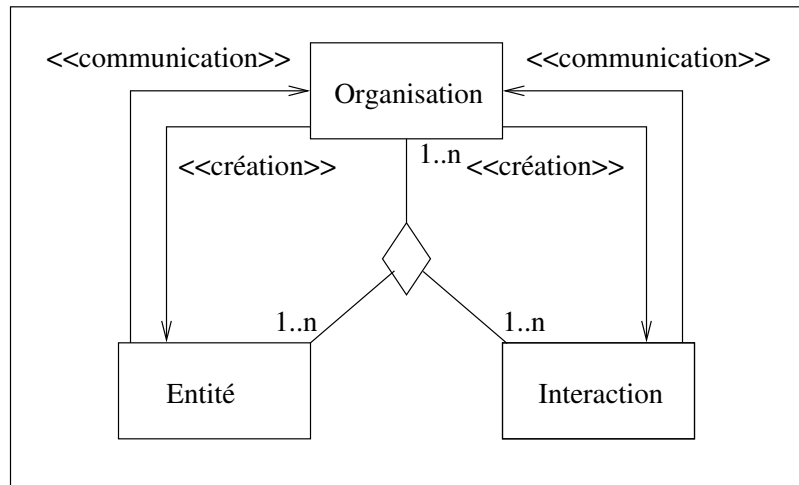


Figure 5.7: Modèle UML pour la modélisation multi-agents de systèmes biologiques.

Pour ce qui est des deux premières notions, nous renvoyons le lecteur à la section précédente. Il nous reste encore à étudier la notion d'organisation dans les SMA.

### 5.3.2 L'agent-organisation

L'agent-organisation est l'élément structurant de la simulation. Il définit les limites du système modélisé et contient l'ensemble des entités et des interactions. En outre, la présence d'organisations dans la simulation autorise l'incrémentalité du modèle. Ainsi, il est possible d'ajouter dans la simulation de nouvelles organisations quelles que soient leurs structures internes (SMA, réseaux de neurone, équations différentielles...). L'agent-organisation est aussi une base de connaissance sur l'ensemble des éléments susceptibles d'intervenir dans le cadre de cette organisation. Cet agent a aussi des capacités de communication, grâce aux messages échangés, avec les entités de l'organisation mais aussi avec les autres organisations. Ainsi, les différents agents (entités ou interactions) de la simulation peuvent, à tout instant, informer leurs organisations de la présence d'agents inconnus. Celles-ci peuvent alors leur fournir les interactions ou entités nécessaires pour continuer leur travail.

De même, les interactions et les entités peuvent informer les organisations de leur inutilité dans la simulation (par exemple dans le cas de la destruction d'un des deux objets entre lesquels se situent une interaction). Dans ce cas, l'organisation peut décider de détruire l'agent incriminé.

Les agents-entité sont dans nos simulations des cellules, molécules ou autres objets physiques du modèles. Ceux-ci peuvent être dotés de comportements. Les agents-entité perçoivent et agissent sur l'environnement via des interactions dans le cas où, bien sûr, elles existent. Si tel n'est pas le cas l'entité peut demander à ses organisations de lui créer les interactions nécessaires.

La réification des interactions constitue l'élément clé de l'approche développée au laboratoire. Les agents-réaction en sont un bon exemple. Cependant, il existe d'autres types d'interactions réifiables comme la diffusion et les interactions mécaniques. Les interactions prennent en charge les événements existants entre deux entités. Si, elles ne sont pas liées à deux entités elles peuvent alors se poser la question de leur utilité au sein du modèle.

## **5.4 conclusion**

Nous avons présenté les modèles utilisés au sein du laboratoire pour simuler les phénomènes complexes. Nous proposons dans notre modèle, la réification, par des agents, des interactions, des organisations et des entités. Ce modèle est établi à la base pour simuler les phénomènes complexes associés aux myélomes multiples mais doit pouvoir être utilisé dans d'autres systèmes biologiques complexes. L'unité de base pour notre simulation des myélomes sera la cellule. Voyons donc maintenant notre modèle de cellule virtuelle en détail.

---

---

# Chapitre 6

---

---

## La cellule virtuelle

Quel que soit le niveau (tissu, cellule ou molécule) auquel s'intéresse le biologiste, il se heurte inévitablement à la complexité biologique. Son refuge a souvent été le réductionnisme mais la simplification cartésienne des processus biologiques ne peut expliquer toute la richesse des comportements observés expérimentalement. Dans l'étude de tels processus, la cellule a une place de choix tant elle influe sur le comportement du système. Cette affirmation prend tout son sens lorsque l'on s'intéresse à des pathologies telles que les cancers, Parkinson ou encore Alzheimer. Beaucoup pensent que l'étude de la cellule est la clé pour la voie de guérison de telles maladies. Dans un premier temps, nous allons essayer d'identifier les sources de complexité dans la cellule. Puis nous étudierons les différentes méthodes de simulation de processus cellulaires. Enfin, nous présenterons notre modèle multi-agents de cellule virtuelle.

### 6.1 La cellule : système biologique complexe

Pour comprendre la dynamique cellulaire, il faut être capable de gérer l'énorme quantité de données issues des « omics » (génomique, protéomique...). C'est par l'intégration de ces données et la découverte des interactions existant entre les différentes entités cellulaires que nous serons capables de prévoir (et de modifier) le comportement cellulaire.

#### 6.1.1 La cellule : système hiérarchique modulaire

Les notions d'organites et d'hyperstructures cellulaires ont été proposées pour décrire les niveaux d'organisation intermédiaire entre les macro-molécules et la cellule.

Voyons l'intérêt de telles organisations intermédiaires.

### 6.1.1.1 Intérêt de la modularité cellulaire

La cellule est un vaste ensemble de molécules et de réactions chimiques. Certaines réactions sont parfois incompatibles d'où la nécessité pour la cellule de les séparer. De là, on peut déduire le premier intérêt d'une telle modularité : la ségrégation. Pour illustrer l'intérêt de la ségrégation, prenons l'exemple du calcium. Ce dernier est un messenger secondaire jouant un rôle majeur dans la signalisation cellulaire. De nombreuses protéines liant le calcium et régulées par celui-ci sont impliquées dans la réponse des cellules aux stimuli environnementaux, comme la calmoduline, une protéine sensible aux variations de concentration calcique, et présente dans toutes les cellules eukaryotes. Le calcium est séquestré dans les réticulums sarcoplasmiques tant que la voie des calmodulines n'est pas recrutée. Par contre lors de l'activation de cette voie le calcium est libéré et active la calmoduline.

Le deuxième intérêt de la modularité de la cellule réside dans la diminution de la difficulté à administrer un grand ensemble de molécules. Ainsi pour  $N$  molécules, il a été montré que la complexité ( $D$ ) d'un système n'étant pas constitué de groupes distincts est de  $N^2$ . Par contre, si il existe  $N_1$  groupes de  $N_0$  molécules  $D = N_1^2 + (N_0^2)N_1$ ; ceci implique, dans certaines conditions, une difficulté moindre. Cette modularité simplifie alors l'obtention de certains phénotypes (viables) dans la cellule.

L'étude de la structure cellulaire est donc du plus grand intérêt pour isoler la complexité de ce système. Intéressons nous maintenant aux deux types de modules présents dans la cellule eucaryote.

### 6.1.1.2 Les organites cellulaires

La cellule est une structure compartimentée constituée de nombreux organites plus ou moins spécialisés, isolés du cytoplasme par une membrane phospholipidique. Les principaux organites cellulaires sont :

- Le noyau qui contient la quasi-totalité de l'information génétique nécessaire pour le fonctionnement cellulaire. Grâce aux informations et à l'énergie fournies par le reste de la cellule (ou l'environnement), celle-ci peut modifier la transcription de certains gènes qui permettront la régulation d'autres processus cellulaires.
- Les usines énergétiques, chloroplastes et mitochondries, qui transforment les énergies tirées de l'environnement en énergie utilisable par la cellule. Cette énergie est distribuée dans l'ensemble de la cellule, faute de quoi aucun processus n'est possible.
- Les réticulums endoplasmiques, lisses ou granuleux, et l'appareil de golgi, sont des zones de stockage, maturation et/ou d'orientation des molécules. Ils reçoivent des informations, de l'énergie et des matériaux du reste de la cellule. Ils synthétisent des macro-molécules fonctionnelles qui peuvent être dirigées vers



le milieu, la membrane ou encore rester dans la cellule.

- Les péroxysomes, lysosomes et vacuoles sont des organites qui peuvent dégrader les macro-molécules et réutiliser leurs constituants dans de nouvelles macro-molécules.

Entre ces différents modules existent des flux (information, énergie ou matériaux) dont la régulation est un élément déterminant dans le comportement de la cellule.

### 6.1.1.3 Les hyper-structures

Une première étape dans l'intelligibilité des phénomènes cellulaires est la compréhension de l'organisation de la multitude de macro-molécules présente dans la cellule. Norris et ses collaborateurs [V. Norris and Zemerline., 2002] proposent donc la notion d'hyper-structures (HS). Contrairement aux organites, celles ci ne sont pas isolées du milieu par une membrane. Les HS sont constituées de différentes macro-molécules en interaction. De telle HS ont été mises en cause lors de l'initiation de la transcription de *E. Coli* lors de la division cellulaire. Il a été mis en évidence que cette HS est responsable d'une certaine diversité phénotypique des cellules filles, du fait que l'induction différentielle de certains gènes induit des HS plus ou moins stables.

Il existe deux types d'HS :

- les HS en équilibre (ou quasi-équilibre) thermodynamique qui ne sont pas dépendantes des flux d'énergie pour leur existence,
- les HS en non-équilibre thermodynamique dépendant de l'existence de flux d'énergie et/ou de matériaux. Leur existence est fortement liée à leur utilité.

## 6.1.2 Les flux dans la cellule

Entre les différents organites vus précédemment, il existe des flux énergiques, de matériaux et d'informations. Voyons maintenant des exemples de ces flux.

### 6.1.2.1 Les flux énergétiques

Toute cellule à des besoins énergétiques sous forme d'ATP, que ce soit pour produire un travail ou juste pour maintenir son homéostasie. La dégradation de l'ATP en ADP produit cette énergie. Cependant les réserves en ATP intra-cellulaire sont limitées et nécessitent d'être rétablies. La grande majorité des eucaryotes, que ce soit dans le monde animal ou bien végétal, possède une usine à ATP en lieu et place des mitochondries qui par une oxydation phophorilante va pouvoir produire de l'ATP à partir de l'ADP et P en oxydant une autre molécule organique, par exemple le glucose. La cellule doit donc incorporer du glucose issu de l'alimentation et le stocker pour le dégrader le moment voulu. Il existe donc des phénomènes de régulation biochimique et

génétique pour l'apport de glucose à la cellule qui vont intervenir au niveau du passage de la membrane intra-cellulaire et au niveau du stockage du glucose sous forme de glycogène.

Il existe donc un flux énergétique traversant la cellule qui entre sous forme de glucose (ou autre nutriments) et ressort sous forme d'activité. L'énergie irrigue l'ensemble des organites cellulaires avant de se dissiper.

### 6.1.2.2 Les flux de matériaux

Si le glucose peut traverser la membrane grâce à des canaux spécifiques, il n'en est pas toujours ainsi pour tous les matériaux. Ainsi, il existe un phénomène d'endocytose de substance extra-cellulaire par invagination de la membrane autour de macromolécules qui se sont préalablement fixées à la membrane par des récepteurs. C'est le cas notamment du cholestérol précurseur des hormones stéroïdes mais qui peut aussi servir pour la fluidité membranaire. L'existence de maladies génétiques provoquant une hypercholestérolémie vasculaire due à un manque de récepteurs membranaires au cholestérol montre que la génétique peut aussi réguler le flux. Ces molécules une fois métabolisées par la cellule en hormones stéroïdes sont rejetées dans le milieu par un phénomène inverse à l'endocytose : l'exocytose. Ce phénomène à deux raisons d'être, premièrement la fusion de vésicules intracellulaires avec la membrane cellulaire permet de rejeter le contenu dans le milieu et deuxièmement un renouvellement membranaire car les vésicules sont elles aussi composées d'une membrane phospholipidique.

Ici encore, on peut observer un rôle important de la régulation des flux qu'ils soient énergétiques ou matériels. Pour cela, il est nécessaire que l'information soit distribuée dans l'ensemble des organites intéressés dans la régulation des flux.

### 6.1.2.3 Le flux d'information

Reste un dernier flux, le flux d'information qui irrigue les différents compartiments cellulaires. Il existe trois sources principales d'information :

- l'environnement qui est capté par l'intermédiaire de récepteurs membranaires ou nucléaires,
- l'information génétique qui est portée par la double hélice d'ADN,
- l'information épigénétique qui est constituée d'un certain nombre de molécules et qui peut réguler l'expression génique.

L'expression d'un certain nombre de gènes portés par la double hélice d'ADN est contrôlée par des facteurs de transcription qui ont pour rôle la régulation épigénétique du système. Ces facteurs de transcription sont soit transmis d'une génération cellulaire à une autre soit contrôlés par des signaux environnementaux captés par les récepteurs et transmis grâce à un réseau de transmission composé d'un certain nombre de réactions enzymatiques et de second messagers.

La transcription d'un gène en ARN messager est donc régulée par un certain nombre

de protéines. Cet ARN après avoir subi un processus d'épissage est traduit en protéine. Cette dernière subit des modifications et est orientée vers sa cible qui peut être l'environnement, le cytoplasme ou encore le noyau dans le cas de facteurs de transcription.

### 6.1.3 La régulation des processus cellulaires

La régulation des structures et des flux cellulaires, que ce soit pour le maintien des constantes biologiques ou pour la différenciation et l'adaptation de la cellule, fait intervenir des éléments aux niveaux des protéines, des ARN, des gènes, des métabolites et des membranes. Traditionnellement, les études ont tendance à étudier indépendamment les différents réseaux de régulation. En effet, la diversité de ces éléments complique la tâche pour la modélisation de la cellule dans son intégralité car l'hétérogénéité des actions, des unités et des échelles spatio-temporelles participant à la régulation implique souvent l'utilisation dans une seule et même simulation diverses techniques. Nous proposons donc d'isoler différents modules de régulation en tenant compte des éléments cités ci-dessus, pour ensuite les rejoindre dans une même simulation.

Trois modules de régulation s'imposent donc à nous : les réseaux génétiques, les réseaux protéiques et les réseaux membranaires. Avant de nous intéresser aux différentes méthodologies de simulation, voyons plus en détail ces différents modules de régulation.

#### 6.1.3.1 Les réseaux génétiques

Le génome joue un rôle fondamental dans la régulation des processus cellulaires. De la simple adaptation aux changements de l'environnement, à la différenciation des cellules et en passant par la division cellulaire, tous ces processus stimulent ou inhibent un ou plusieurs gènes. Bien que seules 10 % des séquences portées par l'ADN soient codantes, les gènes peuvent être exprimés de façons différentes selon la situation dans laquelle se trouve la cellule. Ceci montre bien l'importance de la régulation dans l'expression génique.

La digestion enzymatique de la chromatine montre qu'il existe des zones d'accessibilité préférentielle. Ces zones, dites zones hyper-sensibles, contiennent les gènes qui peuvent être exprimés. Des structures particulières de l'ADN peuvent elles aussi perturber la fixation des éléments de transcription. De plus, l'observation des profils de méthylation de l'ADN dans les cellules cancéreuses montre que celles-ci sont hypo-méthylées par rapport aux cellules normales. D'une manière générale, la méthylation serait associée à une baisse de la transcription des gènes méthylés. L'ADN est donc lui-même un régulateur de sa transcription.

Outre l'ADN, les facteurs de transcription (FT), protéines appelées aussi facteurs trans-régulateurs, peuvent se fixer sur les facteurs cis-régulateurs, i.e. séquences non-

transcrites du gène. La fixation des FT sur les promoteurs et autres séquences cis-régulatrices peut modifier le profil d'expression génétique de façon significative tant quantitativement que qualitativement. Ces phénomènes sont les plus connus mais ne sont pas suffisants pour expliquer les différences phénotypiques. En effet, d'autres événements post-transcriptionnels peuvent modifier le phénotype et le comportement de la cellule.

La modification des ARN permet d'obtenir à partir d'un seul et même ARN, plusieurs ARNm traduits par la cellule. Cet épissage alternatif permet d'obtenir plusieurs isoformes d'une même protéine, comme par exemple le CD45, mais aussi des protéines avec différentes fonctions selon la cellule où l'ARN a mûri. L'épissage alternatif est le phénomène de régulation génique post-transcriptionnel le plus connu mais il existe d'autres processus de régulation au niveau de la traduction comme la structure secondaire de l'ARNm, la complémentarité avec d'autres ARN et la multiplication des sites de poly-adénylation.

Des modifications post-translationnelles sont souvent nécessaires pour que la protéine puisse être véritablement fonctionnelle. Ces modifications peuvent se produire lors de cette élongation de la protéine ou suite à l'élongation. Ces modifications post-translationnelles peuvent se révéler importantes pour la cellule. Décrivons l'exemple du CD45, molécule ubiquitaire dont le rôle est important dans le système immunitaire. La sialylation et la glycosylation inhibent la dimérisation de ces molécules. La perte de ces résidus peut donc avoir une influence dramatique chez certaines personnes atteintes de phénomènes lymphoproliférateurs et auto-immunitaires.

La régulation de l'expression génique est donc un phénomène complexe régulé lui-même par des protéines à différents niveaux. Ces protéines ont été préalablement synthétisées de la même manière, on peut donc véritablement parler d'un réseau de régulation génétique dont l'étude peut nous aider dans la compréhension des cancers.

### **6.1.3.2 Les réseaux métaboliques**

Les réseaux métaboliques sont les réseaux qui à partir de substrats synthétisent des produits stables utilisables par la cellule. Ces réseaux sont composés de nombreuses voies qui elles-mêmes sont composées de réactions chimiques prenant en charge le produit obtenu par la réaction précédente [Dardel and Képès., 2002]. Souvent, ces réactions sont liées à des enzymes. Ces voies ont été bien étudiées grâce aux méthodes classiques de biochimie et de génétique. Bien que l'on ne puisse pas véritablement parler de signal, le produit d'une voie peut dans certains cas modifier le comportement de la cellule pour réguler sa propre production.

### **6.1.3.3 Les réseaux de transmission**

Les réseaux de transmission permettent à la cellule de transférer l'information des récepteurs à l'ensemble de la cellule. La capacité de la cellule à réagir aux signaux

environnementaux est perçue par certains comme une caractéristique fondamentale de la vie [Sauro and Hholodenko., 2004]. Les réseaux de transmission sont très activement étudiés dans le cadre de l'oncologie car c'est souvent à ce niveau que se retrouvent les perturbations. De plus, la vision systémique impose d'étudier les éléments dans leur environnement et les réseaux de transmission sont les premières étapes de l'interprétation des signaux environnementaux. Un des mécanismes centraux des réseaux de signalisation est la phosphorylation et la déphosphorylation des protéines via les kinases et les phosphatases. Le motif le plus présent dans ces réseaux est le cycle formé par une kinase et une phosphatase constituant une véritable colonne vertébrale des cascades de transmission.

De nombreuses métaphores peuvent nous permettre d'aller plus loin dans l'analyse des réseaux de transmission. Certaines métaphores sont triviales. Ainsi, il semble évident au vu des représentations faites par les biologistes que ces réseaux puissent être représentés par un graphe orienté avec des arcs positifs lorsqu'une molécule en active une autre et des arcs négatifs lorsqu'elles inhibent. Ainsi, il est possible de montrer l'existence de nombreuses rétro-actions. Qu'elles soit négatives ou positives, elles impliquent une augmentation de la complexité du réseau et de son comportement. De plus, des arcs existent entre différentes cascades, les voies ne sont donc pas indépendantes et les « cross-talk » à l'image des rétro-actions, enrichissent le comportement du système.

Il est maintenant évident que les voies de signalisation forment entre elles un véritable réseau. Bray [Bray., 1990] propose donc d'utiliser la métaphore du réseau de neurones pour examiner celui de la transmission cellulaire. Contrairement aux graphes orientés, l'information peut être contenue dans plusieurs noeuds (neurones) à la fois. Le principal grief que l'on peut lui faire, c'est l'absence de dimension temporelle [Bhalle., 2003] mais il existe selon de nombreux auteurs une forte analogie [Bray., 1990, Bhalle., 2003]. En effet, il existe pour chaque élément du réseau de multiples entrées et de multiples sorties. De plus, tout comme dans les réseaux de neurones, les signaux biologiques transmis d'une molécule à une autre ont, plus ou moins, une forme sigmoïdale. Enfin, la structure multi-couches des réseaux de neurones fait penser fortement aux différentes couches d'une cascade de voie de transmission.

La dernière métaphore qui va nous éclairer sur ces réseaux est la métaphore du circuit électrique. Les opérations associées à ces circuits sont proches de celles observées dans le traitement des informations biologiques. Contrairement aux réseaux de neurones, les circuits électriques portent un grand intérêt au temps. Biologiquement, celui-ci peut aller de quelques secondes pour l'action du calcium dans les réseaux biologiques à quelques heures pour les phénomènes couplés génétiquement. La métaphore électrique est une représentation efficace du réseau dans le cas où les données sont disponibles.

#### **6.1.3.4 Le réseau membranaire**

Tout le monde s'accorde à dire que le rôle des membranes ne se réduit pas à contenir les autres éléments mais qu'elles jouent aussi un rôle fonctionnel non négligeable en coordonnant un certain nombre de paramètres directement ou indirectement à travers

les molécules associées à la double couche phospholipidique. La membrane biologique est dans les faits une surface orientée, fluide, constituant le site actif de nombreux processus cellulaires. Pour illustrer ce point, prenons l'exemple des mitochondries. Cet organite fournit à la cellule tout ou partie de l'énergie dont elle a besoin. La surface interne de la mitochondrie est peuplée de protéines qui vont permettre de produire du carburant par oxydation du glucose en CO<sub>2</sub>. Dès lors, on comprend mieux l'intérêt des invaginations intra-mitochondriales proposant une surface plus importante et donc plus de protéines pour la production énergétique.

De plus, les membranes sont extrêmement dynamiques. Elles peuvent se fusionner, se séparer, bourgeonner et s'invaginer. Contrôlant ainsi des processus importants tels que la phagocytose, exocytose et la pinocytose, ces processus interviennent très souvent dans les phénomènes biologiques et ne peuvent donc être négligés. Il ne fait plus aucun doute que la cellule est un système biologique complexe. Comme tout système complexe, son comportement est loin d'être trivial et donc difficilement intelligible pour l'homme. Celui-ci doit donc faire appel à des méthodes de modélisation et de simulation s'il désire en savoir plus sur la cellule. Dans la section suivante nous allons donner un aperçu de ces méthodes proposées dans la littérature.

## **6.2 La simulation des processus cellulaires**

Le nombre et la diversité des simulateurs de processus cellulaires témoignent, non seulement de l'intérêt porté à ce genre d'outil mais aussi de l'hétérogénéité des données. Beaucoup de ces simulateurs s'intéressent aux réseaux macro-moléculaires. En revanche peu s'intéressent aux autres aspects du comportement cellulaire, i.e. réseau membranaire et interactions avec l'environnement. La modélisation et la simulation des réseaux macro-moléculaires est une des étapes nécessaires (mais loin d'être suffisante) pour comprendre le comportement d'une cellule. C'est d'ailleurs, en grande partie, de ces réseaux que provient le comportement complexe de la cellule vis-a-vis de son environnement. L'omniprésence des équations différentielles dans la simulation des processus biologiques ne doit pas cacher les autres méthodes. En effet, les simulations peuvent être déterministes ou stochastiques, quantitatives ou qualitatives. Voyons maintenant, de manière non-exhaustive, les différentes méthodologies.

### **6.2.1 La régulation des réseaux macromoléculaires**

#### **6.2.1.1 Les modèles déterministes à base d'équations différentielles**

Les équations différentielles représentent la variation des entités du système par des variables continues ; selon la granularité du modèle, elles peuvent être soit des individus, soit des cellules, soit des molécules. A notre connaissance, aucun modèle à base de

systèmes d'équations différentielles n'a été utilisé pour représenter le comportement d'un réseau membranaire. C'est dans le cadre de la simulation des réseaux macromoléculaires que les ODE sont certainement les plus utilisées. Dans ce cas, les variables représentent la variation de concentration en  $ARN_m$ , en substrats, en produits ou en protéines en fonction du temps. Le réseau est alors modélisé par un système d'équations différentielles où pour chaque gène  $X_i$  avec  $i \in (1..n)$  :

$$\frac{dX_i}{dt} = f_i(X)$$

avec  $X$ , le vecteur de variable de concentration et  $f_i(\mathbb{R}^n \rightarrow \mathbb{R})$  (souvent fortement non-linéaire), les interactions régulatrices. Un système non-linéaire, même simple, ne trouve pas toujours de solution analytique mais permet dans le cas de réseaux suffisamment simples, l'étude qualitative du système.

Pour un réseau plus complexe, l'expérimentateur doit simplifier son modèle en système d'équations différentielles linéaires plus facile à analyser. Il existe de nombreux outils pour l'étude de tels systèmes mais la simplification engendre une perte d'états dans le système. Cependant dans le voisinage du point de linéarisation, le comportement approche de façon satisfaisante le comportement global.

De Jong propose alors l'utilisation d'un système d'équations linéaires par morceaux pour la simulation de réseaux génétiques. Ceci repose donc sur le fait que localement un système d'équations linéaires peut reproduire le comportement du système. Ainsi, l'espace des phases est divisé en régions où chacune possède son propre système d'équations. Ce modèle peut être étudié localement et les résultats de ces analyses combinés en une analyse globale.

La modélisation de réseaux macromoléculaires par des ODE est souvent critiquée. Deux critiques doivent être prises en compte pour aider l'expérimentateur à choisir sa méthodologie : le déterminisme et la présence de paramètres cinétiques. Malgré ces critiques, les équations différentielles ont été largement utilisées pour la simulation de réseaux de transmission et l'étude du cycle cellulaire, mais au prix de nombreuses estimations.

Concernant le déterminisme, celui-ci n'existe que s'il y a dans le système suffisamment d'entités d'une variable donnée. Prenons l'exemple du cycle de vie du phage  $\lambda$ . Lors de l'infection d'*E. Coli*, deux voies de développement existent. Premièrement, la voie lytique où le phage se réplique puis lyse la cellule pour libérer de nouveaux phages. Deuxièmement, la voie lysogénique où la cellule ne meurt pas tout de suite. Au contraire celle-ci est même immunisée contre toute nouvelle infection. Le développement du phage est contrôlé par deux gènes. Le gène *Ci* induit le passage dans la voie lysogène et de plus inhibe tous les autres gènes. Le gène *Cro* inhibe *Ci* et implique le passage du phage dans un processus lytique. Tout ce système est contrôlé par environ une dizaine de molécules, d'où le comportement stochastique observé et qui ne peut être décrit par un modèle déterministe. De plus, l'application de ces modèles à un vaste réseau complexe soulève des interrogations [Jong and Geiselman., 2004]. En effet, l'acquisition des données, surtout dans une cellule, n'est pas chose facile; or pour modéliser un réseau entier, il faudrait énormément de données. Selon De Jong [Jong and Geiselman., 2004], il serait sans doute plus judicieux d'utiliser ces modèles pour étudier

des réseaux de petite taille ou des modules d'un réseau plus important. L'utilisation d'un modèle plus abstrait est donc plus propice à la simulation d'un système dans sa totalité.

### 6.2.1.2 Les modèles stochastiques

Les méthodes stochastiques s'intéressent au nombre exact de molécules dans l'environnement. Les variables, par conséquent discrètes, évoluent aléatoirement. Pour cela, il existe plusieurs méthodes de simulation. Premièrement, l'équation chimique maître qui pour tous les états d'un système calcule leur probabilité. Le mode opératoire est le suivant :

- Recherche de tous les états possibles du système, i.e. toutes les combinaisons moléculaires existantes,
- Calcul de la probabilité d'être dans un état donné en fonction du temps. La probabilité est  $\mu = k_{\text{mésoscopique}} * \text{nombre de molécules de } n$ . Pour les équations de premier ordre,  $k_{\text{mésoscopique}} = k_{\text{macroscopique}}$  et  $k_{\text{macroscopique}} = k_{\text{mésoscopique}} * V * A * C$ , avec V le volume, A le nombre d'avogadro, C une constante, pour les équations de second-ordre.
- Ecriture d'un système d'équations linéaires avec les probabilités précédemment calculées.
- Résolution du système.

L'intérêt d'un tel modèle est de capturer toute l'information du système par un système d'équations linéaires. Ainsi, il est possible de le résoudre facilement par des méthodes mathématiques traditionnelles. Comme les équations différentielles, ce modèle fonctionne efficacement pour des petits modèles. Cependant pour des modèles plus importants, il existe trop d'états et par conséquent, trop de variables [Gibson, 2000].

Pour éviter cette explosion combinatoire de variables, les méthodes de type Monte-Carlo proposent que les variables représentent les états d'une et d'une seule molécule. La trajectoire de la variable est alors calculée en choisissant aléatoirement à chaque temps de la simulation, en fonction des probabilités, un état à atteindre. L'algorithme le plus simple repose sur un pas de temps  $\delta t$  fixé. Ceci nécessite de retrouver la valeur de  $\delta t$  optimale fonction des coefficients cinétiques. De plus, il est important de noter que le  $\delta t$  optimal peut varier au cours de la simulation. Gillespie [Gillespie, 1976, 1977] propose deux algorithmes de simulation de type Monte-Carlo, qui calculent aléatoirement la réaction mais aussi le  $\delta t$ . Ces méthodes ont ensuite connu un certain nombre d'améliorations [Gibson, 2000].

### 6.2.1.3 Les graphes

C'est certainement la méthode la plus répandue pour la modélisation et la simulation des réseaux de régulation biologiques. Toute modélisation de réseaux, quel



que soit sa nature, passe à un moment ou un autre par un graphe. Avant même l'étape de simulation, celui-ci permet une discussion avec et entre les experts. Un graphe  $G$  est un ensemble  $G = (N, L)$ , de  $N$  nœuds et de  $L$  liens. Selon la nature des nœuds et des liens, la nature du graphe (ou réseau) peut varier. Prenons l'exemple d'un certain nombre de modèles utilisés dans le cadre de la simulation de réseaux biologiques.

Le modèle le plus simple est certainement le réseau booléen appliqué aux réseaux génétiques. Celui-ci est constitué de gènes soit « exprimés », soit « non-exprimés » (notés respectivement 1 ou 0) et de règles booléennes représentant les interactions entre ces variables. Ces fonctions sont facilement traduites des observations biologiques d'où leur utilisation pour la modélisation des réseaux. De plus, grâce aux méthodes d'apprentissage sur des données biologiques, il est possible d'en inférer un réseau de régulation [T. Akutsu and Miyano., 2003]. Cependant, un tel réseau est insuffisant pour capter tous les états du système. En effet, les gènes, protéines et autres molécules peuvent posséder plus que les deux états présents dans les variables booléennes, c'est ce que l'on appelle la multi-stationnarité. Thomas propose donc une méthode qui pose les bases suivantes :

- Chaque nœud peut avoir comme entrées l'influence de un ou plusieurs nœuds du système et notamment lui-même.
- Chaque variable logique du système possède plusieurs niveaux, i.e. la variable n'est pas limitée à 0 ou 1.
- L'introduction de paramètres logiques sur les différents arcs permet de différencier les effets des différents régulateurs si ceux-ci n'impliquent pas la même force sur la molécule en question.
- La comparaison des résultats entre cette méthode et celle par équations différentielles montre que pour capter tous les états du système il nous faut aussi introduire un état  $S$  constituant le seuil.

Du modèle proposé par Thomas aux réseaux de neurones il n'existe qu'un pas, celui de la continuité.

En effet, un réseau de neurones est un graphe composé de variables continues et d'arcs pondérés selon l'influence du nœud d'origine sur celui d'arrivée. Les réseaux de neurones adaptés (réseaux de neurones autorisant les rétro-actions et la sémantique) ont été très tôt montrés comme une des méthodes idéales pour la simulation des réseaux de transmission [Bray., 1990]. Malheureusement, ceux-ci n'incluent pas la notion du temps. Un tel réseau peut aussi être utile pour la simulation d'un réseau génétique. En effet, Dickerson [Z. Dickerson and Fulmer., 2001] propose l'utilisation de Fuzzy Cognitive Map, cas particulier de réseau de neurones (voir plus loin) pour la simulation du métabolisme d'*Ababidopsis* en y intégrant protéines, ARNm et gènes.

Aussi souvent utilisés qu'ils sont critiqués, les Réseaux de Petri (RdP) peuvent intégrer des données très hétérogènes. Ce sont des modèles formels utilisés pour la modélisation de systèmes concurrents et qui reposent sur une forte base mathématique. Qu'ils soient stochastiques [Goss and Peccoud, 1998] ou hybrides [H. Matsuno and Miyano., 2003], discrets ou continus, ils ont permis la simulation de réseaux de régulation biologiques. D'un point de vue dynamique, ils n'apportent pas véritablement de nouveautés par rapport aux autres méthodes car ils s'en inspirent fortement. Il en résulte que les

réseaux de Pétri possèdent les qualités et les défauts des méthodes dont ils s'inspirent. Par contre, l'asynchronisme des RdP facilite la multi-modélisation comme le montre les RdP hybrides autorisant des méthodes discrètes et continues.

#### 6.2.1.4 Les algèbres de Processus

Il s'agit là, certainement, de l'approche la plus originale. Comme pour les RdP, ces algèbres ont été initialement développés pour l'étude de systèmes informatiques concurrents. Regev [Regev A. and Shapiro., 2001] propose une modélisation de la cellule comme un système informatique avec des processus concurrents communiquant par des messages synchrones. Plusieurs langages ont été proposés afin de répondre aux différents besoins des modélisateurs. Parmi ceux-ci, on retrouve le  $\pi$  calcul stochastique ayant pour objectif la simulation des processus de régulation macro-moléculaires [Regev A. and Shapiro., 2001, Phillips and Cardelli., 2004]. Le  $\kappa$ -calcul [Danos and Laneve.], quant à lui, s'intéresse exclusivement aux interactions protéine-protéine. Une nouvelle version du  $\pi$ -calcul a été élaboré pour y incorporer des paramètres quantitatifs. Dans ces algèbres, les processus représentent les molécules et les actions sont réifiées par les messages échangés par les différents processus. Contrairement aux précédents langages qui ont été détournés d'un premier objectif, Biocham [N. Chabrier-Rivier and Schachter., 2004] a été développé pour l'étude des réseaux macromoléculaires. Ce dernier propose, de plus, un langage pour étudier le comportement des modèles, modélisé sur la base du langage Biocham. L'ensemble de ces langages essaie de modéliser les réseaux de régulation comme un système distribué. De plus, ils permettent d'analyser le comportement du système.

### 6.2.2 Les réseaux membranaires

Outre les modèles à équations différentielles qui s'intéressent à la dynamique de la membrane au niveau des interactions avec d'autres molécules, peu de démarches scientifiques ont été développées pour la modélisation des réseaux membranaires. Ceci peut être illustré par les simulateurs de processus cellulaires globaux où les compartiments sont statiques et ne peuvent directement influencer le comportement du système. Cardelli et Regev [Cardelli., 2004, Regev A. and E., 2004] ont été les initiateurs de modèles pour l'étude et la simulation des réseaux de régulation membranaires. Ici encore, ils se basent sur des algèbres de processus non-déterministes : Brane Calculi [Cardelli., 2004] et BioAmbient [Regev A. and E., 2004]. Les processus représentent les compartiments du système et les messages échangés représentent les actions réalisées par les membranes. Celles-ci peuvent s'associer, se dissocier, s'englober, se rejeter, etc.

## 6.3 Modélisation d'une cellule virtuelle

La conception de simulateurs de processus cellulaires repose sur la nécessité pour le biologiste d'intégrer un ensemble de données, de confronter des modèles d'un point de vue explicatif et prédictif. Beaucoup de ces simulateurs reposent sur la simulation mono-modèle des processus biochimiques intra-cellulaires. Voyons quelques uns de ces simulateurs.

### 6.3.1 Simulation de comportement globale d'une cellule

Les simulateurs de comportement global de cellule se basent sur les mêmes concepts et modèles que les simulateurs de cascades biochimiques tels que Gépasi, Jarnac. Ceci repose surtout sur le fait que le comportement d'une cellule est fortement lié aux réseaux de régulation biochimique de la cellule. Cependant, il est maintenant prouvé que les précédents simulateurs ne peuvent simuler l'ensemble du comportement cellulaire car la transcription, du fait du faible nombre de gènes pour un ARN donné, ne peut être simulée par une méthode purement déterministe.

Le précurseur est sans aucun doute E-cell [M. Tomita and Hutchison., 1997, M. Tomita and r. d. Hutchison CA., 1999, K. Takahashi and Tomita., 2003]. E-cell est un logiciel gratuit autorisant la simulation du métabolisme cellulaire et qui dans sa première version contenait la description de 127 gènes. La version 3 propose désormais des simulations multi-modèles. Dans [K. Takahashi and Tomita., 2004], l'auteur présente une simulation « hybride » qui repose sur l'algorithme stochastique Gillespie-Gibson et des équations différentielles déterministes. V-cell [Schaff and Loew.] offre dès ses premières versions des algorithmes de simulation de phénomènes biochimiques, électrophysiologiques et de diffusions 3D dans la cellule. Pour cela, cette plateforme se repose sur des équations différentielles ordinaires ou partielles. En revanche, elle ne permet pas l'intégration de réseaux génétiques dans la simulation. BioDrive [K.M. Kyoda and Kitano.] se propose de simuler le comportement d'un ensemble de cellules en intégrant aussi un moteur pour simuler des interactions entre les récepteurs et leurs ligands se trouvant dans le milieu. Grâce à la simulation de processus de diffusion, il est alors possible d'étudier le comportement des différentes cellules en fonction de leurs positions relativement aux sources des signaux inter-cellulaires. Stocks [Kierzek., 2002] et StockSim[Morthon-Fith, 1998] sont des plateformes purement stochastiques basées respectivement sur un algorithme de type Gillespie et sur l'algorithme StochSim basé sur le choix aléatoire d'un substrat plutôt qu'une réaction.

Il est difficile de recenser l'ensemble des simulateurs de processus cellulaires. Il existe énormément de projets concurrents dont certains semblent ne pas trouver leur public à part le concepteur lui même. Notre démarche consiste, plutôt que de créer une plateforme mono-modèle ou ne pouvant intégrer que peu d'algorithmes différents, à créer un

modèle générique de cellule qui peut intégrer n'importe quel algorithme de simulation de comportement cellulaire et qui autorise des simulations hybrides. De plus, l'aspect spatial revêt une grande importance pour la cellule, ainsi si l'on veut comprendre et, à terme, modifier le comportement cellulaire, il nous faudra simuler le comportement de la cellule dans son environnement, i.e. simuler un système multi-cellulaire plutôt que le réduire à une seule cellule.

Dans le paragraphe suivant, nous allons décrire la cellule comme une organisation biologique complexe, mais elle peut aussi être vue comme une entité composant une autre organisation à un niveau hiérarchique supérieur. Nous allons décrire une implémentation de cellule virtuelle basée sur notre modèle de systèmes biologiques et les différentes machines virtuelles de régulation. Pour mieux présenter ces machines virtuelles, nous développerons une machine virtuelle pour la simulation de la voie des MAPK par un graphe d'influences flou.

### 6.3.2 Modèle multi-agents de cellule virtuelle

Il existe de multiples réseaux de régulation hétérogènes dans la cellule et en dehors. Selon l'objectif du modélisateur, il peut donc être nécessaire d'implémenter ces réseaux pour donner un comportement à la cellule. Cardelli propose une structure de cellule composée de trois machines virtuelles : protéique, génétique et membranaire. Nous reprenons dans cette thèse cette architecture à laquelle nous ajoutons les interactions avec l'environnement.

L'organisation « Cellule » peut être composée de six entités selon ce que cherche à étudier le modélisateur. Trois entités sont les machines virtuelles autonomes qui peuvent communiquer avec la cellule et les autres machines virtuelles par l'intermédiaire d'interactions cellule-machine. Ces machines virtuelles peuvent toutes avoir une méthodologie de modélisation différente d'où l'intérêt de leur autonomie vis-à-vis du reste de la cellule. Ainsi, dans notre modèle générique celle-ci se dérive de la classe entité.

Des interactions s'imposent entre ces machines virtuelles et la cellule qui compose leur environnement. Il existe une forte contrainte sur le type de données qui sont transmises à la cellule pour que celles-ci soient exploitables par la cellule et les autres machines virtuelles. C'est le rôle des interactions qui doivent traduire les flux d'information dans un type exploitable.

De même, il est nécessaire de réifier les interactions entre la cellule et son milieu. Ces interactions peuvent être de plusieurs types :

- mécanique, quand les contraintes sont des forces de type physique ;
- chimique, quand ces interactions sont dues à de petites molécules ionisées qui peuvent modifier l'osmolarité de la cellule ;
- biologique, quand les messagers sont des macro-molécules qui interagissent avec la cellule via un récepteur spécifique.

Pour résumer notre vision de la cellule en tant qu'organisation d'entités et d'interactions, nous proposons la vision schématique dérivée de celle de Cardelli(figure). Pour

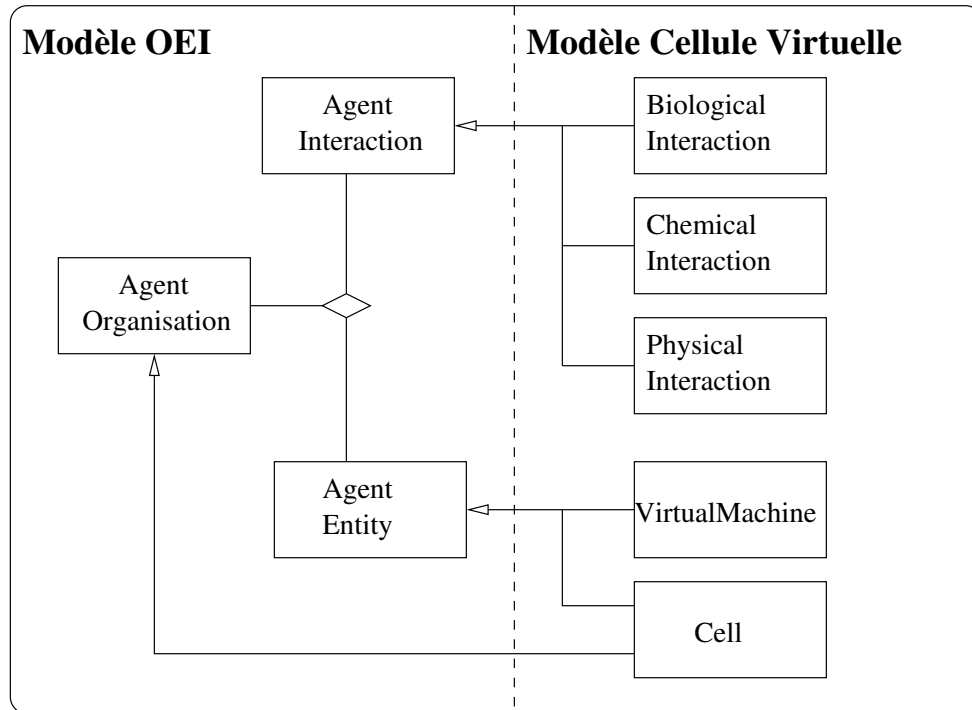


Figure 6.1: Modèle UML de cellule virtuelle.

illustrer l'implémentation d'une machine virtuelle nous allons décrire une voie de transmission par un graphe d'influences flou (GIF).

### 6.3.3 Exemple d'implémentation d'une machine virtuelle de transmission intracellulaire

Nous détaillons maintenant l'implémentation d'une machine virtuelle pour la transmission de signaux intracellulaires. Nous allons nous appuyer sur une méthode proche des réseaux de neurones : les graphes d'influences flous. Cette méthodologie sera utilisée plus loin lors de notre application sur la modélisation des phénomènes complexes associés aux MM (voir section 7).

Nous avons montré dans la section précédente que la cellule est régulée par de nombreux réseaux dont les réseaux de transmission Atlan. [2003]. Des méthodes quantitatives existent mais nécessitent des paramètres cinétiques et des concentrations qui ne sont pas toujours accessibles. Cependant, il a été montré que le comportement de réseaux de transmission est robuste vis à vis de la variation de ces paramètres contrairement à la topologie du réseau. Nous proposons donc de modéliser le réseau par sa topologie. Dans cette thèse nous utilisons les GIF car ils permettent d'intégrer une sémantique dans le réseau favorisant l'interaction entre modèles et données expérimentales. Les

nœuds ne sont pas des concepts abstraits mais des molécules en un état donné. Ensuite, les GIF laissent les signaux diffuser sur plusieurs voies autorisant donc les interactions entre celles-ci (« crosstalk »). Enfin, cette technique autorise les rétroactions, machineries indispensables pour le comportement cellulaire.

À notre connaissance, aucun travail n'a permis l'intégration de données topologiques de réseaux de transmission dans une simulation multi-cellulaire et ainsi de valider un tel réseau sur une population cellulaire.

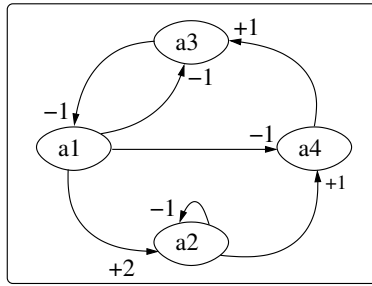
Voyons maintenant l'implémentation d'un GIF et leur utilisation sur un modèle de la voie des MAPK.

### 6.3.3.1 Graphe d'Influences Flou

Les Graphes d'Influences Flous (GIF) appelés également Cartes Cognitives Floues (CCF) sont issus de travaux de psychologues. Les cartes cognitives ont été introduites afin de décrire des comportements complexes de mémorisation topologiques chez les rats [Tolman., 1948]. Dans les années 1970, Axelrod formalisa ces cartes cognitives sous forme de graphes orientés et les utilisa en théorie de la décision appliquée au domaine politico-économique [Axelrod., 1976]. En 1986, Kosko intégra la logique floue aux graphes d'Axelrod qui devinrent alors les Cartes Cognitives Floues [Kosko., 1986]. En 2001, dans le cadre de la réalité virtuelle, Parenthoën propose de délocaliser les cartes cognitives floues au sein de chaque agent autonome afin de modéliser leur comportement perceptif [M. Parenthoën and Tisseau., 2001]. Le lecteur intéressé peut trouver une vue d'ensemble de cet outil de formalisation dans [Aguilar, 2005]. Les Cartes Cognitives Floues sont essentiellement des graphes d'influence orientés. Les nœuds sont des concepts ( $C_i$ ) regroupés dans un ensemble  $\mathcal{C} = \{C_1, \dots, C_n\}$ . Les arcs  $(C_i, C_j)$  sont orientés et représentent des liens de causalité entre les concepts. Un degré d'activation ( $a_i$ ) est associé à chaque concept, alors que le poids  $L_{ij}$  d'un arc traduit le degré d'excitation ou d'inhibition du concept  $C_i$  vers le concepts  $C_j$ . Un exemple de Carte Cognitive Floue est donné figure 6.2. La dynamique de la carte est calculée par produit matriciel normalisé comme indiqué par la définition formelle des Cartes Cognitives Floues donnée figure 6.3.

### 6.3.3.2 Éléments de validation : la voie des MAPK

En reprenant l'idée de Parenthoën [M. Parenthoën and Tisseau., 2001], nous modélisons le comportement d'un agent-cellule à l'aide d'une Carte Cognitive Floue que nous appellerons dorénavant Graphe d'Influence Flou (GIF). Un agent-cellule possède donc un GIF ayant des concepts sensitifs (*i.e.* concepts d'entrée) dont les degrés d'activation sont obtenus par *fuzzification* des données issues de ses récepteurs de surface (ou capteurs). Inversement, les actions de l'agent-cellule sont obtenues par *défuzzification* des degrés d'activation de concepts « moteurs » (*i.e.* concepts de sortie) du GIF (voir la figure 6.4).



La carte ci-contre est formée de 4 concepts et possède 7 arcs. Chaque concept  $C_i$  a un degré d'activation  $a_i$ .

$$a = \begin{pmatrix} a_1 \\ a_2 \\ a_3 \\ a_4 \end{pmatrix}, \quad L = \begin{pmatrix} 0 & +2 & -1 & -1 \\ 0 & -1 & 0 & +1 \\ -1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & +1 & 0 \end{pmatrix}$$

Un zéro dans la matrice des liens  $L_{ij} = 0$  désigne l'absence d'arc du concept  $C_i$  vers le concept  $C_j$  et un élément non nul de la diagonale  $L_{ii} \neq 0$  correspond à un arc du concept  $C_i$  sur lui-même.

Figure 6.2: Exemple de carte cognitive.

Afin de valider notre approche, nous avons choisi, comme pour les agents-réaction, de modéliser la voie des « Mitogen Activated Proteine Kinases » (MAPK). La figure 6.5 présente les GIF associés aux modèles de Huang-Ferrel (a) et de Kholodenko (b). On peut observer que le poids des arcs est de +1 pour l'activation et de -1 pour l'inhibition. Chaque concept représente la forme activée de la molécule (*e.g.* le nœud MAPK représente la forme activée de MAPK : MAPK-PP). La donnée d'entrée est la concentration de E1 donnée par l'agent-cellule. Cette concentration doit être *fuzzyfiée* avant d'être utilisée par le graphe d'influence. Les données de sortie MAPKK (concentration de MAPKK-PP) et MAPK (concentration de MAPK-PP) sont *défuzzyfiées* avant d'être utilisables par l'agent-cellule. Pour chacun des deux modèles, nous avons effectué deux simulations. La première avec 1 agent-cellule et la seconde avec 1000 agents-cellules. Pour évaluer notre approche, nous avons utilisé les courbes obtenues par Blüthgen [Bluthgen, 2001] grâce à des équations différentielles ordinaires (voir la figure 5.5 A et B). Nous avons pour cela tracé l'évolution des concentrations de MAPK, MAPKK et MAPKKK. Pour le modèle de Kholodenko, plus le nombre d'agents-cellules est grand, plus les courbes obtenues sont périodiques. Les machines virtuelles étant autonomes vis-à-vis de la cellule, l'hétérogénéité observée entre les différentes cellules est due à l'asynchronisme des SMA. Un agent-cellule pris individuellement n'a peut-être pas tout à fait le comportement désiré, par contre, le comportement d'un ensemble d'agents-cellules représente davantage la réalité. Signalons que dans ces simulations, contrairement à Blüthgen, nous n'utilisons volontairement pas les données cinétiques des réactions biochimiques intervenant dans la voie des MAPK, données disponibles dans la littérature. Nous avons adopté cette démarche car toutes les voies d'activation intracellulaires ne sont pas aussi bien connues que celle des MAPK et donc, les données cinétiques ne sont pas toujours accessibles.

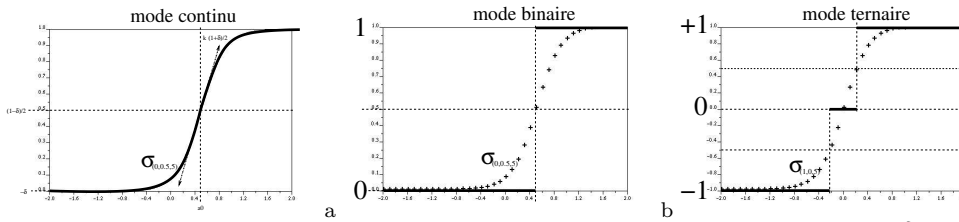
On désigne par  $K$  l'un des anneaux  $\mathbb{Z}$  ou  $\mathbb{R}$ , par  $\delta$  l'un des nombres 0 ou 1, par  $\mathcal{V}$  l'un des ensembles  $\{0, 1\}$ ,  $\{-1, 0, 1\}$ , ou  $[-\delta, 1]$ . Soient  $(n, t_0) \in \mathbb{N}^2$  et  $k \in \mathbb{R}_+^*$ .

Une **carte cognitive floue**  $\mathcal{F}$  est un sextuplet  $(\mathcal{C}, \mathcal{A}, L, A, f_a, \mathcal{R})$  où :

1.  $\mathcal{C} = \{C_1, \dots, C_n\}$  est l'ensemble des  $n$  concepts formant les nœuds d'un graphe.
2.  $\mathcal{A} \subset \mathcal{C} \times \mathcal{C}$  est l'ensemble des arcs  $(C_i, C_j)$  orientés de  $C_i$  vers  $C_j$ .
3.  $L : \begin{cases} \mathcal{C} \times \mathcal{C} & \rightarrow K \\ (C_i, C_j) & \mapsto L_{ij} \end{cases}$  est une fonction de  $\mathcal{C} \times \mathcal{C}$  vers  $K$  associant  $L_{ij}$  à un couple de concepts  $(C_i, C_j)$ , avec  $L_{ij} = 0$  si  $(C_i, C_j) \notin \mathcal{A}$ , ou avec  $L_{ij}$  égale le poids de l'arc orienté de  $C_i$  vers  $C_j$  si  $(C_i, C_j) \in \mathcal{A}$ .  $L(\mathcal{C} \times \mathcal{C}) = (L_{ij}) \in K^{n \times n}$  est une matrice de  $\mathcal{M}_n(K)$ . C'est la matrice des liens de la carte  $\mathcal{F}$  que, pour simplifier, on note  $L$  sauf indication contraire.
4.  $A : \begin{cases} \mathcal{C} & \rightarrow \mathcal{V}^{\mathbb{N}} \\ C_i & \mapsto a_i \end{cases}$  est une fonction qui à chaque concept  $C_i$  associe la suite de ses degrés d'activation telle que pour  $t \in \mathbb{N}$ ,  $a_i(t) \in \mathcal{V}$  soit son degré d'activation à l'instant  $t$ . On notera  $a(t) = [(a_i(t))_{i \in \llbracket 1, n \rrbracket}]^T$  le vecteur des activations à l'instant  $t$ .
5.  $f_a \in (\mathbb{R}^n)^{\mathbb{N}}$  une suite de vecteurs d'activations forcées tels que pour  $i \in \llbracket 1, n \rrbracket$  et  $t \geq t_0$ ,  $f_{a_i}(t)$  soit l'activation forcée du concept  $C_i$  à l'instant  $t$ .
6.  $\mathcal{R}$  est une relation de récurrence sur  $t \geq t_0$  entre  $a_i(t+1)$ ,  $a_i(t)$  et  $f_{a_i}(t)$  pour  $i \in \llbracket 1, n \rrbracket$  traduisant la dynamique de la carte  $\mathcal{F}$ .

$$\forall i \in \llbracket 1, n \rrbracket, a_i(t_0) = 0 ; \forall i \in \llbracket 1, n \rrbracket, \forall t \geq t_0, a_i(t+1) = \sigma \circ g \left( f_{a_i}(t), \sum_{j \in \llbracket 1, n \rrbracket} L_{ji} a_j(t) \right)$$

où  $g : \mathbb{R}^2 \rightarrow \mathbb{R}$  est une fonction de  $\mathbb{R}^2$  vers  $\mathbb{R}$ , par exemple :  $g(x, y) = \min(x, y)$  ou  $\max(x, y)$  ou  $\alpha x + \beta y$ , et où  $\sigma : \mathbb{R} \rightarrow \mathcal{V}$  est une fonction de  $\mathbb{R}$  vers l'ensemble des degrés d'activation  $\mathcal{V}$  normalisant les activations comme suit :



- (a) En mode continu,  $\mathcal{V} = [-\delta, 1]$ ,  $\sigma$  est la fonction sigmoïde  $\sigma_{(\delta, a_0, k)}$  centrée en  $(a_0, \frac{1-\delta}{2})$ , de pente  $k \cdot \frac{1+\delta}{2}$  en  $a_0$  et de limites en  $\pm\infty$  respectivement 1 et  $-\delta$  :

$$\sigma_{(\delta, a_0, k)} : \begin{cases} \mathbb{R} & \rightarrow [-\delta; 1] \\ a & \mapsto \frac{1 + \delta}{1 + e^{-k(a-a_0)}} - \delta \end{cases}$$

- (b) En mode binaire,  $\mathcal{V} = \{0, 1\}$ ,  $\sigma : a \mapsto \begin{cases} 0 & \text{si } \sigma_{(0,0.5,k)}(a) \leq 0.5 \\ 1 & \text{si } \sigma_{(0,0.5,k)}(a) > 0.5 \end{cases}$ .

- (c) En mode ternaire,  $\mathcal{V} = \{-1, 0, 1\}$ ,  $\sigma : a \mapsto \begin{cases} -1 & \text{si } \sigma_{(1,0,k)}(a) \leq -0.5 \\ 0 & \text{si } -0.5 < \sigma_{(1,0,k)}(a) \leq 0.5 \\ 1 & \text{si } \sigma_{(1,0,k)}(a) > 0.5 \end{cases}$ .

Figure 6.3: Définition d'une carte cognitive floue [Tisseau, 2001].



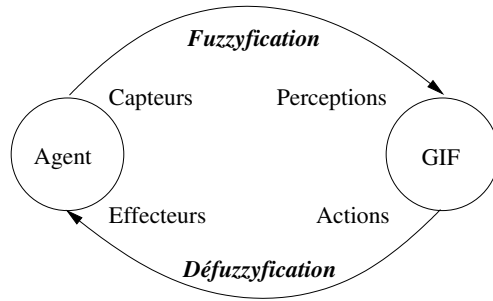


Figure 6.4: Association d'un agent à un Graphe d'Influence Flou.

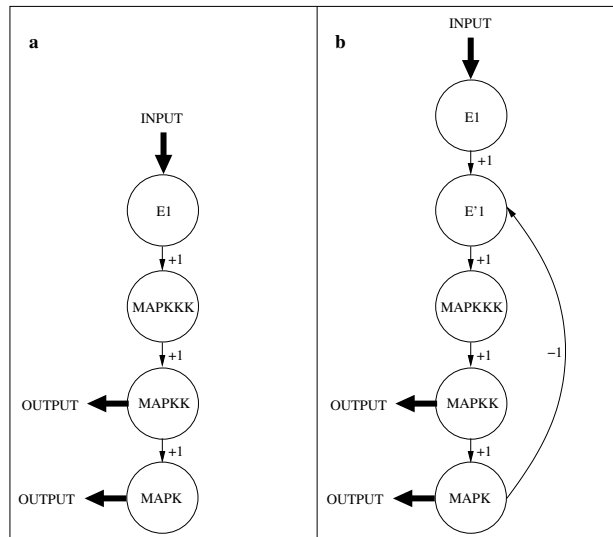
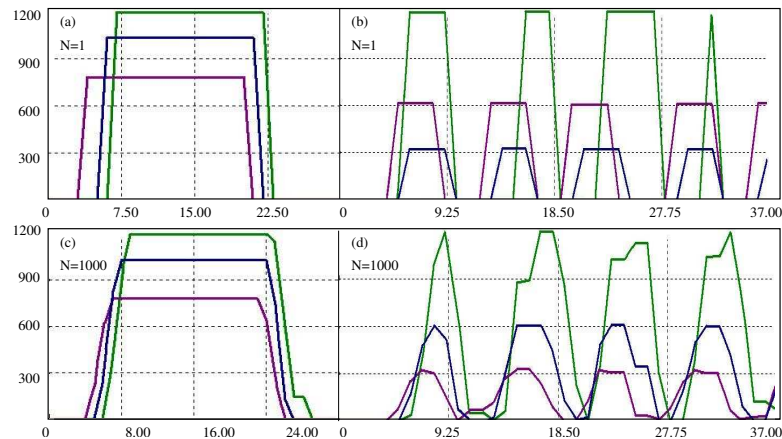


Figure 6.5: GIFs pour la modélisation de la voie des MAPK. a : GIF du modèle de Huang et Ferrell ; b : GIF du modèle de Kholodenko.



Les deux simulations du modèle de Huang et Ferell (voir les figures a et c) montrent que les concentrations de MAPK-PP (MAPK) sont très proches en amplitude avec celles obtenues par Blüthgen. Notons que, contrairement à Blüthgen, nous n'utilisons pas de donnée cinétique et donc que l'échelle de temps dans nos simulations n'a pas de signification biologique. La première simulation du modèle de Kholodenko avec 1 agent-cellule (voir la figure b) montre des signaux qui ne sont pas véritablement périodiques avec une « période » moyenne : 7.6 unités de temps et un écart-type : 0.55 unités de temps. Par contre, lorsque le nombre d'agents-cellules augmente, les signaux deviennent davantage périodiques (voir la figure d) avec, par exemple, pour 100 agents-cellules une période moyenne : 8 unités de temps et un écart-type : 0.47 et, pour 1000 agents-cellules une période moyenne : 7.9 unités de temps et un écart-type : 0.45.

Figure 6.6: Résultats des simulations de la voies des MAPK avec des GIF. a : modèle de Huang et Ferell avec  $N=1$  agent-cellule ; b : modèle de Kholodenko avec  $N=1$  agent-cellule ; c : modèle de Huang et Ferell avec  $N=1000$  agents-cellules (moyenne des concentrations) ; d : modèle de Kholodenko avec  $N=1000$  agents-cellules (moyenne des concentrations).

## Partie III

# L'application



## Le Myélome « in virtuo »

En France, 22 à 24 % des décès sont liés au cancer. La recherche en cancérologie est devenue une priorité nationale. De nombreuses données sont maintenant disponibles mais elles doivent encore être intégrées et interprétées pour être valorisées. Cependant, cette interprétation se heurte à la complexité des tumeurs. Tout le monde s'accorde à dire que les tumeurs sont des systèmes complexes mais une étude plus approfondie nous montre que la complexité apparaît à plusieurs niveaux *i.e.* au niveau cellulaire mais aussi au niveau tumoral. Les stratégies employées pour l'étude de la complexité tumorale impliquent donc la modélisation et la simulation de la tumeur au niveau microscopique mais aussi au niveau macroscopique. Devant ce constat, nous proposons une approche globale de modélisation des phénomènes complexes associées aux myélomes multiples (MM) par un système multi-agents autorisant la multi-modélisation. Aussi, après un premier tour d'horizon des modèles et simulations de tumeurs, dans (2<sup>ième</sup> section), nous proposerons nos modèles de MM.

### 7.1 La modélisation et la simulation des cancers

L'évolution tumorale est un processus complexe qui met en jeu de nombreux phénomènes à différentes échelles biologiques. Ces différents niveaux sont extrêmement interconnectés, ainsi le comportement du système modélisé à un niveau donné est lié à ce qui se passe aux autres niveaux. Ceci pose un défi pour le modélisateur car les modèles doivent donc tenir compte de ces différentes échelles pour capter le comportement global de la tumeur.

Du point de vue du biologiste, ces simulations peuvent être classées en trois grandes catégories : les simulations moléculaires (ou microscopiques), cellulaires (ou mésoscopiques) et tissulaires (ou macroscopiques). Les modèles microscopiques de cancer s'intéressent aux événements intracellulaires tels que le cycle cellulaire, la synthèse

ou la dégradation d'ADN et l'absorption de nutriments mais s'intéressent aussi aux interactions moléculaires de la cellule tumorale avec son micro-environnement. Les modèles mésoscopiques simulent le comportement cellulaire en fonction des interactions de la cellule avec son environnement. Enfin, le niveau macroscopique s'applique à modéliser le comportement du tissu tumoral et les phénomènes physiques présents dans la tumeur, comme par exemple la diffusion.

Du point de vue du modélisateur, ces simulations peuvent être classées en deux grandes catégories : les modèles mathématiques et les modèles informatiques. Les modèles mathématiques ont été les premiers à être développés, en se basant sur les modèles démographiques par équations différentielles. Ces modèles peuvent être déterministes ou stochastiques, continus ou discrets. Mais grâce à l'augmentation des puissances de calcul *in silico*, on a assisté à l'émergence de modèles issus des technologies de l'information et de l'intelligence artificielle. Ainsi, les simulations informatiques et mathématiques multi-échelles peuvent être associées pour permettre de modéliser efficacement la tumeur. Dans cette section, nous présenterons quelques modèles pour chaque niveau de modélisation. Nous allons commencer par présenter les modèles microscopiques et macroscopiques simulant le comportement des cancers avant de décrire les modèles mésoscopiques plus proche de notre étude.

## 7.1.1 Modélisation microscopique des cellules cancéreuses

### 7.1.1.1 Modélisation du cycle cellulaire et ses contrôles

La dérégulation du cycle cellulaire est un événement indispensable à l'apparition d'une tumeur. La dynamique du cycle cellulaire a été un des premiers aspects à être modélisé au niveau microscopique. Les études par microscopie optique ont pu mettre en évidence cinq phases dans le cycle cellulaire (figure 7.1) : les trois phases « *Gap* » ( $G_0$ ,  $G_1$  et  $G_2$ ), la phase de *Synthèse* et la phase de *Mitose*. Chaque phase ne peut débuter avant que la précédente ne soit achevée. La plus impressionnante est, certainement, la phase de *mitose* qui permet la séparation du matériel génétique préalablement dupliqué lors de la phase de *synthèse*. Ceci autorise la séparation des deux nouvelles cellules par la *cytodiérèse*. La phase  $G_1$  succédant à la cytodiérèse, marque le début du cycle cellulaire. Bien qu'elle ait été baptisée « phase Gap » car rien d'observable avec les techniques de l'époque ne s'y passait, c'est lors de cette phase qu'a lieu la croissance cellulaire. De même pour la phase  $G_2$ , c'est lors de cette dernière phase que la cellule se prépare à la division. Les cellules quiescentes, *i.e.* cellules qui ne sont pas engagées dans le cycle de division, sont dites en phase  $G_0$ . Il existe deux points de contrôle importants (Checkpoints) : le point  $G_1/S$  et le point  $G_2/M$  qui sont régulés par un certain nombre de gènes et les protéines associées. Aux premiers rangs de ceux-ci, nous retrouvons les gènes de la famille des *Cyclin-dependent protein kinase* (Cdk) et les *cyclines*. Ces dernières s'associent avec les Cdk et contrôlent leur

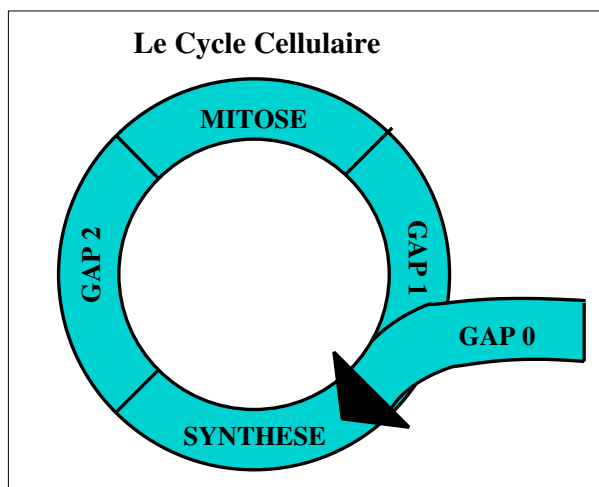


Figure 7.1: Le cycle cellulaire. Les cellules quiescentes sont en phase  $G_0$ , leur passage en phase S constitue l'entrée dans le cycle cellulaire. La phase  $G_2$  qui suit est nécessaire pour préparer la mitose, phase où les deux cellules se séparent. Ensuite les cellules rentrent soit en phase  $G_0$ , *i.e.* la cellule sort du cycle cellulaire, ou  $G_1$ , *i.e.* la cellule reste dans le cycle cellulaire.

activité de phosphorylation. Les hétérodimères contrôlant les points de contrôle  $G_1/S$  et  $G_2/M$ , sont appelés respectivement **S-phase promoting factor** (SPF) et **M-phase promoting factor** (MPF).

Les modèles qui, aujourd'hui, font référence pour le contrôle des deux checkpoints,  $G_1/S$  et  $G_2/M$ , ainsi que pour la régulation de la phase de mitose par le MPF, ont été proposés par Tyson et Novak [Novak and Tyson., 1993, Keener and Sneyd., 1998, Tyson and Novak, 2001]. Le premier point de contrôle qui précède la phase S est souvent appelé « point de départ », car c'est à ce niveau que se décide si la cellule peut entrer en phase de synthèse. Le modèle proposé par Tyson et Novak, réalisé sur une levure, implique le SPF, noté  $S_a$  sous sa forme active et  $S_i$  sous sa forme inactive.  $S_i$  est activée par une cycline ( $N$ ) et le complexe « **Starter Kinase** » (Cdc28-Cln3) noté  $A$ . Le SPF peut être aussi inactivé par une phosphatase notée  $E$ . La cycline est produite par l'activation du SPF et dégradée naturellement. On peut donc en déduire le modèle proposé dans la figure 7.2.

Le contrôle de l'entrée en phase M est similaire à celui de l'entrée en phase S. Il met en jeu deux cyclines : Cln (noté N) et Clb (noté B). La première est dégradée naturellement et rapidement, elle doit donc être synthétisée continuellement. Par contre, Clb est dégradée par d'autres enzymes et sa dégradation est inhibée par le MPF (le dimère Cln-Cdc28). De plus, la synthèse de Cln est inhibée par Clb. L'ensemble de ces réactions peut être décrit par les équations présentées dans la figure 7.3.

La mitose est possible lorsque suffisamment de MPF est activé. La figure 7.5 correspond à la résolution numérique du modèle 7.4 présenté dans ce paragraphe et qui permet

$$\begin{aligned}\frac{d[N]}{dt} &= \overbrace{\frac{k_1[S_a]}{k_s + [S_a]}}^{\text{Synthèse}} - \overbrace{\frac{k_2[N]}{k_2[N]}}^{\text{dégradation}} \\ \frac{d[S_a]}{dt} &= \overbrace{k_3([A] + [N])\frac{[S_i]}{k_i + [S_i]}}^{\text{Activation}} - \overbrace{k_4[E]\frac{[S_a]}{k_a + [S_a]}}^{\text{Inhibition}}\end{aligned}$$

 Figure 7.2: Contrôle du point  $G_1/S$ .

$$\begin{aligned}\frac{d[S_a]}{dt} &= \overbrace{k_3([A_1] + [N])\frac{[S_i]}{k_{S_i} + [S_i]}}^{\text{Activation}} - \overbrace{k_4([E_1] + [B])\frac{[S_a]}{k_{S_a} + [S_a]}}^{\text{Inactivation}} \\ \frac{d[B]}{dt} &= \overbrace{\frac{K_5[R_a]}{k_r + [R_a]}}^{\text{Synthèse}} - \overbrace{K_6[B]\frac{k_n}{k_n + [N]}}^{\text{Dégradation}} \\ \frac{d[R_a]}{dt} &= \overbrace{k_7([A_2] + [B])\frac{[R_i]}{k_i + [R_i]}}^{\text{Activation}} - \overbrace{k_4[E_3]\frac{[R_a]}{k_{r_a} + [R_a]}}^{\text{Inactivation}}\end{aligned}$$

 Figure 7.3: Contrôle du point  $G_2/M$ .

d'étudier la régulation de la phase M dans les ovocytes de *Xénopus*. Ici, le MPF est un dimère Cdc2-CyclinB qui est activé lorsqu'il est phosphorylé, uniquement, sur la Thréonine 167. Par contre la phosphorylation sur la tyrosine 15 inactive le MPF. Le MPF est activé par une kinase appelée CAK et peut être déphosphorylé par une enzyme inconnue. L'inactivation du MPF via la phosphorylation de la tyrosine 15 est effectuée par la protéine Wee1, elle-même inactivée par le MPF actif. L'inactivation sur la tyrosine 15 peut être levée par la protéine Cdc25 qui est activée par le MPF phosphorylé sur la thréonine 167. Après marquage, la cycline peut être dégradée par l'*Ubiquitin-conjugating enzyme* (UbE). L'activation de UbE par le MPF actif se fait par une enzyme intermédiaire, notée IE. Cette dernière peut être elle aussi inhibée.

Les signaux autorisant l'entrée des cellules dans le cycle cellulaire sont apportés par des voies de transmission. Une partie des perturbations mises en évidence dans les tumeurs est associée à ces voies. Ces cascades sont, par conséquent, des sujets d'études privilégiés des bio-mathématiciens. Par exemple, la voie des MAPK apporte régulièrement des signaux mitotiques à la cellule. Plusieurs modèles ont été proposés dans la littérature (cf chapitre 5) et validés par des simulations numériques. Cependant de telles simulations par des équations différentielles nécessitent la connaissance de nombreuses conditions et celles-ci sont considérées comme constantes au cours du déroulement de la simulation. Or, les cellules cancéreuses sont des systèmes instables où l'apparition de perturbations génétiques ou cytogénétiques peut modifier ces conditions. Voyons maintenant, pour illustrer ce point, la simulation de l'apparition des anomalies



$$\begin{aligned}
 \frac{d[\text{Cyclin}]}{dt} &= k_1 - k_2[\text{Cyclin}] - k_3[\text{Cdk1}][\text{Cyclin}] \\
 \frac{d[\text{YT}]}{dt} &= K_{pp}[\text{MPF}](k_{wee} + k_{cak} + k_2)[\text{YT}] + k_{25}[\text{PYT}] + k_3[\text{Cdk}][\text{Cyclin}] \\
 \frac{d[\text{PYT}]}{dt} &= k_{wee}[\text{YT}] - (k_{25} + k_{cak} + k_2)[\text{PYT}] + k_{pp}[\text{PYTP}] \\
 \frac{d[\text{PYTP}]}{dt} &= k_{wee}[\text{MPF}] - (K_{pp} + k_{25} + k_2)[\text{PYTP}] + k_{cat}[\text{PYT}] \\
 \frac{d[\text{MPF}]}{dt} &= k_{cak}[\text{YT}] - (k_{pp} + k_{wee} + k_2)[\text{MPF}] + k_{25}[\text{PYTP}] \\
 \frac{d[\text{Cdc25P}]}{dt} &= \frac{k_a[\text{MPF}]([\text{totalcdc25}] - [\text{cdc25P}])}{k_a + [\text{totalcdc25}] - [\text{cdc25P}]} - \frac{K_b[\text{PPase}][\text{cdc25P}]}{k_b + [\text{cdc25P}]} \\
 \frac{d[\text{Wee1P}]}{dt} &= \frac{k_e[\text{MPF}]([\text{totalWee1}] - [\text{Wee1p}])}{k_e + [\text{totalwee1}] - [\text{wee1p}]} - \frac{[\text{PPase}][\text{wee1P}]}{k_f + [\text{wee1P}]} \\
 \frac{d[\text{IEP}]}{dt} &= \frac{k_g[\text{MPF}]([\text{totalIE}] - [\text{IEP}])}{k_g + [\text{totalIE}] - [\text{IEP}]} - \frac{k_h[\text{PPase}][\text{IEP}]}{k_h + [\text{IEP}]} \\
 \frac{d[\text{APC}^*]}{dt} &= \frac{K_c[\text{IEP}]([\text{totalAPC}] - [\text{APC}^*])}{k_c + [\text{totalAPC}] - [\text{APC}^*]} - \frac{k_d[\text{antiIE}][\text{APC}^*]}{k_d + [\text{APC}^*]} \\
 K_{25} &= V_{25}'([\text{totalcdc25}] - [\text{cdc25P}]) + V_{25}^>[\text{cdc25P}] \\
 k_{wee} &= V_{wee}'[\text{wee1P}] + V_{wee}^>([\text{totalwee1}] - [\text{wee1P}]) \\
 k_2 &= V_2'([\text{totalAPC}] - [\text{APC}^*]) + V_2^>[\text{APC}^*]
 \end{aligned}$$

Figure 7.4: Régulation du MPF dans les oeufs de grenouilles, proposé par Tyson et Novak [Tyson and Novak, 2001].

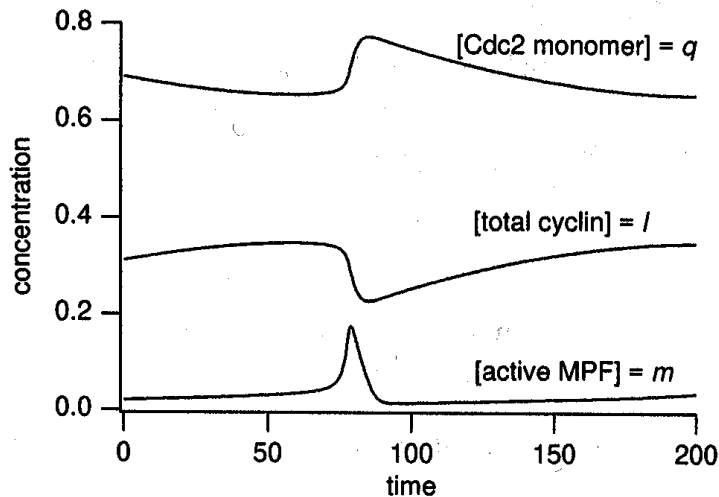


Figure 7.5: Évolution du MPF lors du cycle cellulaire.

génétiques.

### 7.1.1.2 Processus génétiques, mutations et désordres cytogénétiques

L'autre aspect largement développé dans la littérature pour la modélisation à un niveau microscopique des processus tumoraux, est l'étude des dommages provoqués à l'ADN et responsables de la progression tumorale. Ceci est rendu possible grâce à la découverte de la structure hélicoïdale du double brin d'ADN par Watson et Crick en 1953 [WATSON and CRICK., 1953]. Depuis, grâce aux progrès de la dynamique moléculaire [Beveridge and McConnel., 2000], *i.e.* l'analyse des forces d'interaction électrochimique des constituants atomiques des molécules, la structure de l'ADN a pu être affinée et il est maintenant possible d'étudier les effets d'une mutation sur la structure du double brin d'ADN [Broyde and Hingerty., 1999] et d'analyser les agents permettant de couper celui-ci [P.A. Wender and Miller., 1991].

De nombreux auteurs se sont attachés à étudier la structure et la dynamique de la chromatine dans la mesure où cela intervient de façon importante dans la régulation des processus génétiques [Beard and Schlick., 2001]. Cependant des doutes subsistent quant à la véritable structure de celle-ci. D'autres se sont intéressés aux effets des radiations sur la chromatine lors de l'interphase. Une des principales difficultés provient de l'inconnu sur la structure chromatinienne [G. Kreth and Cremer., 1998, Ponomarev and Sachs., 1999].

La première étape consiste donc à créer un modèle de chromatine, Kreth et coll [G. Kreth and Cremer., 1998] proposent quatre différents modèles de chromatine

et comparent les dommages provoqués par les radiations sur l'ADN. La probabilité d'échange de matériel génétique est de :

$$P(d) = r^{1.4} \frac{1}{d^{1.4}}$$

avec  $d$  la distance entre deux cassures double-brins présents sur l'ADN. Il est alors possible de calculer pour chaque cas le taux d'apparition d'aberrations chromosomiques (t-rate). Les résultats ainsi obtenus montrent une différence entre les différents modèles de chromatine à l'interphase. Ceci confirme donc l'importance de la structure de la chromatinienne pour l'étude des phénomènes cancérogènes. De plus, la comparaison de ces résultats avec une population de 91 survivants d'Hiroshima montre que deux modèles régionalisés et un modèle non-régionalisé peuvent *a priori* convenir pour une telle modélisation.

Ballarini [Ballarini and Ottenlenghi., 2003] compare l'effet des différents types de rayon sur un modèle de chromatine basé sur une marche aléatoire dans un espace 3D. Chaque rayon ayant son mode d'action, il est possible de comparer l'effet de deux rayons sur l'apparition d'aberrations chromosomiques. Selon le type de rayons, le nombre de lésions complexes est extrait d'une loi de Poisson et les lésions sont aléatoirement distribuées sur le noyau ou distribuées sur un axe représentant le rayon traversant la chromatine. Cet aspect de la simulation en oncologie peut apporter des éléments importants quant à la compréhension des mécanismes de la progression tumorale. Les résultats montrent que les perturbations sont difficilement prévisibles. Ainsi, les conditions ne peuvent pas être assurées pour la durée de la simulation.

## 7.1.2 Modélisation macroscopique des tumeurs cancéreuses par équations différentielles

La croissance tumorale est caractérisée par un certain nombre d'étapes : la croissance tumorale initiale sans vascularisation, la vascularisation et la métastase. La croissance est limitée par l'apport des nutriments et la place disponible d'où la nécessité pour la tumeur de stimuler *l'angiogénèse* et à terme pour les cellules de migrer vers d'autres tissus. Dans les prochaines sections, nous allons donc nous intéresser à la croissance tumorale avec ou sans vascularisation et aux phénomènes d'invasion tissulaire.

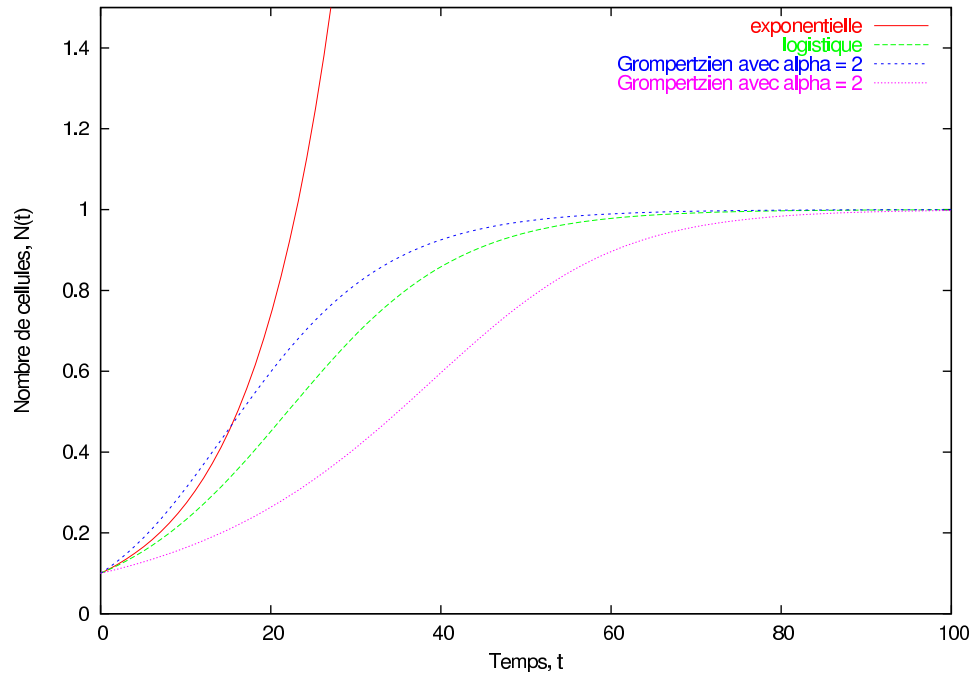


Figure 7.6: Courbes de l'évolution tumorale en fonction de la loi choisie. Les paramètres utilisés sont  $k = 0.1$ ,  $\theta = 1.0$ ,  $N_0 = 0.1$ ,  $\alpha = 0.5$  ou  $\alpha = 2.0$ .

Les premiers modèles mathématiques ont été développés pour l'étude de la cinétique de tumeurs homogènes, *i.e.* avec un seul type de cellules et sans vascularisation. Le premier modèle développé se base sur une cinétique exponentielle :

$$N(t) = N_0 \exp^{kt} \text{ avec } k > 0.$$

Ce modèle ne prend pas en compte les contraintes dues à la disponibilité de nutriments, des facteurs de croissance et des contraintes spatiales. Ainsi, il ne peut que simuler la croissance d'une tumeur initiale avec un diamètre inférieur à 3 millimètres.

Par contre, le modèle logistique permet de visualiser la croissance tumorale du début jusqu'à la saturation :

$$N(t) = \frac{\theta N_0}{N_0 + (\theta - N_0) \exp^{-kt}}$$

avec  $\theta$  la capacité de la tumeur.

Enfin, le modèle Gompertzien est une généralisation du modèle logistique. Il permet de mieux ajuster la cinétique de la tumeur aux données expérimentales :

$$N(t) = \theta \left( \frac{N_0^\alpha}{N_0^\alpha + (\theta^\alpha - N_0^\alpha) \exp^{-kt}} \right)$$

De ces équations, il est possible d'en déduire le comportement de la tumeur lors de traitement anti-cancéreux [Byrne., 2003]. Pour cela, il est nécessaire de calculer la

$$\begin{aligned}
 \frac{dn}{dt} &= \overbrace{D_n \nabla^2 n}^{\text{mouvement aléatoire}} - \overbrace{\chi \nabla \cdot (n \nabla f)}^{\text{haptotaxis}}, \\
 \frac{df}{dt} &= - \overbrace{\delta m f}^{\text{dégradation}}, \\
 \frac{dm}{dt} &= \overbrace{D_m \nabla^2 m}^{\text{diffusion}} + \overbrace{n}^{\text{production}} - \overbrace{\theta u m}^{\text{neutralisation}} - \overbrace{-\lambda m}^{\text{dégradation}}, \\
 \frac{du}{dt} &= \overbrace{D_U \nabla^2 u}^{\text{diffusion}} + \overbrace{F(m, f)}^{\text{production}} - \overbrace{\theta u m}^{\text{neutralisation}} - \overbrace{\epsilon u}^{\text{dégradation}}.
 \end{aligned}$$

Figure 7.7: Modèle de réaction-diffusion de l'invasion tissulaire.

concentration moyenne de l'agent actif présent dans la tumeur :

$$\frac{dA}{dt} = a(t) - \lambda A - \gamma AN$$

avec  $\frac{dA}{dt}$  la variation de la concentration en fonction du temps,  $\lambda$  la demie-vie du principe actif,  $\gamma$  le taux de disparition de la drogue due à la mort cellulaire et enfin  $a(t)$  la vitesse d'injection de la drogue. Chaplain [Chaplain and Anderson., 2003] propose deux types de protocoles pour l'injection d'un agent anti-cancéreux :

- Infusion continue :  $a(t) = a_\infty \forall t \geq 0$
- Infusion périodique :  $a(t) = \begin{cases} a_\infty & n < t < n + \tau \\ 0 & n + \tau < t < n + 1 \end{cases}$

Comme le montrent les précédents modèles, il existe une saturation. Pour pouvoir progresser plus encore, il existe deux possibilités : l'invasion des tissus environnants ou plus éloignés et l'angiogénèse.

Chaplain [Chaplain and Anderson., 2003] propose un modèle simple, basé sur les équations de réaction-diffusion permettant de simuler l'invasion des tissus lors des premières étapes en fonction de :

- la densité des cellules tumorales ( $n$ ) ;
- la densité de la matrice extra-cellulaire (ECM) ( $f$ ) ;
- la concentration des enzymes de dégradation de l'ECM (MDE)( $m$ ) ;
- la concentration d'inhibiteur ( $u$ ).

La modification des différentes variables du modèle peut être calculée grâce aux équations différentielles du tableau 7.1.2. La figure 7.8 montre les résultats en deux dimensions du modèle proposé par Chaplain. Le principal reproche énoncé dans la littérature à l'encontre de ces modèles est qu'ils négligent l'aspect cellulaire en ne se concentrant que sur le comportement global de la population. Ainsi, a-t-il été proposé l'utilisation des approches individus-centrées par automates cellulaires et, plus récemment, par systèmes multi-agents.

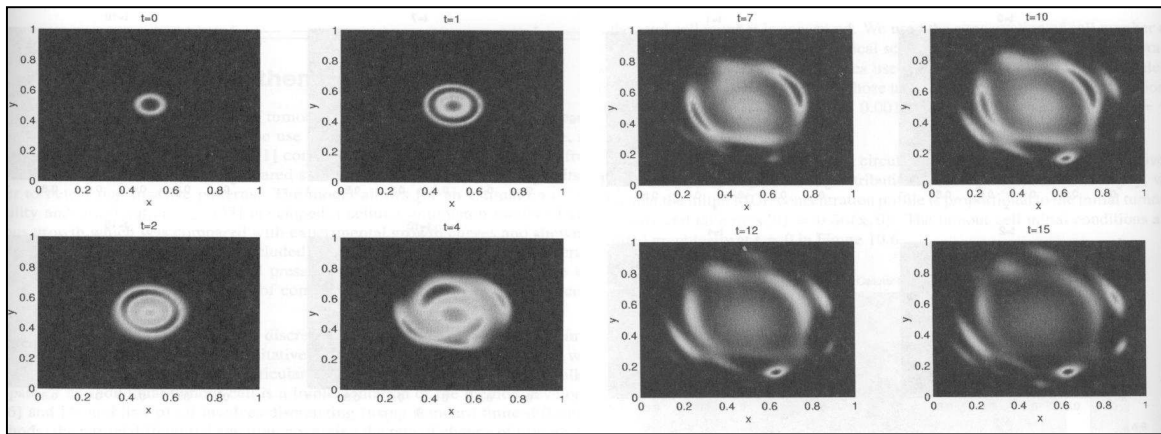


Figure 7.8: Evolution de la diffusion des cellules tumorales en 2D.

### 7.1.3 Modélisation des tumeurs par automates cellulaires

Les premiers modèles de tumeur par automates cellulaires datent du début des années 80 [Duchting and Dehl., 1980, Duchting and Vogelsaenger., 1985]. L'objectif de tels modèles est d'étudier la cinétique tumorale et les « patterns » observés lors de la phase d'invasion tissulaire.

La première étape, dans la construction de ces modèles, consiste à discrétiser le milieu. Selon ce que l'on cherche à modéliser, le milieu peut être soit en deux dimensions [Duchting and Dehl., 1980, T. Alarcon and Maini., 2001] soit en trois dimensions [Duchting and Vogelsaenger., 1985, Duchting and Vogelsaenger., 1986, Duchting and Ginsberg., 1996, A.R. Kansal and Deisboeck., 2000a,b]. Chaque « cellule » ainsi créée peut être un espace vide, une cellule saine, une cellule cancéreuse ou un vaisseau sanguin (figure 7.9). Alors que la majorité des grilles (ou vortex) sont homogènes, Kansal [A.R. Kansal and Deisboeck., 2000a] utilise une grille de Voronoï pour synthétiser un espace 3D. Ceci permet une simulation plus fine du « *glioblastoma multiforme* » (GBM), dans les premières étapes de la tumeur grâce à une densité de « cellules » supérieure au centre de l'espace 3D.

Le comportement des différentes cellules est contrôlé par des règles dont certaines modélisent l'interaction avec les cellules avoisinantes. Ainsi, une cellule ne peut se diviser que si il existe un espace libre à proximité immédiate. De plus, la majorité des modèles tient compte de la disponibilité en nutriments et/ou en facteurs de croissance [Duchting and Vogelsaenger., 1986, Duchting and Ginsberg., 1996, T. Alarcon and Maini., 2001, A.R. Kansal and Deisboeck., 2000a,b, Chaplain and Anderson., 2003, Anderson and Chaplain., 1998, A.A. Patel and Gatenby., 2001]. La biodisponibilité est codée sous forme de concentration dans le milieu ou d'éloignement des sources, vaisseaux sanguins ou milieu extérieur de la tumeur. Selon les auteurs, les automates incorporent aussi les notions de cycle cellulaire [Duchting and Dehl., 1980, Duchting

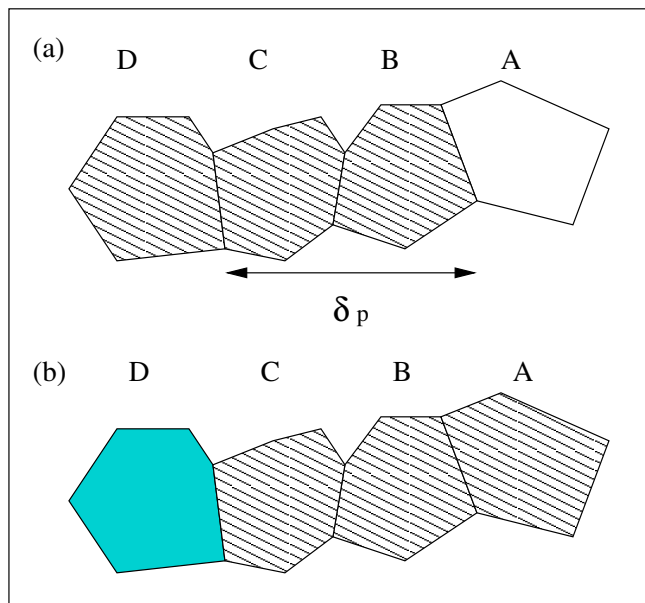


Figure 7.9: Représentation schématique de la croissance tumorale par automate cellulaire. Les « cases » blanches sont des « cases » vides; les « cases » rayées sont des « cases » pleines et les « cases » uniformes sont des cellules nécrotiques. Les cellules distantes de plus de  $\delta p$  d'une « case » vide deviennent alors nécrotiques.

and Vogelsaenger., 1985, Duchting and Vogesaenger., 1986, Duchting and Ginsberg., 1996], de pH [A.A. Patel and Gatenby., 2001] et de pression mécanique imposée par la tumeur (figure 7.9) [A.R. Kansal and Deisboeck., 2000a,b].

L'intérêt de ces derniers modèles est de pouvoir aussi évaluer les différents traitements [Duchting and Dehl., 1980, Duchting and Vogelsaenger., 1985, Duchting and Vogesaenger., 1986, Duchting and Ginsberg., 1996] et l'angiogénèse induite par la tumeur [Anderson and Chaplain., 1998]. Au fur et à mesure que les modèles intègrent des nouveaux éléments, ils se complexifient et nécessitent de nouvelles approches. Pour cela, certains auteurs utilisent des automates cellulaires « hybrides » permettant l'utilisation de mathématiques discrètes (automates cellulaires) et continues [T. Alarcon and Maini., 2001].

Alors que la majorité des modèles s'intéresse à l'effet de l'environnement sur le comportement des cellules tumorales, Gusev [Y. Gusev and Dooley., 2000] propose un modèle stochastique de ségrégation chromosomique à partir d'une cellule clonale. Pour cela, chaque cellule possède un nombre  $K$  de types de chromosomes,  $K = 23$  pour les cellules humaines. Pour chaque division, les chromosomes se reproduisent et les deux chromatides se séparent de façon déterministe. C'est au niveau de la ségrégation des chromatides entre les deux cellules filles que la probabilité de  $P_{se}$  d'erreur existe. Ainsi, les différentes probabilités sont de :

- $0.5P_{se}$  que la première cellule reçoive les deux chromatides ;
- $0.5P_{se}$  que la deuxième cellule reçoive les deux chromatides ;

– 1 –  $P_{se}$  que les deux chromatides se séparent normalement.

Grâce aux automates cellulaires, le comportement peut varier d'une « cellule » à une autre. Cependant, les modèles présentés ci-dessus prennent comme individu l'espace plutôt que la cellule en elle-même. Voyons maintenant les modèles individus-centrés à base d'agents utilisés pour la modélisation des tumeurs.

### 7.1.3.1 Les modèles multi-agents

Deisboeck et son équipe proposent un modèle orienté agent [Y. Mansuri and Deisboeck., 2002, Mansuri and Deisboeck., 2003] pour l'étude des « patterns » émergents lors de « *Glioblastoma multiforme* » sur une grille 2D. Contrairement aux modèles à base d'automates cellulaires présentés ci-dessus, ici, l'individu est la cellule tumorale et non une « case » de l'environnement. A chaque instant de la simulation, il existe pour chaque cellule une probabilité de migrer, de proliférer ou de mourir. Ces probabilités peuvent être calculées en fonction de l'apport en nutriments, des contraintes mécaniques et de la toxicité des métabolites rejetés par les cellules cancéreuses.

La probabilité de proliférer est fonction de la quantité en nutriments ( $\Phi$ ) et d'une constante ( $K_\Phi$ ) :

$$P_{proliferate}(j) = \frac{\Phi}{K_\Phi + \Phi_j}$$

alors que la probabilité de mourir est fonction des métabolites ( $\tau$ ) et d'une constante ( $k_\tau$ ) :

$$P_{death}(j) = \frac{\tau_j}{k_j + \tau_j}$$

Dans ce modèle, les cellules migrent de façon à trouver un endroit avec une plus forte concentration en nutriments et à éviter les lieux surpeuplés par les autres cellules cancéreuses productrices de métabolites toxiques. Une caractéristique de leur modèle est qu'il existe une recherche globale et une recherche locale afin de déterminer le meilleur endroit où migrer. La première étape consiste à calculer globalement quel est l'endroit le plus propice à la migration grâce à la formule ci-dessous :

$$G_{ij} = f(l_j) \sqrt{\frac{\rho}{2\pi}} \exp \frac{-\rho d_{ij}^2}{2}$$

$G_{ij}$  est la valeur caractérisant la qualité de vie au point  $j$  calculée pour une cellule venant de  $i$ ,  $l_j$  est le nombre de cellules en  $j$ ,  $d_{ij}$  est la distance entre  $i$  et  $j$  et  $\rho$  est le coût du mouvement. Ce coût peut être calculé en fonction de la résistance mécanique contre la migration  $P_j$  :

$$\rho = r_\rho P_j$$

avec  $r_\rho$ , l'inverse de capacité de la cellule à migrer.  $f(l_j)$  postule que les cellules préfèrent s'agréger avec les autres tant que l'endroit n'est pas surpeuplé. Ainsi, on en déduit :

$$f(l_j) = l_j - cl_j^2$$



où  $c$  est le paramètre représentant la compétition entre les cellules pour l'endroit le plus agréable.

Il est ensuite, possible de calculer la meilleure affinité pour un endroit proche de celui déterminé précédemment.

$$L_j(l_j, \Phi_j, \tau_j, P_j) = l_j - cl_j^2 + q_\Phi \Phi_j - q_\tau \tau_j - q_p p_j + \sum_{i \in \text{voisins}} (l_i - cl_i^2)$$

où  $q_\Phi > 0$ ,  $q_\tau$  et  $q_p > 0$  sont respectivement les coefficients de nutrition, de toxicité et de résistance mécanique.

Maintenant que nous avons donc fait une revue de littérature sur la modélisation des cancers, nous allons présenter notre modèle multi-agents pour la modélisation des myélomes multiples. Aux vues de ce qui existe dans la littérature, nous proposons de simuler le comportement global de la tumeur myélomateuse en fonction des réseaux de transmission dans la cellule. Ceci impose une modélisation multi-échelle des myélomes. C'est l'objet de la section suivante.

## 7.2 Le Myélome « *in virtuo* »

Les myélomes multiples (MM) sont caractérisés par une accumulation anormale de plasmocytes tumoraux dans la moelle osseuse. Ceci s'explique par la dépendance des cellules myélomateuses pour des signaux de prolifération présents dans la moelle. Pour mieux appréhender les mécanismes de prolifération de cellules myélomateuses, nous proposons dans cette thèse un modèle multi-agents de prolifération médullaire des cellules myélomateuses basé sur l'expression membranaire d'une tyrosine phosphatase, le CD45. Nous avons implémenté notre simulation grâce à notre modèle générique multi-agents de simulation des phénomènes biologiques complexes. Elle est décomposée en deux « organisations » une organisation « cellule myélomateuse », qui calcule pour chaque cellule son comportement en fonction des interactions chimiques et biologiques avec son environnement, et une organisation « tumeur myélomateuse », qui gère les contraintes mécaniques et chimiques de l'environnement, les aspects graphiques et les interfaces avec l'utilisateur.

### 7.2.1 Le modèle biologique

#### 7.2.1.1 L'expression de CD45 dans les myélomes multiples

Dans [Pellat-Deceunynck and Bataille., 2004], l'auteur propose un modèle de maturation plasmocytaire en fonction du phénotype CD45. En effet, l'étude des différents phénotypes plasmocytaires dans les amygdales, la circulation périphérique et la moelle osseuse, montre que les deux premiers compartiments sont homogènes

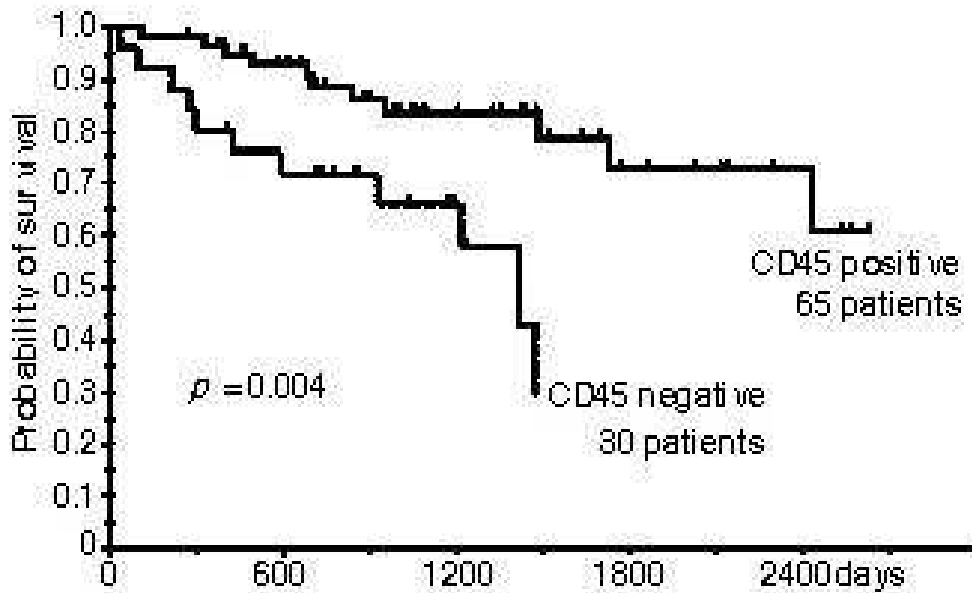


Figure 7.10: Influence du CD45 sur la survie des patients. Soit  $p$  la probabilité de survie du patient, le graphique présenté ci-dessus montre que la probabilité de survie pour un patient  $CD45_{neg}$  est en tout point inférieure à celui dont les cellules myélomateuses expriment CD45.

quant à l'expression du CD45 sur la membrane des plasmocytes normaux. En effet contrairement à la moelle osseuse, où l'on trouve des cellules  $CD45_{bright}$  (cellules qui expriment fortement CD45),  $CD45_{low}$  (cellules qui expriment faiblement CD45) et  $CD45_{neg}$  (cellules qui n'expriment pas CD45), les plasmocytes sanguins et ceux présents dans les amygdales expriment tous fortement CD45. Cette observation va dans le sens d'un déclin de l'expression de CD45 avec la maturation plasmocytaire. De plus, il a été mis en évidence une corrélation entre l'expression de CD45 et la prolifération des plasmocytes. Joshua ? fut le premier à mettre en évidence ce phénomène dans les myélomes multiples. Ainsi, les cellules les moins matures ( $CD45_{bright}$ ) prolifèrent plus que les cellules  $CD45_{low}$  et  $CD45_{neg}$ . Récemment, Bataille [R. Bataille and Amiot., 2003] a mis en évidence que l'expression de CD45 est un facteur pronostique important chez les patients atteints de MM. Ainsi la présence de cellules CD45 Neg est associée à une plus faible probabilité de survie (figure 7.10). De plus, il semblerait que l'annihilation du CD45 soit caractéristique non seulement des maladies les plus agressives mais aussi d'une des dernières périodes de la vie du patient, on en déduit donc le modèle de la figure 7.11. Ces deux éléments apparemment contradictoires (taux de prolifération et espérance de vie), nous poussent à nous intéresser au rôle du CD45 dans la signalisation cellulaire 7.12.

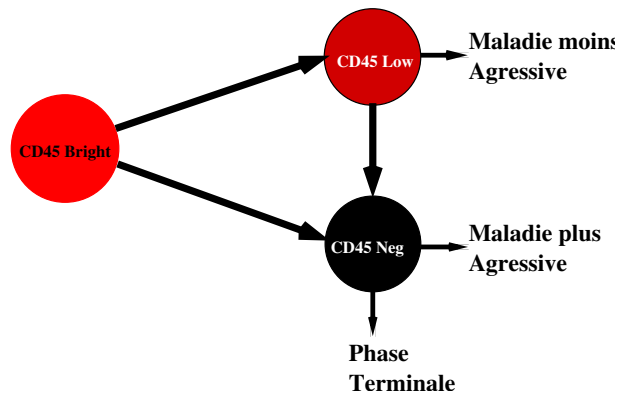


Figure 7.11: Les différents stades du myélome en fonction du CD45 ; l'annihilation complète du CD45 caractérise les myélomes les plus agressifs, réduisant ainsi la durée de vie du patient.

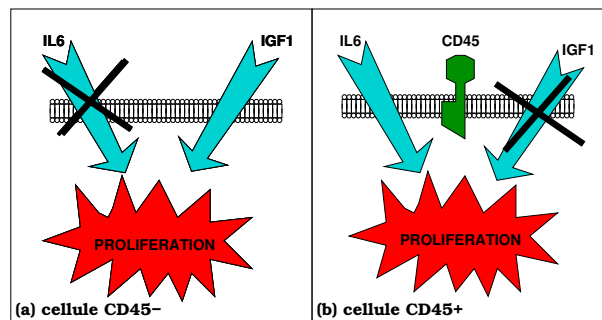


Figure 7.12: Le CD45 influence le choix du « carburant » utilisé par la cellule myélomateuse ; la présence de CD45 inhibe les signaux de prolifération envoyés par IGF-1 et, par contre, sa présence est nécessaire pour la croissance tumorale via l'IL-6.

### 7.2.1.2 Rôle du CD45 dans la signalisation de l'IL6

L'IL-6 est une cytokine pléiotropique. Elle a notamment un rôle dans la prolifération myélomateuse. Cette découverte permet d'ailleurs l'isolement de lignées myélomateuses à partir de plasmocytes fraîchement aspirés d'une moelle de patients atteints de myélomes. Cependant, une étude approfondie des échantillons aspirés a mis en évidence qu'une seule partie des plasmocytes tumoraux était sensible aux signaux de prolifération par IL-6. Bien que les mécanismes d'action de l'IL-6 soient connus depuis longtemps, ce phénomène est resté inexpliqué pendant un certain nombre d'années. Kawano et son équipe [H. et al., 2000] ont en partie levé cette interrogation en expliquant le rôle du CD45 dans le signaling IL-6 pour la prolifération cellulaire. En effet, ils ont montré que la prolifération IL-6-dépendante nécessite la présence de CD45 qui induirait son action par une protéine de type SRC, Lyn. Donc, seules les cellules exprimant fortement CD45 sont en mesure de proliférer en réponse à l'IL-6. Enfin, lorsque les lignées de cellules myélomateuses sont mises dans un milieu riche en IL-6, les cellules commencent à exprimer des molécules de CD45 à leur surface. Cette action serait indépendante de la voie des MAPK.

### 7.2.1.3 Rôle du CD45 dans le signaling IGF-1

Le rôle de l'IL-6 dans la prolifération myélomateuse est maintenant bien connu. Cependant il existe des cellules qui peuvent proliférer en absence d'IL-6. En effet, il a été montré que la voie des PI3K-AKT peut être activée dans les cellules myélomateuses. Hors l'IL-6 stimule principalement les voies des MAPK et JAK-STAT. Ceci a permis de mettre en évidence le rôle de l'IGF-1 dans la prolifération myélomateuse sous certaines conditions. R. Bataille and Amiot. [2003] ont mis en évidence que dans la cellule myélomateuse, à l'instar de ce que l'on peut observer dans d'autres types cellulaires, le CD45 peut inhiber le signaling PI3K-AKT issu de l'IGF-1 [G. Descamps and Amiot., 2004]. Il semblerait même qu'il existe une interaction physique entre le CD45 et le récepteur à IGF-1. Á la lumière de ce que l'on a précédemment indiqué, nous allons proposer un modèle de prolifération myélomateuse au niveau moléculaire. Grâce à notre modèle de simulation de phénomènes biologiques complexes et à notre plateforme multi-agents, oRis, nous allons simuler ce modèle.

## 7.2.2 Prototypage du modèle de MM

Le prototypage consiste à créer un nouveau modèle. Nous allons montrer l'exemple de deux modèles biologiques que nous avons proposés et l'implémentation avec notre architecture multi-agents.

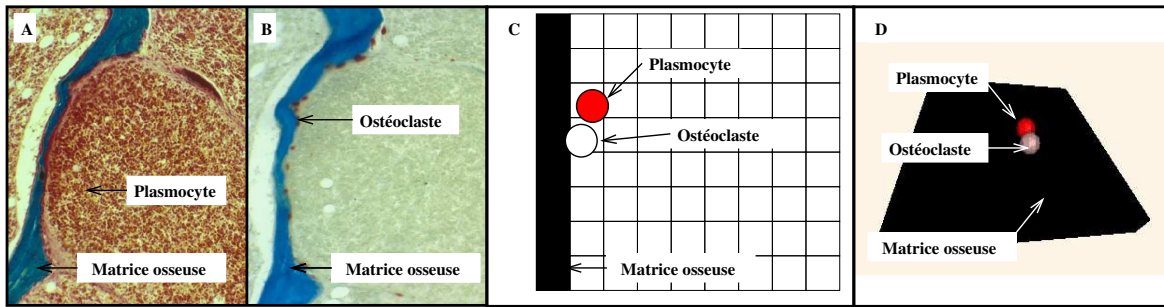


Figure 7.13: Le micro-environnement médullaire; A : Coupe histologique de moelle colonisée par une tumeur myélomateuse, la matrice osseuse est marquée en bleu et les plasmocytes en rouge; B : la même coupe avec les ostéoclastes marqués en rouge; C : représentation schématique du modèle de micro-environnement médullaire modélisé dans notre simulation; D : une vision 3D du micro-environnement au début de la simulation.

### 7.2.2.1 Modélisation du micro-environnement cellulaire

Le micro-environnement médullaire osseux a un rôle déterminant dans la survie et la prolifération myélomateuse. Ceci s'explique par la communication soutenue entre les cellules stromales (essentiellement les ostéoclastes) et les cellules néoplasiques. Ainsi, pour simuler le comportement complexe de la tumeur myélomateuse, il nous faut intégrer dans notre modèle cet environnement. Les figures 7.13A et 7.13B présentent une coupe histologique où sont marqués, respectivement, les plasmocytes et les ostéoclastes. Sur ces coupes, la matrice osseuse est colorée en bleu. La figure 7.13B montre que les ostéoclastes sont nichés à la surface de la matrice. La coupe 7.13A montre les plasmocytes, la coloration plus dense en proximité par rapport au centre de la moelle de la matrice indique un nombre important de cellules plasmocytaires. La figure 7.13C est une vision schématique de notre représentation de l'environnement dans notre simulation. Pour modéliser cet environnement, il nous faut donc incorporer dans notre modèle l'os, le milieu où baignent les cellules, et les ostéoclastes. Dans un premier temps, nous avons discrétisé notre espace en milieux. Ces milieux peuvent être

- soit un espace rempli par du calcium et la matrice osseuse, il n'est alors pas possible pour la cellule de se déplacer dans cet espace;
- soit un espace libre qui peut être occupé par les cellules.

Dans ces milieux, on retrouve de l'IL-6 et de l'IGF-1. Comme dans tous les milieux, il existe des phénomènes de diffusion. Pour chacune des six faces d'un milieu 3D (ou quatre dans le cas de milieu 2D), il existe une interface de diffusion qui n'est autre qu'un « démon de Maxwell » qui calcule la différence de concentration entre deux milieux et ajuste les concentrations. L'ostéoclaste est fixé à la matrice. Lorsque la cellule myélomateuse entre en contact avec l'ostéoclaste, elle s'y attache et l'active de façon que ce dernier synthétise une grande quantité d'IL-6. La figure 7.14 présente notre modèle informatique structurant l'organisation

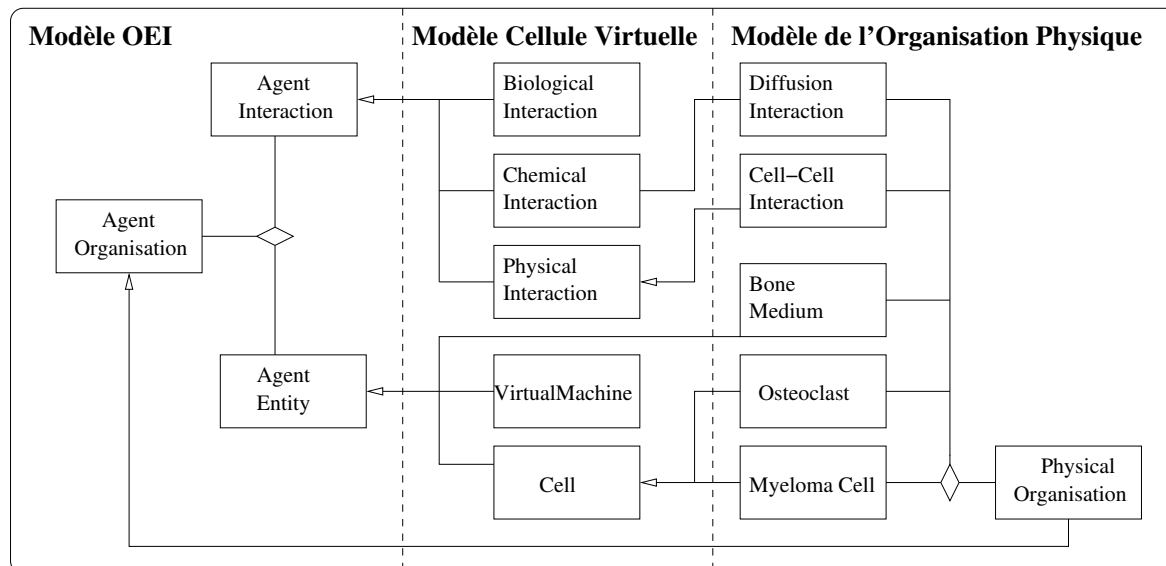


Figure 7.14: Modèle UML de l'organisation physique

« micro-environnement » : `PhysicalOrganisation`. Celui-ci est constitué de cellules `Osteoclast` et `MyelomaCell` dérivant de `Cell`, elle même dérivant de `AgentEntity`. La raison d'être de ces deux classes réside dans la visualisation et la spatialisaiton du modèle. Ces aspects sont développés un peu plus loin. La dernière classe de type `AgentEntity` est la classe `BoneMedium`. Les milieux instanciés à partir de cette classe contiennent les différentes concentrations de molécules et des pointeurs sur les cellules situées dans ce milieu. Trois types d'interactions ont été développés dans le cadre de cette simulation et sont décrits dans les trois classes suivantes : la classe `IL-6SynthesisInteraction`, la classe `Cell-CellInteraction` et la classe `DiffusionInteraction`. Elles dérivent respectivement de `BiologicalInteraction`, `PhysicalInteraction` et `ChemicalInteraction` (le choix de ces classes a été fait pour garder une certaine homogénéité avec le modèle de cellule virtuelle). Les classes `IL-6SynthesisInteraction` et `DiffusionInteraction` permettent de modifier les concentrations dans le milieu. La première permet de synthétiser dans le milieu de l'IL-6 de la façon suivante :

$$[IL - 6]_{tn} = [IL - 6]_{tn-1} + \sum [IL - 6]_{synthétisé}$$

La deuxième modifie la concentration de deux milieux adjacents :

$$[A]_{milieu1} = [A]_{milieu1} + k([A]_{milieu1} - [A]_{milieu2})$$

et

$$[A]_{milieu2} = [A]_{milieu2} + k([A]_{milieu1} - [A]_{milieu2})$$

avec  $k$  constante fonction de la surface d'échange, de la viscosité du milieu, du pas de temps et de la distance (dans la simulation,  $k$  a été choisi arbitrairement du fait de

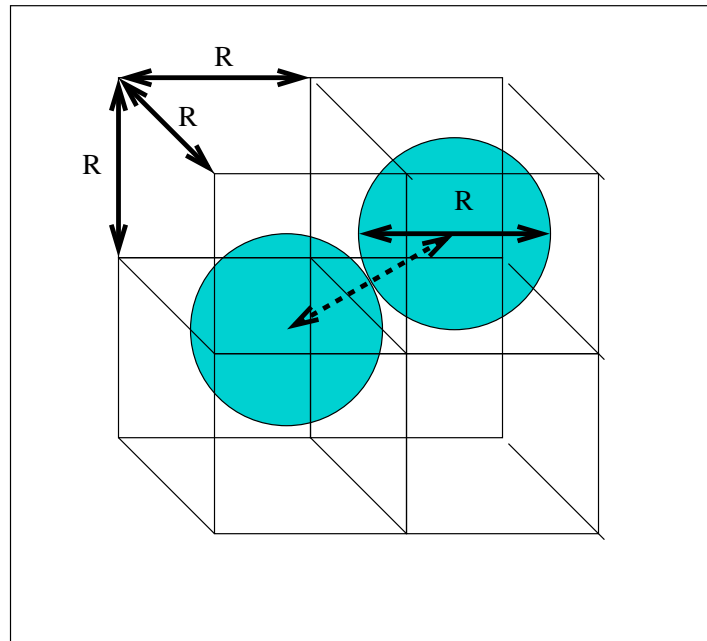


Figure 7.15: La discrétisation du milieu et la gestion des collisions.

l'absence de données à ce sujet).

La dernière interaction, `Cell-CellInteraction`, est une interaction physique qui permet « d'attacher » deux cellules. Dans le cas d'une visualisation en deux dimensions (figure 7.20), nous avons représenté les cellules par des disques. Une telle modélisation ne représente pas véritablement un problème informatique, contrairement à la visualisation tri-dimensionnelle (figure 7.13). Celle-ci est soumise aux contraintes des environnements virtuels, c'est-à-dire, la crédibilité et l'expressivité des objets présents dans la scène, le temps de calcul afin de ne pas nuire à la fluidité de la simulation et enfin la plate-forme utilisée. Dans notre cas nous utilisons oRis.

Du fait de la présence de nombreux objets dans la simulation, il est nécessaire d'utiliser des formes 3D les plus simples possibles afin de limiter les calculs nécessaires pour gérer les interactions entre les objets. Dans nos simulations, les cellules seront représentées par des sphères et les éléments de la paroi osseuse par des cubes. La gestion des collisions est un facteur important pour la crédibilité de la simulation et c'est aussi un facteur critique du fait du nombre important de cellules qui sont susceptibles d'entrer en collision.

La première étape consiste à repérer les cellules voisines. Une fois les cellules voisines repérées, il faut vérifier que les cellules n'entrent pas en collision. Pour cela, nous calculons le carré de la distance séparant les centres des deux sphères :

$$d^2 = (x_1 - x_2)^2 + (y_1 - y_2)^2 + (z_1 - z_2)^2$$

sachant que  $(x_n, y_n, z_n)$  sont les coordonnées de la cellule  $n$  dans l'environnement 3D. Ainsi si  $d^2 \leq (2R)^2$  alors les cellules sont en collision, par contre, si  $d^2 > (2R)^2$  alors les cellules ne se touchent pas (figure 7.15).

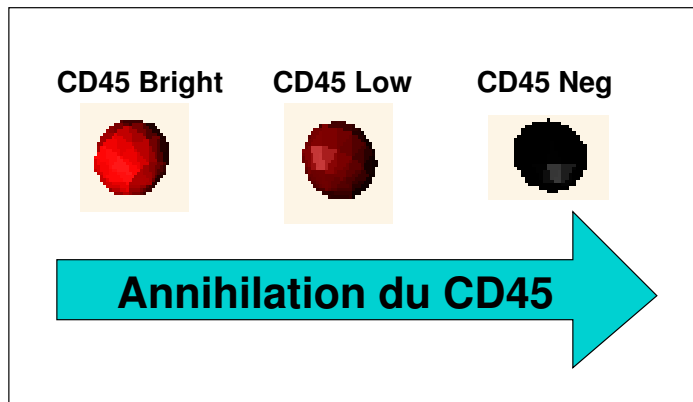


Figure 7.16: Les différents phénotypes de CD45 présents dans notre simulation ; plus la cellule est rouge vif, plus celle-ci exprime CD45. Au contraire, les cellules noires n'expriment pas CD45

L'étape suivante consiste à gérer le déplacement des cellules qui sont entrées en collision.

Dans notre simulation, on observe deux types de mouvements :

- Les mouvements « actifs » dus aux déplacements supposés browniens qui animent la cellule. Dans ce cas, la cellule recalcule une trajectoire aléatoire.
- Le mouvement « passif » induit par les autres cellules. Ceci est utilisé lors de la naissance d'une nouvelle cellule dans la tumeur et lorsqu'il n'existe pas d'emplacements pour la cellule fille. Lors d'une collision due à ce genre de mouvement, la cellule va alors induire un mouvement passif aléatoire à sa voisine pour prendre sa place.

Dans nos simulations, les cellules sont représentées par des agents situés. À chaque agent est associée une forme pour la visualisation, sa couleur peut être un bon *médium* pour exprimer une caractéristique de la cellule. Étant donné que nous nous intéressons aux comportements des cellules myélomateuses en fonction de l'expression à leur surface du CD45, nous avons choisi de visualiser ce phénotype par la couleur rouge. Ainsi, plus la cellule apparaît en rouge vif plus celle-ci exprime à sa surface du CD45 (figure 7.16).

Nous avons présenté dans ce paragraphe l'organisation modélisant le milieu et l'influence des interactions physiques sur le comportement de la tumeur. Dans le paragraphe qui suit, nous décrivons l'influence du modèle moléculaire de la cellule myélomateuse sur le comportement de la tumeur.

### 7.2.2.2 La modélisation des cellules myélomateuses

Nous avons donc modélisé le comportement de la tumeur liée aux interactions physiques, chimiques et biologiques présentes dans l'environnement. Dans ce nouveau paragraphe, nous allons présenter l'implémentation des modèles biologiques de la cellule myélomateuse.

La figure 7.17 montre un exemple pour l'implémentation d'une cellule virtuelle



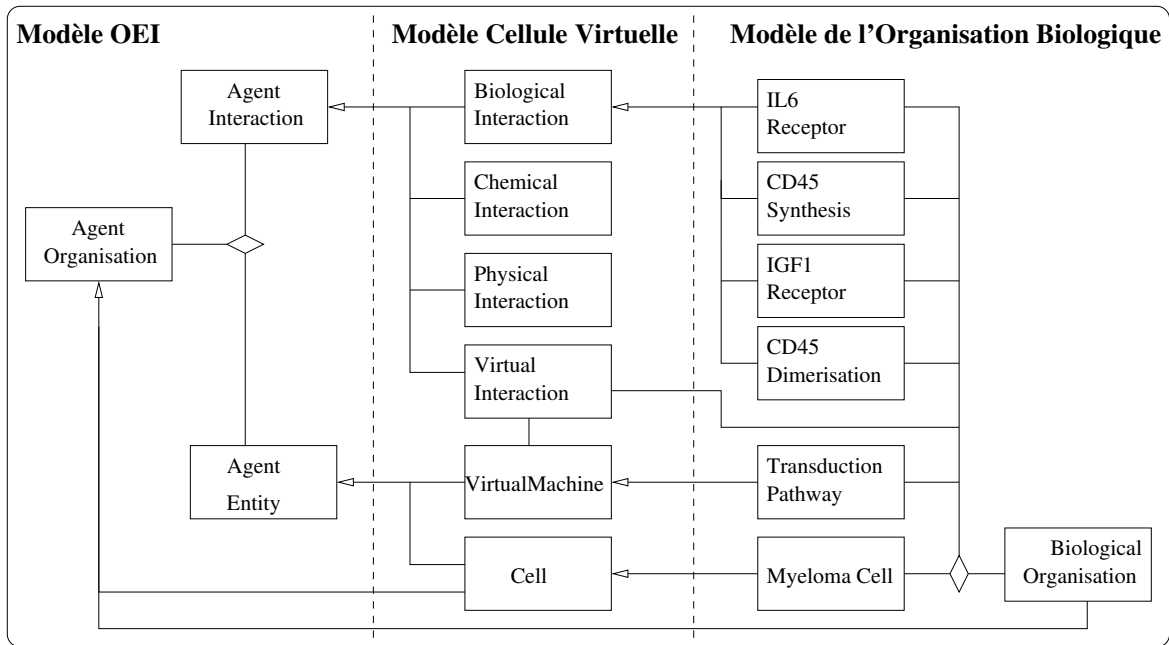


Figure 7.17: Modèle UML de l'organisation biologique

myélomateuse. L'entité de base de l'organisation `BiologicalOrganisation` est la cellule myélomateuse, *i.e.* `MyelomaCell`. Cette dernière hérite de la classe `Cell` du modèle générique de cellule virtuelle et par conséquent, de la classe `AgentOrganisation`. La présence d'`AgentOrganisation` dans la classe `BiologicalOrganisation`, s'explique par le fait que l'organisation cellule myélomateuse doit pouvoir être portée dans n'importe quel environnement. Le choix de créer une organisation `BiologicalOrganisation` facilite l'implémentation informatique pour la communication avec l'organisation `PhysicalOrganisation`. Nous avons utilisé trois types d'`AgentInteraction` :

- les interactions entre la cellule et l'environnement chimique et/ou biologique (*i.e.* `IL6Receptor`, `IGF1Receptor` et selon les modèles, le `TNFReceptor`) ;
- les interactions entre la machine virtuelle et la cellule, c'est-à-dire entre le réseau de transmission intracellulaire et le reste de la cellule (*i.e.* `TransductionInteraction`) ;
- les interactions gérant le métabolisme de certaines protéines (synthèse et dimérisation de CD45, *i.e.* `CD45Synthesis` et `CD45Dimerisation`).

Dans le cas d'interactions cellule-milieu, comme c'est le cas pour les récepteurs et la synthèse de molécule dans le milieu, l'interaction transmet l'information d'un milieu à un autre (environnement et cellule). Dans le cas de récepteurs, l'interaction prélève des molécules dans le milieu. Par contre, la synthèse ajoute des molécules dans le milieu. Ces interactions peuvent alors modifier le blackboard codant le milieu (voir figure 7.18). Le manque de données cinétiques et topologiques sur le réseau de transmission intracellulaire des cellules myélomateuses rend difficile l'utilisation des méthodes de cinétique classique. De plus, la transmission étant rapide par rapport à la synthèse

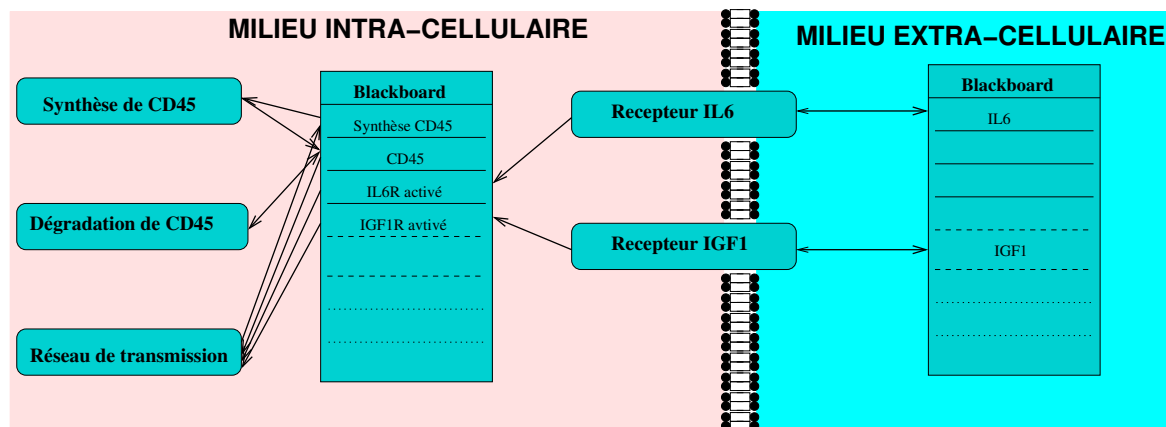


Figure 7.18: Modèle du réseau de transmission pour les cellules myélomateuses

protéique, nous avons choisi l'utilisation des GIF pour implémenter notre modèle. Dans cette étude, nous utilisons le modèle proposé par Bataille pour les voies de transmission de l'IL-6 et de l'IGF-1, associées au CD45 comme sélectionneur de carburant. Si l'on étudie de plus près les réseaux de signalisation intracellulaires, on observe que les cellules qui expriment peu ou fortement le CD45 vont utiliser l'IL-6 via la voie des MAPK, comme carburant. Au contraire, en absence de CD45, c'est l'IGF-1 qui prend le relais, via la voie des PI3K-AKT. Il est important de noter que l'IGF-1 est toujours disponible pour la cellule myélomateuse. En effet, l'IGF-1 est synthétisée par le foie, se retrouvant ainsi dans la circulation sanguine, et par les ostéoblastes dans la matrice osseuse. Un autre carburant peut être pris en compte, le TNF. Ce dernier agit de façon paracrine par la voie IKK/NF- $\kappa$ B. Ce carburant est synthétisé par les ostéoclastes après activation de ces derniers. Pour tous nos modèles, nous faisons l'hypothèse que la présence de CD45 est liée à la synthèse et la dégradation de celui-ci par la cellule myélomateuse.

Nous présentons maintenant les expérimentations *in virtuo* réalisées sur deux modèles TransductionPathwayVirtualMachin de cellules myélomateuses, qui montrent le même comportement que la tumeur.

### 7.2.2.3 Expérimentation *in virtuo* des modèles de MM

Pour expliquer la baisse de CD45, nous avons émis des hypothèses que nous avons ensuite testées *in virtuo* avant qu'elles le soient par les biologistes. Dans un premier temps, nous présentons un modèle basé sur une perturbation de RAS.

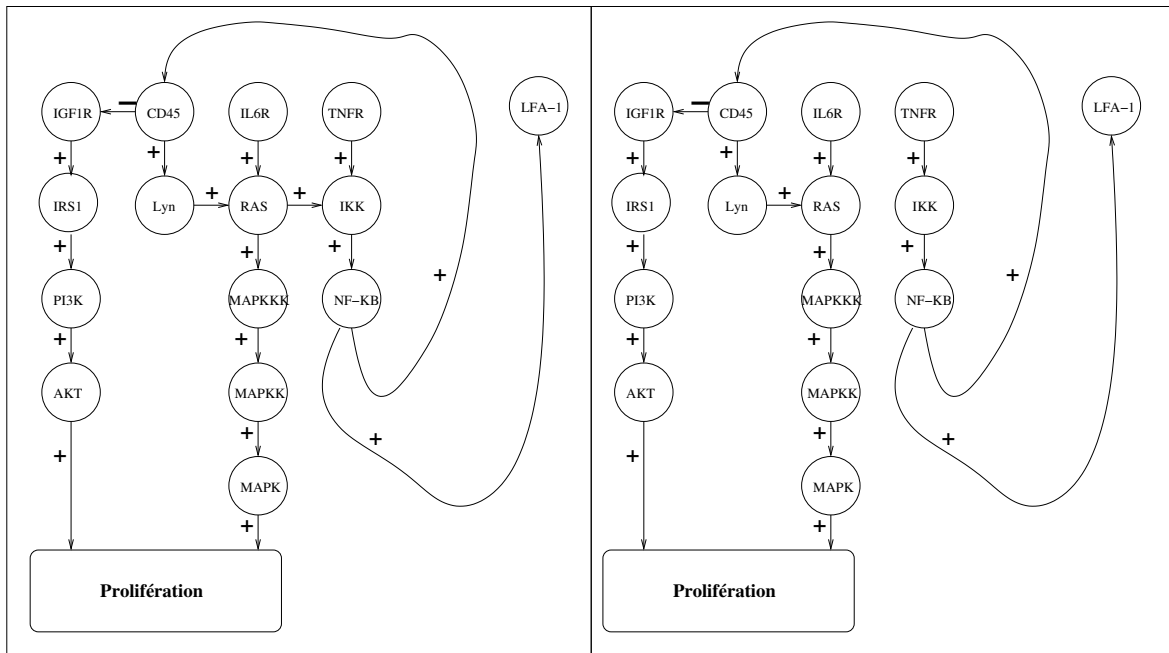


Figure 7.19: Modèle du réseau de transmission pour les cellules myélomateuses.

### ***Un modèle de progression tumorale basée sur une perturbation génétique***

Dans ce modèle, la synthèse de CD45 est soutenue par l'IL-6 mais aussi par le TNF, via Ras et NF- $\kappa$ B. La figure 7.19 montre les machines virtuelles implémentées à l'aide de graphes d'influences floues. Nous avons alors testé l'effet d'une mutation sur Ras qui diminuerait l'action de celle-ci au niveau de la voie stimulant NF- $\kappa$ B. Cette mutation se traduit dans ce modèle par une modification du GIF. La seule différence entre les figures 7.19A et 7.19B est la liaison entre Ras et IKK qui disparaît dans la deuxième. L'évolution des deux modèles est représentée sur la figure 7.20.

#### **La mutation sur Ras diminue l'expression de CD45.**

Nous voyons sur l'évolution des deux simulations qu'une concentration forte en IL-6 et TNF implique une forte expression de CD45. Celle-ci diminue dès que l'on s'éloigne des sources d'IL-6 et de TNF. De plus, en absence de stimulus transmis par Ras, par exemple, due à une mutation, on observe que l'expression est complètement annihilée. Ceci pourrait donc expliquer une différence de phénotype et de pronostic vital pour le patient (figure 7.20). Cependant, il a été observé que le phénotype CD45<sub>neg</sub> peut être présent dans les cas physiologiques. Nous avons donc proposé un deuxième modèle basé plutôt sur un processus de maturation naturelle, plutôt que par un événement génétique.

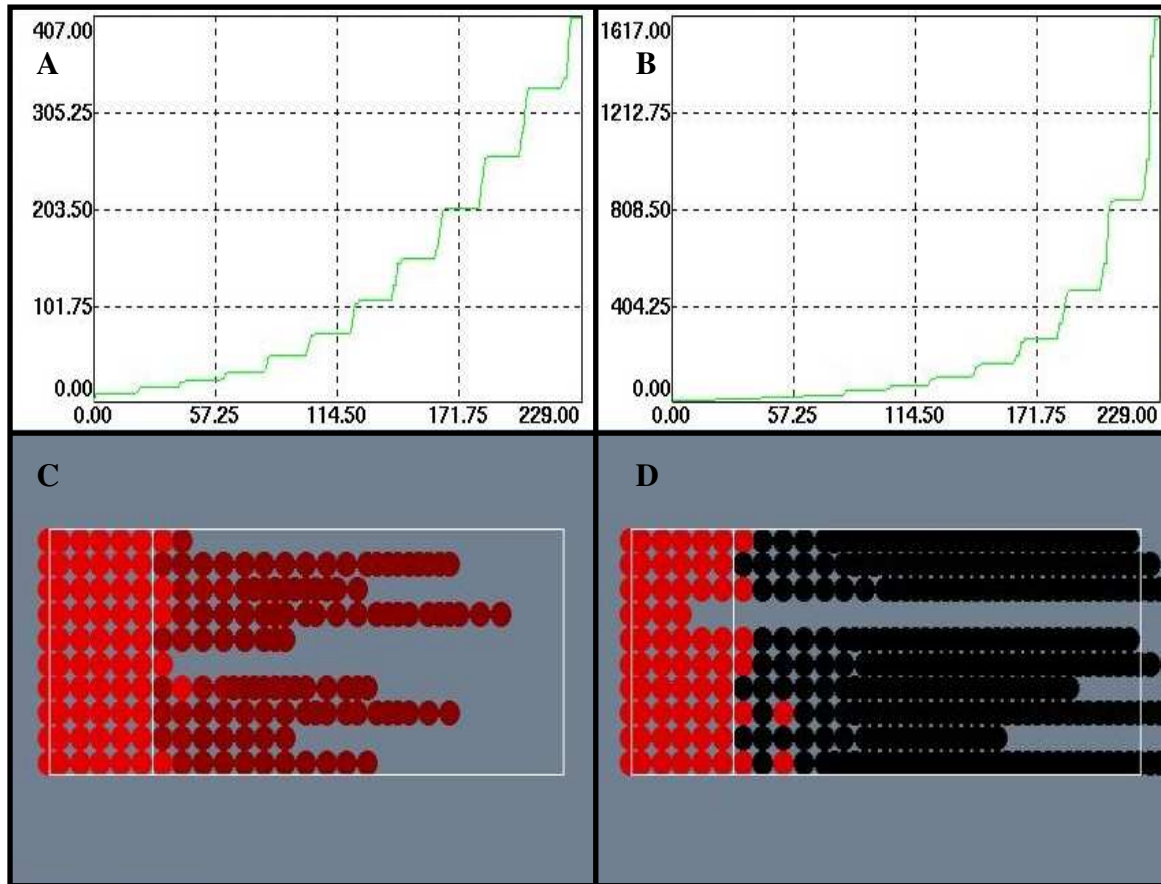


Figure 7.20: Evolutions des modèles IL6/IGF1/TNF sans (A et C) et avec mutation (B et D).

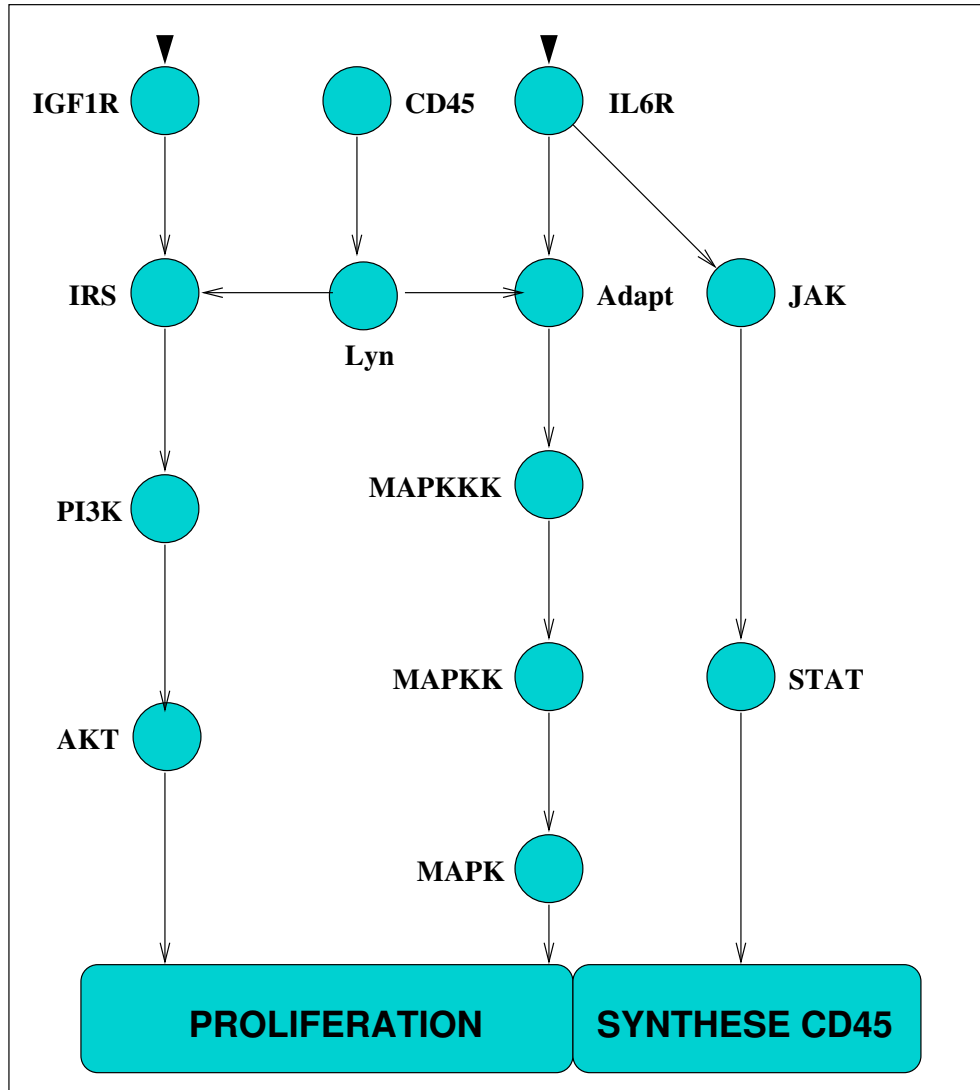


Figure 7.21: Modèle du réseau de transmission pour les cellules myélomateuses

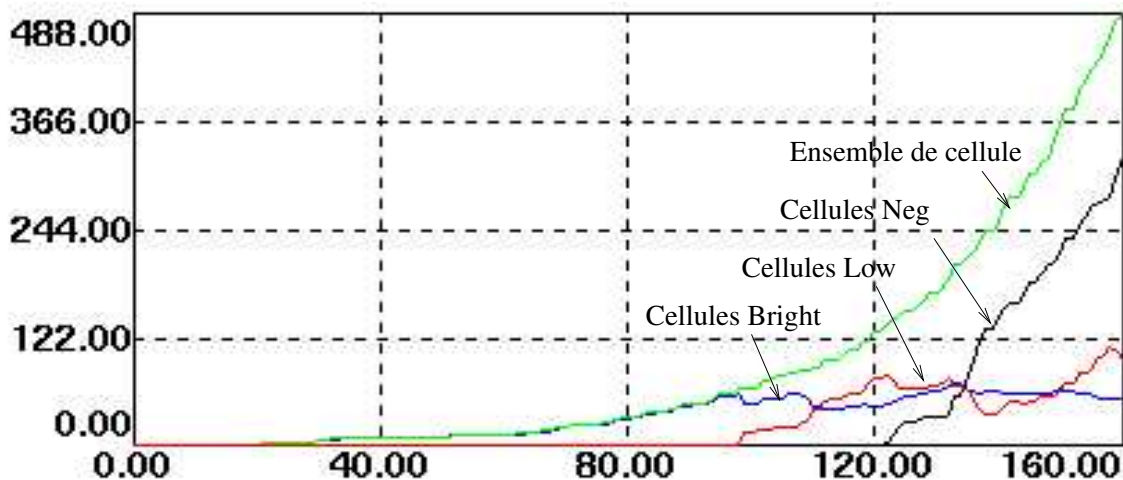


Figure 7.22: Evolution de la tumeur en fonction du temps.

### ***Un modèle de maturation plasmocytaire***

Dans ce modèle, nous avons essayé de montrer qu'en ne tenant compte que de l'IL-6 comme stimuli de synthèse de CD45 (figure 7.21), il était possible d'obtenir les trois phénotypes observés biologiquement. Pour cela, nous avons proposé que la bio-disponibilité de l'IL-6 dans la tumeur et la cinétique de dimérisation du CD45 soient les facteurs prépondérants dans le pronostic vital du patient. Nous avons donc testé ces deux paramètres au cours de nos simulations.

#### **L'évolution tumorale montre la présence des trois types cellulaires.**

L'évolution de notre modèle peut être représentée par la courbe 7.2.2.3. L'évolution du nombre global de cellules myélomateuses est représentée par la courbe verte. Les courbes bleue, rouge et noire représentent respectivement les cellules CD45<sub>bright</sub>, CD45<sub>low</sub> et CD45<sub>neg</sub>. Alors que le nombre de cellules myélomateuses progresse toujours, on observe une saturation des compartiments CD45<sub>bright</sub> et CD45<sub>low</sub>. Ces deux compartiments sont conservés tout au long de la progression tumorale. De plus, au bout d'un certain temps, on observe l'apparition d'un compartiment CD45 neg. Cette courbe est en accord avec les données cliniques. En effet, on observe une « maturation tumorale » avec l'apparition des cellules CD45<sub>neg</sub> qui vont devenir prédominantes dans la tumeur 7.23.

#### **La cinétique de dimérisation des CD45 influence le comportement de la tumeur.**

Les myélomes sont hétérogènes quant au pronostic vital des différents patients. Or Bataille a montré que l'espérance de vie du patient est étroitement liée à la disparition du CD45 sur la surface de la cellule myélomateuse. Nous avons donc étudié l'effet de la cinétique de disparition du CD45 sur la tumeur. La courbe 7.24 représente le temps moyen (en unité de temps oRis) avant l'apparition de cellules CD45<sub>neg</sub>. Par extrapolation, on peut donc en déduire que la cinétique des molécules de CD45 influe en grande

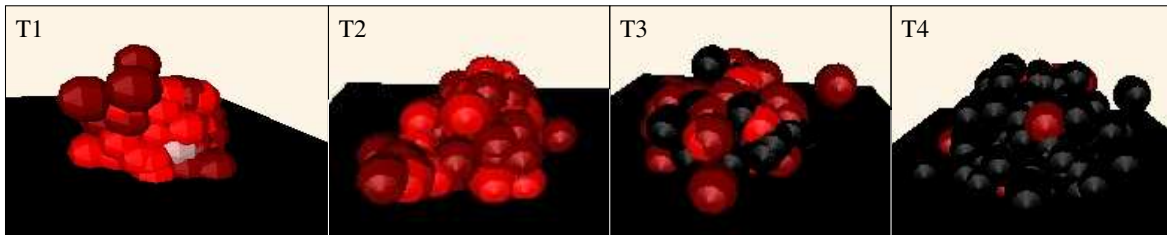


Figure 7.23: Représentation visuelle de l'évolution tumorale au cours du temps.

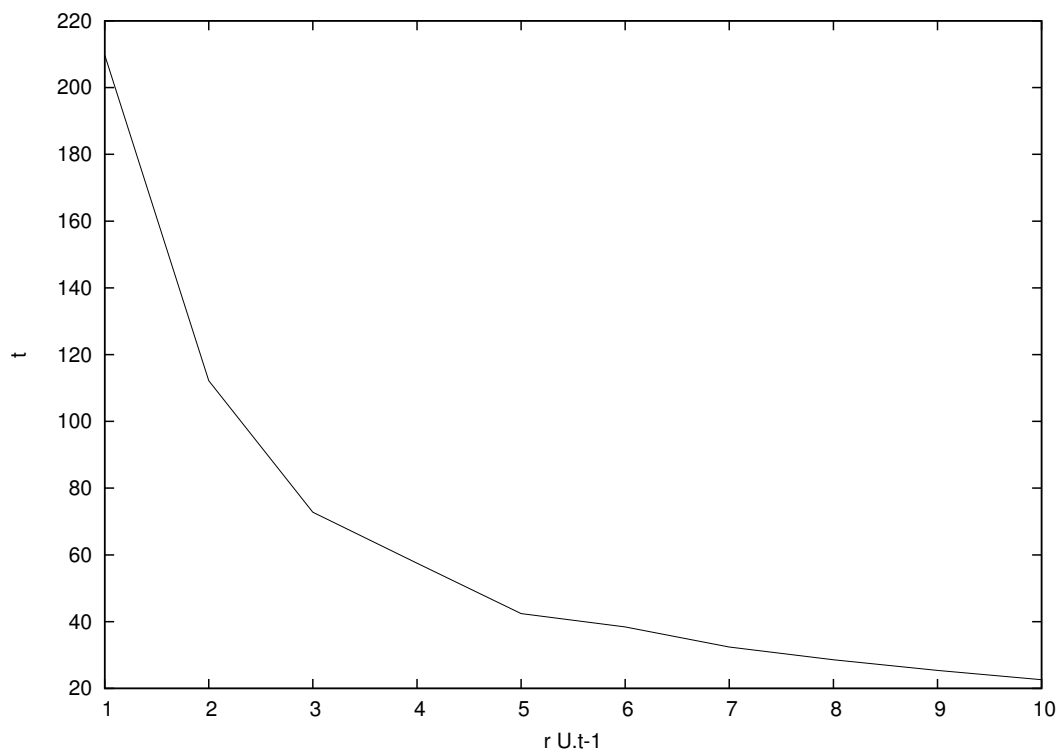


Figure 7.24: Apparition des cellules CD45neg en fonction de la cinétique de dimérisation du CD45.

partie sur la durée de vie du patient car l'annihilation du CD45 est un événement dramatique pour le patient.

L'ensemble des expérimentations présentées ci-dessus a le même comportement que la tumeur. Cependant, ces expériences nécessitent une confirmation biologique mise en œuvre par l'INSERM U463.

## 7.3 Discussion

Comprendre la dynamique des tumeurs myélomateuses ne peut se faire que dans la complexité. En effet, il existe à tous les niveaux (moléculaires, cellulaires et tissulaires) des phénomènes complexes qui ne peuvent être étudiés par les méthodes réductionnistes traditionnelles. À notre connaissance, dans la littérature, on retrouve peu de différence dans les modèles de prolifération myélomateuse. Ils peuvent être classés en deux catégories : les modèles formels et les modèles phénoménologiques.

Les modèles formels développés pour l'étude de la propagation myélomateuse proposent une vision réductionniste de la cancérisation *via* l'étude des différentes altérations géniques observées expérimentalement. Aucun modèle n'a, à ce jour, intégré l'environnement et le phénotype cellulaire dans le processus de cancérisation. Or, comme nous l'observons dans nos simulations, pour étudier les MM, il est important d'inclure dans notre raisonnement le micro-environnement médullaire, tant les interactions entre cellules stromales et tumorales influencent le phénotype de cette dernière et par conséquent le comportement global de la tumeur.

Les modèles phénoménologiques de cinétique tumorale s'intéressent au comportement global de la tumeur. De tels modèles permettent la création de nouveaux protocoles thérapeutiques avec des molécules existantes. Il est donc possible d'optimiser un protocole thérapeutique d'une chimiothérapie à l'origine empirique. Malgré ces progrès, aucune rémission totale de myélomes n'a été, à ce jour, observée ; ainsi, la recherche de nouvelles cibles thérapeutiques et de nouvelles molécules actives s'impose.

Nous proposons dans ce mémoire, un modèle comportemental de tumeur myélomateuse basé sur les voies de transmission, le phénotype cellulaire et les interactions physiques, chimiques et biologiques dans la tumeur et avec son environnement. Un tel modèle intégrant la topologie des réseaux de régulation intra et inter-cellulaire, permet la recherche de cibles thérapeutiques et l'étude de l'effet sur la tumeur de la modification de l'action de cette cible.

L'implémentation de notre modèle se base sur l'architecture multi-agents de simulation de systèmes biologiques complexes et notre modèle de cellule virtuelle. Grâce à ce modèle, nous avons pu intégrer des entités et des interactions au sein d'une même simulation. C'est, à notre connaissance, la première simulation qui propose une telle architecture. Ceci autorise la simulation multi-échelle, *i.e.*, dans notre cas, la simulation du comportement globale de la tumeur en modélisant le comportement de la cellule par ses voies de transmission.

Pour notre modèle en 3D, deux organisations ont été implémentées. Une organi-



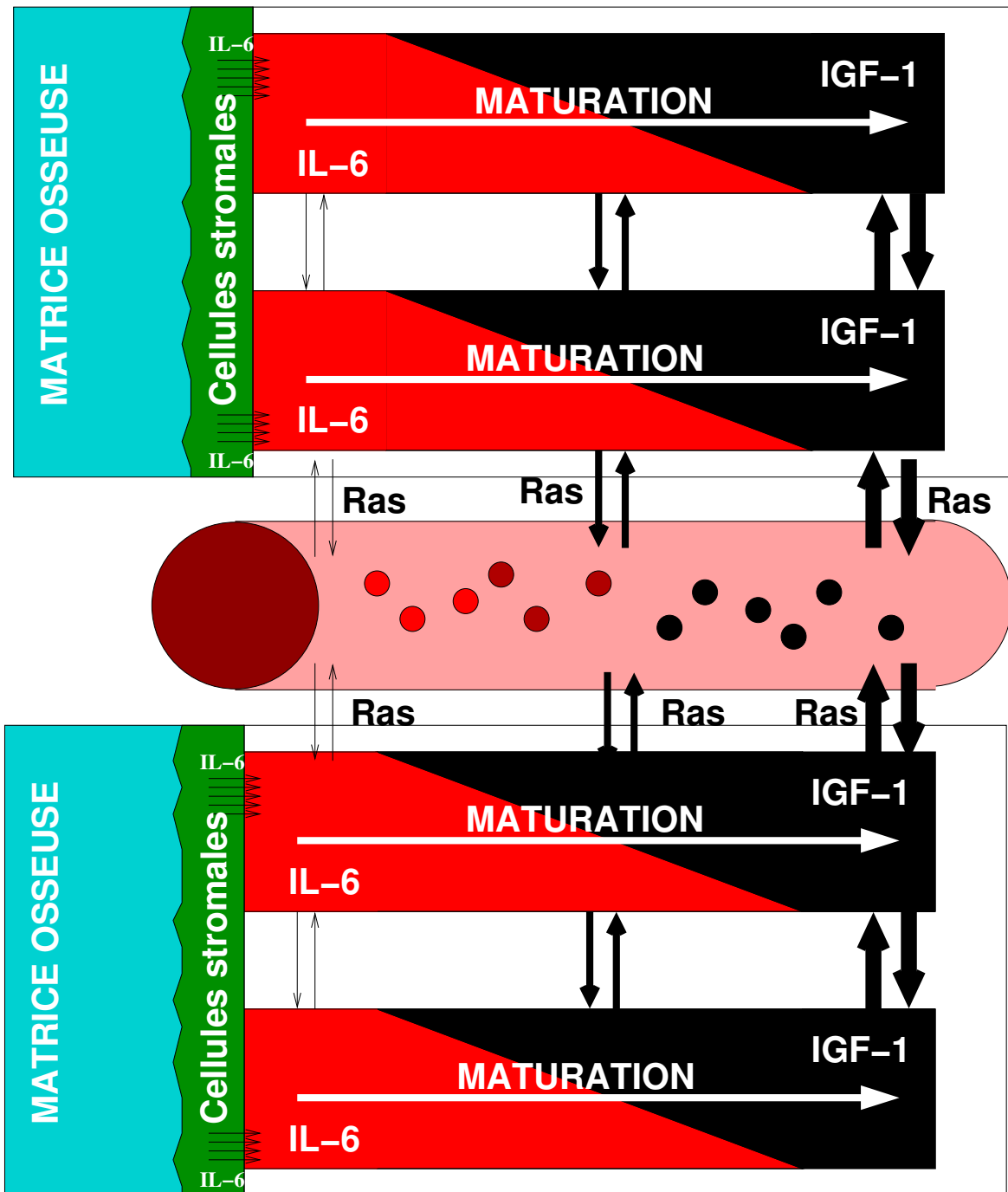


Figure 7.25: L'annihilation du CD45, du fait de la diminution de la communication entre les cellules stromales et tumorales, autorise les cellules à migrer plus facilement grâce à l'IGF-1. Ainsi, les cellules  $CD45_{neg}$  peuvent coloniser la moelle. Si un cellule a acquis la mutation sur Ras, elle devient indépendante vis-à-vis des signaux de prolifération, la cellule peut migrer hors de la moelle. Si en plus, elle est sensible au signaux induits par IGF-1, elle peut coloniser de nouveaux os et tissus.

sation « cellule myélomateuse » qui gère le comportement « biologique » des cellules myélomateuses et l'organisation « tumeur myélomateuse » qui gère les aspects physiques et les interfaces. Cette division peut être critiquée du fait que les aspects physiques de la tumeur sont étroitement liés au comportement des cellules myélomateuses (par exemple, lors de la création d'une nouvelle cellule). Cependant, cette implémentation a deux objectifs. Premièrement, elle permet de faciliter l'incrémentalité du modèle en permettant de bien visualiser les différents niveaux de complexité de celui-ci. En effet, actuellement, l'étude systémique des phénomènes biologiques complexes se contente souvent d'étudier les réseaux de régulation cellulaire et non pas le tissu dans sa globalité. Nous espérons donc pouvoir intégrer plus facilement, dans notre modèle, d'autres organisations de type cellulaire comme par exemple les ostéoclastes. Le deuxième objectif est la distribution de la simulation. En effet, un tel modèle demande beaucoup de ressources informatiques. Grâce à l'instanciation de deux organisations, il est possible de distribuer le travail sur deux processeurs différents communiquant entre eux par un protocole TCP/IP, afin de mettre à jour les concentrations et l'état des cellules (Bright, Low, Neg).

Nous avons développé un modèle de progression myélomateuse basé sur l'expression membranaire de CD45. L'intérêt du CD45 comme une variable central du modèle est que celui-ci a un fort pouvoir pronostique [Moreau et al., 2004] et que son rôle au niveau moléculaire commence à être élucidé que ce soit pour l'IL-6 [Kawano et al., 2002, Ishikawa et al., 2002, 2003a,b] et pour l'IGF-1 [Bataille et al., 2003, G. Descamps and Amiot., 2004]. Il est possible d'en déduire un modèle où l'on peut assimiler la cellule myélomateuse à un moteur hybride qui selon l'expression ou l'absence de CD45, choisira, respectivement, l'IL-6 ou l'IGF-1 [Bataille et al., 2003]. Dans notre étude, nous nous intéressons au métabolisme du CD45 et aux événements susceptibles de provoquer sa disparition.

Nous présentons deux modèles pouvant expliquer la disparition de ce phénotype une mutation ou une maturation. Tous deux reposent sur une balance entre synthèse du monomère CD45 et sa disparition. Plus que sa disparition nous proposons que ce soit la baisse de sa synthèse qui provoque sa disparition. Notre premier modèle repose sur le fait qu'une perturbation du réseau de transmission (par exemple, par apparition d'une mutation sur une molécule de ce réseau) pourrait provoquer une baisse de la synthèse en réduisant le nombre de signaux conduisant à la synthèse de CD45 (passage d'un mode TNF/IL-6 à un mode uniquement TNF). Cependant, les rares observations physiologiques de cellules CD45<sub>neg</sub> relancent l'idée que le processus de maturation dans les cellules myélomateuses (exprimé par la perte de CD45) pourrait être accéléré dans les moelles de patients atteints le MM. Ainsi, aucune différence n'existerait au niveau des stimuli de synthèse du CD45 entre les cellules myélomateuses et processus normaux de maturation des plasmocytes. Il a été émis l'hypothèse que l'IL-6 stimule la synthèse de CD45 et celui-ci serait un phénomène nécessaire pour que la cellule puisse proliférer en réponse à l'IL-6. Grâce à notre modèle, nous avons pu montrer que dans un modèle avec des agents-cellule situés et avec des phénomènes de diffusion, il est possible d'observer les trois phénotypes sans qu'un événement vienne perturber le modèle.

La régulation du CD45 dans le processus de maturation n'est pas encore bien élucidée.

Cependant, il a été mis en évidence que son action peut être inhibée par l'homodimérisation. La dimérisation inhiberait les deux molécules simultanément par une interaction symétrique entre deux zones d'inhibition. Nous avons donc proposé que la vitesse de dimérisation CD45 peut influencer le pronostic vital du patient car plus la vitesse de dimérisation augmente plus l'apparition de cellules CD45<sub>neg</sub> est précoce. Ceci est facilement vérifiable par la simulation et la différence dans la cinétique de dimérisation peut expliquer l'hétérogénéité des pronostics observés chez les patients. L'équipe de Weiss [Xu and Weiss., 2002] a mis en évidence, dans les lymphocytes T que les isoformes RO du CD45 se dimérisent plus rapidement que l'isoforme RA. Une étude approfondie de la littérature montre que Kawano [H. et al., 2000] et Pilarski [Pilarski and Jensen., 1992] ont observé, respectivement, dans les cellules myélomateuses et les lymphocytes B monoclonaux issus de patients atteints de myélomes, que ces cellules sont plus fréquemment de l'isoforme RO. Au contraire, physiologiquement, les plasmocytes exprimeraient majoritairement l'isoforme RA. L'ensemble de ces observations peuvent donc expliquer la fréquence de l'observation de cellules myélomateuses CD45<sub>neg</sub> alors que ce phénotype n'est que très rarement observé sur les plasmocytes normaux. Le profil (RO/RA) variant d'un patient à l'autre, ceci impliquerait un pronostic différent. De même, il est possible d'imaginer que des points de mutation sur le CD45 puissent perturber la balance synthèse/dimérisation.

Une fois le CD45 perdu, la cellule passe sur un mode IGF-1 pour la croissance [Bataille et al., 2003]. Or, l'IGF-1 est, aussi, connu pour son rôle dans l'adhésion [?], la migration [?] et l'invasion tissulaire [Menu et al., 2004, ?]. C'est donc sans doute par ce biais que vient l'agressivité de la maladie. Nous proposons le modèle exposé sur la figure 7.25. Le passage du mode IL-6 (CD45<sub>bright</sub> et CD45<sub>low</sub>) au mode IGF-1 (CD45<sub>neg</sub>), du fait de la diminution de la communication entre les cellules stromales et tumorales, autorise les cellules à migrer plus facilement. Ainsi, les cellules CD45<sub>neg</sub> peuvent coloniser l'os en différents endroits. Si la cellule a acquis la mutation sur Ras qui lui profère une indépendance vis-à-vis des signaux de prolifération, la cellule peut migrer hors de la moelle. Si en plus, elle est sensible aux signaux induits par IGF-1, elle peut coloniser de nouveaux os et tissus. Ainsi, comme dans la majorité des cancers, l'IGF-1 est un élément important dans la pathogénicité de la maladie et autorise cette dernière à coloniser de plus en plus de tissus.



# Conclusion et perspectives

En France, près du quart des décès sont causés par les cancers. La vie est donc l'enjeu de la partie que "jouent" les chercheurs et les médecins en cancérologie. Cette partie est d'autant plus rude que la maladie est complexe. Le pragmatisme est donc devenu le moteur du développement de nouvelles thérapies. L'avènement de nouvelles disciplines biologiques telles que la biologie systémique, la biologie intégrative etc., associées aux progrès technologiques, autorise de nouveaux espoirs.

Nous avons donc proposé dans ce mémoire un ensemble de méthodes (expérimentations *In Virtuo* et systèmes multi-agents) pour la recherche en cancérologie. La difficulté de la tâche liée à la complexité, à l'intégration de différentes échelles biologiques et à la multi-modélisation nous a poussé à développer des modèles génériques (modèle *OEI* et la cellule virtuelle) pour la modélisation et la simulation en cancérologie. Notre application s'intéresse aux MM, prolifération plasmocytaire maligne mais d'autres modèles biologiques semblent naturellement pouvoir être simulés par une telle approche. Ainsi, ces modèles nécessitent un développement plus poussé et sont en cours d'investigation au sein du LISyC.

Nous avons dégagé deux axes de recherche pour la simulation informatique des cancers. La complétion du modèle de cellule cancéreuse et l'étude de l'effet de certains syndromes para-néoplasiques dans la dynamique tumorale. Ces deux approches pourront être développées au sein du groupement d'intérêt scientifique BIMSCO développé en collaboration entre le Centre Européen de Réalité Virtuelle, le CHU de Brest et le Centre Anti-Cancéreux de Nantes.

## 8.1 Expérimentation *In Virtuo*, modèle *OEI* et la cellule virtuelle : conclusion

Nos simulations se basent sur le concept d'expérimentation *In Virtuo*. Une fois le modèle implémenté, il est toujours possible de le modifier en cours de simulation.

Ceci ouvre la voie à l'interactivité et aux simulations orientées de ces modèles. Ainsi, on peut, au cours de la simulation, tester la réactivité du système en cas d'ajout ou de suppression d'un élément dans la simulation. L'application thérapeutique semble évidente; en effet, il est donc possible de rajouter un principe actif ou de réaliser des mutations ciblées pour modifier le comportement du processus. Un exemple est montré sur la figure 8.1. Notre modèle d'organisation couple la présence d'entités et d'interactions au sein d'une seule et même simulation. L'intérêt de ce couplage est la possibilité de la modélisation multi-échelle en biologie. Chaque interaction est une abstraction du comportement d'ensemble d'éléments donnés dont la modélisation en tant qu'individus serait impossible à cette échelle. De plus, cette vision se rapproche du paradigme systémique qui fait vivre au sein d'une même organisation entités et interactions. L'**agent-organisation** facilite cette simulation hybride en créant ou détruisant, grâce à sa base de connaissance, les agents, si nécessaire. Le modèle est donc dynamique car les agents ne sont présents dans la simulation que le temps nécessaire. De plus, il facilite aussi le portage et l'incrémentabilité du modèle. Le modèle de cellule virtuelle découle tout naturellement de ce modèle et tient compte des éléments biologiques nécessaires pour la modélisation et la compréhension du comportement global du système.

## 8.2 Le modélisation de la cellule cancéreuse : perspective pour de nouvelles cibles thérapeutiques

Nous nous sommes appuyés sur notre modèle de cellule virtuelle pour l'implémentation de la cellule myélomateuse. L'autonomie des différentes machines virtuelles et des interactions avec l'environnement autorise l'incrémentalité et l'application de la cellule virtuelle à un problème fondamentalement différent. Pour le cas des myélomes, de nombreux éléments doivent encore être incorporés afin de reproduire fidèlement le comportement de la tumeur et ensuite rechercher de nouvelles cibles thérapeutiques.

Il existe deux stratégies pour le développement de nouvelles thérapies. La première est une approche empirique qui consiste à identifier de nouveaux principes actifs par test systématique des molécules sur une base de modèles tumoraux d'un type donné. Dans cette approche, la cible n'a pas à être identifiée. Grâce à l'avènement de la biologie systémique, le comportement d'un système biologique peut être simulé. De là, il est possible de trouver de nouvelles cibles thérapeutiques et donc de modifier le comportement du système. Dans le cas des cancers, les cibles potentielles peuvent être classées en trois catégories :

- les molécules qui transmettent les signaux mitotiques ;
- les molécules qui régulent le cycle cellulaire ;
- les molécules qui interviennent dans l'apoptose de la cellule.

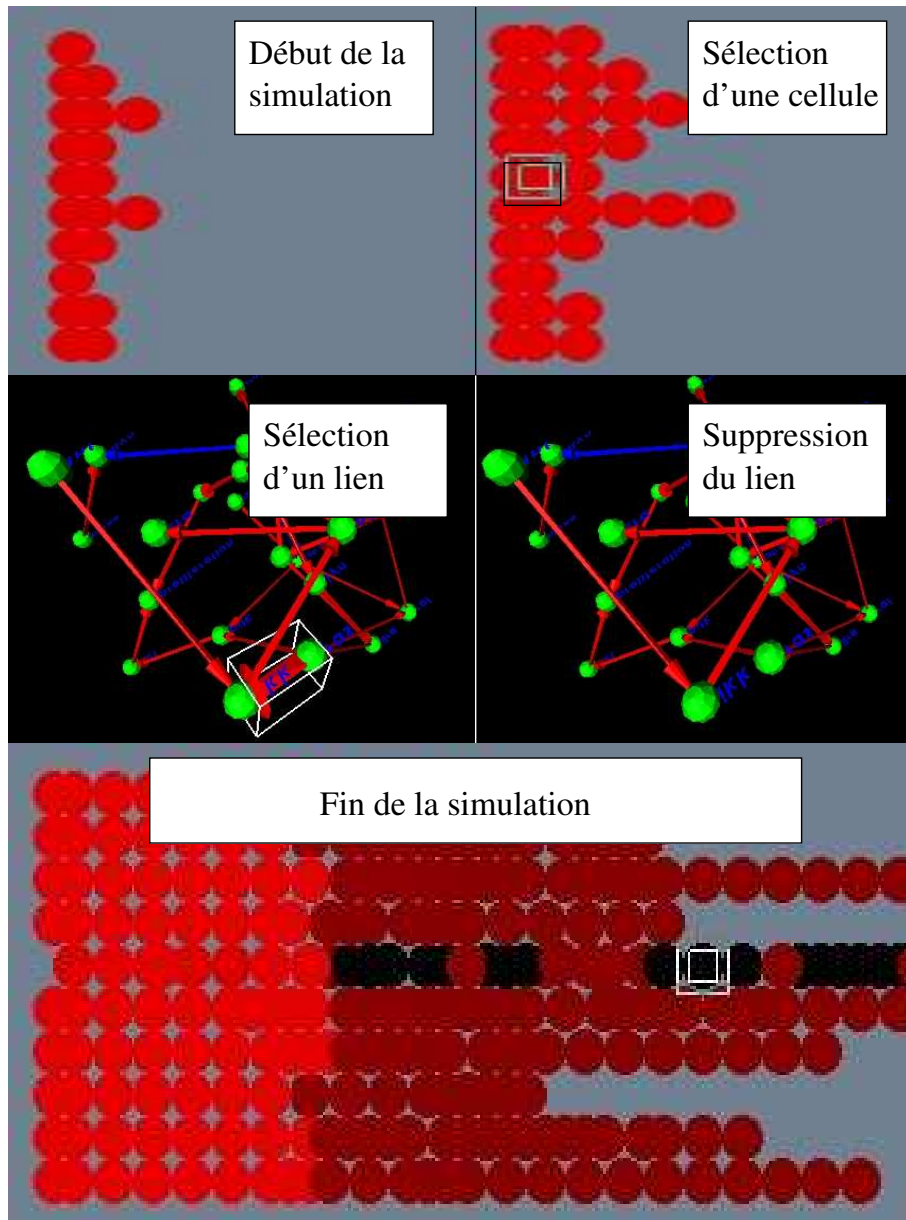


Figure 8.1: Exemple d'expérimentation *In Virtuo*. Au cours de la simulation, il est possible de sélectionner une cellule et d'éditer son réseau de signalisation. Dans cet exemple, le lien entre Ras et IKK est supprimé afin de modifier le comportement de la cellule sélectionnée. Cette modification peut être transmise aux clones de la cellule mutée.

## 8.2.1 La modélisation des réseaux de régulation de la cellule cancéreuse

Les signaux mitotiques sont transmis à la cellule par l'intermédiaire des réseaux de régulation cellulaire. Dans notre simulation, nous nous sommes seulement intéressés aux éléments dont le comportement est susceptible d'être modifié par le CD45 et ceux qui modifient l'expression de CD45. Ces éléments sont au nombre de deux ou trois selon le modèle simulé (TNF, IL-6 et IGF-1). Cependant, il existe, dans les myélomes, de nombreux signaux stimulant la prolifération cellulaire ; ainsi, des efforts doivent être portés sur la complémentation du réseau de transmission.

Le réseau de transmission est nécessaire pour la compréhension de la dynamique tumorale. Cependant, la dynamique à court et long termes ne peut être complètement intelligible si la régulation génétique n'est pas intégrée dans le modèle ; en effet, dans le cas des cellules myélomateuses, l'expression de nombreux gènes est perturbée par rapport aux plasmocytes normaux. Les gènes ont été le principal sujet d'étude dans le domaine du cancer et il existe maintenant maintes façons de modéliser et de simuler un réseau génétique. Nous pensons qu'un modèle générique, comme celui de notre cellule virtuelle, peut faciliter l'intégration de ces données dans le modèle, et que la modélisation de ces dernières peut nous aider à modifier le comportement global du système.

## 8.2.2 La modélisation du cycle cellulaire

La connaissance du cycle et de sa dérégulation a énormément progressé ces dernières années. Ceci a conduit à la proposition de cibles thérapeutiques. Le cycle est contrôlé à plusieurs niveaux, la division cancéreuse déstabilise ces contrôles. Dans 80% des tumeurs, des mutations perturbent la cascade cyclin D-CDK-INK4-pBR-E2F conduisant à la phase de synthèse. Les principales thérapies ciblant le cycle cellulaire ont été jusqu'à présent un rétablissement pharmacologique du contrôle G1/S dans les cellules tumorales. Les premières approches étaient basées sur la thérapie génique ciblant E2F via p53 ou pRb. Plus récemment, ces approches ont été supplantées par des inhibiteurs de CDK. Suite à la phase de réplication, les cellules entrent dans la phase G2 où les dommages causés à l'ADN sont détectés par deux groupes de protéines. Les dommages causés par le stress de la réplication et par les UV sont relayés à CHK1 par ATM et ATR. Les dommages causés par les radiations ionisantes inhibent le passage en phase M par l'activation de CHK2 via ATM. Les CHK agissent par phosphorylation inhibitrice sur CDC25C. Ainsi, ATM, ATR, CHK1 et CHK2 sont des cibles potentielles pour la thérapie anticancéreuse. La dernière phase, la mitose, permet la séparation du matériel génétique entre les deux cellules filles. Ce phénomène implique les microtubules. Ainsi, une inhibition de ce phénomène est un processus thérapeutique efficace.



### 8.2.3 L'apoptose dans les cellules

L'apoptose est le processus homéostatique du tissu via la mort programmée de la cellule. Le blocage de ce processus conduit à une hyperplasie voire une tumeur. L'apoptose est aussi un élément largement perturbé dans le processus de cancérisation et la résistance aux signaux apoptotiques est donc largement responsable de la pathogénécité des cancers.

Bien que la majorité des chimio-thérapies a été développée de façon empirique et que par conséquent leurs modes d'action au niveau moléculaire ne soient pas totalement élucidés, il semble que ceux-ci soient associés aux voies apoptotiques.

La médiation des signaux apoptotiques, qu'ils soient externes ou internes à la cellule, est réalisée par les protéines de la famille des caspades. La régulation des signaux relayés par ces protéines est effectuée par les protéines de la famille de Bcl-2. Ces dernières peuvent être pro-apoptotiques ou anti-apoptotiques. Elles sont aussi responsables de la résistance aux chimio-thérapies anti-cancéreuses. L'abrogation des signaux anti-apoptotiques pour ouvrir la voie aux chimio-thérapies traditionnelles semble des stratégies efficaces.

La dynamique tumorale est complexe; ainsi, en absence d'outils d'investigation de la complexité biologique, la recherche de nouveaux agents anti-cancéreux ne pouvait être qu'empirique. L'expérimentation *In Vituo* se veut être un tel outil, cette approche peut donc nous aider à trouver de nouveaux agents thérapeutiques. Il semble aussi que modifier un tel comportement nécessite un traitement complexe associant de nombreux principes actifs qui perturbent de façon coordonnée la cellule. La complémentation du modèle cellulaire des réseaux de régulation est donc inévitable. De nombreux projets s'y attachent; par contre, peu de projets s'intéressent aussi à l'environnement où baignent les cellules. Or, il existe aussi des phénomènes complexes au niveau tissulaire, ainsi il nous semble important d'en tenir compte et même d'étudier l'environnement comme média pour la tumeur.

## 8.3 Cancers, syndrômes para-néoplasiques et stigmergie

Un cancer est une maladie qui associe des syndrômes para-néoplasiques avec l'invasion tumorale capable à terme de donner des métastases. Il est universellement admis que les syndrômes para-néoplasiques sont provoqués par la tumeur, mais on oublie trop souvent que l'interaction tumeur-syndrôme para-néoplasique est bidirectionnelle. Notre simulation sur les myélomes montre l'importance de l'environnement sur la tumeur et nous pousse à ré-étudier son rôle dans la pathologie, notamment dans la communication. Ainsi, nous proposons d'utiliser la notion de stigmergie dans les cancers. Nous discutons aussi de l'intérêt de la vision stigmergique des cancers en termes de perspec-

tives et de points de vues thérapeutiques.

### 8.3.1 Cancers et stigmergie : perspective

La stigmergie est une forme de communication indirecte utilisée par les insectes sociaux pour coordonner leurs activités. En exploitant cette approche pour la coordination, des chercheurs ont réussi à mettre au point des algorithmes de coordination avec des applications dans de nombreux domaines. Le terme stigmergie introduit par Grassé décrivait la communication chez deux espèces de termites qui modifiaient leur environnement pour communiquer. La construction de leur nid est l'exemple typique. Elle est constituée de deux étapes. La première est une étape non-coordonnée caractérisée par un comportement aléatoire. Dès que le dépôt atteint une taille critique, il se forme une boucle de rétro-action positive du fait d'une concentration importante de phéromones qui stimule les autres termites et les incite à y déposer les débris. Une fois les réserves trop éloignées, le phéromone disparaît entre deux termites diminuant l'activité de ceux-ci. Ainsi, l'activité de la termitière évolue exponentiellement dans un premier temps, puis diminue telle la croissance tumorale suivant une courbe de Gompertz.

L'ensemble de ces éléments peut être observé dans la tumeur. Dans le cas de MM, les cellules myélomateuses peuvent être apparentées à des termites activant les cellules de leur environnement stromal afin que celui-ci stimule la prolifération et provoque l'apparition d'une tumeur. Cette période coordonnée est précédée par des périodes moins ordonnées où la première perturbation doit avoir lieu. De plus, les premiers clones doivent stimuler l'environnement pour proliférer efficacement et résister à l'apoptose. Il existerait donc peut être une taille critique pour que la tumeur se déclenche véritablement. Ainsi, il nous semble nécessaire de reconsidérer les syndrômes paraneoplasiques, non plus comme une simple conséquence de la tumeur mais, pour certains syndrômes, comme un moyen de communication tumorale.

### 8.3.2 Applications thérapeutiques et perspectives

Nous avons proposé un modèle où le micro-environnement est statique. Malgré cela, nous observons l'importance de celui-ci. L'étude des tumeurs myélomateuses sous l'angle de la stigmergie implique d'étudier le système prolifération myélomateuse-remodelage osseux de concert. Nous proposons donc des prototypes de modèles biologiques des cellules du remodelage osseux (figure 8.2) dont l'implémentation avec nos modèles montre des résultats cohérents pour les cas physiologiques (figure 8.3). Après validation de nos différents modèles, nous allons intégrer les deux systèmes (prolifération myélomateuse et remodelage osseux) au sein d'une même simulation. Dans le cas présenté sur la figure 8.3, l'homéostasie est conservée ; par contre, dans les cas des MM, cette homéostasie est perturbée dans le sens d'une augmentation de la destruction osseuse par une augmentation du nombre d'ostéoclastes. Nous allons donc tester

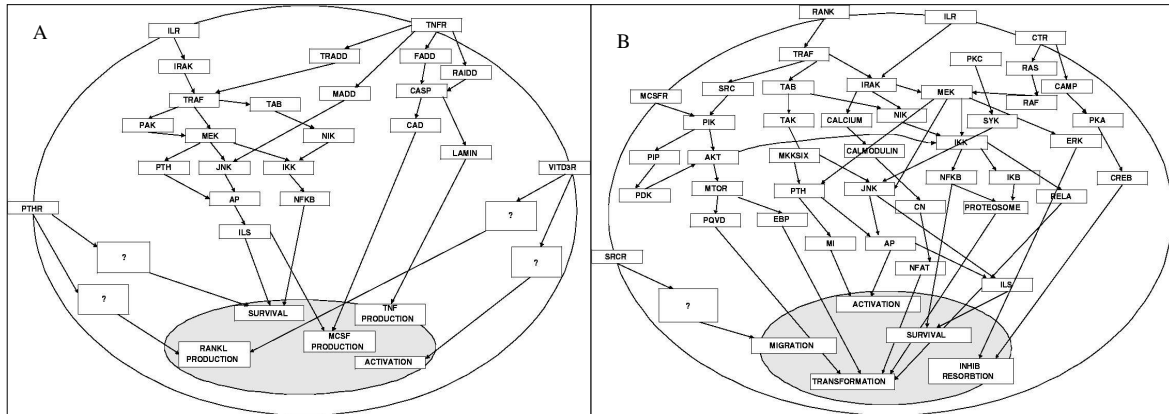


Figure 8.2: Les voies de transmission dans les cellules du remodelage osseux ; A : Modèle d'ostéoclaste ; B : Modèle d'ostéoblaste

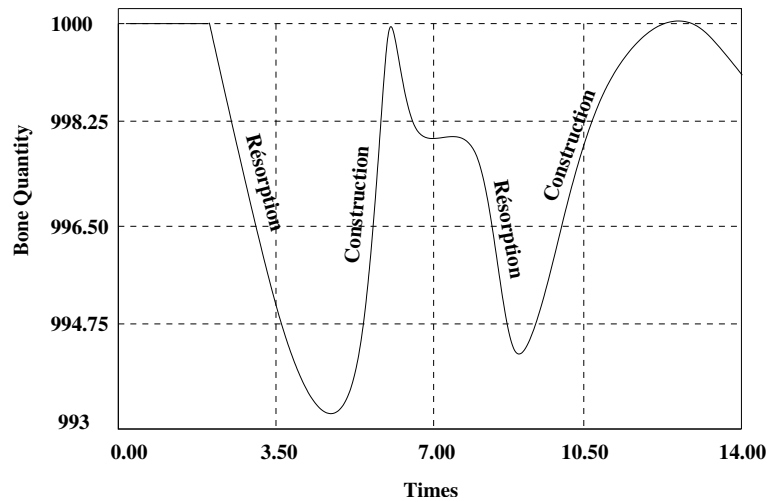


Figure 8.3: Résultat de la simulation du remodelage osseux ; il existe une alternance de phases de résorption et de construction de l'os

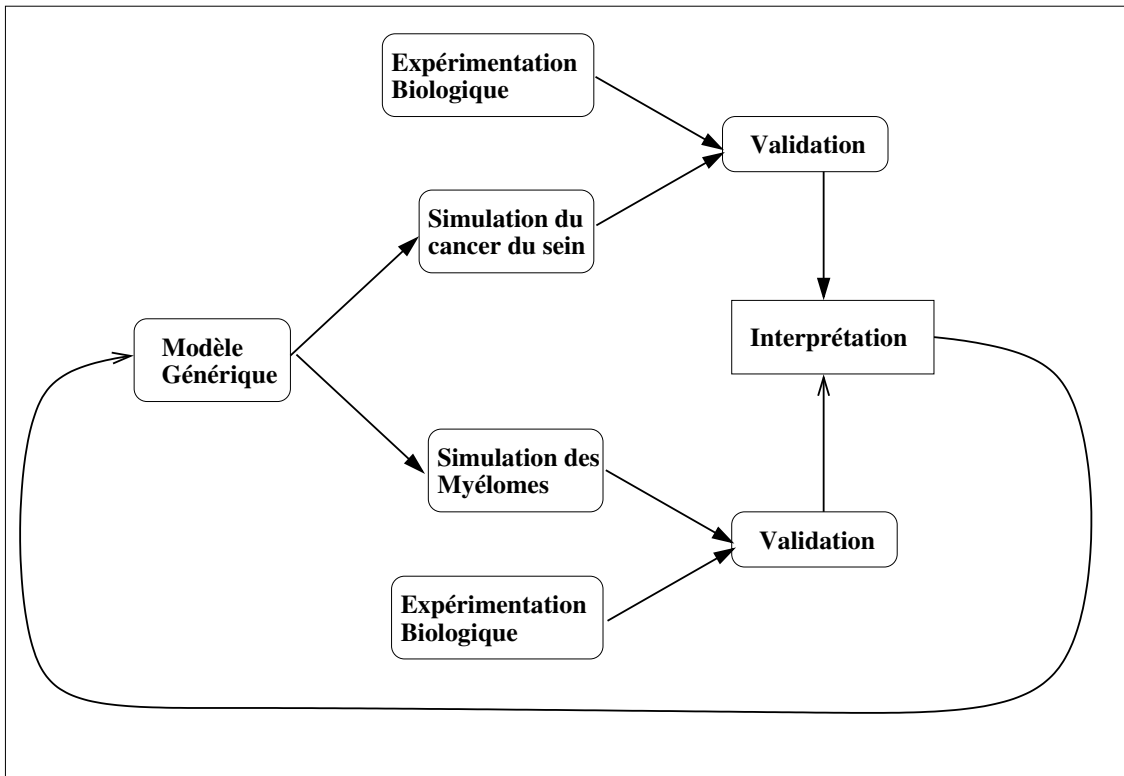


Figure 8.4: Stratégie pour la construction d'un modèle générique de cellule cancéreuse à travers un cycle itératif.

l'effet de cette augmentation sur la cinétique tumorale. Ce genre de simulation pourra à terme nous permettre de tester l'efficacité d'une bi-thérapie consistant à traiter en même temps la prolifération tumorale avec la perturbation du remodelage.

## 8.4 Perspective : le projet BIMSCO

A travers le projet BIMSCO, nous ambitionnons d'utiliser l'expérimentation *In Virtuo* pour développer un modèle comportemental générique de progression tumorale. Ce modèle devra, à terme, nous permettre de développer de nouveaux principes actifs ou de nouveaux protocoles chimio-thérapeutiques. Notre stratégie est développée sur la figure 8.4. Elle consiste en un cycle itératif de modélisation, simulation, validation et interprétation. Deux types de tumeurs de référence seront simulées comme applications de notre modèle :

- les myélomes multiples, cancers d'origine hématologique,
- le cancer du sein, cancer solide.

Pour cela, nous commencerons par utiliser nos modèles de simulation de systèmes biologiques complexes et de cellules virtuelles; puis nous les affinerons afin qu'ils

puissent représenter le plus fidèlement possible la croissance tumorale.

Un tel projet ne peut être réalisé sans la collaboration d'équipes de pointe dans le domaine de la cancérologie et de la simulation. Ainsi, le CERV, le CAC et le CHU Brest se sont associés pour mener à bien ce projet. À la charge du CHU et du CAC de proposer les modèles biologiques de tumeurs et des cellules composant ces tumeurs ; le CERV se doit de proposer des solutions techniques et d'implémenter les modèles.



---

---

# Glossaire

---

---

<b>Aneuploïdie</b>	L'aneuploïdie chromosomique résulte aussi bien de la perte complète ou partielle d'un (monosomie) ou des deux (nullosomie) chromosomes d'une paire, que de leur duplication complète ou partielle (trisomie, tétrasomie, etc.)
<b>Angiogénèse</b>	L'angiogénèse est la création de nouveaux vaisseaux sanguins. C'est un phénomène qui est physiologique mais qui existe aussi dans des cas pathologiques.
<b>Apoptose</b>	L'apoptose est la mort programmée des cellules.
<b>Etude cytogénétique</b>	La cytogénétique est l'étude de la génétique de la cellule, en particulier de ses chromosomes.
<b>Aberration chromosomique</b>	Les aberrations chromosomiques sont caractérisées soit par le gain ou la perte d'un ou d'une partie d'un chromosome (délétion ou addition), soit par le transfert d'un morceau de chromosome vers un autre (translocation).
<b>Abl</b>	Le gène Abl code pour une tyrosine kinase nucléaire.
<b>AC</b>	Automate Cellulaire. L'approche par automate cellulaire est une approche Individus-Centree, discrète et déterministe. La dynamique de l'automate est basée sur les interactions locales à chaque élément de la simulation.
<b>ADN</b>	Acide Désoxyribonucléique
<b>AGR</b>	Agent, Groupe et Rôle. Modèle d'organisation de système Multi-Agents.
<b>AKT</b>	Protéine dont le rôle est la transmission des signaux extra-cellulaires au noyau.
<b>Anti-oncogène</b>	Gène dont l'absence ou le mauvais fonctionnement favorise l'apparition d'un cancer.

<b>ARéVi</b>	Atelier de Réalité Virtuelle. ARéVi est une plateforme multi-agents développée au sein du Lisyc.
<b>ARN</b>	Acide Ribo-nucléique.
<b>ATP</b>	Adénosine Tri-Phosphate. Énergie chimique nécessaire aux processus biologiques.
<b>Bcl-<math>X_l</math></b>	Protéine régulatrice de l'apoptose.
<b>BDI</b>	(Belief, Desire and Intention). Croyance, Désir et Intention. BDI est une architecture comportementale d'agent.
<b>BIMSCO</b>	Biologie Intégrative et Modélisation des Systèmes Complexes en Oncologie
<b>Biologie Systémique</b>	La biologie systémique propose d'étudier les phénomènes biologiques en tant que systèmes <i>i.e.</i> un ensemble d'entités en interaction.
<b>c-Met</b>	Récepteur à l'HGF.
<b>c-Myc</b>	Protéine régulatrice du cycle cellulaire.
<b>CAC</b>	Centre Anti-Cancéreux
<b>CAK</b>	Protéine activatrice des Cdk.
<b>Cancérologie systémique</b>	La cancérologie systémique implique l'étude des cancers comme des systèmes biologiques complexes.
<b>CAO</b>	Conception Assistée par Ordinateur.
<b>Carcinogène</b>	Un carcinogène est un agent chimique, physique ou viral qui provoque l'apparition de cancer ou qui augmente leur incidence.
<b>CD</b>	(Cluster of Differentiation). Antigène présent à la surface de la cellule.
<b>CD45<sub>bright</sub></b>	Caractéristique d'une cellule qui exprime fortement CD45 à sa surface.
<b>CD45<sub>low</sub></b>	Caractéristique d'une cellule qui exprime faiblement CD45 à sa surface.
<b>CD45<sub>Neg</sub></b>	Caractéristique des cellules n'exprimant pas de CD45 à leur surface.
<b>CD45</b>	Leukocyte Common Antigen ; T200 Glycoprotein ; Ly5
<b>CD49d</b>	sous-unité de la $\beta$ 1-intégrine.
<b>Cdk</b>	Cyclin-dependent protein kinase. Famille de protéines contrôlant le cycle cellulaire par hétérodimérisation avec les cyclines.
<b>CERV</b>	Centre Européen de Réalité Virtuelle
<b>Checkpoint</b>	Mécanismes de contrôle du cycle cellulaire.
<b>CHU</b>	Centre Hospitalier Universitaire



---

<b>CNTF</b>	Ciliary Neutrophic Factor
<b>CR</b>	(Correlated Resistance).
<b>CT-1</b>	Cardiotrophine-1
<b>cyclines</b>	Famille de protéines contrôlant le cycle cellulaire.
<b>Cytogénétique moléculaire</b>	La cytogénétique moléculaire se situe à une échelle de résolution intermédiaire entre la cytogénétique et la biologie moléculaire. Elle se base principalement sur les techniques d'hybridation <i>in situ</i> par fluorescence (FISH), autorisant une analyse fine de la structure des chromosomes.
<b>Double-frappe</b>	L'hypothèse de la « double-frappe » admet que deux mutations sont suffisantes pour initier le développement du rétinoblastome. Cette hypothèse peut être appliquée à tous les gènes suppresseur de cancer.
<b>ECM</b>	(ExtraCellular Matrix). Matrice extra-cellulaire.
<b>EGF</b>	l'EGF est un facteur de croissance épithélial et épidermique.
<b>Endocytose</b>	Processus d'invagination d'une petite région de la membrane plasmique permettant un transport actif de molécules, de l'extérieur vers l'intérieur de la cellule.
<b>ENIB</b>	Ecole Nationale d'Ingénieurs de Brest
<b>ERK1</b>	Protéine de la voie des MAPK.
<b>ERK2</b>	Protéine de la voie des MAPK.
<b>Exocytose</b>	Processus de vésicules intra-cellulaires à la membrane plasmique permettant un transport actif de molécules, de l'intérieur vers l'extérieur de la cellule.
<b>Facteur de transcription</b>	Protéine qui se fixe à l'ADN et modifie la synthèse d'un gène.
<b>FGF</b>	(Fibroblast Growth Factor). Facteur de croissance des Fibroblastes.
<b>FISH</b>	hybridation <i>in situ</i> par fluorescence (Fluorecent <i>In Situ</i> Hybridation). Le FISH est une technique où des sondes ADN et ARN marquées par des fluorescents s'hybrident sur des chromosomes en interphase. Cela permet la visualisation microscopique de gène pour définir leurs nombres et leurs localisations.
<b>FT</b>	Facteur de Transcription. Protéines régulant la transcription.

---

<b>GBM</b>	(Glioblastoma Multiform). Tumeur cérébrale, le GBM est la tumeur humaine la plus maligne.
<b>GIS</b>	Groupeement d'Intérêt Scientifique
<b>gp130</b>	gp130 est présent à la surface des cellules sous forme de monomère et permet la transmission du signal après fixation des molécules de la famille de l'IL-6.
<b>Grb2</b>	Protéine adaptatrice permettant le passage des signaux externes aux voies de transmission.
<b>HGF</b>	(Hépatocyte Growth Factor). Facteur de croissance des hépatocytes.
<b>HMCL</b>	(Human Myeloma Cell Line).Lignée Humaine de Cellules Myélomateuses.
<b>HS</b>	Hyper-Structure. Ensemble de macromolécules.
<b>HS</b>	Hyper-Structures.
<b>IC</b>	Individus-Centré. Caractéristique d'un modèle décrivant le comportement des entités de la simulation plutôt que l'effet de leurs actions sur l'environnement.
<b>ICE</b>	Protéine régulatrice du cycle cellulaire et de l'apoptose.
<b>IGF</b>	(Insulin-like Growth Factor). Facteur de croissance.
<b>Igm</b>	Immunoglobuline de type M.
<b>IKK</b>	Protéine Kinase Inhibitrice de la voie d'activation de NF- $\kappa$ B.
<b>IL</b>	Interleukine
<b>INSERM</b>	Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale
<b>Intégrine</b>	Famille de molécule autorisant l'adhésion cellulaire.
<b>Interferon</b>	Chemokine produite par les lymphocytes.
<b>JAK</b>	(Janus Kinase). Protéine kinase du réseau de transmission cellulaire.
<b>Labelling Index</b>	Le Labelling Index est une mesure du pourcentage de cellules en phase S.
<b>LCL</b>	Lignée Lymphoblastique (Lymphoblastic Cell Line) résultant de l'immortalisation de cellules saines par un virus.
<b>LFA</b>	(Lymphocyte Function-Associated Antigen). Famille de molécule permettant l'adhésion cellulaire.
<b>LI</b>	(Labelling Index).
<b>LIF</b>	(leukemia inhibitory factor).

---

<b>Lisyc</b>	Laboratoire d'Informatique des Systèmes Complexes
<b>Lyn</b>	Protéine mis en évidence dans les plasmocytes et les lymphocytes B. Elle a un rôle dans l'activation de l'expression génique.
<b>MAPK</b>	(Mitogen-Activated Protein Kinase). Voie de transmission de signaux mitotiques.
<b>MASCARET</b>	(MultiAgent System for Collaborative and Adaptive Realistic Environnement for Training). Modèle d'organisation de système Multi-Agents.
<b>Mcl-1</b>	(Myeloid cell factor-1). Protéine anti-apoptotique.
<b>MDE</b>	(Matrix Degradative Enzyme). Enzyme de dégradation de la matrice extra-cellulaire.
<b>MEK-1</b>	Protéine de la voie des MAPK.
<b>MGUS</b>	gammopathie monoclonale de signification indéterminée.
<b>MIP-1</b>	Chemokine du remodelage osseux.
<b>MM</b>	Myélomes Multiples
<b>MMP-9</b>	Protéine qui dégrade la matrice osseuse, facilitant par la même occasion la migration des cellules néoplasiques.
<b>MOISE</b>	(Model of Organization for multi-agent SystEms). Modèle d'organisation de système Multi-Agents.
<b>MPC</b>	Plasmocytome murin
<b>MPF</b>	M-phase Promoting Factor. Hétérodimère contrôlant le passage de la phase $G_2$ à la phase M.
<b>Myc</b>	La protéine Myc participe à la régulation de la transcription en se dimérisant avec Max.
<b>Néoplasique</b>	Néoplasique est un synonyme de tumoral.
<b>NCAM</b>	(Neural Cell Adhesion Molecule). Famille de molécules autorisant l'adhésion cellulaire
<b>NF-<math>\kappa</math>B</b>	Facteur de transcription activé par des lipopolysaccharides bactériens et les cytokines pro-inflammatoire tel que TNF- $\alpha$ ou l'IL-11.
<b>ODE</b>	(Ordinary Differential Equation).Equation Différentielle Ordinaire.
<b>OEI</b>	Organisation, Entité et Interaction, Modèle d'organisation de SMA pour la simulation de Systèmes Biologiques.
<b>Oncogène</b>	Gène dont la présence et le fonctionnement dans une cellule contribue à sa transformation cancéreuse.

---

<b>OPG</b>	(Osteoprotegerin). Récepteur soluble à RANKL.
<b>oRis</b>	oRis est un environnement de simulation interactive; c'est à la fois un langage de programmation par objets actifs et un environnement d'exécution de ce langage. Le tout a été développé au sein du Lisyc.
<b>OSM</b>	Oncostatine M
<b>p21</b>	Protéine régulatrice du cycle cellulaire.
<b>P70S6</b>	Protéine qui régule la transcription.
<b>PI3K</b>	Protéine dont le rôle est la transmission des signaux extra-cellulaires au noyau.
<b>pléiotropique</b>	caractéristique de ce qui affecte plusieurs caractéristiques d'un système.
<b>pRB</b>	pRB est le produit d'un gène suppresseur de tumeur mis en évidence dans le rétinoblastome.
<b>Progression tumorale</b>	La progression tumorale peut être anatomique ou biologique. La progression anatomique correspond à l'envahissement de l'organe puis de l'organisme où il a pris naissance. La progression biologique est l'apparition des différents événements impliquant la transformation de la cellule normale vers la cellule cancéreuse.
<b>Prostaglandine</b>	Les Prostaglandines sont des lipides bioactifs.
<b>PTEN</b>	PTEN est un gène suppresseur de tumeur dont le produit est une phosphatase.
<b>Raf-1</b>	Protéine de la voie des MAPK.
<b>RANK</b>	(Receptor Activator of NF- $\kappa$ B). Récepteur membranaire à RANKL.
<b>RANKL</b>	(Receptor Activator of NF- $\kappa$ B Ligand). Chemokine du remodelage osseux.
<b>Ras</b>	(Rat Sarcoma). Ras est une protéine pléiotropique qui joue un rôle important dans la transmission cellulaire.
<b>RdP</b>	Réseau de Pétri.
<b>RV</b>	Réalité Virtuelle.
<b>SCID</b>	(Severe Combined Immunodeficiency). Déficience Immunitaire Sévère.
<b>Shc</b>	Protéine adaptatrice permettant le passage des signaux externes aux voies de transmission.
<b>SHP2</b>	Protéine adaptatrice permettant le passage des signaux externes aux voies de transmission.

---

<b>SMA</b>	Système Multi-Agents
<b>SOCS</b>	Protéine régulatrice des signaux transmis par la voie des JAK-STAT.
<b>SPF</b>	S-phase Promoting Factor. Hétérodimère contrôlant le passage de la phase $G_1$ à la phase S.
<b>STAT switch</b>	Signal Transducer and Activator of Transcription Une cellule B exprime d'abord des IgM à sa surface puis, au cours de sa différenciation, pourra exprimer une autre classe d'Ig (IgG, IgE ou IgA); ce mécanisme est appelé commutation de classe ou « switch » d'isotype.
<b>Syndecan</b>	Famille de molécule autorisant l'adhésion cellulaire.
<b>TNF</b>	(tumor necrosis factor).
<b>TRANCE</b>	=RANKL.
<b>TyK2</b>	(Protein-Tyrosine Kinase 2). Protéine du réseau de transmission cellulaire.
<b>UbE</b>	Protéine associée au réseau de dégradation protéique.
<b>UML</b>	(Unified Modelling Language). Langage de description pour la programmation orientée objet.
<b>VLA</b>	(Very Late Activation Protein). C'est une famille de protéines par lesquelles une cellule peut adhérer.
<b>vWF</b>	(Von Willebrand Factors).Facteurs de Von Willebrand.



---

---

# Références bibliographiques

---

---

- A.M. Roccaro-G. Di Pietro A. Vacca, C. Scavelli and F. Dammacco. *Genetic and epigenetic mechanisms of multiple myeloma. Drug Discovery Today : Disease Mechanisms*, page in Press, 2004.
- S.K. Lemieux A.A. Patel, E.T. Gawlinski and R.A. Gatenby. A cellular automaton model of early tumor growth and invasion : The effects of naive tissue vascularity and increased aerobic tumor metabolism. *Journal of Theoretical Biology*, 213 : 315–331, 2001.
- M. Abe, K. Hiura, J. Wilde, K. Moriyama, T. Hashimoto, S. Ozaki, S. Wakatsuki, M. Kosaka, S. Kido, D. Inoue, and T. Matsumoto. Role for macrophage inflammatory protein (mip)-1alpha and mip-1beta in the development of osteolytic lesions in multiple myeloma. *Blood*, 100(6) :2195–2202, Sep 2002.
- J. Aguilar. A survey about fuzzy cognitive maps papers. *International Journal of Computational Cognition*, 3(2) :27–33, 2005.
- M. Akiyama, T. Hideshima, T. Hayashi, Y. T. Tai, C. S. Mitsiades, N. Mitsiades, D. Chauhan, P. Richardson, N. C. Munshi, and K. C. Anderson. Cytokines modulate telomerase activity in a human multiple myeloma cell line. *Cancer Res*, 62(13) :3876–3882, Jul 2002.
- A.R.A. Anderson and M.A.J. Chaplain. Continuous and discrete mathematical models of tumor-induced angiogenesis. *Bulletin of Mathematical Biology*, 60 :857–900, 1998.
- G.R. Harsh-E.A. Chiocca A.R. Kansal, S. Torquado and T.S. Deisboeck. Cellular automaton of idealized brain tumor growth dynamics. *BioSystem*, pages 119–127, 2000a.
- G.R. Harsh-E.A. Chiocca A.R. Kansal, S. Torquado and T.S. Deisboeck. Simulated brain tumor growth dynamics using a three-dimensional cellular automaton. *Journal of Theoretical Biology*, 203 :367–382, 2000b.

- P. Armitage and R. Doll. The age distribution of cancer and a multi-stage theory of carcinogenesis. *Br J Cancer*, 8(1) :1–12, Mar 1954.
- P. Armitage and R. Doll. A two-stage theory of carcinogenesis in relation to the age distribution of human cancer. *Br J Cancer*, 11(2) :161–169, Jun 1957.
- H. Atlan. The living cell as a paradigm for complex natural systems. *Complexus*, 1 : 1–3, 2003.
- H. Avet-Loiseau, T. Facon, Grobois B., F. Magrangeas, M.J. Rapp, J.H. Harrouseau, S. Minvielle, and R. Bataille. Oncogenesis of multiple myeloma : 14q32 and 13q chromosomal abnormalities are not randomly distributed, but correlate with natural history, immunological features and clinical presentation. *Blood*, 99(6) :2185–2188, 2002.
- R. Axelrod. *Structure of decision*. Princeton University Press, 1976.
- G. F. Azzone. Adaptation and information in ontogenesis and phylogenesis. increase of complexity and efficiency. *Hist Philos Life Sci*, 19(2) :163–180, 1997.
- F. Ballarini and A. Ottenlenghi. Chromosome aberrations as biomarkers of radiation exposure : Modelling basic mechanisms. *Adv. Space Res.*, 31(6) :1557–1568, 2003.
- P. Ballet. *Intérêt mutuel des systèmes multi-agents et de l'immunologie, application à l'immunologie, à l'hématologie et au traitement d'image*. PhD thesis, Université de Bretagne Occidentale, BREST (France), 2000.
- P. Ballet, J.F. Abgrall, V. Rodin, and J. Tisseau. Simulation of thrombin generation during plasmatic coagulation and primary hemostasis. In *Proceeding of IEEE SMC'00*, volume 1, pages 131–136, 2000.
- P. Ballet, J. Pers, V. Rodin, and J. Tisseau. A multi-agent system to simulate apoptosis model of b-cell. In *Proceeding IEEE SMC'98*, volume 2, pages 1–5, 1998a.
- P. Ballet, V. Rodin, and V. Tisseau. Intérêt mutuels des systèmes multi-agents et de l'immunologie. In *Proceeding CID'98*, pages 141–153, 1998b.
- F. Barahmand-pour, A. Meinke, M. Kieslinger, A. Eilers, and T. Decker. A role for stat family transcription factors in myeloid differentiation. *Curr Top Microbiol Immunol*, 211 :121–128, 1996.
- N. Barkai and S. Leibler. Robustness in simple biochemical networks. *nature*, pages 913–917, 1997.
- C. Bastard. Cytogénétique des lymphomes malins et du myélome multiple. *Pathologie Biologie*, 51 :375–381, 2003.
- R. Bataille, M. Boccadoro, B. Klein, B. Durie, and A. Pileri. C-reactive protein and beta-2 microglobulin produce a simple and powerful myeloma staging system. *Blood*, 80(3) :733–737, Aug 1992.



- 
- R. Bataille, B. G. Durie, and J. Grenier. Serum beta2 microglobulin and survival duration in multiple myeloma : a simple reliable marker for staging. *Br J Haematol*, 55(3) :439–447, Nov 1983.
- R. Bataille, N. Robillard, C. Pellat-Deceunynck, and M. Amiot. A cellular model for myeloma cell growth and maturation based on an intracloal cd45 hierarchy. *Immunol Rev*, 194 :105–111, Aug 2003.
- D.A. Beard and T. Schlick. Computational modelling predicts the structure and dynamics of chromatin fiber. *Structure*, 9 :105–114, 2001.
- M. Benjamin, S. Reddy, and O. W. Brawley. Myeloma and race : a review of the literature. *Cancer Metastasis Rev*, 22(1) :87–93, Mar 2003.
- D.L. Beveridge and K.J. McConnel. Nucleic acids : Theory and computer simulation, y2k. *Current Opinion in Structural Biology*, 10(2) :182–196, 2000.
- U. Bhalla and R. Iyengar. Emergent properties of networks of biological signaling pathways. *Science*, 283 :381–387, 1999.
- U.S. Bhalle. Understanding complex signaling networks through models and metaphors. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 81 :45–65, 2003.
- N. Bluthgen. *Dynamical models of signal transduction and the influence od feedback loop*. PhD thesis, Humboldt University Berlin, 2001.
- M. Borset, H. Hjorth-Hansen, C. Seidel, A. Sundan, and A. Waage. Hepatocyte growth factor and its receptor c-met in multiple myeloma. *Blood*, 88(10) :3998–4004, Nov 1996.
- D. Bray. Intracellular signalling as a parallel distributed process. *Journal of Theoretical Biology*, 143 :215–231, 1990.
- A. T. Brenne, L. H. Romstad, P. Gimsing, G. Juliusson, I. Turesson, P. Romundstad, M. Borset, A. Sundan, and A. Waage. A low serum level of soluble tumor necrosis factor receptor p55 predicts response to thalidomide in advanced multiple myeloma. *Haematologica*, 89(5) :552–556, May 2004.
- J. M. Brown, J. Zhang, and E. T. Keller. Opg, rankl, and rank in cancer metastasis : expression and regulation. *Cancer Treat Res*, 118 :149–172, 2004.
- S. Broyde and B.E. Hingerty. Effective computational strategies for determining stuctures od carcinogen-damaged dna. *Journal of Computational Physics*, 151 : 313–332, 1999.
- H.M. Byrne. *Cancer Modelling an Simulation*, chapter Modelling Avascular Tumour Growth, pages 75–120. 2003.

- M. Roux-Rouquie C. Auffray, S. Imbeaud and L. Hood. From functional genomics to systems biology : concepts and practices. *C R Biol*, 326(10-11) :879–892, Oct 2003.
- P. De Loor C. Buche, R. Querrec and P. Chevaillier. MASCARET : A pedagogical multi-agent system for virtual environment for training. *Special issue "Cyberworlds and education" of the international Journal of Distance Education Technologies (JDET)*, 2(4) :41–61, Novembre 2004.
- J. Cairns, J. Overbaugh, and S. Miller. The origin of mutants. *Nature*, 335(6186) : 142–145, Sep 1988.
- L. Cardelli. Brane calculi - interactions of biological membranes. In *Computational Methods in Systems Biology'04*, 2004.
- P. Chaibi, L. Merlin, C. Thomas, and F. Piette. [monoclonal gammopathy of undetermined significance]. *Ann Med Interne (Paris)*, 153(7) :459–466, Nov 2002. (fre).
- M.A.J. Chaplain and A.R.A. Anderson. *Cancer Modelling and Simulation*, chapter Mathematical Modelling of Tissue Invasion, pages 269–297. 2003.
- W. Chen, Y. Wu, J. Zhu, J. Liu, S. Tan, and C. Xia. Methylation of p16 and p15 genes in multiple myeloma. *Chin Med Sci J*, 17(2) :101–105, Jun 2002.
- M. Chesi, L. A. Brents, S. A. Ely, C. Bais, D. F. Robbiani, E. A. Mesri, W. M. Kuehl, and P. L. Bergsagel. Activated fibroblast growth factor receptor 3 is an oncogene that contributes to tumor progression in multiple myeloma. *Blood*, 97(3) :729–736, Feb 2001.
- C. S. Chim, Y. L. Kwong, T. K. Fung, and R. Liang. Methylation profiling in multiple myeloma. *Leuk Res*, 28(4) :379–385, Apr 2004.
- G. Clergue. L'apprentissage de la complexité. Hermes, 1997.
- G. Cook and J. D. Campbell. Immune regulation in multiple myeloma : the host-tumour conflict. *Blood Rev*, 13(3) :151–162, Sep 1999.
- G. Cook, M. Dumbar, and I. M. Franklin. The role of adhesion molecules in multiple myeloma. *Acta Haematol*, 97(1-2) :81–89, 1997.
- V. Danos and C. Laneve. Formal molecular biology. *Theoretical Computer Science*, 325.
- D. D. Dao, J. R. Sawyer, J. Epstein, R. G. Hoover, B. Barlogie, and G. Tricot. Deletion of the retinoblastoma gene in multiple myeloma. *Leukemia*, 8(8) :1280–1284, Aug 1994.
- F. Dardel and F. Képès. Bioinformatique, génomique et post-génomique. ellipses, 2002.
- F. E. Davies and K. C. Anderson. Novel therapeutic targets in multiple myeloma. *Eur J Haematol*, 64(6) :359–367, Jun 2000.

- 
- F. E. Davies, A. M. Dring, C. Li, A. C. Rawstron, M. A. Shamma, S. M. O'Connor, J. A. Fenton, T. Hideshima, D. Chauhan, I. T. Tai, E. Robinson, D. Auclair, K. Rees, D. Gonzalez, A. J. Ashcroft, R. Dasgupta, C. Mitsiades, N. Mitsiades, L. B. Chen, W. H. Wong, N. C. Munshi, G. J. Morgan, and K. C. Anderson. Insights into the multistep transformation of mgus to myeloma using microarray expression analysis. *Blood*, 102(13) :4504–4511, Dec 2003.
- Y. Demazeau. From interactions to collective behavior in agent-based systems. In *Proceeding European Conference on Cognitive Science'95*, pages 117–132, 1995.
- S. Derenne, B. Monia, N. M. Dean, J. K. Taylor, M. J. Rapp, J. L. Harousseau, R. Bataille, and M. Amiot. Antisense strategy shows that mcl-1 rather than bcl-2 or bcl-x(1) is an essential survival protein of human myeloma cells. *Blood*, 100(1) : 194–199, Jul 2002.
- P. W. Derksen, D. J. de Gorter, H. P. Meijer, R. J. Bende, M. van Dijk, H. M. Lokhorst, A. C. Bloem, M. Spaargaren, and S. T. Pals. The hepatocyte growth factor/met pathway controls proliferation and apoptosis in multiple myeloma. *Leukemia*, 17(4) : 764–774, Apr 2003.
- B. Drewinko and R. Alexanian. Growth kinetics of plasma cell myeloma. *J Natl Cancer Inst*, 58(5) :1247–1253, May 1977.
- B. Drewinko, R. Alexanian, H. Boyer, B. Barlogie, and S. I. Rubinow. The growth fraction of human myeloma cells. *Blood*, 57(2) :333–338, Feb 1981.
- H. G. Drexler. Review of alterations of the cyclin-dependent kinase inhibitor ink4 family genes p15, p16, p18 and p19 in human leukemia-lymphoma cells. *Leukemia*, 12(6) :845–859, Jun 1998.
- W. Duchting and G. Dehl. Simulation of two-dimensional cell growth with application to tumor kinetics. *Mathematics and Computers in Simulation*, pages 81–90, 1980.
- W. Duchting and T. Ginsberg. Computer simulation applied to radiation theory in cancer research. *Applied Mathematics and Computation*, 74 :191–207, 1996.
- W. Duchting and T. Vogelsaenger. Simulation of three-dimensional cell growth with application to optimal tumor treatment. *Annual Review in Automatic Programming*, 12 :439–442, 1985.
- W. Duchting and T. Vogesaenger. Methodological aspect of modelling tumor growth and treatment. *Ecological Modelling*, 32 :191–197, 1986.
- P. Duesberg and R. Li. Multistep carcinogenesis : a chain reaction of aneuploidizations. *Cell Cycle*, 2(3) :202–210, May 2003.
- B. G. Durie. Is magnitude of initial response predictive for survival in multiple myeloma? *Ann Oncol*, 2(3) :166, Mar 1991.

- B. G. Durie, D. H. Russell, and S. E. Salmon. Reappraisal of plateau phase in myeloma. *Lancet*, 2(8185) :65–68, Jul 1980.
- S. Egée. *Mise en évidence des voies de conductance dans les érythrocytes nucléés de poissons (Oncorhynchus mykiss) : implication dans la régulation du volume cellulaire*. PhD thesis, Université de Bretagne Occidentale, 1998.
- S. A. Ely and D. M. Knowles. Expression of cd56/neural cell adhesion molecule correlates with the presence of lytic bone lesions in multiple myeloma and distinguishes myeloma from monoclonal gammopathy of undetermined significance and lymphomas with plasmacytoid differentiation. *Am J Pathol*, 160(4) :1293–1299, Apr 2002.
- A. Zemirline et L. Marcé P. Ballet. The biodyn language and simulator. application to an immune response and e.coli and phage interaction. *Journal of Biological Physics and Chemistry*, 4(2004) :93–101, September 2004.
- J. Ferber. *Les systèmes multiagents : vers un intelligence collective*. Hermes, Paris, 1995.
- J. Ferber. *Multi-Agent Systems : An Introduction to Distributed Artificial Intelligence*. Addison-Wesley Pub Co, 1999.
- J. D. French, R. C. Tschumper, and D. F. Jelinek. Analysis of il-6-mediated growth control of myeloma cells using a gp130 chimeric receptor approach. *Leukemia*, 16(6) :1189–1196, Jun 2002.
- P. Fuchs, G. Moreau, and J.P. Papin. *Le traité de la réalité virtuelle*, volume 1, chapter 1, pages 1–35. Les presses de l’Ecole des Mines, Paris, 2001.
- Y. Szpak R. Bataille N. Robillard G. Descamps, C. Pellat-Deceunynck and M. Amiot. The magnitude of akt/phosphatidylinositol 3’-kinase proliferating signaling is related to cd45 expression in human myeloma cells. *Blood*, 173(8) :4953–4959, 2004.
- J. Langowski T. Cremer G. Kreth, Ch. Munkel and C. Cremer. Chromatin structure and chromosome aberrations : Modeling of damage induced by isotropic and localised irradiation. *Mutation Research*, 404 :77–88, 1998.
- K. Gado, S. Silva, K. Paloczi, G. Domjan, and A. Falus. Mouse plasmacytoma : an experimental model of human multiple myeloma. *Haematologica*, 86(3) :227–236, Mar 2001.
- O. Galm, S. Wilop, J. Reichelt, E. Jost, G. Gehbauer, J. G. Herman, and R. Osieka. Dna methylation changes in multiple myeloma. *Leukemia*, 18(10) :1687–1692, Oct 2004.
- N. L. Ge and S. Rudikoff. Insulin-like growth factor i is a dual effector of multiple myeloma cell growth. *Blood*, 96(8) :2856–2861, Oct 2001.

- 
- M. Gibson. *Computational Methods fo Stochastic Biological Systems*. PhD thesis, California Institue of Technology, Pasadena, California, 2000.
- D. Gillespie. A general method for numerically simulating the stochastic time evolution of coupled shemial reactions. *Journal od Computational Physics*, pages 403–434, 1976.
- D. Gillespie. Exact stochastic simulation of coupled chemical reactions. *Journal of Physical Chemistry*, 81 :2340–2361, 1977.
- N. Giuliani, R. Bataille, C. Mancini, M. Lazzaretti, and S. Barille. Myeloma cells induce imbalance in the osteoprotegerin/osteoprotegerin ligand system in the human bone marrow environment. *Blood*, 98(13) :3527–3533, Dec 2001.
- N. Giuliani, S. Colla, and V. Rizzoli. New insight in the mechanism of osteoclast activation and formation in multiple myeloma : focus on the receptor activator of nf-kappab ligand (rankl). *Exp Hematol*, 32(8) :685–691, Aug 2004.
- P.J.E. Goss and J. Peccoud. Quantitative modeling of stochastic systems in molecular biology by using stochastic petri nets. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95 :6750–6755, 1998.
- S. Le Gouill, K. Podar, J. L. Harousseau, and K. C. Anderson. Mcl-1 regulation and its role in multiple myeloma. *Cell Cycle*, 3(10) :1259–1262, Oct 2004.
- S. Greenstein, N. L. Krett, Y. Kurosawa, C. Ma, D. Chauhan, T. Hideshima, K. C. Anderson, and S. T. Rosen. Characterization of the mm.1 human multiple myeloma (mm) cell lines : a model system to elucidate the characteristics, behavior, and signaling of steroid-sensitive and -resistant mm cells. *Exp Hematol*, 31(4) :271–282, Apr 2003.
- F. Grizzi, B. Franceschini, M. Chiriva-Internati, and P. L. Hermonat. Fractal tumor growth of ovarian cancer : sonographic evaluation. *Gynecol Oncol*, 89(3) :552–3; author reply 554, Jun 2003.
- O. Gutknecht and J. Ferber. Un méta-modèle organisationnel pour l’analyse, la conception et l’exécution de systèmes multi-agents. In *JFIADSMA ’98*, pages 267 – 280, 1998.
- Ishikawa H., M.S. Mahmoud, R. Fujii, S. Abroun, and M.M. Kawano. Proliferation of immature myeloma cells by interleukine-6 is associated with cd45 expression in human multiple myeloma. *Leukemia and Lymphoma*, 39(1-2) :51–55, 2000.
- M. Drew M. S. Hamilton H. F. Barker, J. Ball and I. M. Franklin. The role of adhesion molecules in multiple myeloma. *Leuk Lymphoma*, 8(3) :189–196, Oct 1992.
- H. Aoshima A. Doi M. Matsui H. Matsuno, Y. Tanak and S. Miyano. Biopathways representation and simulation on hybrid functional petri net. In *Silico Biol.*, 3(3) : 389–404, 2003.

- R. Savit H. Van Dyke Parunak and R.L. Riolo. Agent-based modeling vs. equation-based modeling : A case study and users' guide. In *MABS*, pages 10–25, 1998.
- M. Hallek, P. L. Bergsagel, and K. C. Anderson. Multiple myeloma : increasing evidence for a multistep transformation process. *Blood*, 91(1) :3–21, Jan 1998.
- M. Hannoun, O. Boissier, J.S. Sichman, and C. Sayettat. MOISE : Un modèle organisationnel pour la conception de systèmes multi-agents. In *JFIADSMA'99*, pages 105 – 118, 1999.
- H. Harada, M. M. Kawano, N. Huang, Y. Harada, K. Iwato, O. Tanabe, H. Tanaka, A. Sakai, H. Asaoku, and A. Kuramoto. Phenotypic difference of normal plasma cells from mature myeloma cells. *Blood*, 81(10) :2658–2663, May 1993.
- Fabrice Harrouet. oRis-ARéVi : un environnement de développement pour l'autonomisation des modèles. 9<sup>es</sup> journées du Groupe de Travail Animation et Simulation, 13–14 June 2002.
- Fabrice Harrouet, Jacques Tisseau, Patrick Reignier, and Pierre Chevaillier. oRis : un environnement de simulation interactive multi-agents. *Revue des sciences et technologie de l'information, série Technique et science informatiques (RSTI-TSI)*, 21(4) :499–524, 2002.
- P. C. Heinrich, I. Behrmann, S. Haan, H. M. Hermanns, G. Muller-Newen, and F. Schaper. Principles of interleukin (il)-6-type cytokine signalling and its regulation. *Biochem J*, 374(Pt 1) :1–20, Aug 2003.
- P. C. Heinrich, I. Behrmann, G. Muller-Newen, F. Schaper, and L. Graeve. Interleukin-6-type cytokine signalling through the gp130/jak/stat pathway. *Biochem J*, 334 ( Pt 2) :297–314, Sep 1998.
- T. Hideshima, P. L. Bergsagel, W. M. Kuehl, and K. C. Anderson. Advances in biology of multiple myeloma : clinical applications. *Blood*, 104(3) :607–618, Aug 2004.
- T. Hideshima, D. Chauhan, R. Schlossman, P. Richardson, and K.C. Anderson. The role of tumor necrosis factor alpha in the pathophysiology of human multiple myeloma : therapeutic applications. *Oncogene*, 20 :4519–4527, 2001.
- T. Hirano, K. Yasukawa, H. Harada, T. Taga, Y. Watanabe, T. Matsuda, S. Kashiwamura, K. Nakajima, K. Koyama, and A. Iwamatsu. Complementary dna for a novel human interleukin (bsf-2) that induces b lymphocytes to produce immunoglobulin. *Nature*, 324(6092) :73–76, 1986.
- J. A. Hokanson, B. W. Brown, J. R. Thompson, B. Drewinko, and R. Alexanian. Tumor growth patterns in multiple myeloma. *Cancer*, 39(3) :1077–1084, Mar 1977.
- J. A. Hokanson, B. W. Brown, J. R. Thompson, B. Jansson, and B. Drewinko. Mathematical model for human myeloma relating growth kinetics and drug resistance. *Cell Tissue Kinet*, 19(1) :1–10, Jan 1986.

- 
- C. M. Horvath. Stat proteins and transcriptional responses to extracellular signals. *Trends Biochem Sci*, 25(10) :496–502, Oct 2000.
- C. M. Horvath. The jak-stat pathway stimulated by interleukin 6. *Sci STKE*, 2004 (260) :tr9, Nov 2004.
- C. Huang and J. Ferrel. Ultrasensitivity in the mitogen-activated protein kinase cascade. *PNAS*, 93 :10078–10083, 1996.
- L. Remels P. Lacor R. Schots I. Van Riet, M. De Waele and B. Van Camp. Expression of cytoadhesion molecules (cd56, cd54, cd18 and cd29) by myeloma plasma cells. *Br J Haematol*, 79(3) :421–427, Nov 1991.
- S. Iida and R. Ueda. Multistep tumorigenesis of multiple myeloma : its molecular delineation. *Int J Hematol*, 77(3) :207–212, Apr 2003.
- H. Ishikawa, N. Tsuyama, S. Abroun, S. Liu, F. J. Li, K. Otsuyama, X. Zheng, and M. M. Kawano. Interleukin-6, cd45 and the src-kinases in myeloma cell proliferation. *Leuk Lymphoma*, 44(9) :1477–1481, Sep 2003a.
- H. Ishikawa, N. Tsuyama, and M. M. Kawano. Interleukin-6-induced proliferation of human myeloma cells associated with cd45 molecules. *Int J Hematol*, 78(2) :95–105, Aug 2003b.
- H. Ishikawa, N. Tsuyama, M. S. Mahmoud, R. Fujii, S. Abroun, S. Liu, F. J. Li, and M. M. Kawano. Cd19 expression and growth inhibition of tumours in human multiple myeloma. *Leuk Lymphoma*, 43(3) :613–616, Mar 2002.
- C. Clement J. Post F. Morard N. Vita P. Laurent R. X. Sun B. Klein J. Wijdenes, W. C. Vooijs and J. M. Dore. A plasmocyte selective monoclonal antibody (b-b4) recognizes syndecan-1. *Br J Haematol*, 94(2) :318–323, Aug 1996.
- H. De Jong and J. Geiselmann. Informatique pour l’analyse du transcriptome. Hermes Science, 2004.
- C.M. Jonker, J.L. Snoep, J. Treur, H.V. Westerhoff, and W.C.A. Wijngaards. Putting intentions into cell biochemistry : an artificial intelligence persepective. *J. Theor. Biol.*, 214 :105–134, 2002.
- M. Jourdan, J. L. Veyrone, J. D. Vos, N. Redal, G. Couderc, and B. Klein. A major role for mcl-1 antiapoptotic protein in the il-6-induced survival of human myeloma cells. *Oncogene*, 22(19) :2950–2959, May 2003.
- G. Booth J.U. Kreft and J.W. Wimpenny. Bacsim, a simulator for individual-based modelling of bacterial colony growth. *Microbiology*, 144 :3275–3287, 1998.
- B. Hu K. Takahashi, K. Kaizu and M. Tomita. A multi-algorithm, multi-timescale method for cell simulation. *Bioinformatics*, pages 538–546, 2004.

- Y. Sadamoto H. Sasamoto S. Ohta A. Shiozawa F. Miyoshi Y. Naito Y. Nakayama K. Takahashi, N. Ishikawa and M. Tomita. E-cell 2 : multi-platform e-cell simulation system. *Bioinformatics*, 19(13) :1727–1729, Sep 2003.
- M. Kawano, T. Hirano, T. Matsuda, T. Taga, Y. Horii, K. Iwato, H. Asaoku, B. Tang, O. Tanabe, H. Tanaka, and a. l. .. et. Autocrine generation and requirement of bsf-2/il-6 for human multiple myelomas. *Nature*, 332(6159) :83–85, Mar 1988.
- M. Kawano, H. Tanaka, H. Ishikawa, M. Nobuyoshi, K. Iwato, H. Asaoku, O. Tanabe, and A. Kuramoto. Interleukin-1 accelerates autocrine growth of myeloma cells through interleukin-6 in human myeloma. *Blood*, 73(8) :2145–2148, Jun 1989.
- M. M. Kawano, N. Huang, H. Harada, Y. Harada, A. Sakai, H. Tanaka, K. Iwato, and A. Kuramoto. Identification of immature and mature myeloma cells in the bone marrow of human myelomas. *Blood*, 82(2) :564–570, Jul 1993.
- M. M. Kawano, H. Ishikawa, N. Tsuyama, S. Abroun, S. Liu, F. J. Li, K. Otsuyama, and X. Zheng. Growth mechanism of human myeloma cells by interleukin-6. *Int J Hematol*, 76 Suppl 1 :329–333, Aug 2002.
- J. Keener and J. Sneyd. *Mathematical Physiology*. Springer, 1998.
- Sébastien Kerdélo, Jean-François Abgrall, Marc Parenthoën, and Jacques Tisseau. Multi-agent systems : A useful tool for the modelization and simulation of the blood coagulation cascade. In *AAMAS 2002, Workshop Bioinformatics And Multi-Agent Systems(BIXMAS'02)*, pages 33–36, Bologna, Italy, July 2002.
- B. Kholodenko. Negative feedback and ultrasensitivity can bring about oscillations in the mitogen-activated protein kinase cascade. *Biochem.*, 267 :1583–1588, 2000.
- A.M. Kierzek. Stocks : stochastic kinetic simulations of biochemical systems with gillespie algorithm. *Bioinformatics*, 18 :470–481, 2002.
- A. Kikuchi, S. Kozuma, K. Sakamaki, M. Saito, G. Marumo, T. Yasugi, and Y. Taketani. Fractal tumor growth of ovarian cancer : sonographic evaluation. *Gynecol Oncol*, 87(3) :295–302, Dec 2002.
- H Kitano. System biology : a brief overview. *Science*, 295(1662-1664), Mar 2002.
- B. Klein, K. Tarte, M. Jourdan, K. Mathouk, J. Moreaux, E. Jourdan, E. Legouffe, J. De Vos, and J. F. Rossi. Survival and proliferation factors of normal and malignant plasma cells. *Int J Hematol*, 78(2) :106–113, Aug 2003.
- M. Muraki K.M. Kyoda and H. Kitano. Construction of a generalized simulator for multi-cellular organisms and its application to smad signal transduction. In *Pacific symposium on Biocomputing*, volume 5, pages 314–325,.
- J. Knudson. Heredity and human cancer. *Am J Pathol*, 77(1) :77–84, Oct 1974.



- 
- B. Kosko. Fuzzy cognitive maps. *International Journal Man-Machine Studies*, 24 : 65–75, 1986.
- D. Krakauer and J. Plotkin. Redundancy, antiredundancy, and the robustness of genomes. *PNAS*, 99(3) :1405–1409, 2002.
- A. Kramer, B. Schultheis, J. Bergmann, A. Willer, U. Hegenbart, A. D. Ho, H. Goldschmidt, and R. Hehlmann. Alterations of the cyclin d1/prb/p16(ink4a) pathway in multiple myeloma. *Leukemia*, 16(9) :1844–1851, Sep 2002.
- R. A. Kyle and S. V. Rajkumar. Monoclonal gammopathies of undetermined significance : a review. *Immunol Rev*, 194 :112–139, Aug 2003.
- R. A. Kyle and S. V. Rajkumar. Multiple myeloma. *N Engl J Med*, 351(18) :1860–1873, Oct 2004.
- D. Kyriakou, H. Papadaki, A. G. Eliopoulos, A. Foudoulakis, M. Alexandrakis, and G. D. Eliopoulos. Serum soluble il-6 receptor concentrations correlate with stages of multiple myeloma defined by serum beta 2-microglobulin and c-reactive protein. *Int J Hematol*, 66(3) :367–371, Oct 1997.
- V. M. Lauta. A review of the cytokine network in multiple myeloma : diagnostic, prognostic, and therapeutic implications. *Cancer*, 97(10) :2440–2452, May 2003.
- J. W. Lee, H. Y. Chung, L. A. Ehrlich, D. F. Jelinek, N. S. Callander, G. D. Roodman, and S. J. Choi. Il-3 expression by myeloma cells increases both osteoclast formation and growth of myeloma cells. *Blood*, 103(6) :2308–2315, Mar 2004.
- S. Lentzsch, M. Chatterjee, M. Gries, K. Bommert, H. Gollasch, B. Dorken, and R. C. Bargou. Pi3-k/akt/fkhr and mapk signaling cascades are redundantly stimulated by a variety of cytokines and contribute independently to proliferation and survival of multiple myeloma cells. *Leukemia*, 18(11) :1883–1890, Nov 2004.
- S. Lentzsch, M. Gries, M. Janz, R. Bargou, B. Dorken, and M. Y. Mapara. Macrophage inflammatory protein 1-alpha (mip-1 alpha ) triggers migration and signaling cascades mediating survival and proliferation in multiple myeloma (mm) cells. *Blood*, 101(9) :3568–3573, May 2003.
- H. Libouban, M. F. Moreau, M. F. Basle, R. Bataille, and D. Chappard. Increased bone remodeling due to ovariectomy dramatically increases tumoral growth in the 5t2 multiple myeloma mouse model. *Bone*, 33(3) :283–292, Sep 2003.
- B. H. Littman, F. F. Dastvan, P. L. Carlson, and K. M. Sanders. Regulation of monocyte/macrophage c2 production and hla-dr expression by il-4 (bsf-1) and ifn-gamma. *J Immunol*, 142(2) :520–525, Jan 1989.
- L. A. Loeb. Mutator phenotype may be required for multistage carcinogenesis. *Cancer Res*, 51(12) :3075–3079, Jun 1991.

- Z. Y. Lu, R. Bataille, P. Poubelle, M. J. Rapp, J. L. Harousseau, and B. Klein. An interleukin 1 receptor antagonist blocks the il-1-induced il-6 paracrine production through a prostaglandin e2-related mechanism in multiple myeloma. *Stem Cells*, 13 Suppl 2 :28–34, Aug 1995.
- P. Reignier M. Parenthoën and J. Tisseau. ut fuzzy cognitive maps to work in virtual worlds. In *Proceeding of the 10th International Conference on Fuzzy Systems*, pages 252–255, 2001.
- K. Takahashi T. S. Shimizu Y. Matsuzaki F. Miyoshi K. Saito S. Tanida K. Yugi J. C. Venter M. Tomita, K. Hashimoto and 3. r. d. Hutchison CA. E-cell : software environment for whole-cell simulation. *Bioinformatics*, 15(1) :72–84, Jan 1999.
- K. Takahashi T. Shimizu Y. Matsuzaki F. Miyoshi K. Saito S. Tanida K. Yugi J. C. Venter M. Tomita, K. Hashimoto and C. A. Hutchison. E-cell : Software environment for whole cell simulation. *Genome Inform Ser Workshop Genome Inform*, 8 :147–155, 1997.
- M. S. Mahmoud, R. Fujii, H. Ishikawa, and M. M. Kawano. Enforced cd19 expression leads to growth inhibition and reduced tumorigenicity. *Blood*, 94(10) :3551–3558, Nov 1999.
- M. S. Mahmoud, H. Ishikawa, R. Fujii, and M. M. Kawano. Induction of cd45 expression and proliferation in u-266 myeloma cell line by interleukin-6. *Blood*, 92(10) :3887–3897, Nov 1998.
- S.M. Manson. Simplifying complexity : a review of complexity theory. *Geoforum*, 32 : 405–414, 2001.
- Y. Mansuri and T.S. Deisbeock. The impact of "search precision" in an agent-based tumor model. *Journal of Theoretical Biology*, 224 :325–337, 2003.
- E. Menu, R. Kooijman, E. Van Valckenborgh, K. Asosingh, M. Bakkus, B. Van Camp, and K. Vanderkerken. Specific roles for the pi3k and the mek-erk pathway in igf-1-stimulated chemotaxis, vegf secretion and proliferation of multiple myeloma cells : study in the 5t33mm model. *Br J Cancer*, 90(5) :1076–1083, Mar 2004.
- F. Merico, L. Bergui, M. G. Gregoretti, P. Ghia, G. Aimò, I. J. Lindley, and F. Caligaris-Cappio. Cytokines involved in the progression of multiple myeloma. *Clin Exp Immunol*, 92(1) :27–31, Apr 1993.
- C. S. Mitsiades, N. Mitsiades, N. C. Munshi, and K. C. Anderson. Focus on multiple myeloma. *Cancer Cell*, 6(5) :439–444, Nov 2004.
- C.S. Mitsiades, N. Mitsiades, V. Poulaki, R. Schlossman, M. Akiyama, D. Chauhan, T. Hideshima, S.P. Treon, N.C. Munshi, P.G. Richardson, and K. C. Anderson. Activation of nf-kappab and upregulation of intracellular anti-apoptotic proteins via

- 
- the igf-1/akt signaling in human multiple myeloma cells : therapeutic implications. *Oncogene*, 21 :5673–5683, 2002.
- P. Moreau, N. Robillard, H. Avet-Loiseau, D. Pineau, N. Morineau, N. Milpied, J. L. Harousseau, and R. Bataille. Patients with cd45 negative multiple myeloma receiving high-dose therapy have a shorter survival than those with cd45 positive multiple myeloma. *Haematologica*, 89(5) :547–551, May 2004.
- C. Morthon-Fith. *Stochastic Simulation of Cell Signalling Pathway*. PhD thesis, University of Cambridge, 1998.
- G. Muller-Newen. The cytokine receptor gp130 : faithfully promiscuous. *Sci STKE*, 2003(201) :PE40, Sep 2003.
- V. Danos F ; Fages N. Chabrier-Rivier, M. Chiaverini and V. Schachter. Modeling and querying biomolecular interaction networks. *Theoretical Computer Science*, 325 : 25–44, 2004.
- T. Naka, N. Nishimoto, and T. Kishimoto. The paradigm of il-6 : from basic science to medicine. *Arthritis Res*, 4 Suppl 3 :S233–S242, 2002.
- A. Neri, J. P. Murphy, L. Cro, D. Ferrero, C. Tarella, L. Baldini, R. Dalla-Favera, J. Claudio, B. Barlogie, J. r. Shaughnessy JD, and A. K. Stewart. Ras oncogene mutation in multiple myeloma. *J Exp Med Blood*, 170(5) :1715–1725, Nov 1989.
- C. O. Nordling. [theories and statistics of cancer.]. *Nord Med*, 47(24) :817–820, Jun 1952. (und).
- C. O. Nordling. A new theory on cancer-inducing mechanism. *Br J Cancer*, 7(1) : 68–72, Mar 1953.
- C. O. Nordling. Evidence regarding the multiple mutation theory of the cancer-inducing mechanism. *Acta Genet Stat Med*, 5(2) :93–104, 1955.
- B.B. Novak and J.J. Tyson. Numerical analysis of a comprehensive model of m-phase control in xenopus oocyte extracts and intact embryos. *J. Cell. Sci.*, 106(4) :1153–1168, Decembre 1993.
- M. Oancea, A. Mani, M. A. Hussein, and A. Almasan. Apoptosis of multiple myeloma. *Int J Hematol*, 80(3) :224–231, Oct 2004.
- O. N. Onwuazor, X. Y. Wen, D. Y. Wang, L. Zhuang, E. Masih-Khan, S. Soverini, C. Terragna, N. Testoni, D. Ruggeri, P. Tosi, E. Zamagni, C. Cellini, M. Cavo, M. Baccarani, S. Tura, and G. Martinelli. Mutation, snp, and isoform analysis of fibroblast growth factor receptor 3 (fgfr3) in 150 newly diagnosed multiple myeloma patients. novel mutation and rna splice variant of fibroblast growth factor receptor 3 in multiple myeloma patients at diagnosis. *Haematologica*, 102 87(2 10) :772–3 1036–40, Oct 2002.

- T. Otsuki, O. Yamada, K. Yata, H. Sakaguchi, J. Kurebayashi, N. Nakazawa, M. Tanikawa, Y. Yawata, and A. Ueki. Expression of fibroblast growth factor and fgf-receptor family genes in human myeloma cells, including lines possessing t(4;14)(q16.3;q32.3) and fgfr3 translocation. *Int J Oncol*, 15(6) :1205–1212, Dec 1999.
- T. Otsuki, K. Yata, H. Sakaguchi, M. Uno, T. Fujii, H. Wada, T. Sugihara, and A. Ueki. Il-10 in myeloma cells. *Leuk Lymphoma*, 43(5) :969–974, May 2002.
- D. Camacho A. Franyuti O. Rosas P. P. Gonzalez, M. Cardenas and J. Lagunez-Otero. Cellulat : an agent-based intracellular signalling model. *Biosystems*, 68(2-3) :171–185, Feb 2003.
- S. Beckam P.A. Wender, R.C. Kelly and B.L. Miller. Studies on dna-cleaving agents : Computer modeling analysis of the mechanism of activation and cleavage of dynemicin-oligonucleotide complexes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88 :8835–8839, 1991.
- R. L. Paquette, J. Berenson, A. Lichtenstein, F. McCormick, and H. P. Koeffler. Oncogenes in multiple myeloma : point mutation of n-ras. *Oncogene*, 5(11) :1659–1663, Nov 1990.
- C. Pellat-Deceunynck, S. Barille, D. Puthier, M. J. Rapp, J. L. Harousseau, R. Bataille, and M. Amiot. Adhesion molecules on human myeloma cells : significant changes in expression related to malignancy, tumor spreading, and immortalization. *Cancer Res*, 55(16) :3647–3653, Aug 1995.
- C. Pellat-Deceunynck and R. Bataille. Normal and malignant human plasma cells : proliferation, differentiation, and expansions in relation to cd45. *Blood cells, Molecules, and diseases*, 32 :293–301, 2004.
- I. E. Penev and T. C. Evans. Multiple myeloma. *JAAPA*, 17(9) :33–38, Sep 2004.
- A. Phillips and L. Cardelli. A correct abstract machine for the sthochastic pi-calculus. In *Proceeding of Bio-CONCUR04 in Electronic Notes in Theoretical Computer Science*, 2004.
- L.M. Pilarski and GS. Jensen. Monoclonal circulating b cells in multiple myeloma. a continuously differentiating, possibly invasive, population as defined by expression of cd45 isoforms and adhesion molecules. *Hematol Oncol Clin North Am*, 6(2) :297–322, 1992.
- Y.T. Podar, K. and Tai, C.E. Cole, T. Hideshima, M. Sattler, A. Hamblin, N. Mitsiades, R. Sclossman, F.E. Davies, G.J. Morgan, N.C. Munshi, D. Chauhan, and K.C. Anderson. Essential role of caveolae in il-6 and igf-1-triggered akt-1-mediated surviavl of multiple myeloma cells. *J Biol Chem*, page in press, 2002.
- A.L. Ponomarev and R.K. Sachs. Polymer chromosome models and monte carlo simulation of radiation breaking dna. *Bioinformatics*, 15(12) :957–964, 1999.

- 
- M. Portier, X. G. Zhang, E. Caron, Z. Y. Lu, R. Bataille, and B. Klein. gamma-interferon in multiple myeloma : inhibition of interleukin-6 (il-6)-dependent myeloma cell growth and downregulation of il-6-receptor expression in vitro. *Blood*, 81(11) : 3076–3082, Jun 1993.
- G. Querrec, V. Rodin, J.-F. Abgrall, S. Kerdelo, and J. Tisseau. Use of multiagents system for simulation in systems biology. In *BioMed 2003, IASTED International Conference on Biomedical Engineering*, pages 48–53, Salzburg (Austria), June 2003a.
- G. Querrec, V. Rodin, J.-F. Abgrall, S. Kerdelo, and J. Tisseau. Uses of multiagents systems for simulation of MAPK pathway. In *BIBE 2003, Third IEEE International Symposium on Bioinformatics and BioEngineering*, pages 421–425, Bethesda (USA), March 2003b.
- Ronan Querrec, Patrick Reignier, and Pierre Chevaillier. Humans and autonomous agents interactions in a virtual environment for fire-fighting training. In S. Richir, P. Richard, and B. Tarave, editors, *Proceedings of the Virtual Reality International Conference, VRIC 2001*, pages 57–64, Laval, France, 16–18 May 2001.
- C. Pellat-Deceunynck R. Bataille, N. Robillard and M. Amiot. A cellular model for myeloma cell growth and maturation based on an intraclonal cd45 hierarchy. *Immunol Rev*, 194 :105–111, 2003.
- Silverman W. Regev A. and T.E. Shapiro. Representation and simulation of biochemical processes using the pi-calculus process algebra. In *Pacific symposium on Biocomputing*, pages 459–470, 2001.
- Silverman W.-Cardelli L. Regev A., Panina E.M. and Shapiro E. Bioambients : an abstraction for biological compartments. *Theoretical Computer Science*, 325 :141–167, 2004.
- G. D. Roodman. Mechanisms of bone lesions in multiple myeloma and lymphoma. *Cancer*, 80(8 Suppl) :1557–1563, Oct 1997.
- G. D. Roodman and S. J. Choi. Mip-1 alpha and myeloma bone disease. *Cancer Treat Res*, 118 :83–100, 2004.
- J. De Rosnay. Le microscope, vers une visoin globale. Du seuil, 1975.
- S. Roux and X. Mariette. The high rate of bone resorption in multiple myeloma is due to rank (receptor activator of nuclear factor-kappab) and rank ligand expression. *Leuk Lymphoma*, 45(6) :1111–1118, Jun 2004.
- S. Roux, V. Meignin, J. Quillard, G. Meduri, A. Guiochon-Mantel, J. P. Femand, E. Milgrom, and X. Mariette. Rank (receptor activator of nuclear factor-kappab) and rankl expression in multiple myeloma. *Br J Haematol*, 117(1) :86–92, Apr 2002.
- S. E. Salmon and B. G. Durie. Cellular kinetics in multiple myeloma. a new approach to staging and treatment. *Arch Intern Med*, 135(1) :131–138, Jan 1975.

- J.C. Salomon. *Le tissu déchiré*. Le Seuil, 1991.
- H.M. Sauro and B.N. Hholodenko. Quantitative analysis of signaling networks. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 86 :5–43, 2004.
- M. Sawada, S. Shimizu, T. Arai, S. Konda, N. Enomoto, and T. Date. Point mutation in codon 61 of n-ras genes in human myeloma cell lines. *Nucleic Acids Res*, 17(21) : 8867, Nov 1989.
- J. Schaff and L.W. Loew. The virtual cell. In *Pacific Symposium on Biocomputing*, volume 4, pages 228–239,.
- C. Schindler and J. r. Darnell JE. Transcriptional responses to polypeptide ligands : the jak-stat pathway. *Annu Rev Biochem*, 64 :621–651, 1995.
- E. D. Schwab and K. J. Pienta. Cancer as a complex adaptive system. *Med Hypotheses*, 47(3) :235–241, Sep 1996.
- R. Sedivy, S. Thurner, A. C. Budinsky, W. J. Kostler, and C. C. Zielinski. Short-term rhythmic proliferation of human breast cancer cell lines : surface effects and fractal growth patterns. *J Pathol*, 197(2) :163–169, Jun 2002.
- C. Seidel, M. Borset, H. Hjorth-Hansen, A. Sundan, and A. Waage. Role of hepatocyte growth factor and its receptor c-met in multiple myeloma. *Med Oncol*, 15(3) :145–153, Sep 1998.
- M. Shapiro-Shelef and K. Calame. Plasma cell differentiation and multiple myeloma. *Curr Opin Immunol*, 16(2) :226–234, Apr 2004.
- P. W. Sullivan and S. E. Salmon. Kinetics of tumor growth and regression in igg multiple myeloma. *J Clin Invest*, 51(7) :1697–1708, Jul 1972.
- G. W. Swan. Optimal control applications in the chemotherapy of multiple myeloma. *IMA J Math Appl Med Biol*, 2(3) :139–160, 1985.
- G. Szabo, K. Kodys, and C. L. Miller-Graziano. Elevated monocyte interleukin-6 (il-6) production in immunosppressed trauma patients. ii. downregulation by il-4. *J Clin Immunol*, 11(6) :336–344, Nov 1991.
- O. Maruyama T. Akutsu, S. Kuhara and S. Miyano. Identification of genetic networks by strategic gene disruptions under boolean model. *Theoretical Computer Science*, 298 :235–251, 2003.
- Byrne H.M. T. Alarcon and P.K. Maini. A cellular automaton model for tumour growth in inhomogeneous environment. *Journal of Theoretical Biology*, 225 :257–274, 2001.
- T. Tasaka, J. Berenson, R. Vescio, T. HIRAMA, C. W. Miller, M. Nagai, J. Takahara, and H. P. Koeffler. Analysis of the p16ink4a, p15ink4b and p18ink4c genes in multiple myeloma. *Br J Haematol*, 96(1) :98–102, Jan 1997.

- 
- W. Thabard, M. Collette, M. P. Mellerin, D. Puthier, S. Barille, R. Bataille, and M. Amiot. Il-6 upregulates its own receptor on some human myeloma cell lines. *Cytokine*, 14(6) :352–356, Jun 2001.
- R. Thomas. *Integrative Approaches to Molecular Biology*, chapter Feedback Loops : The Wheels of Regulatory Networks, pages 167–178. 1996.
- E. Tian, F. Zhan, R. Walker, E. Rasmussen, Y. Ma, B. Barlogie, and J. r. Shaughnessy JD. The role of the wnt-signaling antagonist dkk1 in the development of osteolytic lesions in multiple myeloma. *N Engl J Med*, 349(26) :2483–2494, Dec 2003.
- Jacques Tisseau. *Réalité virtuelle : autonomie in virtuo*. Habilitation à Diriger des Recherches, Université de Rennes I, 6 December 2001.
- E.C. Tolman. Cognitive maps in rats and men. *Psychological Review*, 42 :189–208, 1948.
- J.J. Tyson and B. Novak. Regulation of the eukariotic cell cycle : Molecular antagonism, hysteresis and irreversible transitions. *J. Theor. Biol*, 210 :249–263, 2001.
- S. Uneda, F. Matsuno, T. Sonoki, I. Tniguchi, F. Kawano, and H. Hata. Expressions of vascular endothelial growth factor and angiopoietin-2 in myeloma cells. *Haematologica*, 88(1) :113–115, Jan 2003.
- H. Urbanska-Rys, A. Wiersbowska, H. Stepien, and T. Robak. Relationship between circulating interleukin-10 (il-10) with interleukin-6 (il-6) type cytokines (il-6, interleukin-11 (il-11), oncostatin m (osm)) and soluble interleukin-6 (il-6) receptor (sil-6r) in patients with multiple myeloma. *Eur Cytokine Netw*, 11(3) :443–451, Sep 2000.
- E. Usui, K. Nishii, N. Katayama, F. L. V, F. Chen, F. Monma, T. Otsuki, and H. Shiku. Upregulated production of il-6, but not il-10, by interferon-alpha induces socs3 expression and attenuates stat1 phosphorylation in myeloma cells. *Hematol J*, 5 (6) :505–512, 2004.
- P. Ballet-G. Bernot F. Delaplace M. Demarty J.L. Giavitto C. Ripoli M. Thellier V. Norris, P. Amar and A. Zemerline. Hyperstructures. In *Proceeding of Autrans seminar on Modelling and Simulation of biological processes in the context of genomics*, pages 169–191, 2002.
- G. J. Veldhuis, P. H. Willemse, N. H. Mulder, P. C. Limburg, and E. G. De Vries. Potential use of recombinant human interleukin-6 in clinical oncology. *Leuk Lymphoma*, 20(5-6) :373–379, Feb 1996.
- P. Waliszewski. Complexity, dynamic cellular network, and tumorigenesis. *Pol J Pathol*, 48(4) :235–241, 1997.

- P. Waliszewski and J. Konarski. Tissue as a self-organizing system with fractal dynamics. *Adv Space Res*, 28(4) :545–548, 2001.
- P. Waliszewski, M. Molski, and J. Konarski. On the holistic approach in cellular and cancer biology : nonlinearity, complexity, and quasi-determinism of the dynamic cellular network. *J Surg Oncol*, 68(2) :70–78, Jun 1998.
- P. Waliszewski, M. Molski, and J. Konarski. On the relationship between fractal geometry of space and time in which a system of interacting cells exists and dynamics of gene expression. *Acta Biochim Pol*, 48(1) :209–220, 2001.
- X. Wang, D. Golomb, and J. Rinzel. Emergent spindle oscillations and intermittent burst firing in a thalamic model : specific neuronal mechanisms. *PNAS*, 92 :5577–5581, 1995.
- J. D. WATSON and F. H. CRICK. Molecular structure of nucleic acids ; a structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature*, 171(4356) :737–738, Apr 1953.
- Y. Wittrant, S. Theoleyre, C. Chipoy, M. Padrines, F. Blanchard, D. Heymann, and F. Redini. Rankl/rank/opg : new therapeutic targets in bone tumours and associated osteolysis. *Biochim Biophys Acta*, 1704(2) :49–57, Sep 2004.
- O. Wolkenhauer. Systems biology : the reincarnation of systems theory applied in biology? *Brief Bioinform*, 2(3) :258–270, Sep 2001.
- Z. Xu and A. Weiss. Negative regulation of cd45 by differential homodimerization of the alternatively spliced isoforms. *nature immunology*, 3(8) :764–771, 2002.
- V. Kagansky Y. Gusev and W.C. Dooley. A stochastic model of chromosome segregation errors with reference to cancer cells. *Mathematical and Computer Modelling*, 32 :97–111, 2000.
- J. Lobo Y. Mansuri, M. Kimura and T.S. Deisboeck. Emerging patterns in tumor systems : Simulating the dynamics of multicellular clusters with agent-based spatial agglomeration. *Journal of Theoretical Biology*, 219 :343–370, 2002.
- D. A. Young, L. D. Lowe, and S. C. Clark. Comparison of the effects of il-3, granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, and macrophage colony-stimulating factor in supporting monocyte differentiation in culture. analysis of macrophage antibody-dependent cellular cytotoxicity. *J Immunol*, 145(2) :607–615, Jul 1990.
- E. Kopantzev Y.W. Qiang and S. Rudikoff. Insulinlike growth factor-1 signaling in multiple myeloma : downstream elements, functional correlates, and pathway cross-talk. *Blood*, 99(11) :4138–4146, 2002.
- E. Wurtele Z. Dickerson, J.and Cox and A.W. Fulmer. Creating metabolic and regulatory network models using fuzzy cognitive maps. In *IFSA world Congress and NAFIPS international conference*, pages 2171–2176, Vancouver, July 2001.



- 
- B. Zhang and R.G. Fenton. Proliferation of il-6-independent multiple myeloma does not require the activity of extracellular signal-regulated kinase (erk1/2). *Journal of Cellular Physiology*, 193 :42–54, 2002.
- Q. Zhou, Y. Yao, and S. G. Ericson. The protein tyrosine phosphatase cd45 is required for interleukin 6 signaling in u266 myeloma cells. *Int J Hematol*, 79(1) :63–73, Jan 2004.
- Ruggieri Z.M. Structure and fonction of von willebrand factor. *Thrombosis and Haemostasis*, 82(2) :576–584, 1999.



---

---

# Résumé

---

---

L'oncologie se heurte à la complexité des phénomènes biologiques. Les myélomes multiples, proliférations plasmocytaires malignes caractérisées par une accumulation de cellules myélomateuses dans le micro-environnement médullaire, n'échappent pas à cette règle. C'est devant ce constat de complexité que s'est développée la biologie systémique. Cette nouvelle discipline s'intéresse à l'étude des phénomènes biologiques en tant que système en abandonnant la vision réductionniste traditionnelle prônée par Descartes. Le développement des expérimentations "in virtuo" permet l'étude de systèmes complexes en peuplant un univers virtuel d'un ensemble de modèles numériques autonomes. Ces expérimentations trouvant un support informatique dans les systèmes multi-agents (SMA), nous avons donc proposé un modèle générique de simulation multi-agents de systèmes biologiques complexes, basé sur la réification des entités (cellules, molécules...), interactions (réaction biochimique, diffusion,...) et organisations. L'expérimentation multi-agents d'un modèle de cellule myélomateuse basé sur le CD45, molécule présente à la surface de la cellule plasmocytaire, nous a permis de confirmer l'intérêt du CD45 dans la transmission des signaux intra-cellulaires d'IGF-1 et d'IL-6 présents dans le micro-environnement médullaire. La simulation de ce modèle, nous a permis de mettre en évidence l'intérêt de la cinétique de dimérisation de CD45 dans le pronostic vital des patients atteints de myélomes multiples. De plus, la généralité des ces outils et du modèles multi-agents de simulation de systèmes biologiques complexes, nous permettent de les utiliser dans d'autres systèmes biologiques.

