



HAL
open science

Modélisation de la Réponse Immunitaire T-CD8 : Analyse Mathématique et Modèles Multiéchelles

Simon Girel

► **To cite this version:**

Simon Girel. Modélisation de la Réponse Immunitaire T-CD8 : Analyse Mathématique et Modèles Multiéchelles. Systèmes dynamiques [math.DS]. Université de Lyon, 2018. Français. NNT: . tel-01941850

HAL Id: tel-01941850

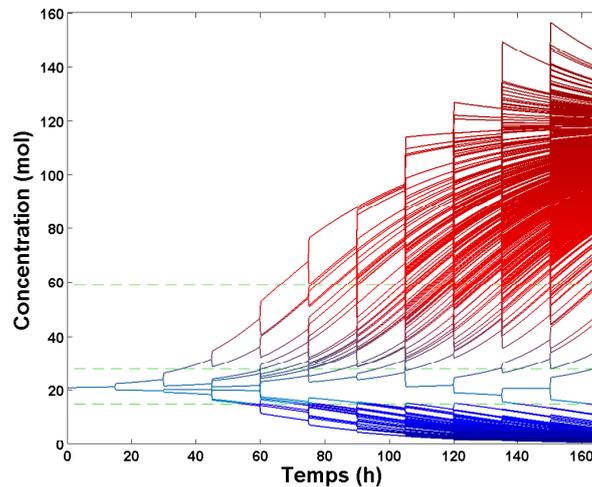
<https://hal.science/tel-01941850v1>

Submitted on 2 Dec 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

————— Modélisation de la Réponse —————
 ————— Immunitaire T-CD8 —————
 — Analyse Mathématique et Modèles Multiéchelles —



Simon Girel
 Thèse de doctorat



N° d'ordre NNT : 2018LYSE1250

THÈSE DE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

opérée au sein de

l'Université Claude Bernard Lyon 1

École Doctorale ED512

INFOMATHS

Spécialité de doctorat : Mathématiques appliquées

Discipline : Mathématiques

Soutenue publiquement le 13/11/2018, par :

Simon Jean-Luc Girel

Modélisation de la Réponse Immunitaire T-CD8

Analyse Mathématique et Modèles Multiéchelles

Devant le jury composé de :

Champagnat Nicolas, Directeur de Recherche Inria, Inria Nancy

Rapporteur

Chauvière Arnaud, Maître de Conférences, Université Grenoble Alpes

Examineur

Crauste Fabien, Chargé de Recherche CNRS, Université de Bordeaux

Directeur de thèse

Grandmont Céline, Directrice de Recherche Inria, Inria Paris

Rapporteuse

Marvel Jacqueline, Directrice de Recherche CNRS, ENS de Lyon

Examinatrice

Pujo-Menjouet Laurent, Maître de Conférences, Université Lyon 1

Examineur

Ribot Magali, Professeure des Universités, Université d'Orléans

Examinatrice

À Lucette et Georges

*Pour qu'une chose soit intéressante,
il suffit de la regarder longtemps.*

GUSTAVE FLAUBERT,
Correspondance.

Remerciements

Les quelques mots que voici sont dédiés à tous ceux sur qui j'ai pu compter depuis trois ans pour rendre ce travail réalisable, et agréable.

Tout naturellement, je souhaite adresser mes premiers remerciements à Fabien Crauste, mon directeur de thèse. J'ai déjà eu l'occasion de te remercier pour tes conseils, pour avoir inlassablement lu et relu mes travaux avec une rigueur et une précision que ceux qui ont travaillé avec toi connaissent bien. Ici je voudrais avant tout te remercier pour l'humanité avec laquelle tu m'as guidé dans ce monde de la recherche. Toujours disponible et amical. Quand il le fallait, tu as parfaitement su composer avec mes doutes et mon tempérament parfois solitaire, parfois *aquoiboniste*. Merci de m'avoir fait confiance. Avec simplicité, tu m'as démontré que l'essentiel est de faire ce que l'on aime et d'aimer ce que l'on fait ; j'espère que je saurai moi aussi en faire ma ligne de conduite.

Je tiens ensuite à m'adresser à l'équipe de curieux (au sens propre !) biologistes avec qui j'ai eu l'occasion de travailler au long de cette thèse. Premièrement, Olivier Gandrillon, mon coéquipier de l'équipe Inria Dracula et co-encadrant de stage de master. D'autre part Jacqueline Marvel, Christophe Arpin et Shaoying Wang, de l'Inserm. Merci d'avoir guidé mes pas dans l'univers nébuleux de la biologie cellulaire. Olivier, merci et respect pour tes remarques judicieuses, ta compréhension des aspects mathématiques, ton sens de l'humour et de la liberté. Jacqueline, Christophe, Shaoying, je garde un souvenir chaleureux de votre gentillesse et de votre enthousiasme communicatif.

Merci à Pascal Calvat et Yonny Cardenas qui m'ont beaucoup aidé à utiliser les serveurs du centre de calcul de l'in2p3.

Je souhaite exprimer ma reconnaissance envers Céline Grandmont et Nicolas Champagnat, qui ont accepté de rapporter ma thèse. À la lecture de vos rapports, il apparaît que vous avez tous deux lu mon manuscrit avec beaucoup de soin et cela m'a fait grandement plaisir. Une pensée particulière pour vous, Nicolas, qui aviez accepté de monter un projet de thèse avec moi, à Nancy, avant que je n'obtiensse un financement à Lyon. Malheureusement *choisir, c'est renoncer*. Je me réjouis de vous retrouver parmi mon jury de thèse. Je tiens également à remercier Magali Ribot, Arnaud Chauviere, Jacqueline Marvel et Laurent Pujon-Menjouet de me faire l'honneur de participer à mon jury de thèse en tant qu'examineurs.

Laurent, c'est très certainement grâce à toi que je me suis embarqué dans cette aventure et je serais bien ingrat si je ne t'en remerciais pas ici. Alors sincèrement, merci pour la passion que tu communique dans tes cours, et merci de nous avoir encadrés, l'écureuil roux et moi-même, lors de ce projet de master, premier contact avec la recherche.

Je remercie bien sûr le Labex Milyon d'avoir décidé de financer ma thèse ainsi que l'Université Lyon 1, l'Institut Camille Jordan et Inria de m'avoir accueilli en leur sein. Je remercie également l'INSA de Lyon qui m'a fait confiance et m'a permis de découvrir le plaisir d'enseigner. Merci à Dragos Iftimie et, encore une fois, Arnaud Chauviere d'avoir constitué mon comité de suivi de thèse.

Merci aux enseignants qui m'ont vu défiler depuis plus de 20 ans sans que jamais je ne les remercie. En particulier, un grand merci à l'équipe du master *Maths en action* et à son énergique responsable, Anne-Laure Fougères.

Je voudrais également témoigner de ma gratitude envers Alexandra Elbakyan, et de mon admiration pour sa bravoure salutaire.

Je pense évidemment à mes camarades des équipes Privatics, Agora et Beagle dont j'ai partagé le quotidien. Merci pour les longs débats du déjeuner et les apéros. Et puis, bien entendu, je pense à tous ceux que j'ai côtoyés dans l'équipe Dracula : merci Mostafa, Thomas, Samuel, Léon, de nouveau Fabien, Olivier et Laurent pour votre accueil. Un merci particulier à Thomas pour tes conseils, et pour avoir toujours été attentif et prévenant. Merci David de t'être cassé les dents pour m'installer un programme, même s'il n'a jamais pu fonctionner. Merci Caroline et merci Claire pour votre énergie et votre aide précieuse. Je n'oublie pas non plus les stagiaires qui ont traversé l'équipe depuis mon arrivé, en particulier Guillaume, avec qui j'ai fait mes premiers pas au labo, ainsi que Nicolas et Gaëlle, que j'ai eu le plaisir d'encadrer.

Je m'adresse désormais à mes camarades doctorants et post-doctorants de l'équipe Dracula. Merci donc à Arnaud, Paul, Cheikh et Alexei. Merci à Chloé pour son aide et pour l'organisation des midis volley ou basketball. Merci Ulysse et Ronan pour votre compagnie épisodique mais chaleureuse, dommage qu'il faille attendre jeudi pour qu'il soit jeudi. Merci à toi Loïc pour ta bonne humeur inaltérable, aussi pour m'avoir montré comment réagir lorsque le réchauffement climatique lancera des tornades de requins contre mes fenêtres. Merci Flavien pour m'avoir appris à skier avec une bienveillance touchante. Merci Abdenasser pour ta gentillesse. Merci Álvaro — Dracula d'adoption — pour ton enthousiasme hors norme et ton art de l'hospitalité. Merci à Kiriaki, qui ne se lasse pas de rire des faits anodins et extraordinaires du quotidien. Merci à Marine, Xuefeng et Apollos qui les premiers m'ont accueilli dans leur bureau. Marine et Xuefeng, félicitation pour ne vous être jamais plaints que les autres doctorants jouissaient d'un bureau plus grand et plus lumineux. Il n'en est pas de même pour toi Apo, toi qui n'as pas perdu une seconde pour récupérer la meilleure place dès que celle-ci fut libre... place que je n'ai pas manqué de récupérer à ton départ. Pour les formidables repas à Domus avec le compère Benjamin, pour les virées à Orcières et pour ton enjouement naturel, je te remercie et me réjouis de te compter parmi mes amis. Merci bien sûr à toi Loïs pour les discussions passionnantes et interminables, commencées en groupe durant le déjeuner et terminées à deux, à la tombée de la nuit. Enfin, merci à Aurélien, le meilleur et le pire d'entre tous. Cette thèse n'aurait pas eu la même saveur si tu n'étais pas venu me déranger 10 fois par jour pour quelques échanges caféinés ou éthanolés sur la marche du monde, sur la vie, sur ses joies et ses misères ; ou simplement pour le plaisir de me déranger. On te connaît bien pour ton sens de l'outrance et de la bêtise mais, crois-en papy Sims, de nos jours on ne trouve guère d'amis plus sûrs.

Merci à mes vieux camarades et amis Matthieu et Quentin. Matthieu, ici je suis censé

te remercier d'avoir relu mon intro mais je pense plutôt à tout le reste.

Je voudrais adresser quelques mots à ceux et celles qui m'ont permis de m'extraire de temps en temps de mon quotidien Lyonnais. À mes amis Yoann, Vincent, Théo, Swan, Stacy et Éliot ; à la bande du village ; à quiconque se reconnaîtra pour les supplices de Saint-Sébastien, pour les cures de Mercurey rue des cannettes, pour le sort d'Armand et Marguerite, pour Andromède redessinée sous le regard sceptique des sangliers ou pour les évasions épiques. Merci à vous pour les excursions, les longues soirées à la ferme, au village, ou ailleurs ; pour les bonnes choses de la vie simple.

Pour finir, un grand merci à toute ma famille, dans laquelle j'ai toujours pu trouver un oasis revigorant de détente et de sérénité. Je remercie en particulier mes grands-parents, qui par leur présence et leur tendresse m'ont beaucoup aidé sans s'en apercevoir. Pour leur soutien discret et constant, pour ne m'avoir jamais poussé à quoi que ce soit, mille mercis à mon père et à ma mère.

Table des matières

1	Introduction	1
1.1	La réponse immunitaire T-CD8	2
1.1.1	Cinétique de la réponse T-CD8 primaire	3
1.1.2	La réponse T-CD8 secondaire	5
1.1.3	La réponse T-CD8 en autopilote	6
1.1.4	Phénotypes et interactions cellulaires : de l'échelle moléculaire à l'échelle cellulaire	8
1.1.4.1	Activation et prolifération	8
1.1.4.2	Les voies cytotoxiques perforine/granzyme, Fas-FasL et Caspases	9
1.1.4.3	Régulation de la différenciation cellulaire vers les stades effecteur et mémoire	9
1.1.5	Hétérogénéité et schémas de différenciation	10
1.1.5.1	SLEC et MPEC : schéma de différenciation ramifié	11
1.1.5.2	Marqueurs CD44, Mki67 et Bcl2 : schéma de différenciation linéaire	12
1.1.5.3	Hétérogénéité de la population mémoire	13
1.1.6	Origines de l'hétérogénéité phénotypique	14
1.1.6.1	Hétérogénéité antérieure à l'infection	14
1.1.6.2	Activation et contexte inflammatoire	14
1.1.6.3	Une première division asymétrique	15
1.1.6.4	Partage inégal du contenu moléculaire lors des divisions suivantes	15
1.1.6.5	Stochasticité de l'expression des gènes	16
1.2	État de l'art	17
1.2.1	Modèles cellulaires de la réponse T CD8	18
1.2.1.1	Modèle de De Boer <i>et al.</i> — 2001	18

1.2.1.2	Modèle de Antia <i>et al.</i> — 2002	19
1.2.1.3	Modèle de Wodarz et Thomsen — 2005	21
1.2.1.4	Modèle de Kim <i>et al.</i> — 2009	22
1.2.1.5	Modèle de Terry <i>et al.</i> — 2011	24
1.2.1.6	Modèle de Crauste <i>et al.</i> — 2015	26
1.2.1.7	Modèle de Crauste <i>et al.</i> — 2017	28
1.2.2	Modèles multiéchelles	30
1.2.2.1	Modèle de Chao <i>et al.</i> — 2004	30
1.2.2.2	Travaux de Kirschner <i>et al.</i> — 2004-2014	32
1.2.2.3	Modèles de Prokopiou, Gao <i>et al.</i> — 2014-2016	34
1.2.2.4	Modèle de Bouchnita <i>et al.</i> — 2017	36
1.2.2.5	Modèle de Barbarroux <i>et al.</i> — 2016	37
1.2.3	Modèles mathématiques de partage moléculaire	39
1.2.3.1	Modèles de Mantzaris — 2006-2007	39
1.2.3.2	Modèle de Luzyanina <i>et al.</i> — 2013	41
1.2.4	Conclusion	43
1.3	Motivations et plan de la thèse	44
I	Existence et stabilité des solutions périodiques d’une équation différentielle à impulsions — Application à la différenciation des lymphocytes T-CD8	47
2	Introduction : équations à impulsions et partage moléculaire inégal	49
3	Solutions périodiques d’une équation différentielle à impulsions	55
3.1	Définitions et propriétés générales	55
3.2	Existence et stabilité des solutions périodiques	60
4	Convexité du flot d’une équation différentielle ordinaire	65
4.1	Cas d’une équation différentielle affine par morceaux	67
4.2	Extension au cas d’une fonction régulière	72
5	Équation sur la concentration de Tbet dans un lymphocyte T-CD8	77
5.1	Dynamique de la concentration de Tbet en l’absence de division	78
5.2	Modélisation des divisions inégales par des impulsions	79

5.3	Preuve du Théorème 2	81
5.4	Commentaire sur une approche différente des EDI	90
6	Application à la différenciation cellulaire	93
6.1	Différenciation cellulaire et réversibilité du phénotype	95
6.2	Cas d'un cycle cellulaire de durée croissante	98
7	Discussion	101
II	Modélisation multiéchelle de la réponse immunitaire T-CD8 — Ré-	
	ponse programmée, Partage inégal des protéines, Hétérogénéité molé-	
	culaire	103
8	Introduction : modélisation multiéchelle de la réponse T-CD8	105
9	Modélisation, données et méthodes	111
9.1	Données	111
9.2	Dynamique intracellulaire et diffusion de l'IL2	113
9.2.1	Réseau de régulation moléculaire	113
9.2.2	Dynamique moléculaire intracellulaire	114
9.2.2.1	Modification du modèle moléculaire de Gao <i>et al.</i> [51]	116
9.2.3	Diffusion de l'IL2 extracellulaire	117
9.3	Différenciation et division cellulaire	118
9.3.1	Différenciation	118
9.3.2	Durée du cycle cellulaire	119
9.3.3	Partage du contenu intracellulaire entre cellules filles	120
9.3.4	Apoptose	120
9.4	Modélisation spatiale et interactions cellulaires	121
9.4.1	Définitions	121
9.4.2	Déplacement des cellules	122
9.5	Résolution numérique	123
9.6	Calibration du modèle	124
9.7	Valeurs de paramètres	125

10 Résultats : comparaison aux données et hétérogénéité moléculaire	129
10.1 Validation aux échelles cellulaire et moléculaire	129
10.1.1 Échelle cellulaire	129
10.1.2 Échelle moléculaire	131
10.2 La dynamique cellulaire expliquée par l'hétérogénéité moléculaire	133
10.3 Effet du degré d'inégalité sur la réponse T-CD8	136
10.4 Réponse mémoire	137
11 Discussion	141
III Conclusion et perspectives	145
Bibliographie	159

Liste des figures

1.1	Déroulement schématique de la réponse T-CD8 primaire et secondaire.	5
1.2	Réponse T-CD8 régie par l'infection et réponse autopilote.	7
1.3	Schéma de différenciation ramifié selon le paradigme SLEC/MPEC.	12
1.4	Schéma de différenciation linéaire selon le paradigme effecteur précoce/tardif.	13
1.5	Principales sources d'hétérogénéité moléculaire et phénotypique des lymphocytes T-CD8 au cours de la réponse.	16
1.6	Illustration schématique du modèle de De Boer <i>et al.</i> (2001)	19
1.7	Illustration schématique du modèle de Antia <i>et al.</i> (2003).	21
1.8	Illustration schématique du modèle de Wodarz et Thomsen (2005).	22
1.9	Illustration schématique du modèle de Kim <i>et al.</i> (2009).	24
1.10	Illustration schématique du modèle de Terry <i>et al.</i> (2011).	26
1.11	Illustration schématique du modèle de Crauste <i>et al.</i> (2015)	27
1.12	Illustration schématique du modèle de Crauste <i>et al.</i> (2017)	29
1.13	Illustration schématique du modèle de Chao <i>et al.</i> (2004)	31
1.14	Illustration schématique du modèle de Gong <i>et al.</i> (2014).	34
1.15	Illustration schématique du modèle de Prokopiou <i>et al.</i> et Gao <i>et al.</i> (2014-2016).	35
1.16	Illustration schématique du modèle de Barbarroux <i>et al.</i> (2016).	38
1.17	Représentation algorithmique du modèle discret de Mantzaris (2006-2007).	41
1.18	Illustration schématique du modèle de Luzyanina <i>et al.</i> (2013).	42
4.1	Une illustration du Théorème 1.	66
5.1	Équilibres de l'équation (5.1)	79
5.2	Partage inégal du contenu moléculaire lors d'une division	80
5.3	Conditions initiales des solutions périodiques de (5.2)	82
5.4	Solutions du Système (5.2)	83
5.5	Graphe de la fonction Γ_ω	89

6.1	Conditions initiales des solutions périodiques de (5.2)	95
6.2	Concentration de Tbet dans une population cellulaire (cycle constant) . . .	97
6.3	Concentration de Tbet dans une population cellulaire (cycle croissant) . . .	99
9.1	Réseau de régulation moléculaire simplifié dans un lymphocyte T-CD8. . .	112
9.2	Schéma de différenciation d'un lymphocyte T-CD8.	119
10.1	Dynamique d'une population de lymphocytes T-CD8.	130
10.2	Dynamique moléculaire intracellulaire moyenne.	132
10.3	Concentrations de Tbet, Caspases et Eomes dans tous les lymphocytes d'une population <i>in silico</i>	134
10.4	Expansion clonale et taille de la population mémoire en fonction du degré d'inégalité du partage du contenu moléculaire	138
10.5	Nombre de lymphocytes activés/effecteurs et mémoires au cours des ré- ponses <i>in silico</i> primaire et secondaire.	140

Liste des tableaux

1.1	Fonctions des principales protéines présentées dans la Section 1.1.4.	10
9.1	Description des voies de signalisation moléculaires de la Figure 9.1	115
9.2	Principales règles de modélisation appliquées aux CPA et lymphocytes T- CD8.	118
9.3	Valeurs de paramètres pour le modèle de Potts cellulaire.	126
9.4	Valeurs de paramètres pour le Système (9.1)-(9.6).	127
9.5	Valeurs de paramètres pour l'équation (9.7).	128
9.6	Seuils pour la différenciation et la mort des lymphocytes T-CD8.	128

Liste des abréviations

- CMH I Complexe Majeur d'Histocompatibilité de classe I, page 6
- CPA Cellule Présentatrice d'Antigène, page 6
- CPM Modèle de Potts Cellulaire (*Cellular Potts Model*), page 110
- DPEC Lymphocyte effecteur double positif, page 13
- EDI Équation Différentielle à Impulsions, page 46
- EDO Équation différentielle ordinaire, page 20
- EDP Équation aux dérivées partielles, page 22
- EEC Lymphocyte T-CD8 effecteur précoce (*Early Effector Cell*), page 13
- FasL Ligand du récepteur Fas, page 115
- IL2R Récepteur à IL2, page 115
- J_n a.i. Jour n post-infection, page 125
- MCS Itération du CPM (*Monte Carlo Step*), page 124
- MPEC Lymphocyte T-CD8 effecteur précurseur de mémoire (*Memory Precursor Effector Cell*), page 13
- SLEC Lymphocyte T-CD8 effecteur à faible espérance de vie (*Short-Lived Effector Cell*), page 13
- T_{cm} Lymphocyte T-CD8 mémoire central, page 15
- T_{em} Lymphocyte T-CD8 mémoire effecteur, page 15
- TCR *T-Cell Receptor*, page 5

CHAPITRE 1

Introduction

Ce manuscrit est consacré à la modélisation mathématique de la réponse des lymphocytes T-CD8 à une infection intracellulaire. En substance, la réponse T-CD8 consiste à libérer l'organisme de ladite infection, puis à le munir d'une mémoire immunitaire qui le préservera d'une éventuelle infection ultérieure. Il s'agit d'un phénomène biologique complexe se déployant sur des échelles temporelles et spatiales diverses : des réactions moléculaires dans le noyau des lymphocytes à la migration de ces derniers parmi les tissus d'un organisme. Suite au récent développement de technologies permettant d'étudier le contenu moléculaire des lymphocytes T-CD8 individuellement, il a été mis en évidence que, au cours de la réponse T-CD8, ceux-ci forment une population hétérogène.

Motivée par une meilleure compréhension des infections aiguës et chroniques, ou encore par l'optimisation de vaccins, l'étude de la réponse T-CD8 est un axe majeur de recherche en immunologie. Cette étude est rendue difficile par le caractère multiéchelle de la réponse T-CD8, la variété des agents cellulaires et moléculaires qu'elle implique et l'hétérogénéité observée au sein même de la population de lymphocytes T-CD8. La modélisation mathématique constitue un outil intéressant pour faire face à cette complexité. Comme tout modèle, les modèles mathématiques se définissent d'abord par une réduction du problème étudié à un ensemble d'hypothèses. Le formalisme mathématique permet alors d'opérer une analyse formelle ou des simulations numériques du modèle établi afin d'en comprendre les propriétés. Si les modèles mathématiques, en tant qu'abstractions, ne permettent pas de tirer de conclusion absolument définitive sur le phénomène biologique considéré, leur étude permet d'évaluer la valeur de certains paramètres biologiques, ou la fiabilité de certaines hypothèses.

Les travaux présentés dans cette thèse (Parties I et II) portent sur la modélisation multiéchelle (moléculaire et cellulaire) de la réponse T-CD8. Nous nous intéressons particulièrement à l'émergence d'hétérogénéité moléculaire et phénotypique au sein d'une

population de lymphocytes T-CD8 et à ses conséquences sur le déroulement et l'issue de la réponse T-CD8.

Pour la bonne compréhension de ces travaux, nous entamerons ce premier chapitre avec une introduction à la réponse immunitaire T-CD8, couvrant tous les aspects abordés dans ce manuscrit. Cette introduction biologique sera suivie d'un état de l'art de la modélisation mathématique de la réponse T-CD8, par rapport auquel nous positionnerons notre travail.

1.1 La réponse immunitaire T-CD8

La notion de réponse immunitaire désigne tout mécanisme mis en place par un organisme biologique en vue d'empêcher l'intrusion ou d'assurer l'élimination d'un agent non toléré par celui-ci et, ainsi, préserver son intégrité. De tels agents, susceptibles de déclencher une réponse immunitaire, sont qualifiés de pathogènes. Ils peuvent être identifiés par le système immunitaire grâce à la présence à leur surface de structures moléculaires appelées antigènes.

On distingue traditionnellement la réponse immunitaire innée de la réponse immunitaire dite adaptative, ou spécifique.

Après avoir détecté l'agent pathogène, le système immunitaire inné intervient immédiatement et opère sans tenir compte de la nature précise de l'agent, il est dit non-spécifique. Il inclut notamment des barrières physiques, chimiques et biologiques (peau, muqueuses, flore bactérienne...) ainsi que des cellules, telles que les phagocytes, capables d'ingérer et de digérer un agent infectieux (phagocytose).

L'immunité adaptative est apparue plus récemment dans l'histoire de l'évolution, il y a environ 500 millions d'années, et n'est présente, selon les connaissances actuelles, que chez les vertébrés [60]. Elle se démarque de l'immunité innée par trois traits principaux. Premièrement, elle mobilise des cellules qui sont spécifiques d'un seul antigène et ciblent ainsi spécifiquement l'agent pathogène ayant provoqué la réponse immunitaire [66]. Deuxièmement, le recrutement et l'activation de ces cellules impliquent un délai (de l'ordre de trois jours) entre la détection de l'antigène et le début effectif de la réponse adaptative [101, 125]. Enfin, la réponse adaptative s'accompagne d'une prolifération exponentielle des cellules impliquées dans la lutte contre l'agent pathogène puis de la formation d'une mémoire immunitaire, assurant une réaction plus rapide de l'organisme s'il venait

à rencontrer de nouveau le même antigène [108, 155].

Outre les lymphocytes T-CD8, dont le rôle et le mode d'action seront plus amplement développés par la suite, les acteurs majeurs de l'immunité adaptative sont les lymphocytes T-CD4 et les lymphocytes B.

La principale fonction des lymphocytes T-CD4 (ou auxiliaires) est de sécréter des cytokines, c'est à dire des protéines agissant sur les propriétés d'une cellule, à destination des lymphocytes B et T-CD8 afin de réguler leur prolifération et leur différenciation. Les lymphocytes B produisent des protéines appelées anticorps qui ont la faculté de reconnaître un antigène spécifique et de se fixer à lui. La fixation d'un anticorps sur un antigène neutralise ce dernier et le rend reconnaissable par l'ensemble du système immunitaire, qui se charge alors de l'éliminer. On dit que les lymphocytes B sont responsables de l'immunité humorale. Les lymphocytes T-CD8 (ou cytotoxiques) assurent quant à eux l'immunité à médiation cellulaire. Ils peuvent induire, par voies chimiques (cytotoxiques), la mort d'une cellule exhibant sur sa membrane l'antigène dont il sont spécifiques. Notons que les cellules cibles des lymphocytes T-CD8 peuvent être des cellules étrangères à l'organisme (cellules greffées), des cellules appartenant à l'organisme mais infectées par un agent pathogène intracellulaire (virus, bactéries, protozoaires), des cellules tumorales ou encore, dans le cas de maladies auto-immunes, des cellules saines.

Dans ce manuscrit, nous nous intéresserons exclusivement au développement de la réponse immunitaire des lymphocytes T-CD8, dite réponse T-CD8. En particulier, bien que plusieurs aspects de la réponse T-CD8 puissent être conservés chez diverses espèces de vertébrés et pour les divers agents pathogènes listés ci-dessus, nous ne traiterons dans la suite de cette introduction que du cas d'une réponse T-CD8 chez la souris, initiée par un agent pathogène intracellulaire.

1.1.1 Cinétique de la réponse T-CD8 primaire

Après leur formation dans la moelle osseuse et leur maturation dans le thymus, organe dont l'initiale "T" fut employée pour les nommer, les lymphocytes T-CD8 rejoignent, *via* le réseau sanguin, les organes lymphoïdes secondaires tels que la rate ou les ganglions. Un lymphocyte T-CD8 porte sur sa membrane, en plusieurs exemplaires, un récepteur TCR (pour *T-Cell Receptor*) capable de reconnaître un unique antigène, celui dont il est spécifique. Un lymphocyte est dit naïf tant qu'un antigène dont il est spécifique ne lui

a pas été présenté. Les lymphocytes naïfs sont des cellules quiescentes, c'est à dire ne proliférant pas, ou si peu que cette prolifération ne fait que compenser leur faible taux de mort [22].

Dans de nombreux tissus de l'organisme (peau, muqueuses, différents organes) patrouillent ou résident les cellules présentatrices d'antigènes (CPA) ; il peut s'agir de phagocytes, de cellules dendritiques ou de lymphocytes B. Lorsqu'un organisme est infecté pour la première fois par un agent pathogène intracellulaire — on parle alors de réponse primaire —, les CPA permettent d'initier la réponse T-CD8 en activant les lymphocytes T-CD8 naïfs. Pour ce faire, les CPA capturent l'antigène associé à l'infection en phagocytant une cellule infectée ou au moyen d'anticorps. Les CPA exhibent alors sur leur membrane, au niveau du complexe majeur d'histocompatibilité de classe I (CMH I), des fragments (ou peptides) de l'antigène capturé. Après avoir migré dans les organes lymphoïdes secondaires, les CPA présentent ces peptides antigéniques, *via* la liaison du CMH I avec le TCR, aux lymphocytes T-CD8 naïfs qui lui sont spécifiques. Cela induit l'activation des lymphocytes naïfs et marque le début de la réponse T-CD8 qui se développe sur trois phases, schématisées sur la Figure 1.1, au cours desquelles les lymphocytes traversent différents stades de différenciation :

Expansion clonale : Après avoir été activés, les lymphocytes sortent de leur quiescence et prolifèrent rapidement, par division cellulaire, entraînant un accroissement exponentiel du nombre de cellules : c'est la phase d'expansion clonale. Au cours de cette même phase, ils développent les propriétés cytotoxiques nécessaires à l'élimination des cellules infectées, on parle alors de lymphocytes effecteurs. On estime qu'à l'issue de l'expansion clonale, se déroulant sur une échelle de temps de 3 à 7 jours [40], la taille de la population cellulaire initiale a été multipliée par 10^4 à 10^5 [14, 40].

Contraction cellulaire : L'expansion clonale est suivie d'une phase de contraction cellulaire caractérisée par la mort par apoptose de la majorité — de l'ordre de 90 à 95% [70] — des lymphocytes T-CD8 générés durant la réponse. L'apoptose désigne le mécanisme par lequel une cellule, par l'activation de facteurs moléculaires internes, provoque sa propre mort : à ce titre, elle est également appelée *mort cellulaire programmée* ou *suicide cellulaire*.

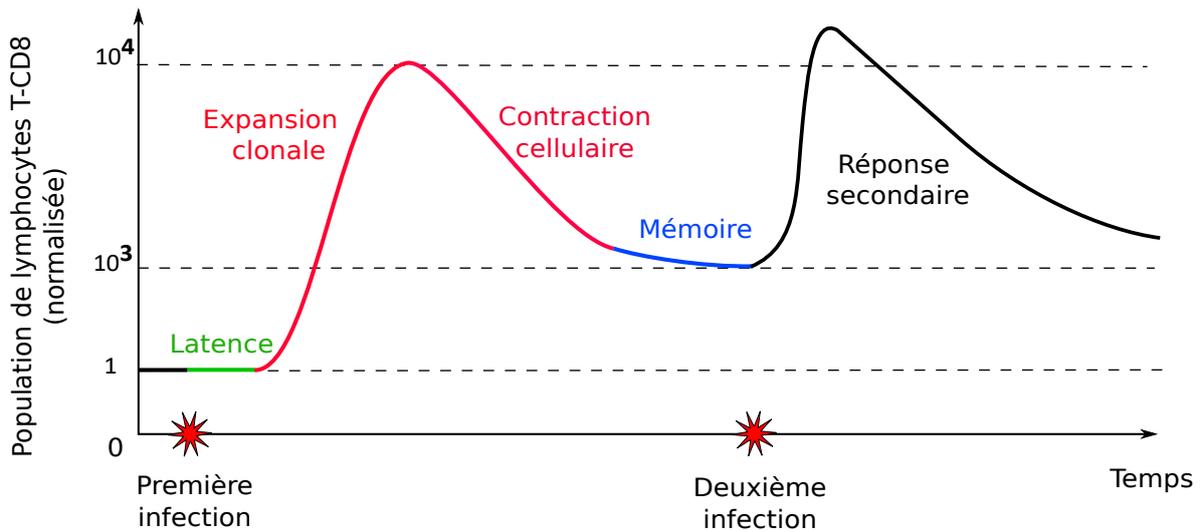


FIGURE 1.1: **Déroulement schématique de la réponse T-CD8 primaire et secondaire.** Suite à l'infection, les CPA migrent dans les ganglions (latence) puis activent les lymphocytes naïfs. Ces derniers prolifèrent rapidement et se différencient en lymphocytes effecteurs (expansion clonale). Après 3 à 7 jours d'expansion, une majorité des lymphocytes effecteurs meurent (contraction). Les lymphocytes effecteurs qui se sont différenciés en lymphocytes mémoires échappent à la contraction et leur nombre décroît très lentement (phase mémoire). En cas de nouvelle infection, les lymphocytes mémoires développent une réponse secondaire plus efficace. L'axe des ordonnées donne, à titre indicatif, la taille de la population de lymphocytes T-CD8, normalisée par le nombre de lymphocytes avant l'infection.

Phase mémoire : Au cours des phases d'expansion et contraction cellulaires, certains lymphocytes T-CD8 se différencient en lymphocytes mémoires. Ce sont ces derniers qui échappent à la contraction cellulaire. Ce sont des cellules à longue durée de vie et proliférant peu (environ une division toutes les deux à trois semaines) [22]. La population de lymphocytes mémoires se maintient donc dans l'organisme sur de grandes échelles de temps afin de protéger l'organisme plus efficacement dans le cas d'une nouvelle infection par le même agent pathogène.

1.1.2 La réponse T-CD8 secondaire

On parle de réponse secondaire, ou mémoire, lorsqu'un organisme développe une réponse contre un agent pathogène qu'il avait déjà rencontré et pour lequel il dispose d'une population de lymphocytes mémoires spécifiques. La réponse secondaire résulte de l'activation des lymphocytes à mémoires par les CPA. Elle se déroule selon les trois mêmes phases que la réponse primaire (Section 1.1.1).

L'intérêt de la population mémoire est de pouvoir fournir une réponse secondaire plus rapide et plus efficace que la réponse primaire. Ceci s'explique d'une part par le nombre de lymphocytes mémoires : la population mémoire générée au cours de la réponse primaire est approximativement mille fois plus grande que la population de lymphocytes naïfs spécifiques de l'antigène au début de la réponse primaire [74, 142]. De plus, certains lymphocytes mémoires résident directement dans les tissus périphériques (peau, muqueuses) [74, 147] et peuvent donc réagir plus rapidement à l'agent infectieux. D'autre part les lymphocytes mémoires, bien que dans un état de quiescence semblable à celui des lymphocytes naïfs, possèdent de meilleures propriétés biologiques. En effet, ils s'activent plus rapidement suite à la présentation de l'antigène et acquièrent très rapidement leurs propriétés cytotoxiques [74], notamment grâce à leur plus grande sensibilité à certaines cytokines inflammatoires telles que l'IL2 et l'IL12 [68, 74]. Enfin, une fois activés, les lymphocytes mémoires prolifèrent plus rapidement que ne le font les lymphocytes naïfs [74, 107].

Pour tirer profit du pouvoir préventif de la mémoire immunitaire, on peut avoir recours à la vaccination. En effet, le principe de la vaccination est d'injecter dans un organisme un agent infectieux dont le pouvoir pathogène a été atténué afin de déclencher une réponse immunitaire et établir une population mémoire spécifique de l'antigène rencontré.

1.1.3 La réponse T-CD8 en autopilote

La concordance temporelle entre, d'une part, l'élimination de l'infection et, d'autre part, le début de la contraction cellulaire et l'émergence de cellules mémoires a laissé croire que le développement de la réponse T-CD8 reposait entièrement sur l'évolution de l'infection [141]. Cependant, au début des années 2000, une série d'expériences *in vivo* et *in vitro* [71, 104, 139] a permis de démontrer une propriété étonnante de la réponse immunitaire T-CD8 qui a invalidé cette hypothèse. Il a été montré qu'une fois l'antigène présenté aux lymphocytes naïfs aucune stimulation antigénique ultérieure n'était nécessaire pour que la réponse T-CD8 se mette en place et se poursuive jusqu'à la formation de cellules mémoires. Ainsi des lymphocytes activés puis transférés dans un second organisme non-infecté engendrent tout de même une réponse primaire complète [71]. Ceci suggère que la présentation de l'antigène aux lymphocytes naïfs initie chez eux un programme autonome de prolifération et de différenciation à l'origine de la réponse T-CD8

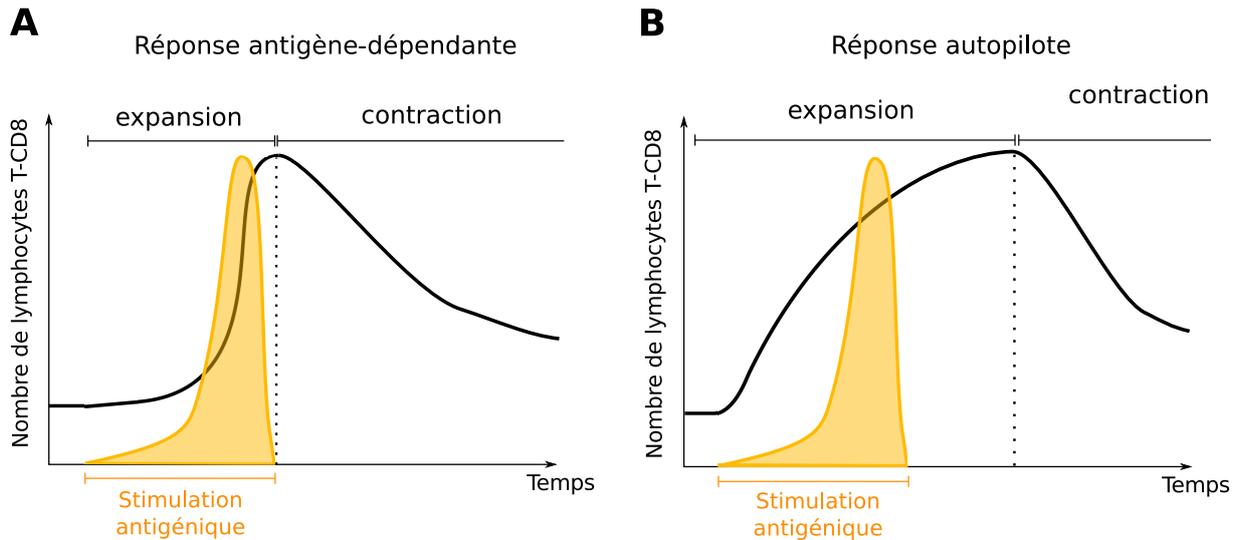


FIGURE 1.2: **Réponse T-CD8 régie par l'infection et réponse autopilote.** Dans le paradigme de la réponse régie par l'infection (A), la prolifération des lymphocytes repose sur l'intensité de leur stimulation par l'antigène (courbe pleine jaune), la contraction cellulaire débute (pointillés) dès que les lymphocytes ne sont plus stimulés. Au contraire, au cours de la réponse autopilote (B), l'activation des lymphocytes T-CD8 est suivie d'une prolifération intense de ceux-ci même si la charge virale est encore faible. La phase d'expansion est *programmée* pour se poursuivre durant une certaine durée, et ce même si l'infection est éliminée précocement.

(Figure 1.2). On parle dès lors de réponse programmée, ou autopilote. Les mécanismes régulant ce programme sont encore mal connus. En particulier, plusieurs hypothèses ont été avancées pour expliquer ce qui provoque la contraction cellulaire mais cette question est toujours ouverte [52, 141].

Comme le remarquent Antia *et al.* [3, 4], si le développement de la réponse T-CD8 dépendait en tout temps de la densité de pathogène, cela permettrait de ne produire que le nombre minimal de lymphocytes T-CD8 nécessaire pour mettre fin à l'infection, une telle réponse serait donc plus économique en énergie. Pour expliquer l'intérêt évolutif de la réponse autopilote, les auteurs suggèrent qu'en organisant une riposte conséquente même si la densité d'agents pathogènes est faible, la réponse autopilote permettrait de combattre l'infection avant que virus ou bactéries n'aient l'opportunité de proliférer, minimisant ainsi le risque que l'infection ne surpasse la réponse immunitaire.

1.1.4 Phénotypes et interactions cellulaires : de l'échelle moléculaire à l'échelle cellulaire

Un lymphocyte T-CD8 produit une grande variété de protéines qui régulent son phénotype, c'est à dire l'ensemble de ses propriétés observables (cytotoxicité, prolifération, survie, migration...). Lorsqu'elles sont exprimées sur sa membrane ou sécrétées dans le milieu extracellulaire, ces protéines lui permettent également d'interagir avec son environnement ; on parle alors de cytokines. Les cytokines — dont les interleukines (IL), les interférons (IFN) et la famille du facteur de nécrose tumorale TNF — jouent un rôle central dans l'orchestration de la réponse T-CD8.

Nous présentons ici le rôle de quelques protéines fortement impliquées dans la différenciation des lymphocytes T-CD8 et les différentes phases de la réponse décrites auparavant. Il s'agit bien sûr d'une sélection très partielle, le nombre de protéines régulant les propriétés des lymphocytes T-CD8 étant très important. L'objectif est ici d'introduire quelques protéines clés pour comprendre les travaux présentés dans cette thèse, les principales fonctions de ces protéines sont récapitulées dans la Table 1.1. Pour une introduction plus complète, nous pourrions notamment parler des protéines pro-inflammatoires (IFN- γ , TNF- α) [33, 123, 144], des protéines et récepteurs associés à la survie (telles que bcl2, ou l'IL7 et son récepteur CD127) [70, 84], au renouvellement des cellules mémoires (IL15) [70] et à leur migration dans les ganglions lymphatiques (CCR7,CD62L) [24], à la prolifération (Ki67) [34], ou à la mort cellulaire (Blimp1) [100]. Nous pourrions encore mentionner les protéines produites par les CPA (IL12) [33, 38, 136] ou les lymphocytes T-CD4 (IL2, IL21) [33] agissant sur la différenciation, la survie ou la prolifération des lymphocytes T-CD8.

1.1.4.1 Activation et prolifération

L'IL2 (interleukine 2) est une cytokine associée à l'activation et à la prolifération des lymphocytes dans les premiers instants de la réponse T-CD8. Au moment de leur activation, les lymphocytes produisent et sécrètent d'abondantes quantités d'IL2 [23]. Dans le même temps, ils exacerbent leur capacité à capter l'IL2 ambiant en multipliant le nombre de récepteurs à IL2 exprimés sur leur membrane [23]. La sécrétion d'IL2 par l'ensemble des lymphocytes activés permet alors d'initier la phase d'expansion clonale en créant un environnement favorable à la prolifération et à la survie. L'IL2 est impliquée dans la survie des lymphocytes activés [21] mais n'intervient pas dans la survie des lymphocytes

mémoires [37].

1.1.4.2 Les voies cytotoxiques perforine/granzyme, Fas-FasL et Caspases

Les capacités cytotoxiques des lymphocytes effecteurs s'expriment au travers de deux voies moléculaires : la voie perforine/granzyme et la voie Fas-FasL. Après s'être lié à une cellule cible — car porteuse d'antigène donc *a posteriori* infectée —, un lymphocyte effecteur libère une protéine appelée perforine et des protéines de la famille des granzymes dont l'action conjuguée conduit à la mort par apoptose de la cellule cible [55, 120]. Les lymphocytes effecteurs expriment sur leur membrane la protéine FasL (le ligand du récepteur Fas, pour *First apoptosis signal receptor*). En se liant au récepteur Fas exprimé sur la membrane d'une cellule cible, il déclenche chez cette dernière l'activation d'une famille de protéines, les Caspases, qui à leur tour déclenchent la mort par apoptose de la cellule cible [55, 131]. La voie Fas-FasL joue également un rôle de régulation négative de la population de lymphocytes engagés dans la réponse T-CD8. En effet, un lymphocyte effecteur, exprimant FasL, peut induire l'apoptose d'un autre lymphocyte, exprimant Fas, engagé dans la réponse. Ce mécanisme de rétrocontrôle, encore mal compris, empêche ainsi des phénomènes d'accumulation et pourrait limiter les réactions auto-immunes [55].

1.1.4.3 Régulation de la différenciation cellulaire vers les stades effecteur et mémoire

La protéine Tbet est connue pour réguler la différenciation en lymphocyte effecteur, elle est notamment nécessaire à l'expression de FasL, perforine et granzyme B [132]. Le rôle central de Tbet dans l'acquisition du profil effecteur et la répression de la différenciation en lymphocyte mémoire sera exposé en Section 1.1.5.1.

La protéine Eomesodermin (Eomes) est une des protéines centrales dans l'acquisition des propriétés associées aux lymphocytes mémoires car elle intervient dans la régulation de protéines et récepteurs essentiels à la survie, au renouvellement et à la migration des cellules mémoires ainsi qu'à leur capacité à réagir rapidement à une stimulation antigénique [2, 9, 84, 107].

Le rôle du couple Tbet/Eomes dans la différenciation des lymphocytes T-CD8 a fait l'objet de nombreuses études et sera important dans les travaux de modélisation présentés dans cette thèse. De nombreuses autres protéines ont été identifiées comme impliquées

Protéine	Voie d'action/Localisation	Fonction
IL2	Sécrétée dans le milieu extérieur Captée par les récepteurs membranaires	Favorise la prolifération Activation des lymphocytes naïfs Survie des lymphocytes activés
Caspases	Intracellulaire	Déclenchent la mort (apoptose)
FasL	Récepteur membranaire	Induit la mort de la cellule cible par liaison à son récepteur Fas
Perforine et granzyme	Protéines sécrétées au point de contact cellulaire	Induisent la mort de la cellule cible
Tbet	Facteur de transcription intracellulaire	Promeut la cytotoxicité Promeut la voie SLEC (Section 1.1.5.1) Réprime la voie MPEC (Section 1.1.5.1)
Eomes	Facteur de transcription intracellulaire	Survie des cellules mémoires Renouvellement des cellules mémoires Migration des cellules mémoires Réactivation des cellules mémoires

TABLE 1.1: **Fonctions des principales protéines présentées dans la Section 1.1.4.**

dans la différenciation des lymphocytes T-CD8 mais ne seront pas ici discutées en détail. Les protéines KLRG1, CD127, Bcl2 et Ki67 seront notamment évoquées en Sections 1.1.5.1 et 1.1.5.2.

1.1.5 Hétérogénéité et schémas de différenciation

Le développement de technologies permettant d'étudier le contenu moléculaire des lymphocytes T-CD8 individuellement a permis de mettre en évidence que la population de lymphocytes engagés dans la réponse T-CD8 est, à chaque instant de la réponse, hétérogène. En se basant sur l'expression de différents marqueurs moléculaires, plusieurs sous-populations de lymphocytes ont été identifiées. Leur étude a permis d'affiner le schéma de différenciation des lymphocytes T-CD8.

Dans ce manuscrit, nous prêterons particulièrement attention au schéma de différenciation ramifié SLEC/MPEC (Section 1.1.5.1) et au rôle de la protéine Tbet dans ce contexte.

1.1.5.1 SLEC et MPEC : schéma de différenciation ramifié

Comme décrit en Section 1.1.1, la majorité des lymphocytes effecteurs meurt au cours de la phase de contraction cellulaire, seule une faible partie des lymphocytes effecteurs se différencie en lymphocytes mémoires. Il existe donc des lymphocytes effecteurs pré-curseurs de mémoire (MPEC, pour *memory precursor effector cell*) et d'autres qui sont voués à mourir (SLEC, pour *short-lived effector cell*). Ces deux sous-populations ont pu être identifiées en se basant sur l'expression de deux récepteurs membranaires KLRG1 et CD127.

Bien que présentant des destins antagonistes, les MPEC ($KLRG1^{low}CD127^{high}$) et les SLEC ($KLRG1^{high}CD127^{low}$) [67, 72] coexistent au cours de la réponse T-CD8. Notons que les marqueurs KLRG1 et CD127 permettent de différencier lymphocytes précurseurs de mémoire et lymphocytes voués à mourir au sein d'une population de lymphocytes effecteurs ; ils ne permettent pas de différencier les MPEC des lymphocytes mémoires, qui sont également $KLRG1^{low}CD127^{high}$. Les MPEC forment ainsi une population hétérogène [34].

Les lymphocytes effecteurs précoces, pivots entre SLEC et MPEC. Les deux populations SLEC et MPEC sont détectables dès jour 4 post-infection, au début de la phase d'expansion clonale [154]. Cependant, quelques jours avant le pic de la réponse T-CD8, la majorité des lymphocytes T-CD8 impliqués dans la réponse est encore constituée de lymphocytes effecteurs précoces (EEC, pour *early effector cells*), exprimant faiblement les récepteurs KLRG1 et CD127 ($KLRG1^{low}CD127^{low}$) et capables d'engendrer à la fois des SLEC et des MPEC [112].

Les lymphocytes effecteurs double positifs (DPEC, $KLRG1^{high}CD127^{high}$). Peu nombreux, ils ont été peu étudiés et sont la plupart du temps ignorés [112, 113]. Cette classification suggère donc un schéma de différenciation ramifié, illustré sur la Figure 1.3, dans lequel les lymphocytes effecteurs adoptent un destin irréversible, plutôt qu'une différenciation progressive et linéaire.

La protéine Tbet induit le phénotype SLEC. Par ailleurs, il a été montré que, chez la souris, l'expression de la protéine Tbet par un lymphocyte réprime chez lui l'expression de CD127 [65] et induit le développement du profil SLEC [9, 67, 68]. À l'inverse, une faible expression de la protéine Tbet induit le développement du profil MPEC [9, 67, 68], l'expression de Tbet décroît alors au fur et à mesure que la cellule acquiert un phénotype

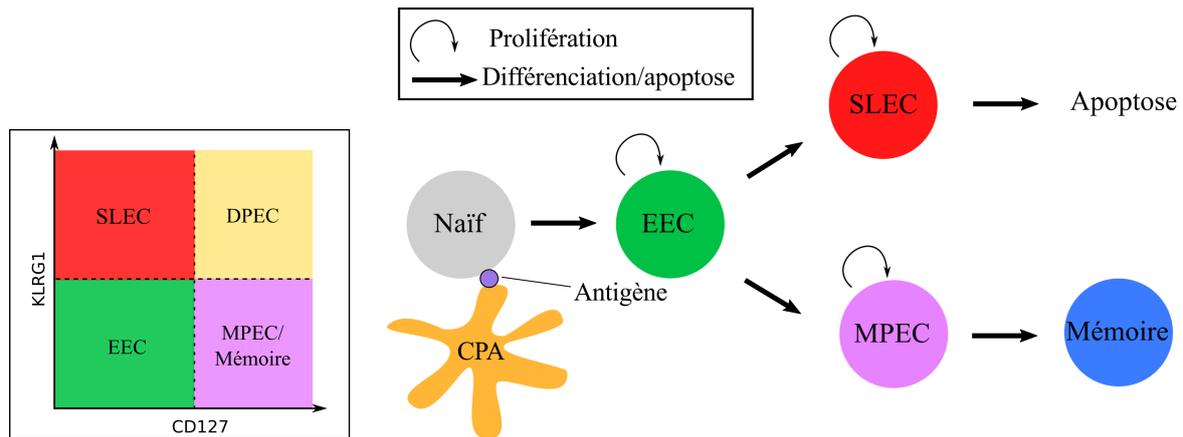


FIGURE 1.3: **Schéma de différenciation ramifié selon le paradigme SLEC/MPEC.** Suite à leur activation, les lymphocytes sont $KLRG1^{low}CD127^{low}$ (EEC). Les EEC peuvent se différencier en lymphocytes $KLRG1^{high}CD127^{low}$ (SLEC), voués à la mort par apoptose, ou $KLRG1^{low}CD127^{high}$ (MPEC), à l'origine des lymphocytes mémoires. DPEC : lymphocyte effecteur double positif.

mémoire [68, 84]. Bien que la protéine Eomes soit nécessaire pour le développement de nombreuses propriétés des lymphocytes mémoires, elle n'intervient pas dans l'attribution des destins SLEC/MPEC [9, 70].

1.1.5.2 Marqueurs CD44, Mki67 et Bcl2 : schéma de différenciation linéaire

Les marqueurs moléculaires KLRG1 et CD127 permettent d'identifier des sous-populations de lymphocytes coexistant et présentant des destins différents. En se basant sur les marqueurs moléculaires CD44, Mki67 et Bcl2, Crauste *et al.* [34] ont identifié des sous-populations de lymphocytes qui se succèdent dans le temps et présentent des propriétés différentes (voir Section 1.2.1.7 pour une description de ce travail). Les protéines CD44, Mki67 et Bcl2 sont respectivement associées à l'activation, à la prolifération et à la survie des lymphocytes T-CD8. Quatre sous-populations ont été identifiées : les lymphocytes naïfs ($CD44^{low}Mki67^{low}Bcl2^{high}$), les lymphocytes effecteurs précoces (*early effector*, $CD44^{high}Mki67^{high}Bcl2^{low}$) et tardifs (*late effector*, $CD44^{high}Mki67^{low}Bcl2^{low}$) et les lymphocytes mémoires ($CD44^{high}Mki67^{low}Bcl2^{high}$). Après avoir confronté des données *in silico*, générées à l'aide d'un modèle mathématique dans lequel différents schémas de différenciation sont considérés, à des données *in vivo*, les auteurs concluent que le schéma de différenciation le plus probable est celui dans lequel se succèdent chronologiquement les lymphocytes naïfs, précoces, tardifs puis mémoires (Figure 1.4).

Notons que les lymphocytes $CD44^{high}Mki67^{high}Bcl2^{low}$ et les lymphocytes

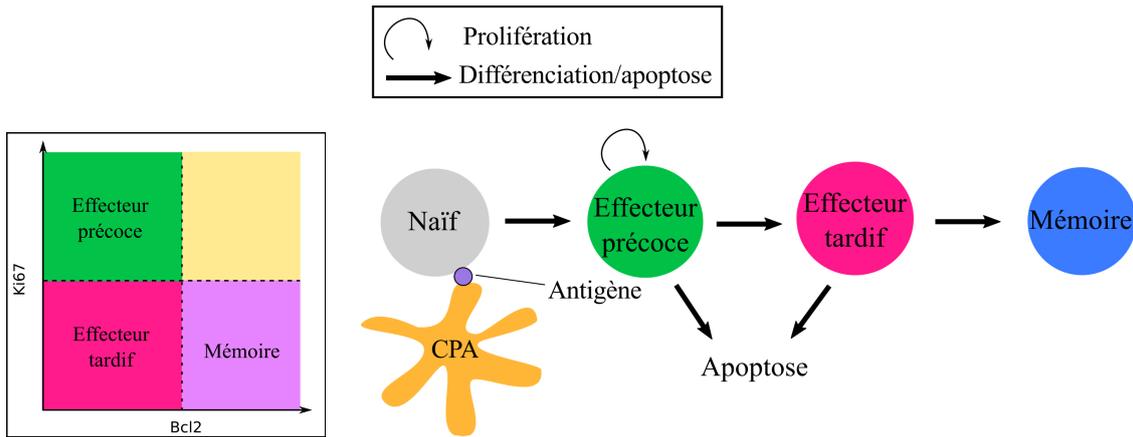


FIGURE 1.4: **Schéma de différenciation linéaire selon le paradigme effecteur précoce/tardif.** Suite à leur activation, les lymphocytes sont d'abord $\text{Mki67}^{\text{high}}\text{Bcl2}^{\text{low}}$ (effecteurs précoces). Ils se différencient ensuite en lymphocytes $\text{Mki67}^{\text{low}}\text{Bcl2}^{\text{low}}$ (effecteurs tardifs), puis $\text{Mki67}^{\text{low}}\text{Bcl2}^{\text{high}}$ (mémoires).

$\text{KLRG1}^{\text{low}}\text{CD127}^{\text{low}}$ ne constituent pas la même sous-population, bien que le même nom (*early effector cells*) leur ait été attribué. Notons également que le schéma de différenciation linéaire proposé dans [34] et le schéma ramifié, basé sur les sous-populations SLEC et MPEC, ne s'excluent pas l'un l'autre puisque ces deux schémas ne contiennent pas les mêmes sous-populations. On peut ainsi retrouver les sous populations de l'un dans les compartiments correspondant de l'autre [34].

1.1.5.3 Hétérogénéité de la population mémoire

La population de lymphocytes mémoires est elle aussi hétérogène. La principale classification, basée sur l'expression de la protéine CD62L, distingue les T_{cm} (*central memory T-cell*, $\text{CD62L}^{\text{high}}$) des T_{em} (*effector memory T-cell*, $\text{CD62L}^{\text{low}}$). Les T_{cm} sont présents dans les organes lymphoïdes secondaires tandis que les T_{em} circulent principalement dans les tissus périphériques et conservent des propriétés cytotoxiques [144]. Savoir si ces deux sous-populations émergent de progéniteurs différents ou si l'une résulte de la différenciation de l'autre reste une question controversée [73]. Dans une étude de 2013 [25], Buchholz *et al.* les auteurs proposent un schéma de différenciation selon lequel les lymphocytes naïfs se différencient d'abord en lymphocytes T_{cm} , puis T_{em} avant de se différencier en lymphocytes effecteurs. Ce schéma est également controversé puisqu'il entre en contradiction avec la conception, plus commune, d'une différenciation des lymphocytes effecteurs en lymphocytes mémoires.

Dans les travaux présentés dans cette thèse (Parties I et II), nous ne nous intéressons

rons qu'au cas des lymphocytes T_{cm} , que nous désignerons simplement sous le terme de lymphocytes mémoires.

1.1.6 Origines de l'hétérogénéité phénotypique

L'hétérogénéité moléculaire et, *a fortiori*, phénotypique décrite en Section 1.1.5 pré-existe à l'activation des lymphocytes naïfs et est amplifiée tout au long de la réponse T-CD8 [85]. Les différentes sources d'hétérogénéité présentées ci-dessous sont résumées par la Figure 1.5. Les notions de *division asymétrique* et de *division inégale* sont notamment essentielles pour la bonne compréhension des travaux présentés dans ce manuscrit.

1.1.6.1 Hétérogénéité antérieure à l'infection

À l'état naïf, les lymphocytes T-CD8 spécifiques d'un même antigène présentent déjà des prédispositions variables à répondre à une stimulation antigénique et monter une réponse T-CD8. Cette variabilité s'explique notamment par l'affinité de leur TCR avec l'antigène [8], ou encore par le nombre de récepteurs CD8 sur leur membrane, ces derniers permettant une meilleure interaction entre le TCR et le CMH I [48, 94].

1.1.6.2 Activation et contexte inflammatoire

Durant l'activation des lymphocytes T-CD8, leur différenciation est influencée par l'intensité du signal reçu par le TCR, une stimulation importante favorisant la différenciation en SLEC [141]. Cette intensité dépend de l'affinité du TCR pour l'antigène mais aussi de la fréquence et de la durée des contacts ainsi que de l'abondance de certaines protéines d'adhésion et de costimulation dans le milieu extracellulaire et à la surface des CPA [106, 126, 141, 154].

La différenciation des lymphocytes T-CD8 activés est par la suite influencée par l'abondance dans le milieu extracellulaire de cytokines sécrétées par les CPA et lymphocytes T-CD4, entre autres, telles que l'IFN γ , l'IL2 ou l'IL12 [21, 73, 154]. Il a par exemple été montré que la cytokine IL12, sécrétée par les CPA, induit l'expression de Tbet et réprime celle d'Eomes, favorisant ainsi le développement de profils SLEC au détriment des MPEC [2, 67, 136].

Plusieurs études ont démontré qu'un unique lymphocyte naïf engendre, au cours de ses divisions successives, une lignée constituée à la fois de lymphocytes effecteurs et lym-

phocytes mémoires [26, 53, 130]. Il existe donc des sources intrinsèques d'hétérogénéité, ne dépendant pas des prédispositions initiales des lymphocytes naïfs.

1.1.6.3 Une première division asymétrique

Pendant la phase d'activation d'un lymphocyte naïf ou mémoire par une CPA, la liaison TCR-CMH I induit une réorganisation du contenu moléculaire du lymphocyte [32]. Certaines protéines migrent alors de part et d'autre de l'axe de polarisation établi entre la partie en contact avec la CPA (proximale) et la partie opposée (distale). La première division du lymphocyte suivant son activation partage la cellule mère perpendiculairement à l'axe de polarisation. Les deux cellules filles héritent alors de contenus moléculaires significativement différents et, par conséquent, de propriétés différentes [75]. Ce phénomène est connu sous le nom de division asymétrique. Chang *et al.* [27, 28] ont montré qu'à l'issue d'une division asymétrique, la cellule fille distale reçoit davantage de protéines associées au profil MPEC et mémoire telles que CD127 et CD62L. La cellule fille proximale reçoit davantage de protéines associées au profil effecteur telles que IFN γ , Granzyme B et Tbet. Ainsi, la division asymétrique, en particulier *via* la ségrégation de Tbet dont le rôle est décrit en Section 1.1.5, confère à la cellule fille proximale et à la cellule fille distale une prédisposition à engendrer respectivement une lignée de SLEC et une lignée de MPEC et de lymphocytes mémoires. Notons que toutes les protéines ne sont pas affectées par la polarisation, c'est par exemple le cas de la protéine Eomes [32].

1.1.6.4 Partage inégal du contenu moléculaire lors des divisions suivantes

Le phénomène de division asymétrique ne survient que lors de la première division d'un lymphocyte activé, celui-ci ayant été polarisé sur engagement de son TCR. Dans les cellules non-polarisées le partage des protéines entre cellules filles se fait de façon aléatoire et, à ce titre, ne saurait être rigoureusement *symétrique* [128]. Dans ce cas, on préférera parler de division inégale. On peut imaginer qu'un partage inégal des protéines, répété à chaque division, contribue à l'émergence d'hétérogénéité au sein d'une population cellulaire. Cet effet étant toutefois difficile à évaluer *in vivo* ou *in vitro*, il a principalement été étudié grâce à des modèles mathématiques tels que ceux que nous présenterons en Section 1.2.3 ainsi que ceux faisant l'objet de cette thèse (Parties I et II).

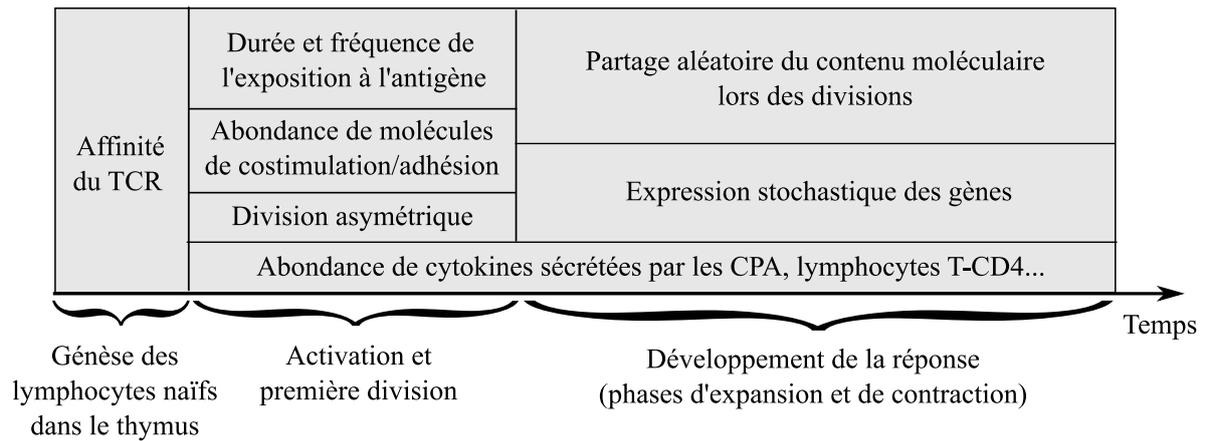


FIGURE 1.5: Principales sources d'hétérogénéité moléculaire et phénotypique des lymphocytes T-CD8 au cours de la réponse.

1.1.6.5 Stochasticité de l'expression des gènes

L'expression d'un gène se caractérise par deux phases principales : la transcription de l'un des brins de ce gène en ARN messager par l'ARN polymérase dans le noyau cellulaire, puis la traduction de l'ARN messager en protéine, réalisée par les ribosomes dans le cytoplasme de la cellule.

Ces deux phases sont soumises au caractère aléatoire des réactions biochimiques, celui-ci étant d'autant plus significatif que le nombre de molécules impliquées (ADN, ARNm, facteurs de transcription) est faible [90]. Cette stochasticité de l'expression des gènes était déjà observée dès le milieu du XX^{ème} siècle (voir [117] pour un bref historique). Son étude s'est fortement intensifiée suite à l'émergence, il y a une vingtaine d'années, de nouvelles technologies, telles que les puces à ADN, permettant d'étudier le niveau d'expression des gènes.

L'expression stochastique des gènes est aujourd'hui abondamment étudiée (expérimentalement ou à l'aide de modèles mathématiques) pour son rôle dans l'hétérogénéité cellulaire et ses possibles conséquences sur de nombreux aspects du développement cellulaire (pathologies, division, différenciation...) [5, 59, 117, 118, 119].

Dans les Parties I et II, nous présenterons deux travaux de modélisation de la réponse T-CD8, réalisés au cours de cette thèse. Cette introduction à la réponse T-CD8, à présent achevée, dépasse légèrement le cadre nécessaire à la compréhension des travaux susdits afin que le lecteur soit plus à même de positionner ces derniers dans le

paysage des connaissances actuelles. La succession des différentes phases de la réponse (expansion, contraction, mémoire) sans intervention du pathogène (réponse autopilote), l'hétérogénéité moléculaire des lymphocytes T-CD8 (paradigme SLEC/MPEC, division asymétrique et partage inégal des protéines) et le couplage entre échelles moléculaire et cellulaire sont véritablement au cœur de notre travail. Avant d'éclaircir nos motivations et notre approche, il convient de présenter les principaux travaux de modélisation qui ont pu nous les inspirer.

1.2 État de l'art

La modélisation mathématique de la réponse T-CD8 s'est essentiellement développée depuis le début du XXI^{ème} siècle, au cours duquel les hypothèses des modèles mathématiques ont évolué parallèlement aux connaissances biologiques. Nous présentons dans cette section une sélection de travaux de modélisation portant sur les thématiques au cœur du travail élaboré au long de cette thèse. Il s'agit en premier lieu de modèles mathématiques de la réponse T-CD8, mais également de modèles appliqués à la distribution des protéines lors de la division des lymphocytes T-CD8, sans lien avec la réponse immunitaire.

Pour dresser cet état de l'art nous avons privilégié les modèles dans lesquels la différenciation des lymphocytes T-CD8 est décrite et les différentes phases de la réponse (expansion, contraction, mémoire) considérées. Nous avons prêté une attention particulière aux travaux dans lesquels le phénomène de réponse autopilote (cf. Section 1.1.3) est pris en compte et étudié. Ont également été privilégiés les modèles s'intéressant spécifiquement à la réponse T-CD8 contre une infection aiguë par un pathogène intracellulaire. Autrement dit, nous aborderons peu les modèles décrivant une réponse immunitaire plus vaste, impliquant, outre les lymphocytes T-CD8, une grande variété de cellules immunitaires telles que les macrophages, lymphocytes T-CD4, lymphocytes B... [43]. Les modèles appliqués à l'action des lymphocytes T-CD8 contre les cellules tumorales [42, 110] ou lors d'infections chroniques ont également été écartés. Enfin, nous ne discuterons pas les modèles de la réponse T-CD8 dans lesquels ni la différenciation ni les interactions des lymphocytes ne sont considérées, essentiellement destinés à estimer des taux de prolifération ou de mort à partir de données expérimentales [18, 39, 96, 111].

Le déroulement de la réponse T-CD8 est le produit d'événements interdépendants et

survenant à des échelles spatiales et moléculaires très différentes : réactions moléculaires, interactions cellulaires, organisation des cellules au sein des tissus de l'organisme... La modélisation multiéchelle vise à coupler au sein d'un unique modèle la description de phénomènes se déroulant sur différentes échelles. Ce type de modèles présente donc un intérêt évident lorsque l'on s'intéresse au système immunitaire [43]. En particulier, le couplage entre échelle moléculaire (synthèse de protéines) et échelle cellulaire (propriété et différenciation des lymphocytes) est une question centrale dans cette thèse : les principaux modèles de la réponse T-CD8 couplant ces deux échelles seront présentés.

Dans cet état de l'art, nous présenterons également quelques modèles mathématiques destinés à l'étude de l'émergence d'hétérogénéité moléculaire au sein d'une population cellulaire sous l'effet du partage inégal des protéines lors des divisions cellulaires (cf. Section 1.1.6), un phénomène central dans le travail présenté dans ce manuscrit.

1.2.1 Modèles cellulaires de la réponse T CD8

1.2.1.1 Modèle de De Boer *et al.* — 2001

De Boer *et al.* [17] ont développé un modèle relativement simple de la réponse T-CD8, décrivant à l'aide de trois équations différentielles ordinaires (EDO) linéaires le nombre de lymphocytes naïfs (N), activés/effecteurs (E) et mémoires (M) au cours de la réponse. Dans ce modèle, les lymphocytes naïfs se différencient en lymphocytes activés/effecteurs, qui à leur tour se différencient en lymphocytes mémoires. Le système d'équations utilisé est le suivant :

$$\begin{cases} \frac{dN}{dt}(t) = -F(V(t))aN(t), \\ \frac{dE}{dt}(t) = F(V(t))[a(N(t) + M(t)) + \rho E(t)] - (1 - F(V(t)))(r + \delta_E)E(t), \\ \frac{dM}{dt}(t) = r(1 - F(V(t))E(t) - aF(V(t))M(t) - \delta_M M(t), \end{cases} \quad (1.1)$$

où la fonction $F(V) = V/(K + V)$ modélise l'effet de la charge virale V sur les paramètres de différenciation (a et r), de mort (δ_E) et de prolifération ρ . La charge virale V n'est pas modélisée par une équation différentielle mais définie par une fonction explicite du temps, si bien que $F(V(t))$ est également une fonction explicite du temps. Ce modèle est illustré par la Figure 1.6.

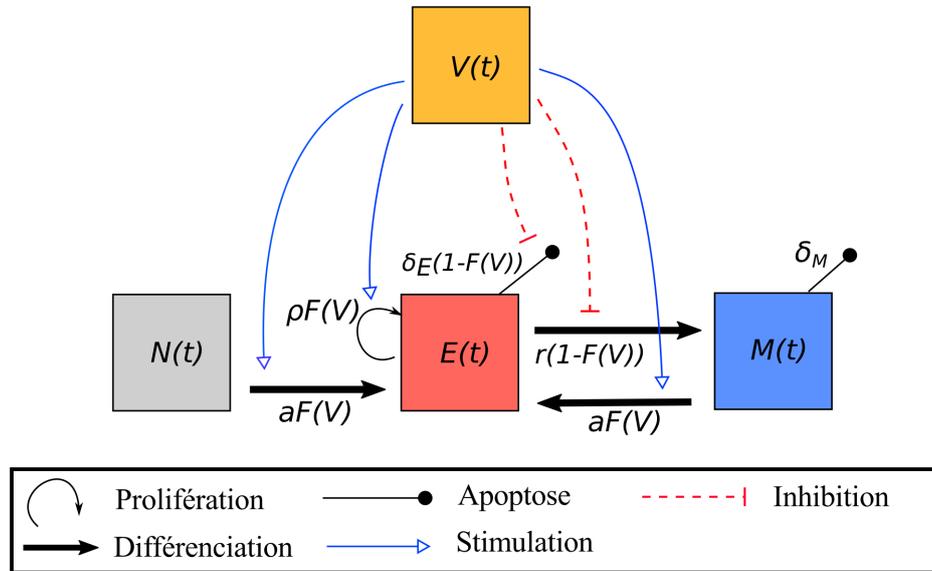


FIGURE 1.6: **Illustration schématique du modèle de De Boer *et al.* (2001) [17].** La dynamique des quantités de lymphocytes naïfs (N), activés/effecteurs (E) et mémoires (M) est déterminée par le Système (1.1). La charge virale V est décrite par une fonction explicite du temps.

En comparant leur modèle à des données *in vivo* (nombre de lymphocytes T-CD8 au cours d'une réponse primaire contre le virus *lymphocytic choriomeningitis*, tout stade de différenciation confondu), les auteurs ont estimé la valeur de plusieurs paramètres biologiques tels que des taux de prolifération, de mort et de différenciation. Par ailleurs, l'adéquation entre données *in vivo* et *in silico* renforce l'hypothèse du schéma de différenciation linéaire suivant : stade naïf, puis activé (ou effecteur), puis mémoire — la question de la différenciation du stade effecteur vers le stade mémoire (plutôt que la réciproque) étant, à cette époque, controversée [109].

Dans ce modèle, à l'exception de la mort des lymphocytes mémoires, tous les processus de mort, de prolifération et de différenciation dépendent entièrement de la charge virale, c'est à dire de la présence d'antigènes. Cette propriété du modèle le rend incompatible avec le concept de réponse programmée, qui émergeait à cette époque (cf. Section 1.1.3).

1.2.1.2 Modèle de Antia *et al.* — 2002

Le premier travail de modélisation portant sur la réponse programmée a été conduit en 2002 par Antia *et al.* [3, 4]. Le cœur de leur étude consiste à comprendre si, dès lors que les lymphocytes naïfs ont été activés, la dynamique de la réponse T-CD8 est entièrement

conditionnée ou si la présence d'agent pathogène est capable de l'influencer.

Les auteurs commencent par proposer un modèle dans lequel les quantités de lymphocytes naïfs (N) et d'agents pathogènes (P) sont chacune régulée par une équation différentielle ordinaire tandis qu'une équation aux dérivées partielles (EDP) linéaire décrit la densité $y(t, \tau)$ de lymphocytes d'âge $\tau \geq 0$, c'est à dire ayant été activés au temps $t - \tau$. Un lymphocyte activé est effecteur (E) jusqu'à un âge fixé τ^* , après lequel il devient mémoire (M). Seuls les lymphocytes effecteurs peuvent combattre le pathogène. Les paramètres de prolifération et de mort des lymphocytes dépendent explicitement de leur âge. Le modèle d'Antia *et al.*, illustré par la Figure 1.7, s'écrit alors :

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dP}{dt}(t) = rP(t) \left(1 - \frac{P(t)}{c} \right) - hP(t)E(t), \\ \frac{dN}{dt}(t) = -bN(t)P(t), \\ \frac{\partial y(t, \tau)}{\partial t} + \frac{\partial y(t, \tau)}{\partial \tau} = (\rho(\tau) - \delta(\tau))y(t, \tau), \end{array} \right. \quad (1.2)$$

avec la condition de bord $y(t, 0) = bN(t)P(t)$. Dans le Système (1.2), $E(t)$ désigne le nombre total de lymphocytes effecteurs, défini par l'intégrale

$$E(t) = \int_0^{\tau^*} y(t, \tau) d\tau.$$

Dans une seconde partie de leur étude, le paramètre de prolifération est rendu dépendant de la quantité d'antigène. Deux cas de figure sont envisagés : ou bien l'effet du pathogène sur la prolifération s'exerce sur tous les lymphocytes jusqu'à un temps fixé \tilde{t} représentant un signal extérieur (e.g. l'absence de cytokines) ; ou bien chaque lymphocyte voit sa prolifération stimulée par le pathogène jusqu'à un âge fixée $\tilde{\tau}$ (signal interne).

Les auteurs concluent que leur modèle explique mieux certaines propriétés qualitatives de la réponse T-CD8 observées *in vivo* lorsque la quantité de pathogène stimule la prolifération des lymphocytes T-CD8 à partir du début de l'infection et jusqu'au temps \tilde{t} , pour l'ensemble des lymphocytes, quel que soit leur âge. L'intérêt de la réponse programmée est discuté et les auteurs suggèrent que celle-ci permet d'éliminer plus efficacement l'infection en combattant l'agent pathogène avant que celui-ci n'ait le temps de se développer (cf. Section 1.1.3).

Grâce à la structuration en âge, ce modèle permet de retrouver l'effet de réponse

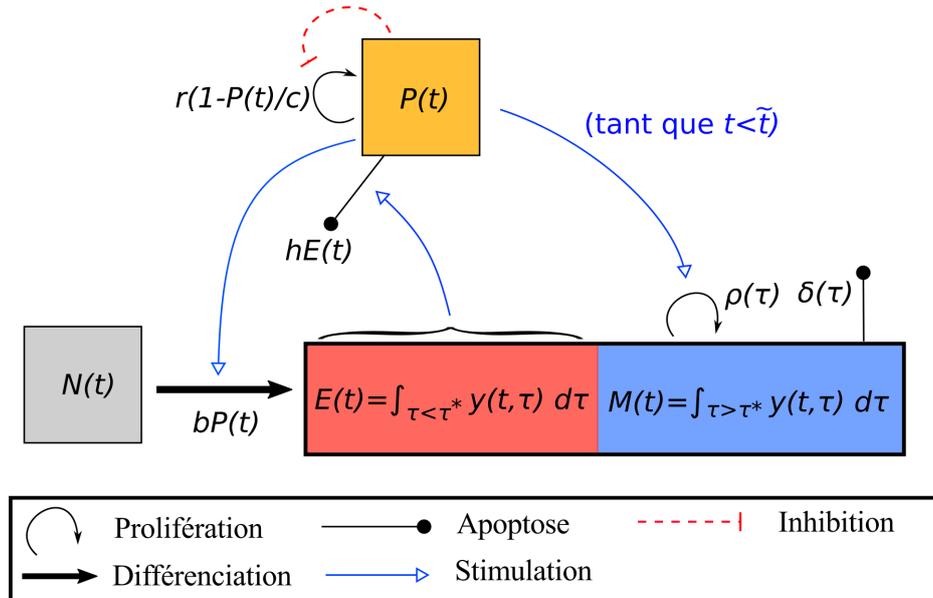


FIGURE 1.7: Illustration schématique du modèle de Antia *et al.* (2003) [3, 4]. La dynamique du nombre d'agents pathogènes (P) et de lymphocytes naïfs (N) ainsi que la dynamique de la densité de lymphocytes activés depuis un temps τ ($y(\cdot, \tau)$) sont déterminées par le Système (1.2). Les lymphocytes activés sont effecteurs jusqu'à l'âge τ^* puis mémoire. E et M correspondent respectivement aux nombres de lymphocytes effecteurs et mémoires.

programmée. Toutefois, l'existence des trois phases de la réponse programmée (expansion, contraction, mémoire) est relativement artificielle puisqu'elle découle immédiatement de l'évolution des paramètres de prolifération et de mort ρ et δ , définis explicitement comme des fonctions de l'âge d'un lymphocyte.

1.2.1.3 Modèle de Wodarz et Thomsen — 2005

Suite aux travaux de Antia *et al.* [3, 4], Wodarz et Thomsen [146] ont développé le second modèle de réponse programmée, entièrement à base d'EDO et illustré par la Figure 1.8. Dans un premier compartiment, dédié à l'infection de l'organisme, trois EDO modélisent la dynamique du nombre de cellules saines (S), infectées (I) et de virus libres (V). Dans un second compartiment, un système d'EDO modélise la dynamique d'une population de lymphocytes T-CD8. Les cellules infectées activent les lymphocytes naïfs et mémoires (regroupés en une seule variable N) et, dès lors, l'infection n'a plus aucun effet sur les stades ultérieurs de différenciation des lymphocytes. Suite à leur activation, les lymphocytes se divisent un nombre fixé m de fois, avec une durée de cycle constante. Au cours de ces m divisions, les lymphocytes ne peuvent ni mourir ni agir sur l'infection. Après

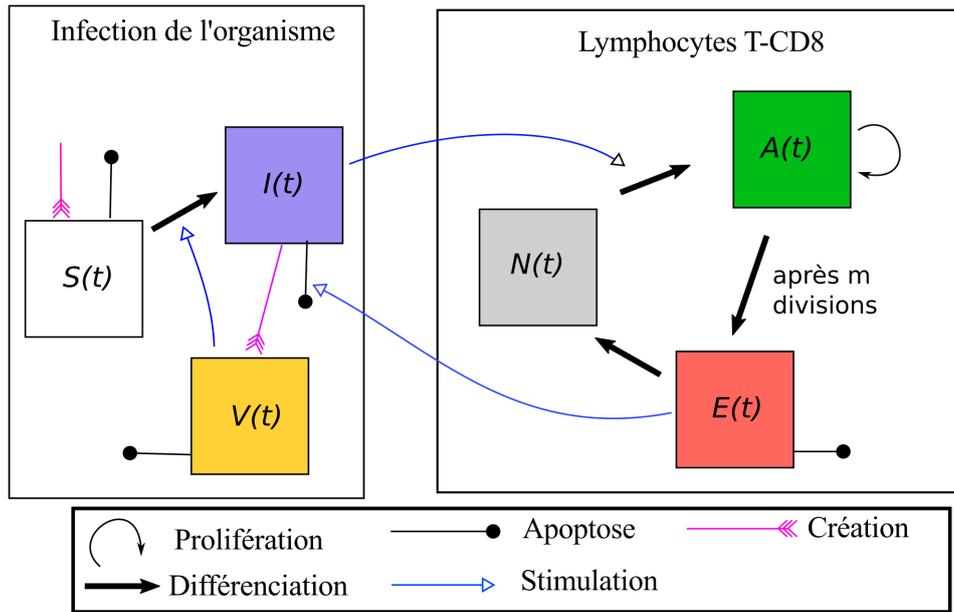


FIGURE 1.8: **Illustration schématique du modèle de Wodarz et Thomsen (2005) [146].** Un système d'EDO modélise la dynamique du nombre de lymphocytes naïfs, activés et effecteurs (N , A et E), du nombre de cellules de l'organisme saines et infectées (S , I) et du nombre de virus dans l'organisme (V).

m divisions, les lymphocytes deviennent effecteurs (E) et peuvent éliminer les cellules infectées. Ces lymphocytes effecteurs ne prolifèrent plus mais meurent ou se différencient en lymphocytes mémoires à taux constant. Les lymphocytes mémoires n'agissent plus sur l'infection mais peuvent à nouveau être activés.

L'effet de la variation de différents paramètres sur l'élimination de la charge virale est étudié. Comme dans [3, 4], les auteurs suggèrent que le phénomène de réponse programmée, parce qu'elle induit le développement d'une population de lymphocytes effecteurs importante même si la charge virale est basse, permet une élimination plus efficace de l'infection. Dans cette étude, l'accent est mis sur la description de l'infection et l'évolution de la population de lymphocytes au cours de la réponse n'est pas discutée.

1.2.1.4 Modèle de Kim *et al.* — 2009

Kim *et al.* [79] sont repartis de la base des travaux de Wodarz et Thomsen [146] et ont développé un modèle plus détaillé de la réponse programmée. Dans cette étude, les auteurs construisent un modèle à base d'équations différentielles à retard modélisant d'une part une population de CPA et d'autre part une population de lymphocytes T (sans distinction entre les différents types, tels que les CD4 et les CD8). Le contrôle de l'infection n'est pas

modélisé et les CPA sont régulées indépendamment des lymphocytes.

Comme dans le modèle de Wodarz et Thomsen [146], après avoir été activés par les CPA, les lymphocytes naïfs (N) se divisent m fois, avec une durée de cycle constante, indépendamment de l'infection et sans jamais mourir. Contrairement à ce qui est fait dans [146], suite à ces m divisions, un lymphocyte peut continuer à proliférer sous l'effet des CPA. Trois variantes du modèle sont alors considérées. Dans les deux premières, les CPA n'agissent sur le cycle cellulaire que pour un nombre de division n fixé ou pendant une durée τ fixée, après quoi les lymphocytes meurent. Dans la troisième variante, les CPA induisent l'entrée en division des lymphocytes un nombre quelconque de fois et ces derniers peuvent mourir ou se différencier en lymphocytes régulateurs. Les lymphocytes régulateurs ne prolifèrent plus mais ont la capacité de tuer les autres lymphocytes. Il y a donc un rétrocontrôle de la population de lymphocytes sur elle-même. Dans cette troisième version, illustrée par la Figure 1.9, le modèle de Kim *et al.* [79] s'écrit :

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dN}{dt}(t) = s_N - \delta_N N(t) - kC(t)N(t), \\ \frac{dE}{dt}(t) = 2^m kC(t - \sigma)N(t - \sigma) - kC(t)E(t) + 2kC(t - \rho)E(t - \rho) \\ \quad - rE(t) - (\delta_E + \mu T_{reg}R(t))E(t), \\ \frac{dT_{reg}}{dt}(t) = rE(t) - \delta_E T_{reg}(t). \end{array} \right. \quad (1.3)$$

Dans le Système (1.3), $C(t)$ désigne le nombre de CPA. Cette quantité est modélisée par un système de deux équations différentielles, indépendant de la population de lymphocytes. Le terme s_N correspond à une source de lymphocytes naïfs tandis que les paramètres δ_N et δ_E sont des taux de mort, et $kC(t)$ un taux d'entrée en division. Les m premières divisions des lymphocytes activés ne sont pas explicitement modélisées, et 2^m lymphocytes effecteurs (E) naissent après un délai σ , correspondant à la durée des m premières divisions. Les lymphocytes effecteurs continuent alors à proliférer, sous l'action des CPA, avec un taux d'entrée en cycle $kC(t)$ et une durée de cycle ρ . Les lymphocytes effecteurs se différencient en lymphocytes régulateurs (T_{reg}) avec un taux r qui éliminent à leur tour les lymphocytes effecteurs avec un taux μ .

En se basant sur une analyse qualitative du nombre de lymphocytes au cours de la réponse, les auteurs concluent que seule la prise en compte d'un rétrocontrôle de la

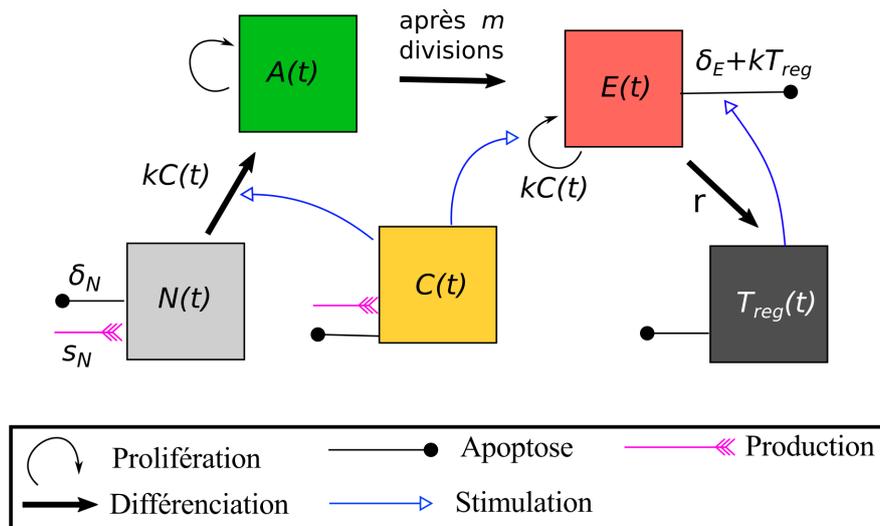


FIGURE 1.9: **Illustration schématique du modèle de Kim *et al.* (2009) [79].** La dynamique du nombre de lymphocytes naïfs, effecteurs et régulateurs (N , E et T_{reg}) est déterminée par le Système (1.3). Les lymphocytes naïfs sont activés par les CPA (C) puis se divisent m fois en un temps avant de devenir effecteurs. Le nombre de lymphocytes activés (A) n'est pas explicitement modélisé.

population de lymphocytes sur elle même permet d'expliquer certains aspects de la réponse *in vivo* et en particulier le fait que le nombre de lymphocytes générés au cours de la réponse ne croît pas linéairement avec le nombre de lymphocytes naïfs activés. En revanche la nature des lymphocytes régulateurs considérés ici demeure floue et rien ne semble justifier qu'ils n'apparaissent qu'après un certain nombre de divisions, au dernier maillon d'un schéma de différenciation linéaire. La différenciation en lymphocyte mémoire n'est pas modélisée. De plus, aucune comparaison avec des données expérimentales n'est proposée.

1.2.1.5 Modèle de Terry *et al.* — 2011

Terry *et al.* [138] se sont appuyés sur le modèle de Antia *et al.* [3, 4] pour proposer et analyser un modèle plus réaliste, illustré par la Figure 1.10. Comme dans le modèle de Antia *et al.* [3, 4], le nombre de lymphocytes naïfs (N) et d'agents pathogènes sont chacun décrits par une EDO et une équation aux dérivées partielles modélise la densité $y(t, \tau)$ de lymphocytes effecteurs d'âge τ . En revanche la différenciation du stade effecteur vers le stade mémoire (M) se produit avec un taux de différenciation dépendant de l'âge du lymphocyte, plutôt qu'une différenciation de tous les lymphocytes à un âge critique τ^* [3, 4]. Contrairement au modèle linéaire de Antia *et al.*, des rétrocontrôles entre les

différentes populations cellulaires sont ici considérés et modélisés par des interactions non linéaires. Les lymphocytes effecteurs sont notamment capables de s'éliminer entre eux pour contrôler leur propre expansion. Le modèle de Terry *et al.* [138] s'écrit de la façon suivante :

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dP}{dt}(t) = I(t) - (\mu_P + \mu_{PE}(E(t)))P(t), \\ \frac{dN}{dt}(t) = s_N - \mu_N N(t) - \beta(P(t))N(t), \\ \frac{\partial y(t, \tau)}{\partial t} + \frac{\partial y(t, \tau)}{\partial \tau} = [(\rho_E + \rho_{PE}(P(t))) - (\mu_E + \mu_{EE}(E(t))) - k(\tau)]y(t, \tau), \\ \frac{dM}{dt}(t) = \int_0^{\tau^*} k(\tau)y(t, \tau)d\tau - \mu_M M(t), \end{array} \right. \quad (1.4)$$

avec la condition de bord

$$y(t, 0) = \beta(P(t))N(t).$$

Les paramètres s_N et $I(t)$ sont des sources de lymphocytes naïfs et d'agents pathogènes, les paramètres associés à la lettre μ sont des taux de mort et $k(\tau)$ est le taux de différenciation d'un lymphocyte effecteur d'âge τ en lymphocyte mémoire. Les fonctions β , μ_{PE} , μ_{EE} et ρ_{PE} — correspondant respectivement à des taux d'activation, d'élimination des agents pathogènes, d'élimination des lymphocytes effecteurs et de prolifération des lymphocytes effecteurs sous l'action du pathogène — s'écrivent toutes trois sous la forme $f(x) = ax^b/(c+x^b)$, avec des paramètres a , b et c différents. Enfin, τ^* correspond à l'âge maximal que peut atteindre un lymphocyte effecteur, ce qui est assuré par la condition

$$\int_0^{\tau^*} k(\tau)d\tau = +\infty.$$

L'évolution du nombre total de lymphocytes T-CD8 dans ce modèle est confronté avec succès à des données *in vivo* (infection par le virus *lymphocytic choriomeningitis*). Le nombre de lymphocytes dans chaque stade de différenciation n'est étudié que qualitativement. La prolifération, la différenciation et la mort des lymphocytes effecteurs sont influencées par la présence d'agent pathogène mais n'en sont pas tributaires et, une fois les lymphocytes naïfs activés, ce modèle est capable de reproduire une réponse programmée. Remarquons que l'influence du pathogène sur la prolifération des lymphocytes effecteurs se maintient tout au long de la réponse, contrairement aux modèles de Antia *et al.* [3, 4]

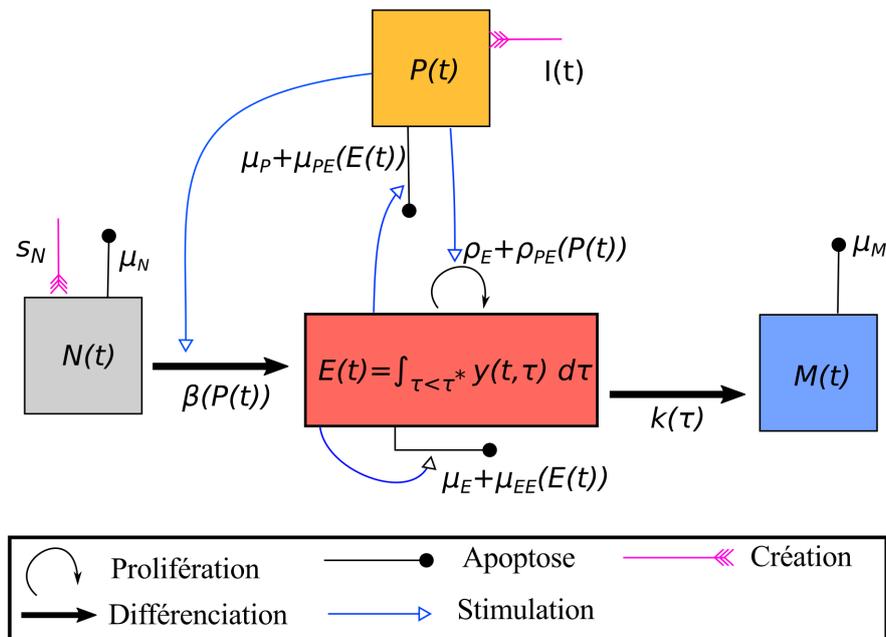


FIGURE 1.10: **Illustration schématique du modèle de Terry *et al.* (2011) [138].** La dynamique du nombre de lymphocytes naïfs et mémoires (N et M) et d'agents pathogènes P , ainsi que la dynamique de la densité de lymphocytes effecteurs d'âge τ ($y(\cdot, \tau)$) sont déterminées par le Système (1.4).

et de Kim *et al.* [79] dans lesquels le pathogène agit sur la prolifération des lymphocytes uniquement au début ou uniquement à la fin de la réponse. Il serait intéressant de confronter ces trois choix de modélisation à des données expérimentales pour en discuter la pertinence. Enfin, conformément à ce qu'ont préconisé Kim *et al.* [79], un rétrocontrôle de la population de lymphocytes sur elle-même permet de réguler l'expansion de cette population. Cette régulation se fait cette fois à travers les capacités cytotoxiques des lymphocytes effecteurs, une propriété bien référencée dans la littérature.

1.2.1.6 Modèle de Crauste *et al.* — 2015

En 2015, Crauste *et al.* [35] ont développé une version simplifiée du modèle de Terry *et al.* [138], illustrée par la Figure 1.11. La structuration en âge des lymphocytes effecteurs a notamment été abandonnée. Après cette simplification, le modèle de Crauste *et al.* [35] est un système de 4 EDO, modélisant respectivement la dynamique des quantités de pathogène (P) et de lymphocytes naïfs (N), effecteurs (E) et mémoires (M) et ne contenant plus que 9 paramètres :

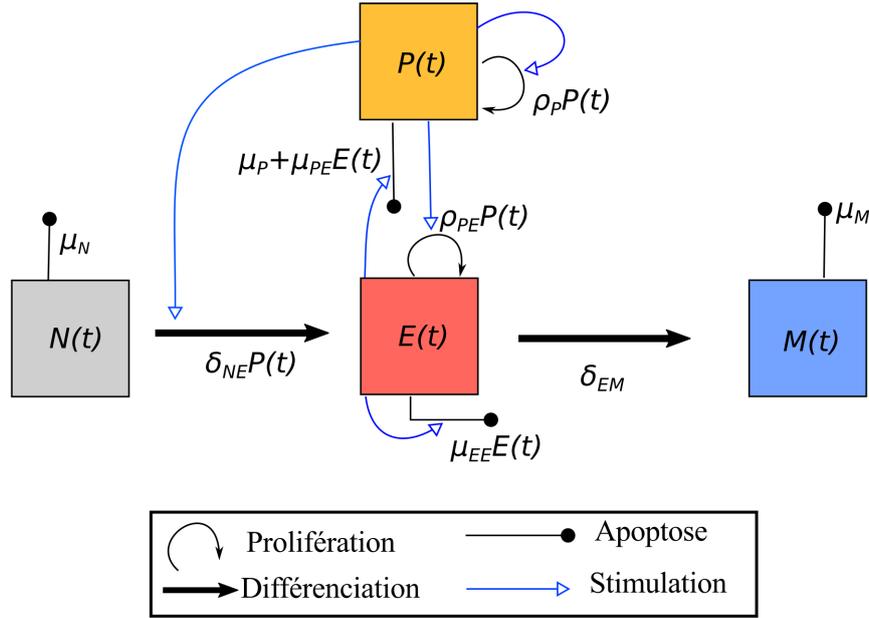


FIGURE 1.11: Illustration schématisée du modèle de Crauste *et al.* (2015) [35]. La dynamique du nombre de lymphocytes naïfs, effecteurs et mémoires (N , E et M) et d'agents pathogènes (P) est déterminée par le Système(1.5).

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dP}{dt}(t) = [\rho_P P(t) - \mu_P - \mu_{PE} E(t)] P(t), \\ \frac{dN}{dt}(t) = \mu_N N(t) - \delta_{NE} P(t) N(t), \\ \frac{dE}{dt}(t) = \delta_{NE} P(t) N(t) + [\rho_{PE} P(t) - \mu_{EE} E(t) - \delta_{EM}] E(t), \\ \frac{dM}{dt}(t) = \delta_{EM} E(t) - \mu_M M(t), \end{array} \right. \quad (1.5)$$

où les paramètres associés aux lettres ρ , μ et δ correspondent respectivement à des taux de prolifération, mortalité et différenciation.

Les auteurs se sont appliqués à identifier les effets de ces paramètres sur différents aspects de la réponse T-CD8, à estimer leur valeur et à déterminer si cette valeur est dépendante de la nature de l'antigène rencontré ou si elle est intrinsèque aux lymphocytes T-CD8. Pour cela, des données expérimentales de réponses primaires *in vivo* contre trois pathogènes intracellulaires différents (le virus de la grippe, celui de la vaccine et la bactérie *Listeria monocytogenes*) ont été générées. Les auteurs ont alors évalué la capacité de leur modèle à expliquer ces données, pour chacune de ces trois infections, en se basant uniquement sur l'évolution du nombre total de lymphocytes T-CD8. Leur étude suggère que la valeur de certains paramètres est très liée à la nature de l'infection (e.g.

le taux d'activation des lymphocytes naïfs), tandis que d'autres semblent en être presque indépendants, c'est notamment le cas du taux de différenciation du stade effecteur vers le stade mémoire, ou du taux de prolifération des lymphocytes effecteurs.

1.2.1.7 Modèle de Crauste *et al.* — 2017

Dans une étude publiée en 2017, Crauste *et al.* [34] se sont penchés sur l'identification du schéma de différenciation suivi par les lymphocytes T-CD8 au cours de la réponse primaire. Ils s'appuient pour cela sur l'identification de deux sous-populations de lymphocytes effecteurs : les effecteurs précoces et les effecteurs tardifs (Section 1.1.5.2). Dans cette étude, ils reprennent précisément la structure de leur précédent modèle [35] mais transforment l'EDO qui gouvernait l'évolution de la population de lymphocytes effecteurs en deux EDO associées respectivement aux lymphocytes effecteurs précoces (E) et tardifs (L). Les deux sous-populations expriment des capacités effectrices (capacité à tuer d'autres cellules effectrices et les agents pathogènes) mais seuls les lymphocytes effecteurs précoces prolifèrent (sous l'action de l'agent pathogène). Les lymphocytes naïfs et mémoires ne prolifèrent pas et n'ont pas de capacités cytotoxiques. Les paramètres associés à la mort, la prolifération, la cytotoxicité et la différenciation sont supposés différents pour chaque stade de différenciation.

Contrairement aux travaux présentés précédemment, les auteurs disposaient ici du nombre de lymphocytes dans chaque stade de différenciation, à différents temps d'une réponse T-CD8 contre le virus de la vaccine *in vivo*. Dans les données expérimentales, le stade de différenciation d'un lymphocyte est défini par les niveaux d'expression des protéines CD44, Bcl2 et Mki67 (Section 1.1.5.2). Dans le modèle mathématique, seule la dynamique à l'échelle cellulaire est décrite.

Les auteurs ont alors considéré tous les schémas de différenciation possibles, linéaires ou ramifiés, contenant ces quatre stades de différenciation (naïf, effecteur précoce, effecteur tardif et mémoire), le stade naïf étant toujours le stade initial. Formellement, un schéma de différenciation se traduit par des taux de différenciation nuls ou strictement positifs entre les différents stades de différenciation. Pour chaque schéma de différenciation, la capacité de leur modèle à reproduire les données *in vivo*, pour chaque stade de différenciation, a été évaluée. Les résultats de cette étude suggèrent que les lymphocytes T-CD8 traversent successivement les stades naïfs, effecteur précoce, effecteur tardif et mé-

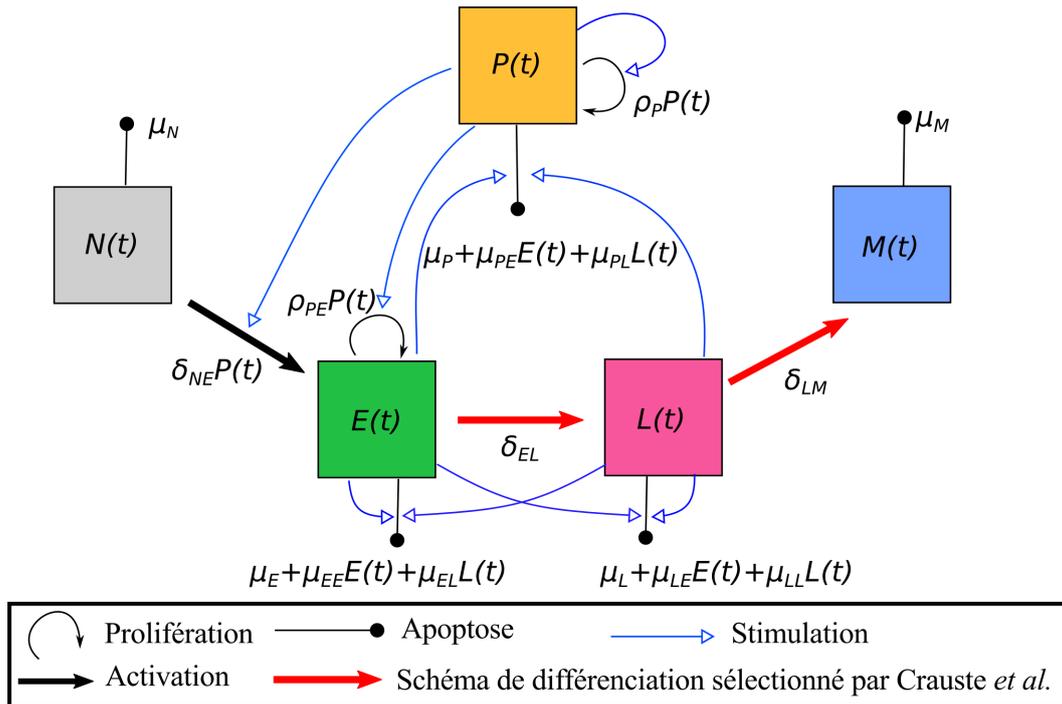


FIGURE 1.12: **Illustration schématique du modèle de Crauste *et al.* (2017) [34].** Parmi tous les schémas de différenciation possibles entre lymphocytes naïfs, effecteurs précoces, effecteurs tardifs et mémoires, le schéma N-E-L-M est le plus probable selon l'étude de Crauste *et al.* [34]. Les grandeurs décrites sont les quantités de lymphocytes naïfs (N), effecteurs précoces (E), effecteurs tardifs (L) et mémoires M , ainsi que la quantité d'agents pathogènes (P).

moire. Cette conclusion n'exclue pas l'hypothèse d'un schéma de différenciation ramifié tel que le schéma SLEC/MPEC, dont l'identification des sous-populations est basée sur des marqueurs différents (Section 1.1.5.1). La proportion de lymphocytes SLEC et MPEC au sein des lymphocytes effecteurs précoces et tardif est présentée et discutée.

Dans les modèles cellulaires présentés précédemment, tous les lymphocytes dans un même stade de différenciation ont exactement les mêmes propriétés. Ces modèles ne permettent donc pas de rendre compte de l'hétérogénéité des populations cellulaires. En particulier, l'origine moléculaire de ces propriétés et de cette hétérogénéité (Section 1.1.5) ne peut être décrite.

1.2.2 Modèles multiéchelles

Par définition, l'avantage des modèles multiéchelles de la réponse T-CD8 est de prendre en considération l'interdépendance des phénomènes se produisant à des échelles différentes : moléculaire, cellulaire, tissulaire, ou à l'échelle de l'organisme tout entier.

Il s'agit bien souvent de modèles à base d'agents, dans lesquels les lymphocytes T-CD8 sont décrits individuellement. Les modèles à base d'agents sont parfaitement adaptés à la description de l'hétérogénéité, des phénomènes stochastiques et des interactions cellulaires. Ils sont généralement fondés sur un formalisme très souple, permettant de définir à peu près n'importe quelle propriété, pour peu que celle-ci puisse être exprimée formellement. Cette complexité présente toutefois le défaut de prolonger les temps de calculs nécessaires à leur simulation numérique et de limiter la possibilité d'en effectuer une analyse mathématique.

Nous présenterons également le modèle de Barbaroux *et al.* [10, 11] qui propose une description entièrement à base d'équations différentielles de la réponse T-CD8 aux échelles moléculaire et cellulaire. Cette approche limite la description de la complexité biologique mais elle permet de réduire fortement les temps de calculs et d'augmenter la capacité d'analyse formelle.

1.2.2.1 Modèle de Chao *et al.* — 2004

Chao *et al.* [29, 30] ont développé un modèle computationnel de la réponse T-CD8. Un système de trois EDO modélise la quantité de particules virales, de cellules saines et de cellules infectées dans un organisme. D'autre part, une population discrète de lymphocytes T-CD8 naïfs, effecteurs et mémoires est décrite par un modèle à base d'agents relativement simple dans la mesure où les agents n'interagissent pas entre eux et ne prennent qu'un nombre fini d'états (stades de différenciation et progression du cycle cellulaire découpé en nombre fini de phases). Un pas de temps de durée Δt fixe est défini et, à chaque itération, les lymphocytes effecteurs peuvent éliminer les cellules infectées, se diviser, mourir ou se différencier en lymphocytes mémoires tandis que les cellules infectées peuvent activer les lymphocytes naïfs. De plus, pour introduire de la stochasticité, les paramètres des équations différentielles sont tirés aléatoirement, à chaque itération, selon des lois de probabilité *ad hoc*.

Ce modèle inclut de plus une description des complexes pCMH portés par les cellules

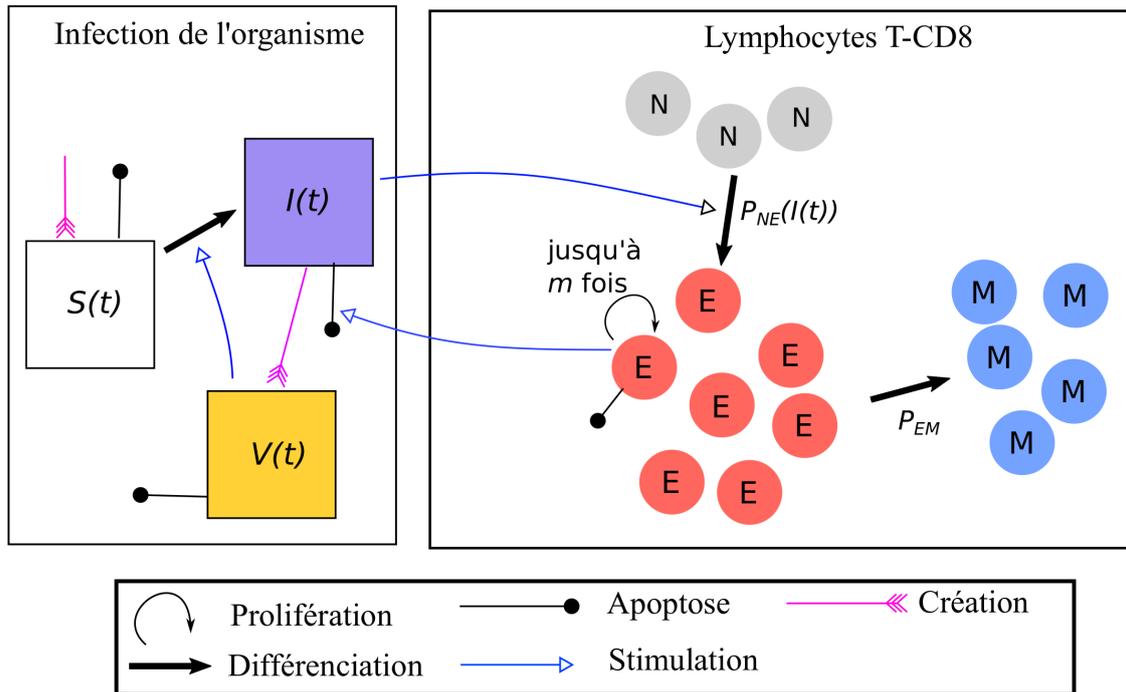


FIGURE 1.13: **Illustration schématique du modèle de Chao *et al.* (2004) [29, 30].** Les lymphocyte naïfs (N) sont individuellement activés selon une probabilité $P_{NE}(I)$ dépendant de leur affinité pour l'antigène et du nombre de cellules infectées. Les nombres de cellules saines (S), infectées (I) et de virus (V) sont modélisés par trois EDO. Les lymphocytes effecteurs (E) peuvent éliminer les cellules infectées. Chaque lymphocyte effecteur ne peut proliférer plus d'un nombre fixé de fois. Chaque lymphocytes effecteur tente, périodiquement, de se différencier en lymphocyte mémoire (M) avec une certaine probabilité P_{EM} .

infectées et des TCR portés par les lymphocytes T-CD8. Un complexe pCMH est défini comme un vecteur de 10 nombres entiers, représentant une séquence d'acides aminés. Les TCR sont définis de la même façon. L'affinité d'un TCR pour une forme donnée de pCMH est d'autant plus grande que la distance associée à la *norme 1*, ou distance de Manhattan ($d((x_1, \dots, x_n), (y_1, \dots, y_n)) := \sum_{i=1}^n |x_i - y_i|$), entre leurs vecteurs respectifs est faible. L'affinité du TCR pour un pCMH détermine le taux d'activation des lymphocytes naïfs. Le modèle de Chao *et al.* [30, 29] se situe à la frontière entre modèle cellulaire et modèle multiéchelles dans la mesure où le répertoire de TCR et de pCMH n'évolue pas au cours de la réponse T-CD8 et peut ainsi être vu comme une simple condition initiale, indépendante du reste du modèle.

La nature discrète de la population de lymphocytes permet de décrire plus finement leurs propriétés (nombre de divisions effectuées, affinité du TCR pour l'antigène). Le

phénomène de réponse programmée est reproduit par ce modèle grâce à un nombre de divisions limité des lymphocytes après leur activation. De plus, les règles appliquées aux cellules mémoires permettent de générer une réponse secondaire plus efficace que la réponse primaire. La complexité de ce modèle le rend difficilement analysable mathématiquement mais il prend en compte de façon précise la compétition entre cellules infectées et système immunitaire.

1.2.2.2 Travaux de Kirschner *et al.* — 2004-2014

L'équipe de D. Kirschner a produit de nombreux travaux dans le but de construire un modèle multiéchelle sophistiqué de la réponse T-CD8. Dans une première série de travaux [31, 45, 99, 121, 127], les auteurs se sont intéressés à l'action des lymphocytes T-CD8 et T-CD4 dans un organisme infecté par la tuberculose. Pour étudier ce phénomène, ils ont développé le premier modèle hybride et multi-organes [99] : un modèle à base d'agents décrit une population discrète de lymphocytes T (CD4 et CD8) et de différents types de CPA évoluant sur une grille en deux dimensions, correspondant au poumon, tandis que des ODE décrivent l'activation des lymphocytes naïfs et leur différenciation en lymphocytes effecteurs dans un ganglion lymphatique. Ces deux modèles communiquent afin que le niveau d'infection dans le poumon induise le recrutement de nouvelles CPA dans le ganglion tandis que les lymphocytes effecteurs du ganglion migrent vers le poumon pour combattre l'infection. Dans le modèle à base d'agents, un système d'EDO et d'EDP décrit la synthèse et la sécrétion de protéines par les lymphocytes. D'un point de vue applicatif, ce travail est assez éloigné de ceux présentés dans cette thèse car il ne porte ni sur les différentes phases de la réponse T-CD8, ni sur les processus de différenciation, la différenciation en lymphocyte mémoire n'y est d'ailleurs pas considérée. En revanche, le formalisme du modèle à base d'agents employé pour le poumon est le plus proche de celui que nous emploierons dans la Partie II.

Une deuxième série de travaux [56, 57, 81, 89, 122], basée sur la précédente, vise à étudier davantage les différentes phases de la réponse T-CD8 et les différents stades de différenciation des lymphocytes. Les premières études de cette série se concentrent sur la modélisation de l'activation des lymphocytes naïfs par les CPA, dans un ganglion lymphatique, à travers le développement du modèle à base d'agents *LymphSim*. Ces études montrent notamment que pour optimiser l'activation des lymphocytes naïfs, un déplace-

ment aléatoire des lymphocytes naïfs est plus efficace qu'un déplacement guidé par des protéines sécrétées par les CPA.

L'étude la plus récente est celle de Gong *et al.* [56], publiée en 2014. Les auteurs y proposent un modèle hybride et multi-organes, illustré par la Figure 1.14, décrivant une réponse T-CD8 complète. Le modèle à base d'agents *LymphSim* est utilisé pour décrire un ganglion lymphatique en deux dimensions dans lequel évoluent des populations discrètes de lymphocytes T-CD4 et T-CD8 ainsi que de CPA. La rencontre d'une CPA et d'un lymphocyte naïf induit l'activation de ce dernier. Chaque CPA est capable de délivrer un signal d'activation dont l'intensité dépend du nombre de pCMH sur sa membrane, ceux-ci n'étant pas explicitement modélisés. Les lymphocytes activés se différencient en lymphocytes effecteurs ou mémoires selon des règles stochastiques basées sur l'intensité du signal reçu lors de leur activation. Parallèlement, un système d'équations différentielles décrit le nombre de lymphocytes T-CD4 et T-CD8 circulant dans le sang. Ces deux compartiments sont couplés afin que les lymphocytes effecteurs produits dans le ganglion puisse migrer vers le site de l'infection, qui n'est pas modélisé explicitement mais remplacé par un terme puits dans les EDO, par lequel ces cellules sont retirées du modèle.

Ce modèle se révèle capable de simuler des réponses T-CD8 primaire et secondaire qualitativement cohérentes, en tenant compte du phénomène de réponse programmée. Il permet de s'intéresser aux conséquences d'une variation du contexte d'activation des lymphocytes naïfs (nombre de pCMH à la surface des APC, temps de présence des CPA dans le ganglion) sur la taille et la composition de la population de lymphocyte générée lors de la réponse.

Toutefois, il ne permet pas d'étudier les causes de la différenciation cellulaire, de l'émergence d'hétérogénéité ou de la succession des différentes phases de la réponse T-CD8 puisque, dans ce modèle, ces phénomènes résultent principalement de règles de probabilité abstraites ou de règles imposées aux lymphocytes (nombre de division limité pour les lymphocytes effecteurs, taux de survie définis par le stade de différenciation...). Les auteurs soulignent le besoin, et annoncent leur intention, d'introduire dans un travail ultérieur une modélisation des mécanismes moléculaires régissant les propriétés des lymphocytes. Ce projet de modélisation multiéchelle de la réponse T-CD8 est ambitieux mais il est donc, pour l'heure, encore incomplet.

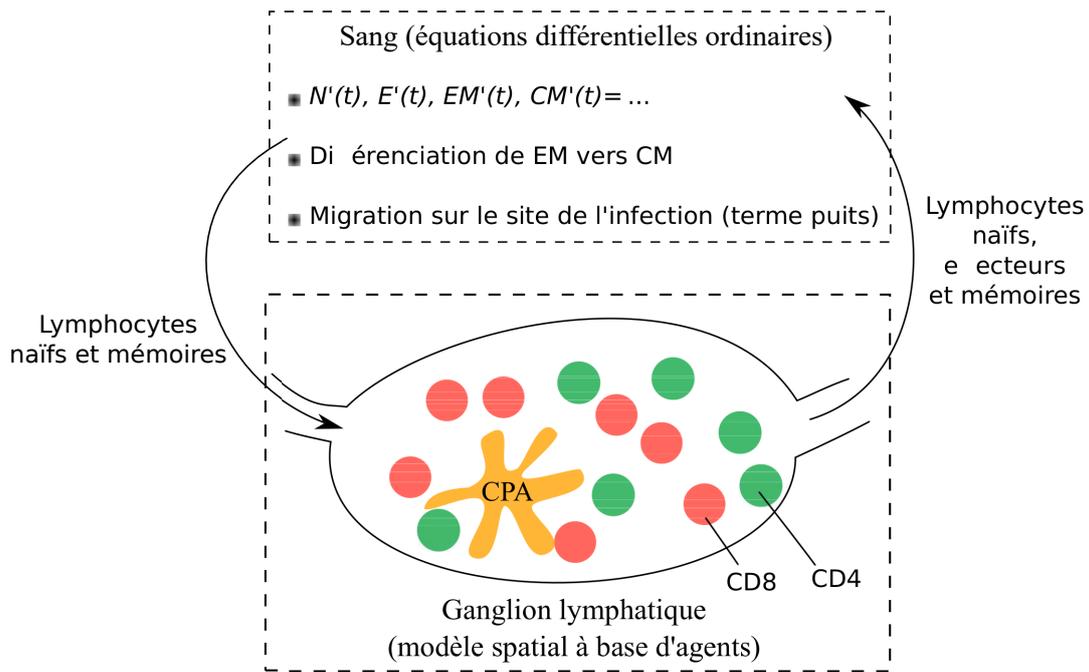


FIGURE 1.14: **Illustration schématique du modèle de Gong *et al.* (2014) [56].** CPA, lymphocytes T-CD4 et T-CD8 dans un ganglion lymphatique sont modélisés spatialement par un modèle à base d'agents. Les CPA transmettent aux lymphocytes naïfs, par contact, un signal d'activation. La différenciation des lymphocytes dans le ganglion à travers 4 stades de différenciation (activé, effecteur, *effector memory* et *central memory*) est déterminée par des probabilités de transition basées sur l'intensité de ce signal. Les lymphocytes naïfs, effecteurs et mémoires peuvent quitter le ganglion et rejoindre le sang, dans lequel leurs quantités respectives (N , E , EM et CM) évoluent selon un système d'EDO. Dans le sang, les lymphocytes ne prolifèrent plus mais les *effector memory* peuvent se différencier en *central memory* ou migrer vers le site de l'infection, ils sont alors retirés du modèle. Les lymphocytes mémoires ou naïfs circulant dans le sang peuvent regagner le ganglion lymphatique.

1.2.2.3 Modèles de Prokopiou, Gao *et al.* — 2014-2016

Le travail présenté dans la Partie II se fonde sur celui initié par Prokopiou *et al.* [116] puis poursuivi par Gao *et al.* [51]. Une description détaillée du formalisme utilisé dans [51, 116] — schématisé par la Figure 1.15 — sera présentée dans la Partie II.

Dans [51, 116], les auteurs présentent un modèle hybride et multiéchelle de l'initialisation de la réponse T-CD8. Il s'agit d'un modèle à base d'agents, dit *de Potts cellulaire* [58], dans lequel chaque agent (lymphocyte T-CD8 ou CPA) est défini comme un ensemble connexe de pixels et évolue sur une grille en deux dimensions. Ce formalisme permet de définir des règles complexes quant au déplacement des cellules et à leurs interactions avec leur environnement. Par ailleurs, un réseau de régulation moléculaire contenant sept protéines a été traduit en un système d'EDO, modélisant la concentration de ces protéines

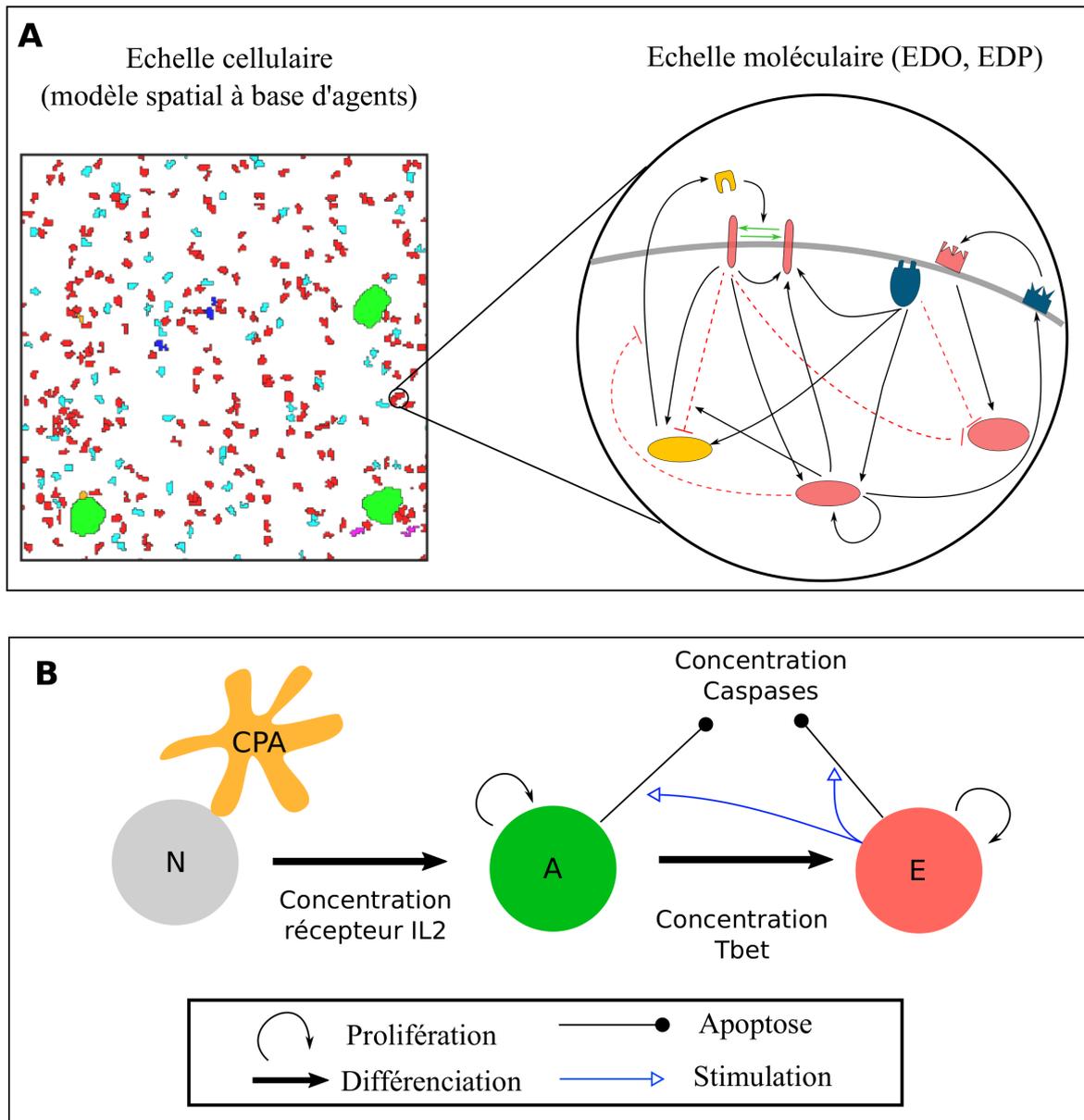


FIGURE 1.15: Illustration schématique du modèle de Prokopiou *et al.* (2014) [116] et Gao *et al.* (2016) [51]. A) À l'échelle cellulaire : un modèle à base d'agents décrit une population de lymphocytes T-CD8 naïfs, activés et effecteurs (petites cellules, le code couleur correspondant aux stades de différenciation) et de CPA (grosses cellules vertes). À l'échelle moléculaire : un réseau de régulation moléculaire est modélisé par un système d'EDO décrivant les concentrations de cinq protéines dans chaque lymphocyte ; une EDP modélise la sécrétion de la protéine IL2 par les lymphocyte et sa diffusion sur le domaine. B) La population initiale est composée de lymphocytes naïfs (N). La mort d'un lymphocyte et sa différenciation à travers les états activé (A) et effecteur (E) surviennent lorsque les concentrations de protéines clés (récepteurs à IL2, Tbet, Caspases) dans ce lymphocyte franchissent certaines valeurs de seuil. Les lymphocytes activés et effecteurs prolifèrent mais seuls les lymphocytes effecteurs expriment des propriétés cytotoxiques.

par un lymphocyte T-CD8, ainsi qu'en une EDP modélisant la sécrétion de la protéine IL2 par les lymphocytes T-CD8 et sa diffusion sur le domaine. Ce système d'EDO est implémenté dans chaque lymphocyte T-CD8 et son évolution détermine la mort, la cytotoxicité et la différenciation du lymphocyte. Réciproquement, certains paramètres de ces EDO voient leur valeur évoluer en fonction des interactions du lymphocyte avec son environnement. Les échelles cellulaire et moléculaire sont donc interdépendantes.

Dans [51, 116], les CPA activent les lymphocytes naïfs qui se différencient ensuite en lymphocytes activés (non cytotoxiques) puis effecteurs (cytotoxiques). La concentration moyenne de certaines protéines au sein de la population de lymphocytes ainsi que la taille de cette population (indépendamment des stades de différenciation) à différents instants de la réponse sont comparés à des données expérimentales. De plus, ces résultats demeurent robustes lorsque différentes conditions d'activation des lymphocytes naïfs sont envisagées (faible stimulation antigénique et apport extérieur d'IL2). En revanche, la différenciation des lymphocytes s'arrête au stade effecteur et seuls les premiers instants de la phase d'expansion sont considérés (jusqu'à 2 jours après activation).

1.2.2.4 Modèle de Bouchnita *et al.* — 2017

Le modèle publié en 2017 par Bouchnita *et al.* [19] est d'un formalisme intermédiaire entre celui des modèles de Prokopiou *et al.* [116] et Gao *et al.* [51] (Section 1.2.2.3) et celui du modèle de Gong *et al.* [56] (Section 1.2.2.2).

Une population discrète de lymphocytes (T-CD8 et T-CD4) et de CPA évolue dans un espace en deux dimensions représentant un ganglion lymphatique. Deux EDP modélisent la diffusion des protéines IL2 et IFN de type I, respectivement sécrétées par l'ensemble des lymphocytes T-CD4 et par l'ensemble des CPA (à un taux constant et identique pour chaque cellule). La concentration d'IL2 et d'IFN dans l'environnement d'un lymphocyte T-CD8 détermine sa division ou sa mort. Les lymphocytes T-CD8 peuvent sortir du ganglion lymphatique et migrer vers le site de l'infection. Un système de deux EDO décrit le nombre de lymphocytes T-CD8 présents sur le site de l'infection ainsi que le nombre de cellules infectées. Il n'y a cependant aucun transit du site de l'infection vers le ganglion.

Il s'agit, sur la forme, d'un modèle assez semblable à celui présenté dans [51, 116]. Toutefois, ici la production de protéines est identique dans toutes les cellules du même type (CD4, CD8 ou CPA) et aucune comparaison quantitative ou qualitative entre le

modèle et des données expérimentales n'est proposée. La différenciation en lymphocytes mémoires n'est pas considérée et les différentes phases de la réponse T-CD8 ne sont pas discutées, bien que les simulations se prolongent sur plus de 100 jours après l'infection. En revanche, les auteurs discutent l'influence d'une variation des coefficients de diffusion de l'IL2 et de l'IFN sur l'organisation spatiale de la population de lymphocytes.

1.2.2.5 Modèle de Barbarroux *et al.* — 2016

Inspirés par les modèles de différenciation des lymphocytes T-CD4 proposés par Friedman *et al.* [49, 50], Barbarroux *et al.* ont développé un modèle continu, couplant échelle cellulaire et échelle moléculaire, de la réponse T-CD8 primaire et secondaire [10, 11].

Les protéines Ki67 et Bcl2 sont respectivement associées à la prolifération et à la survie et permettent de définir des sous-populations pertinentes de lymphocytes T-CD8 (cf. Section 1.1.5.2). Barbarroux *et al.* commencent par définir un modèle uniquement moléculaire, décrivant l'évolution des concentrations respectives μ_1 et μ_2 de Ki67 et Bcl2 dans un lymphocyte T-CD8 à l'aide d'un système de deux EDOs de la forme

$$\begin{cases} \frac{d\mu_1}{dt}(t) = v_1(\mu_1(t), P(t)), \\ \frac{d\mu_2}{dt}(t) = v_2(\mu_1(t), \mu_2(t), P(t)), \end{cases} \quad (1.6)$$

où $P(t)$ indique la quantité de CPA au temps t , convergeant en décroissant vers 0. La forme des fonctions v_1 et v_2 est établie selon un réseau de régulation moléculaire basé sur la littérature en immunologie. En accord avec la classification introduite en Section 1.1.5.2, deux seuils α et β permettent de définir les stades de différenciation suivants : activé si $\mu_1 > \alpha$ et $\mu_2 > \beta$; effecteur précoce si $\mu_1 > \alpha$ et $\mu_2 < \beta$; effecteur tardif si $\mu_1 < \alpha$ et $\mu_2 < \beta$; mémoire si $\mu_1 < \alpha$ et $\mu_2 > \beta$.

La densité $\rho(t, \mu_1, \mu_2)$ de lymphocytes T-CD8 exprimant, au temps t , les concentrations μ_1 et μ_2 de Ki67 et Bcl2 — illustrée sur la Figure 1.16 — évolue selon l'EDP suivante

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \frac{\partial v_1 \rho}{\partial \mu_1} + \frac{\partial v_2 \rho}{\partial \mu_2} = \rho F(\mu_1, \mu_2, E(t), P(t)) + f_s(\mu_1, \mu_2, N(t), P(t)), \quad (1.7)$$

dans laquelle $E(t)$ désigne le nombre de lymphocytes effecteurs (précoce et tardifs) et $N(t)$

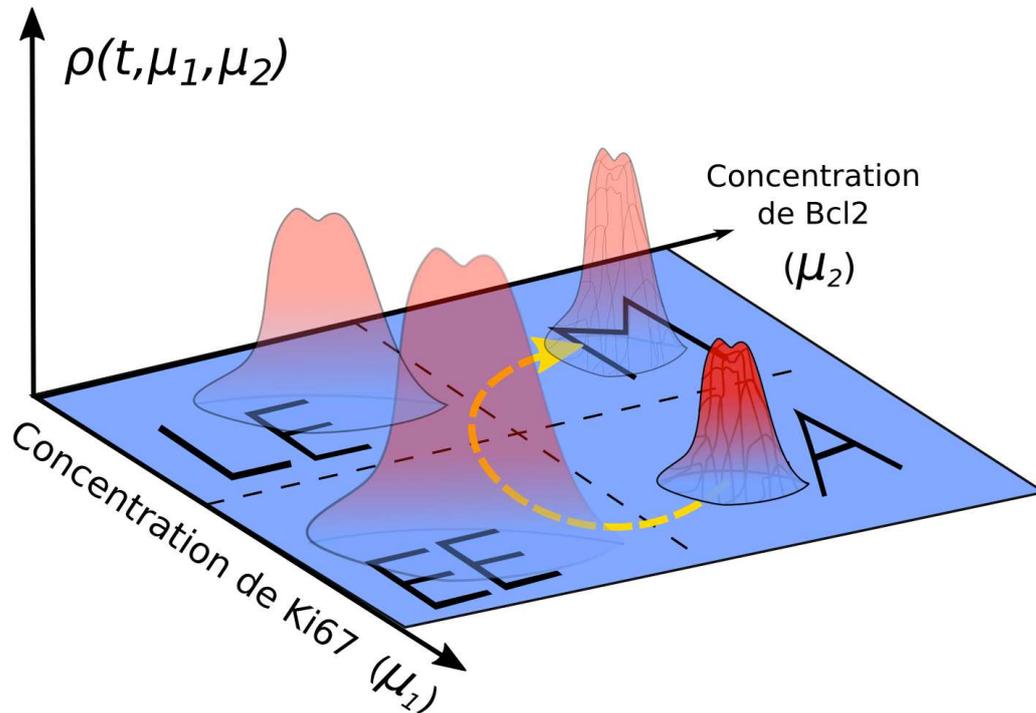


FIGURE 1.16: **Illustration schématique du modèle de Barbarroux *et al.* (2016) [10, 11].** L'évolution de la densité $\rho(t, \mu_1, \mu_2)$ de lymphocytes exprimant les concentrations μ_1 et μ_2 de Ki67 et de Bcl2, respectivement, est déterminée par l'EDP (1.7). Lorsque les lymphocytes naïfs sont activés, des lymphocytes dont le contenu moléculaire correspond au stade activé (A) sont générés. Au cours d'une réponse immunitaire *in silico*, la densité $\rho(t, \mu_1, \mu_2)$ traverse successivement les états activé (A), *early effector* (EE), *late effector* (LE) puis mémoire (M).

le nombre de lymphocytes naïfs. L'évolution du nombre de lymphocytes naïfs est modélisé par une EDO et suite à leur activation les lymphocytes naïfs héritent de concentrations (μ_1, μ_2) selon une densité de probabilité uniforme sur un ensemble de valeurs inclus dans l'espace correspondant au stade activé. La fonction F permet de modéliser la prolifération et la mort des lymphocytes T-CD8. La fonction f_s décrit l'activation des lymphocytes naïfs.

Dans un second temps, les auteurs améliorent leur modèle en introduisant un retard τ dans l'équation sur μ_1 , qui s'écrit alors $\mu_1'(t) = v_1(\mu_1(t), \mu_1(t - \tau), P(t))$. Ce retard modélise le fait que l'une des voies moléculaires régulant l'expression de Ki67 nécessite davantage de temps pour agir. L'existence d'une densité continue, solution de l'EDP (1.7) n'est alors plus garantie et les auteurs contournent cette difficulté en définissant une ingénieuse densité discrète.

Les temps de calculs que requiert la simulation numérique de ce modèle sont très

courts en comparaison de ceux nécessaires à la simulation d'un modèle à base d'agents. De plus, ce modèle peut être analysé formellement et les auteurs montrent ainsi l'existence et la stabilité d'une solution positive puis étudient sa convergence asymptotique vers un équilibre stable (pour le modèle sans retard) ou vers un cycle limite (pour le modèle avec retard).

Finalement, au cours de la réponse primaire *in silico*, les lymphocytes activés se différencient en lymphocytes effecteurs précoces, puis tardifs, puis mémoires — conformément au schéma sélectionné dans [34]. Le nombre total de lymphocytes T-CD8 (tous stades de différenciation confondus) reproduit qualitativement la dynamique observée dans les données expérimentales fournies dans [108] (infection par le virus *lymphocytic choriomeningitis*). De plus, la réintroduction de CPA en phase mémoire induit l'activation des lymphocytes mémoires et une réponse secondaire qualitativement cohérente.

1.2.3 Modèles mathématiques de partage moléculaire

Dans ce manuscrit, nous nous intéresserons à l'effet du partage inégal des protéines lors des divisions cellulaires (cf. Section 1.1.6) sur l'hétérogénéité moléculaire au sein d'une population de lymphocytes T-CD8. Les conséquences de ce phénomène sont difficiles à étudier *in vivo* ou *in vitro*, et les modèles mathématiques appliqués à ce problème sont rares.

1.2.3.1 Modèles de Mantzaris — 2006-2007

Dans ses travaux [97, 98], Mantzaris considère une population de cellules (il ne s'agit pas nécessairement de lymphocytes) où chaque cellule est caractérisée par la quantité y d'une molécule quelconque (ARNm ou protéine) qu'elle contient. Il propose alors deux approches différentes : l'une décrivant une population continue, l'autre décrivant une population discrète. Le modèle discret permet de prendre en compte la part aléatoire de certains phénomènes (durée des cycles cellulaires, répartition du contenu moléculaire) tandis que la version continue, plus rapide à simuler, propose une approximation déterministe du modèle discret.

Le modèle continu consiste à décrire la densité $F(t, y)$ de cellules ayant un contenu

intracellulaire y au temps t à l'aide de l'EDP

$$\begin{cases} \frac{\partial F(t, y)}{\partial t} + \frac{\partial}{\partial y}[r(y)F(t, y)] = -\gamma(y)F(t, y) + 2 \int_y^{y_{\max}} \gamma(x)P(y, x)F(t, x)dx, \\ r(0)F(t, 0) = r(y_{\max})F(t, y_{\max}). \end{cases} \quad (1.8)$$

Une cellule de contenu intracellulaire y se divise avec un taux $\gamma(y)$ et synthétise/dégrade la molécule considérée avec un taux $r(y)$. Enfin, $P(y, x)$ est la densité de probabilité qu'une cellule de contenu intracellulaire x donne naissance en se divisant à une cellule fille de contenu y et une cellule fille de contenu $x - y$. Le coefficient 2 devant l'intégrale est dû au fait qu'une cellule mère donne naissance à deux cellules filles et que $P(y, x) = P(x - y, x)$.

Dans le modèle discret (voir Figure 1.17), le contenu intracellulaire de chaque cellule est modélisé. Les divisions ont lieu à des temps discrets, déterminés aléatoirement. Lorsqu'une cellule se divise, deux cellules filles sont créées, la cellule mère est éliminée et son contenu moléculaire est partagé aléatoirement selon la densité P . Entre deux divisions, le contenu moléculaire évolue de façon déterministe selon l'équation $y' = r(y)$ dans [97], et selon une équation différentielle stochastique (équation de Langevin) dans [98]. L'équation de Langevin utilisée dans [98] permet de modéliser la stochasticité des réactions intracellulaires due notamment au faible nombre de molécules. Cette équation converge vers l'équation déterministe $y' = r(y)$ lorsque le taux de fluctuation et le nombre de molécules divergent vers l'infini.

Dans ces deux études [97, 98], Mantzaris considère différentes formes pour les fonctions r et P . Aucune analyse formelle n'est proposée mais l'auteur observe que l'hétérogénéité moléculaire converge vers un profil stationnaire, c'est à dire que la densité $f(t, y) = F(t, y)/m(t)$, où m est le nombre total de cellules, converge vers une densité limite lorsque t tends vers l'infini. Sans surprise, le modèle discret et le modèle continu fournissent des résultats très similaires lorsque le nombre de cellules est élevé et la stochasticité faible. L'influence du niveau de stochasticité sur l'évolution des contenus moléculaires observés au sein d'une population cellulaire est illustrée par des simulations numériques. Les conclusions de ces travaux demeurent principalement empiriques mais l'application et le formalisme du modèle discret sont très proches de l'étude que nous présenterons au Chapitre I.

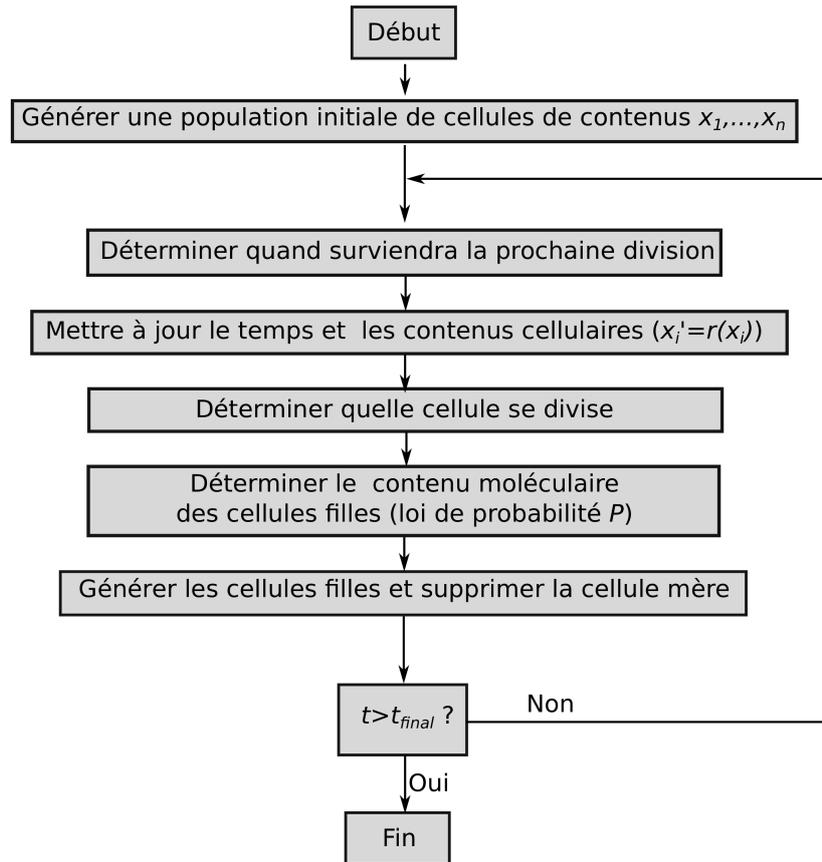


FIGURE 1.17: **Représentation algorithmique du modèle discret de Mantzaris (2006-2007)** [97, 98]. À chaque itération, la prochaine cellule à se diviser, le temps de la division et le contenu moléculaire des cellules filles est déterminé aléatoirement. L'évolution de la concentration x entre deux division est déterministe dans [97] et stochastique dans [98]

1.2.3.2 Modèle de Luzyanina *et al.* — 2013

Le CFSE est un colorant intracellulaire, non toxique pour les lymphocytes T-CD8, utilisé pour étudier la prolifération de ces derniers : en observant le niveau de fluorescence d'un lymphocyte, on peut estimer le nombre de divisions qu'il a connu depuis l'introduction du colorant, le CFSE étant partagé entre les deux cellules filles à chaque division [16]. En 2013, Luzyanina *et al.* [95] ont proposé un modèle mathématique décrivant la prolifération d'une population de lymphocytes T-CD8 en tenant compte du partage inégal du CFSE lors des divisions cellulaires.

Ce modèle, illustré par la Figure 1.18, s'écrit comme un système d'EDP décrivant la densité $n_i(t, x)$ de lymphocytes T-CD8 ayant connu i divisions et contenant une quantité x de CFSE au temps t . La génération i se décompose ainsi entre lymphocytes au repos ou en cycle, soit $n_i(t, x) = n_i^r(t, x) + n_i^c(t, x)$. Après s'être divisé pour la i -ème fois, un

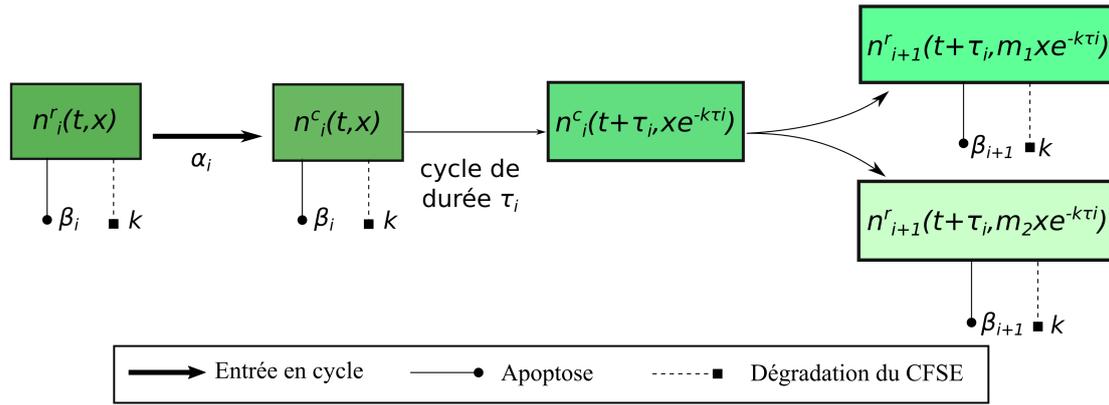


FIGURE 1.18: **Illustration schématique du modèle de Luzyanina *et al.* (2013) [95].** L'évolution des densités de lymphocytes de i -ème génération, contenant une quantité x de CFSE, en phase de repos ($n_i^r(\cdot, x)$) en cycle ($n_i^c(\cdot, x)$) est déterminée par le Système (1.9). Lorsqu'un lymphocyte de i -ème génération entre en cycle, il se divise après un temps τ_i durant lequel le CFSE qu'il contient se dégrade selon l'équation $x'(t) = -kx(t)$. Suite à la division, le contenu $\tilde{x} = xe^{-k\tau_i}$ de la cellule mère est partagé en deux lots de $m_1\tilde{x}$ et $m_2\tilde{x} = (1 - m_1)\tilde{x}$ et les deux cellules filles entrent en phase de repos. Le coefficient m_1 est le même à chaque division. La couleur des compartiment est associée, de façon indicative, à l'affaiblissement de la fluorescence.

lymphocyte entre dans une phase de repos puis démarre, avec un taux α_{i+1} , un nouveau cycle cellulaire de durée τ_{i+1} . Si un lymphocyte de contenu intracellulaire x se divise, il donne naissance à deux lymphocytes de contenus intracellulaires respectifs $y = m_1x$ et $m_2x = (1 - m_1)x$, où $m_1 \in]0, 1[$ est fixé. En particulier, le partage moléculaire est symétrique à chaque division si $m_1 = 1/2$. Les lymphocytes au repos de la génération i meurent avec un taux β_i . Dans l'ensemble des lymphocytes, le CFSE se dégrade avec un taux constant k . Le modèle de Luzyanina *et al.* [95] s'écrit alors, pour $i \geq 1$:

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{\partial n_0(t, x)}{\partial t} - k \frac{\partial x n_0(t, x)}{\partial x} = -(\alpha_0 + \beta_0) n_0^r(t, x), \\ \frac{\partial n_i^r(t, x)}{\partial t} - k \frac{\partial x n_i^r(t, x)}{\partial x} = -(\alpha_i + \beta_i) n_i^r(t, x) + \alpha_{i-1} \sum_{j=1}^2 \frac{1}{m_j} n_{i-1}^r \left(t - \tau_{i-1}, e^{k\tau_{i-1}} \frac{x}{m_j} \right), \\ \frac{\partial n_{i-1}^c(t, x)}{\partial t} - k \frac{\partial x n_{i-1}^c(t, x)}{\partial x} = \alpha_{i-1} (n_{i-1}^r(t, x) - e^{k\tau_{i-1}} n_{i-1}^r(t - \tau_{i-1}, e^{k\tau_{i-1}} x)). \end{array} \right. \quad (1.9)$$

L'étude de Luzyanina *et al.* [95] présente deux différences notables par rapport aux travaux de Mantzaris [97, 98] et à ceux que nous présenterons dans la Partie I. Premièrement, le CFSE n'est pas une protéine synthétisée par les lymphocytes T-CD8, il est introduit artificiellement à l'initialisation puis ne fait que se dégrader. Deuxièmement, le modèle de Luzyanina *et al.* est confronté à des données expérimentales *in vitro*, per-

mettant ainsi d'estimer de nombreux paramètres physiologiques (taux de dégradation du CFSE, de prolifération...).

Cette étude appuie l'hypothèse d'un partage inégal des protéines lors de la division cellulaire puisque les données expérimentales sont beaucoup mieux expliquées par le modèle lorsque le partage du CFSE est inégal.

1.2.4 Conclusion

Les modèles de la réponse T-CD8 présentés dans cet état de l'art ont permis de questionner, ou de proposer différentes hypothèses quant au schéma de différenciation suivi par les lymphocytes T-CD8 et quant à la façon dont celui-ci est affecté, par exemple, par la présence d'agents pathogènes, par l'affinité des lymphocytes pour l'antigène qui leur est présenté ou par la présence de certaines protéines dans leur environnement au cours de la réponse.

Dans la plupart de ces modèles, les propriétés des lymphocytes (prolifération, différenciation, mort) sont décrites par des taux (modèles continus), ou par des probabilités de transitions (modèles discrets) dont la valeur repose sur la présence d'agents pathogènes, le stade de différenciation ou encore sur des fonctions explicites du temps. Ce n'est pas le cas des modèles de Prokopiou *et al.* [116], Gao *et al.* [51] et Barbaroux *et al.* [10, 11], dans lesquels les lymphocytes changent de propriété en fonction de leur contenu moléculaire.

Par ailleurs, dans la quasi-totalité de ces modèles, tous les lymphocytes suivent le même schéma de différenciation linéaire et développent les mêmes propriétés. Le modèle de Gong *et al.* [56] fait figure d'exception puisque la différenciation des lymphocytes activés en lymphocytes effecteurs ou mémoires est conditionnée au signal reçu lors de leur activation. Suite à leur activation, les lymphocytes héritent donc de destins hétérogènes ; cette hétérogénéité est générée lors de la présentation de l'antigène aux lymphocytes naïfs mais n'évolue plus par la suite.

Les travaux de Mantzaris [97, 98] et de Luzyanina *et al.* [95] portent justement sur l'émergence d'hétérogénéité au sein d'une population de lymphocytes. Ces modèles ont permis de mettre en évidence le rôle du partage inégal des protéines lors de la division cellulaire sur la propagation de l'hétérogénéité moléculaire observée expérimentalement. Toutefois, ces modèles ne sont pas appliqués au cas de la réponse T-CD8 et demeurent trop complexes pour en permettre une analyse formelle.

Remarquons que dans la quasi-totalité des études exposées dans cet état de l'art, soit les résultats du modèle ne sont pas comparés à des données réelles, soit ils le sont uniquement au niveau du nombre total de lymphocytes T-CD8 (tous stades de différenciation confondus). L'unique modèle à avoir été confronté à des données expérimentales pour chaque stade de différenciation est celui de Crauste *et al.* (2017) [34]. Outre le fait que la capacité d'un modèle à générer une dynamique cohérente pour chacune des grandeurs qu'il décrit est essentielle pour valider le bien-fondé de ce modèle, la bonne compréhension des temporalités sur lesquelles les différentes populations cellulaires se développent est un enjeu important dans l'étude de la réponse T-CD8.

1.3 Motivations et plan de la thèse

Dans ce manuscrit nous présentons une modélisation de la réponse immunitaire T-CD8 couplant les échelles moléculaire et cellulaire. La principale motivation, et la principale originalité, du travail présenté est d'allier dans un même modèle d'une part la correspondance entre contenus moléculaires et phénotypes cellulaires (à la manière de Prokopiou *et al.* [116], Gao *et al.* [51] et Barbaroux *et al.* [10, 11]) et d'autre part l'émergence d'hétérogénéité moléculaire (à la manière de Mantzaris [97, 98] et de Luzyanina *et al.* [95]) afin d'étudier son influence sur le cours de la réponse T-CD8. Ce manuscrit se compose de deux parties.

La Partie I introduit un modèle de différenciation des lymphocytes T-CD8 au moyen d'une équation différentielle à impulsions (EDI). Dans ce modèle, la concentration de la protéine Tbet dans un lymphocyte T-CD8 est associée à différents destins cellulaires, semblables aux profils SLEC et MPEC décrits en Section 1.1.5.1. Il s'agit donc d'un couplage entre échelle moléculaire et différenciation cellulaire, sans tenir compte de la dynamique de la réponse T-CD8 à l'échelle de la population de cellules.

Cette partie débute par un chapitre introductif (Chapitre 2) exposant les motivations de ce travail. Dans le Chapitre 3, nous considérons une classe générale d'EDI, pour laquelle nous démontrons des résultats d'existence et de stabilité de solutions périodiques. Ces résultats reposant sur l'étude du flot d'une EDO autonome, le Chapitre 4 est dédié à l'étude de la convexité de ce flot. Dans les Chapitres 5 et 6, nous considérons une EDI particulière, modélisant l'évolution de la concentration de Tbet dans un lymphocyte T-

CD8 et son partage, inégal et stochastique, lors des divisions cellulaires. Nous utilisons alors les résultats des chapitres précédents pour étudier l'évolution asymptotique de cette concentration. Cette étude suggère notamment qu'un partage inégal des protéines permet de générer deux sous-populations aux destins antagonistes et que ces destins sont irréversibles lorsque le partage moléculaire n'est que modérément inégal. Le Chapitre 7 présente une discussion des résultats de cette partie.

La Partie II est dédiée à la présentation d'un modèle à base d'agents couplant échelle moléculaire, phénotype cellulaire, et dynamique de la population cellulaire. Ce modèle fait suite aux travaux de Prokopiou *et al.* [116] et Gao *et al.* [51], dans lesquels seuls les premiers jours de la réponse T-CD8 étaient considérés (Section 1.2.2.3). Comme dans [51, 116], le modèle présenté dans la Partie II décrit spatialement une population discrète de lymphocytes T-CD8 dont le contenu moléculaire est déterminé par un système d'EDO. Ce modèle est étendu pour rendre compte d'une réponse T-CD8 complète, incluant la génération de cellule mémoires, et notamment de son caractère autopilote (Section 1.1.3), sans que les différentes phases de la réponse ne soient imposées par un facteur extérieur (nombre de division limité, valeurs de paramètres dépendant du temps...). Les résultats de ce modèle sont confrontés à des données *in vivo* aux échelles cellulaire (à l'échelle de la population et pour différents stades de différenciation) et moléculaire.

Dans le Chapitre 8, nous positionnons notre travail par rapport au contexte biologique, à l'état de l'art et à la Partie I. Une description exhaustive du modèle est donnée dans le Chapitre 9 tandis que la présentation des résultats est l'objet du Chapitre 10. Les conclusions de la Partie II sont discutées dans le Chapitre 11.

Le travail présenté dans la Partie I a fait l'objet d'une publication dans le *Journal of Mathematical Biology* [54].

Le travail présenté dans la Partie II a été soumis au journal *Frontiers In Immunology*.

Première partie

Existence et stabilité des solutions
périodiques d'une équation différentielle
à impulsions

—

Application à la différenciation des
lymphocytes T-CD8

Introduction : équations à impulsions et partage moléculaire inégal

Préambule : le travail présenté dans cette partie fait l'objet d'une publication dans la revue Journal of Mathematical Biology (Girel et Crauste 2018 [54]).

Il est courant de modéliser les processus d'évolution temporelle à l'aide d'équations différentielles dont les solutions sont continues. Cependant, beaucoup d'entre eux voient leur évolution perturbée par de brefs événements, se déroulant sur une échelle de temps plus fine [83]. Par exemple, l'évolution de la superficie d'une forêt peut être affectée par un incendie, ou par l'activité humaine. Lorsque ces événements sont suffisamment brefs, au regard de l'échelle de temps du processus de référence, il peut être plus simple de les considérer comme instantanés. La théorie des équations différentielles à impulsions (EDI), initiée par Mil'man et Myshkis [105], fournit un ensemble d'outils mathématiques adaptés à la modélisation de tels processus. Des modèles à base d'EDI ont été employés pour étudier de nombreux phénomènes biologiques tels que les effets de la vaccination [143] ou d'un stress sur une population cellulaire [82], les effets de catastrophes naturelles ou de l'activité humaine sur la dynamique d'un système proie-prédateur [91, 93] ou sur celle d'une seule espèce [150], les conséquences de la saisonnalité des naissances sur la démographie d'une population animale [137] ou encore le contrôle d'une épidémie de dengue *via* l'introduction de moustiques infectés par *Wolbachia* au sein d'une population saine de moustiques [88, 156].

Une EDI est définie par une équation différentielle, décrivant l'évolution d'une variable entre deux impulsions, un critère d'impulsion, par lequel sont déterminés les instants auxquels les impulsions surviennent, et un ensemble de fonctions d'impulsions, caractérisant

l'effet des impulsions sur la variable étudiée. Une introduction générale à la théorie des EDI est proposée dans [6, 7].

Dans cette partie, nous nous intéresserons à un cas particulier d'EDI, celui d'une équation différentielle autonome, scalaire et sujette, à instants fixés, à des impulsions gouvernées par des fonctions d'impulsions linéaires. Plus précisément, nous considérerons le système suivant :

$$\begin{cases} \frac{dX(t)}{dt} = g(X(t)), & t \in \mathbb{R}^+ \setminus \{\tau_k, k \in \mathbb{N}^*\}, \\ X(\tau_k^+) = (1 + \alpha_k)X(\tau_k^-), & k \in \mathbb{N}^*, \\ X(0) = X_0, \end{cases} \quad (2.1)$$

où g est une fonction lipschitzienne définie sur U et à valeur dans U avec, soit $U \in \{\mathbb{R}^-, \mathbb{R}^+\}$ et $g(0) = 0$, soit $U = \mathbb{R}$; de telle sorte que pour tout $X_0 \in U$, la solution de l'équation différentielle $dX/dt = g(X)$ reste dans U . La suite des temps d'impulsions $(\tau_k)_{k \in \mathbb{N}^*}$ est réelle, strictement positive, strictement croissante et vérifie $\lim_{k \rightarrow +\infty} \tau_k = +\infty$. La suite réelle $(\alpha_k)_{k \in \mathbb{N}^*}$ est telle que, pour tout $k \geq 1$, $\alpha_k > -1$, de telle sorte qu'une impulsion n'affecte pas le signe de la solution X . La notation $X(\tau^-)$ (resp. $X(\tau^+)$) est utilisée comme abréviation de $\lim_{t \rightarrow \tau, t < \tau} X(t)$, (resp. $\lim_{t \rightarrow \tau, t > \tau} X(t)$). Différentes hypothèses sur g , $(\tau_k)_{k \in \mathbb{N}^*}$ et $(\alpha_k)_{k \in \mathbb{N}^*}$ seront considérées au cours de cette partie.

Nous emploierons ce formalisme pour étudier le phénomène de partage inégal des protéines entre cellules filles au moment de la division cellulaire [128], et son influence sur l'émergence de différents phénotypes cellulaires au sein d'une lignée de lymphocytes T-CD8. À cette fin, nous introduirons une EDI, de la forme de (2.1), décrivant l'évolution de la concentration de la protéine Tbet dans un lymphocyte subissant une série de divisions inégales, dont le principe est rappelé ci-dessous (une description plus complète de ce phénomène est exposée en Section 1.1.6).

Suite à l'infection d'un organisme par un agent pathogène, les lymphocytes T-CD8 sont activés par les cellules présentatrices d'antigène (CPA), prolifèrent et développent les fonctions cytotoxiques qui leur sont nécessaires pour lutter contre l'infection, on parle de lymphocytes effecteurs. Dans le même temps, 5 à 10% de ces lymphocytes développent un profil dit mémoire, caractérisé par de fortes capacités de survie et par leur aptitude à répondre rapidement à une éventuelle infection ultérieure par le même agent pathogène [144].

Dans un second temps de la réponse T-CD8, appelé phase de contraction cellulaire, les lymphocytes effecteurs meurent progressivement. Les lymphocytes mémoires échappent à cette contraction cellulaire et se maintiennent dans l'organisme pendant un temps long en comparaison de la durée de la réponse. Bien que les mécanismes moléculaires aboutissant aux différents destins cellulaires (effecteur et mémoire) ne soient pas encore bien connus, il a été identifié qu'une forte expression de la protéine Tbet – un facteur de transcription exprimé par les lymphocytes T-CD8 et impliqué dans leur processus de développement – induit le développement du profil effecteur et réprime la différenciation en lymphocyte mémoire [67, 70, 84].

Chang *et al.* [27, 28] ont démontré que l'activation d'un lymphocyte T-CD8 par une CPA induit la polarisation de celui-ci : la protéine Tbet s'organise le long de l'axe de polarisation, se concentrant majoritairement dans la moitié proximale du lymphocyte, c'est à dire celle au contact de la CPA. Le lymphocyte activé se divise alors perpendiculairement à l'axe de polarisation, donnant ainsi naissance à deux cellules contenant des niveaux significativement différents de Tbet. Les travaux de Chang *et al.* [27, 28] suggèrent que la première division, asymétrique, consécutive à l'activation d'un lymphocyte naïf donne naissance à deux cellules filles ayant des destins différents : la cellule issue de la partie proximale présenterait un fort potentiel à engendrer une lignée de lymphocytes effecteurs, la cellule distale serait prédisposée à générer des cellules mémoires.

Puisque la polarisation d'un lymphocyte résulte de son activation par une CPA, seule la première division d'un lymphocyte activé peut être considérée comme asymétrique, c'est à dire donnant naissance à deux cellules aux destins singulièrement différents. Cependant, il a été montré [15, 128] qu'au cours des divisions suivantes, un partage inégal, aléatoire, du contenu moléculaire a lieu. La répétition, à chaque division, de ce phénomène de division inégale pourrait introduire et entretenir une forte hétérogénéité dans une population de cellules issues d'une même cellule mère, et présentant donc des destins différents à l'issue du processus de différenciation.

Dans une revue de 2013, Bocharov *et al.* [16] ont souligné le besoin de faire évoluer les modèles mathématiques relatifs à la division cellulaire vers des modèles rendant compte de la division inégale du contenu moléculaire ; en particulier pour le cas du CFSE, un colorant habituellement utilisé pour analyser la prolifération cellulaire sous l'hypothèse que celui-ci est partagé équitablement au moment de la division. Par la suite, Luzyanina

et al. [95] ont développé un système d'équations aux dérivées partielles modélisant une densité de population de lymphocytes, structurée par le niveau de CFSE intracellulaire, et autorisant la distribution inégale du CFSE entre cellules filles. Les auteurs ont conclu que leurs données expérimentales *in vitro* étaient mieux expliquées par le modèle lorsqu'une distribution inégale du CFSE à la division était prise en compte.

Prokopiou *et al.* [116] et Gao *et al.* [51] ont développé un modèle multiéchelle de la réponse immunitaire T-CD8 jusqu'à sa phase d'expansion clonale (Section 1.2.2.3). Ce modèle, à base d'agents, décrit une population discrète de lymphocytes T-CD8 et de CPA. Un système d'équations différentielles, implémenté et résolu indépendamment dans chaque lymphocyte, modélise les concentrations de six protéines intracellulaires, dont Tbet, dans chaque lymphocyte. Ces concentrations de protéines contrôlent la différenciation, la mort et la cytotoxicité des lymphocytes T-CD8. Lorsqu'un lymphocyte se divise, son contenu moléculaire est partagé aléatoirement entre les cellules filles, contribuant ainsi à générer une population hétérogène.

L'approche basée sur la description d'une densité de population proposée par Luzyanina *et al.* [95] (Section 1.2.3.2) ne permet pas de prendre en compte la nature discrète d'une population de cellules, ni la stochasticité du partage du CFSE, tandis que l'approche computationnelle employée par Prokopiou *et al.* [116] et Gao *et al.* [51] est très couteuse en temps de calcul limite fortement, de par la complexité de leur modèle, la possibilité d'effectuer toute analyse formelle .

Nous proposons ici une approche différente, qui ne décrit pas explicitement une population de cellules mais la concentration d'une protéine, Tbet, dans une seule cellule traversant une série de divisions. Pour cela, nous introduisons une EDI dans laquelle l'équation différentielle, inspirée de celle utilisée par Prokopiou *et al.* [116] et Gao *et al.* [51], décrit la régulation de la concentration de Tbet dans un lymphocyte tandis que les fonctions d'impulsions reproduisent l'effet d'un partage inégal des protéines lors de divisions cellulaires successives. Il s'agit, à notre connaissance, de la première étude dans laquelle une EDI est employée pour modéliser ce phénomène de partage inégal, ainsi que la première appliquée à la différenciation des lymphocytes T-CD8. Cette approche nous permettra d'utiliser des résultats issus de la théorie des EDI pour examiner les effets d'un partage inégal des protéines sur le choix d'un destin cellulaire.

Cette partie sera organisée en quatre chapitres. Dans le Chapitre 3, nous présenterons

des propriétés sur l'existence, la monotonie et la périodicité des solutions de l'EDI (2.1), la plupart de ces résultats s'appliquant dans le cas particulier où les impulsions surviennent périodiquement et où $\alpha_k = \alpha$ pour tout $k \in \mathbb{N}^*$. Nous montrerons que, dans ce cas, la connaissance des solutions périodiques de (2.1) permet de conclure sur le comportement asymptotique de l'ensemble des solutions. Nous expliquerons comment l'existence et la stabilité de solutions périodiques de (2.1) peuvent être déduites de l'analyse du flot de l'équation différentielle $\mathbf{d}X/\mathbf{d}t = g(X)$.

Le Chapitre 4 sera dédié à la démonstration d'un résultat permettant de déterminer la convexité de ce flot. Dans un premier temps, nous montrerons un résultat préliminaire reposant sur l'hypothèse que g est une fonction affine par morceaux puis nous étendrons ce résultat au cas d'une fonction continument différentiable.

Dans le Chapitre 5, la concentration de la protéine Tbet dans un lymphocyte T-CD8 en division sera modélisée par une EDI dans laquelle chaque impulsion sera associée à une division cellulaire. Nous appliquerons les résultats des chapitres précédentes pour étudier l'existence de solutions périodiques et leur stabilité.

Enfin, dans le Chapitre 6 nous interpréterons les résultats de notre étude mathématique pour proposer une explication sur la façon dont une unique cellule peut générer une population hétérogène, composée de cellules aux phénotypes antagonistes. Nous montrerons que le caractère réversible de ces phénotypes dépend du degré d'inégalité considéré lors des divisions inégales.

Une discussion des résultats de la Partie I est proposée dans le Chapitre 7.

Solutions périodiques d'une équation différentielle à impulsions

Dans ce chapitre, nous présentons quelques définitions et propriétés générales portant sur l'existence et le comportement asymptotique des solutions de (2.1), principalement obtenues en imposant des hypothèses sur les suites $(\tau_k)_{k \in \mathbb{N}^*}$ et $(\alpha_k)_{k \in \mathbb{N}^*}$. Nous discutons de l'intérêt de connaître les solutions périodiques de (2.1) et présentons une méthode pour étudier leur existence et leur stabilité.

Rappelons que, dans (2.1), $g : U \rightarrow U$ est une fonction lipschitzienne et que les suites réelles $(\tau_k)_{k \in \mathbb{N}^*}$ et $(\alpha_k)_{k \in \mathbb{N}^*}$ sont telles que pour tout $k \in \mathbb{N}^*$, $\tau_{k+1} > \tau_k > 0$, $\alpha_k > -1$ et $\lim_{k \rightarrow +\infty} \tau_k = +\infty$.

3.1 Définitions et propriétés générales

DÉFINITION 1

Pour tout $X_0 \in U$, une fonction réelle X définie sur \mathbb{R}^+ est appelée solution de (2.1) si les conditions suivantes sont satisfaites :

1. X est continue à droite sur \mathbb{R}^+ (en particulier $X(\tau_k^+) = X(\tau_k)$);
2. pour tout $k \geq 1$, $X(\tau_k^-) := \lim_{t \rightarrow \tau_k, t < \tau_k} X(t)$ existe et est finie;
3. X satisfait (2.1).

Dans la suite de cette partie, une solution de (2.1) au temps $t \geq 0$ sera notée $X(t; X_0, \alpha_k)$. Si, pour un $\alpha \in \mathbb{R}$ fixé et pour tout $k \geq 1$, $\alpha_k = \alpha$, on notera simplement $X(t; X_0, \alpha)$. En particulier, la solution au temps $t \geq 0$ de l'EDI (2.1) sans impulsion est $X(t; X_0, 0)$.

Notons que, conformément à la Définition 1 et pour des raisons de simplicité, nous n'appelons solutions de (2.1) que ses solution globales, *i.e.* définies sur \mathbb{R}^+ . La proposition suivante assure l'existence et l'unicité, pour tout X_0 et toute suite $(\alpha_k)_{k \in \mathbb{N}^*}$, d'une solution globale de (2.1).

PROPOSITION 1 ([7, 41])

Il existe une unique solution globale $X(\cdot; X_0, \alpha_k)$ de (2.1) et, pour tout $t \geq 0$, l'application $(X_0, (\alpha_k)_{\{k \in \mathbb{N}^*, \tau_k \leq t\}}) \mapsto X(t; X_0, \alpha_k)$ est continue en ses deux variables. De plus, pour $t \geq 0$,

$$X(t; X_0, \alpha_k) = X(t) = X_0 + \int_0^t g(X(s))ds + \sum_{\{k \in \mathbb{N}^*, 0 < \tau_k \leq t\}} \alpha_k X(\tau_k^-). \quad (3.1)$$

L'existence et l'unicité de la solution, ainsi que la formule (3.1), sont données par les Théorèmes 2.3 et 2.6 issus de [7]. La continuité de $X_0 \mapsto X(t; X_0, \alpha_k)$ est prouvée dans le Théorème 1.2 de [41] pour une classe plus générale d'équations mais sous l'hypothèse qu'il existe $C_g > 0$ tel que pour tout $x \in U$, $|g(x)| < C_g$. Dans le cas de (2.1), cette hypothèse est superflue. En effet, les fonctions $X_0 \mapsto X(\cdot; X_0, 0)$ et $x \mapsto (1 + \alpha)x$, $\alpha > -1$, étant continues, on montre facilement que la solution de (2.1) est continue par rapport à sa condition initiale X_0 et par rapport à $(\alpha_k)_{\{k \in \mathbb{N}^*, \tau_k \leq t\}}$. Remarquons que $\text{Card}(\{k \in \mathbb{N}^*, \tau_k \leq t\}) < +\infty$ donc n'importe quelle topologie peut être adoptée pour montrer la continuité par rapport à $(\alpha_k)_{\{k \in \mathbb{N}^*, \tau_k \leq t\}}$.

Une particularité des EDI est que deux solutions distinctes peuvent fusionner suite à une impulsion, selon la forme de la fonction d'impulsion. Dans le cas de (2.1), le théorème de Cauchy-Lipschitz assure que, sur les intervalles $[0, \tau_1[$ et $]\tau_k, \tau_{k+1}[$, $k \geq 1$, deux solutions distinctes ne peuvent se croiser. De plus, les fonctions d'impulsions sont de la forme particulière $X(\tau_k^+) = (1 + \alpha_k)X(\tau_k^-)$ et, pour tout $\alpha > -1$, la fonction $X \mapsto (1 + \alpha)X$ est injective et strictement croissante, deux solutions ayant des conditions initiales différentes mais soumises aux mêmes impulsions ne peuvent donc ni fusionner, ni se croiser.

Deux solutions ayant la même condition initiale mais soumises à des impulsions différentes peuvent être ordonnées de la façon suivante.

LEMME 1

Supposons $U = \mathbb{R}^+$ et $g(0) = 0$. Soit $X_0 \in U$. Soient $(m_k)_{k \geq 1}$, $(\alpha_k)_{k \geq 1}$ et $(M_k)_{k \geq 1}$ trois suites de $\mathbb{R}^{\mathbb{N}}$ telles que, pour tout $k \in \mathbb{N}^*$, $-1 < m_k \leq \alpha_k \leq M_k$, alors, pour tout $t \in \mathbb{R}^+$,

$$X(t; X_0, m_k) \leq X(t; X_0, \alpha_k) \leq X(t; X_0, M_k).$$

La preuve de ce lemme est omise car triviale. Dans le cas $U = \mathbb{R}^-$, le Lemme 1 reste vrai en renversant le sens des inégalités. Si $U = \mathbb{R}$ il est nécessaire de discuter le signe des solutions.

Dans la suite de ce chapitre, nous étudions le comportement des solutions de (2.1) dans le cas bien particulier où les impulsions surviennent périodiquement, avec une période $\omega \in \mathbb{R}^+$ fixée, et que la suite $(\alpha_k)_{k \in \mathbb{N}^*}$ est constante. Pour cela, nous introduisons les hypothèses **(H₁)** et **(H₂)** suivantes :

(H₁) Pour tout $k \in \mathbb{N}^*$, $\tau_k = k\omega$ avec $\omega > 0$ fixé.

(H₂) Pour tout $k \in \mathbb{N}^*$, $\alpha_k = \alpha$ avec $\alpha > -1$ fixé.

Nous nous intéresserons particulièrement à la convergence des solutions de (2.1) sous les hypothèses **(H₁)** et **(H₂)**. Nous introduisons la définition suivante.

DÉFINITION 2

Une solution X de (2.1) converge vers une solution Y si pour tout $\varepsilon > 0$, il existe $t_\varepsilon > 0$ tel que $|X(t) - Y(t)| < \varepsilon$ pour $t > t_\varepsilon$.

La proposition suivante est un cas particulier du Théorème 12.5 de [7].

PROPOSITION 2

Supposons les hypothèses **(H₁)** et **(H₂)** vérifiées. Alors toute solution bornée de (2.1) converge vers une solution périodique.

Toujours sous les hypothèses **(H₁)** et **(H₂)**, la Proposition 3 ci-dessous permet de caractériser les solutions périodiques de (2.1).

PROPOSITION 3

Supposons les hypothèses (\mathbf{H}_1) et (\mathbf{H}_2) vérifiées. Soit X une solution périodique et non constante de (2.1). Alors X est ω -périodique et ω est la plus petite période de X .

La démonstration de la Proposition 3 repose sur l'utilisation du Lemme 2 énoncé ci-après.

LEMME 2

Supposons les hypothèses (\mathbf{H}_1) et (\mathbf{H}_2) vérifiées. Soit $X_0 \in U$ et soit $X = X(\cdot; X_0, \alpha)$ solution de (2.1). Les propositions suivantes sont vérifiées,

- i) Si $X(\omega) > X_0$ (resp. $< X_0$), alors la suite $(X(k\omega))_{k \in \mathbb{N}^*}$ est strictement croissante (resp. strictement décroissante);
- ii) X est ω -périodique si et seulement si $X(\omega) = X(0)$ ([7], Lemme 12.1).

Preuve du Lemme 2. Considérons d'abord le cas $X(\omega) > X_0$ du point i) et montrons, par récurrence, que $(X(k\omega))_{k \in \mathbb{N}^*}$ est strictement croissante. Supposons qu'il existe $k \in \mathbb{N}^*$ tel que $X_{k+1} := X((k+1)\omega) > X(k\omega) =: X_k$. On sait que les orbites d'une équation différentielle autonome sont deux à deux disjointes (théorème de Cauchy-Lipschitz) et que les solutions d'équations différentielles autonomes sont invariantes par translation en temps. Puisque X est solution d'une équation différentielle autonome sur les intervalles $[k\omega, (k+1)\omega[$ et $[(k+1)\omega, (k+2)\omega[$, il vient que $X((k+2)\omega^-) > X(k+1)\omega^-$. Par suite, $X_{k+2} := X((k+2)\omega) = (1+\alpha)X((k+2)\omega^-) > (1+\alpha)X((k+1)\omega^-) = X((k+1)\omega) = X_{k+1}$.

La propriété d'hérédité étant vérifiée, on a montré que, pour tout $k \in \mathbb{N}^*$, $X((k+1)\omega) > X(k\omega)$. On montrerait de la même façon que si $X(\omega) < X_0$, alors, pour tout $k \in \mathbb{N}^*$, $X((k+1)\omega) < X(k\omega)$.

Montrons maintenant le point ii). De la même façon que dans la preuve du point i), on peut montrer que si $X(\omega) = X_0$, alors pour tout $k \in \mathbb{N}^*$, $X(k+1\omega) = X(k\omega)$. Puis, X étant solution d'une équation différentielle autonome sur chaque intervalle de la forme $[k\omega, (k+1)\omega[$, il vient que, pour tout $k \in \mathbb{N}^*$ et pour tout $t \in [0, \omega[$, $X(t) = X(k\omega + t)$. Ainsi X est ω -périodique. ■

Preuve de la Proposition 3. Dans le cas $\alpha = 0$ (*i.e.* sans impulsion) il n'existe pas de solution périodique non constante de (2.1) puisque la solution d'une équation différentielle autonome scalaire est monotone. Dans la suite de la preuve nous traitons le cas $\alpha \neq 0$.

Soient $\alpha \in]-1, +\infty[\setminus \{0\}$ et X une solution non constante et périodique de (2.1). On montre alors que soit $X(t) > 0$ pour tout $t \geq 0$, soit $X(t) < 0$ pour tout $t \geq 0$. En effet, entre deux impulsions X est solution d'une équation autonome, elle est donc monotone et, par conséquent, s'annule au plus une fois. Puisque $\alpha > -1$, une impulsion ne peut ni annuler X , ni en modifier le signe. Ainsi X ne s'annule ou ne change de signe qu'au plus une fois sur \mathbb{R}^+ . X étant périodique, il vient que X ne s'annule, ni ne change de signe sur \mathbb{R}^+ . En particulier, $X(\omega) \neq 0$ et par définition $(1 + \alpha)X(\omega^-) = X(\omega)$ donc $X(\omega^-) \neq 0$.

Montrons alors, par l'absurde, que la plus petite période de X , notée P , est un multiple de ω . Supposons donc que $\omega \nmid P$. Puisque X est P -périodique,

$$X(\omega) = X(P + \omega) \text{ et } X(\omega^-) = X((P + \omega)^-). \quad (3.2)$$

De plus, puisque $X(\omega^-) \neq 0$ et $\alpha \neq 0$,

$$X(\omega) = (1 + \alpha)X(\omega^-) \neq X(\omega^-). \quad (3.3)$$

Par conséquent, d'après (3.2) et (3.3), nous avons

$$X(P + \omega) \neq X((P + \omega)^-). \quad (3.4)$$

Par ailleurs, puisque $\omega \nmid (P + \omega)$, $t = P + \omega$ ne correspond pas à un temps d'impulsion, ainsi

$$X(P + \omega) = X((P + \omega)^-).$$

Cela contredit (3.4). En conclusion, la plus petite période de X est un multiple de ω .

Il ne reste qu'à montrer que $P = \omega$, c'est à dire $X(\omega) := (1 + \alpha)X(\omega^-) = X(0)$. Supposons que $X(\omega) \neq X(0)$. D'après le Lemme 2, la suite $(X(k\omega))_{k \in \mathbb{N}^*}$ est strictement monotone, donc pour tout $k \in \mathbb{N}^*$, $X(k\omega) \neq X(0)$, ce qui est absurde puisque X est P -périodique avec $\omega \mid P$. Finalement X est ω -périodique. ■

Nous avons montré dans cette section que, sous les hypothèses (\mathbf{H}_1) et (\mathbf{H}_2) , ou bien

une solution de (2.1) converge vers une solution périodique, ou bien elle diverge vers $\pm\infty$. Par conséquent, il suffit d'étudier les solutions périodiques de (2.1) pour conclure quant au comportement asymptotique de n'importe quelle solution bornée : c'est le motif de la section suivante.

3.2 Existence et stabilité des solutions périodiques

À travers cette section, nous introduisons des résultats sur l'existence et la stabilité de solutions périodiques de (2.1) sous les hypothèses (\mathbf{H}_1) et (\mathbf{H}_2) . Ceux-ci reposent sur l'analyse du flot de l'équation différentielle $\mathbf{d}X/\mathbf{d}t = g(X)$, issue de l'EDI (2.1).

Nous introduisons φ_ω , le flot de l'équation différentielle $\mathbf{d}X/\mathbf{d}t = g(X)$ au temps ω , défini par

$$\varphi_\omega : X_0 \in U \mapsto X(\omega; X_0, 0) \in U. \quad (3.5)$$

Notons que sous l'hypothèse (\mathbf{H}_1) la première impulsion du Système (2.1) survient au temps ω , ainsi pour toute valeur de α ,

$$\varphi_\omega(X_0) = X(\omega; X_0, 0) = X(\omega^-; X_0, \alpha) = X(\omega; X_0, \alpha)/(1 + \alpha). \quad (3.6)$$

Notons également que, grâce à la disjonction des orbites de l'équation différentielle ordinaire $\mathbf{d}X/\mathbf{d}t = g(X)$ (théorème de Cauchy-Lipschitz), φ_ω est strictement croissante sur U . Il peut être facilement montré que φ_ω une bijection de U dans U .

Sous les hypothèses (\mathbf{H}_1) et (\mathbf{H}_2) , pour toute valeur fixée de α , la connaissance de φ_ω permet de conclure sur l'existence de solutions périodiques de (2.1). En effet, d'après le Lemme 2, $X(\cdot; X_0, \alpha)$ est périodique si et seulement si $\varphi_\omega(X_0) = X_0/(1 + \alpha)$. La stabilité des solutions périodiques peut également être déduite de l'analyse de φ_ω , comme le stipule la Proposition 4 ci-après. Nous introduisons au préalable la fonction $\gamma_{\omega, \alpha}$ suivante :

$$\gamma_{\omega, \alpha} : X_0 \in U \mapsto \varphi_\omega(X_0) - \frac{X_0}{1 + \alpha} \in U. \quad (3.7)$$

Nous introduisons également les ensembles suivants :

$$K^+ := \gamma_{\omega, \alpha}^{-1}(\{0\}) \cap]X_0, +\infty[\text{ et } K^- := \gamma_{\omega, \alpha}^{-1}(\{0\}) \cap]-\infty, X_0[.$$

Remarquons que les notations K^+ et K^- ne font pas apparaître, par souci de simplicité, les dépendances en α , ω et X_0 de ces objets.

PROPOSITION 4

Supposons vérifiées les hypothèses (\mathbf{H}_1) et (\mathbf{H}_2) , et soit $X_0 \in U$. Notons $Y^+ = \min(K^+)$ and $Y^- = \max(K^-)$, lorsque ces extrema sont bien définis. Alors les résultats suivants sont vérifiés :

- i)** si $\gamma_{\omega,\alpha}(X_0) = 0$, alors $X(\cdot; X_0, \alpha)$ est ω -périodique ;
- ii)** si $\gamma_{\omega,\alpha}(X_0) > 0$, ou bien $K^+ \neq \emptyset$ et alors Y^+ existe et $X(\cdot; X_0, \alpha)$ converge vers la solution périodique $Y(\cdot; Y^+, \alpha)$, ou bien $K^+ = \emptyset$ et $X(\cdot; X_0, \alpha)$ diverge vers $+\infty$;
- iii)** si $\gamma_{\omega,\alpha}(X_0) < 0$, ou bien $K^- \neq \emptyset$ et alors Y^- existe et $X(\cdot; X_0, \alpha)$ converge vers la solution périodique $Y(\cdot; Y^-, \alpha)$, ou bien $K^- = \emptyset$ et $X(\cdot; X_0, \alpha)$ diverge vers $-\infty$.

Preuve. Le point **i)** est équivalent au Lemme 2. En effet, selon (3.6), $X = X(\cdot; X_0, \alpha)$ est périodique si et seulement si $X(\omega) = (1 + \alpha)\varphi_\omega(X_0) = X_0$, soit $\gamma_{\omega,\alpha}(X_0) = 0$.

Les preuves des points **ii)** et **iii)** étant analogues, nous ne démontrons que le point **ii)**. Supposons donc que $\gamma_{\omega,\alpha}(X_0) > 0$. Montrons dans un premier temps que, lorsque $K^+ \neq \emptyset$, Y^+ est bien défini. Supposons $K^+ \neq \emptyset$. Puisque $\gamma_{\omega,\alpha}$ est une fonction continue et que $\{0\}$ est un ensemble fermé, alors l'ensemble $\gamma_{\omega,\alpha}^{-1}(\{0\})$ est également fermé. De plus, puisque $\gamma_{\omega,\alpha}(X_0) > 0$, alors $X_0 \notin \gamma_{\omega,\alpha}^{-1}(\{0\})$ et l'on peut écrire $K^+ = \gamma_{\omega,\alpha}^{-1}(\{0\}) \cap [X_0, +\infty[$. Finalement, K^+ est un ensemble non vide, fermé et possède une borne inférieure (X_0), il admet donc un minimum $Y^+ > X_0$.

Maintenant, prouvons **ii)**. Posons $X = X(\cdot; X_0, \alpha)$. Remarquons que $\gamma_{\omega,\alpha}(X_0) > 0$ est équivalent à $X(\omega) > X(0)$. Ainsi, d'après le Lemme 2 et la Proposition 2, la suite $(X(k\omega))_{k \in \mathbb{N}}$ est strictement croissante et soit X diverge vers $+\infty$, soit X converge vers une solution périodique. Par conséquent, s'il n'existe pas de solution périodique de condition initiale supérieure à X_0 (*i.e.* $K^+ = \emptyset$), alors X diverge vers $+\infty$. Par contre, si $K^+ \neq \emptyset$, alors pour tout $t \geq 0$, $X(t) \leq Y(t; Y^+, \alpha)$, ainsi X est bornée et converge vers une solution périodique de (2.1). Par définition de Y^+ , X converge vers $Y(\cdot; Y^+, \alpha)$. ■

Par la suite, nous emploierons les notions suivantes de stabilité pour les solutions périodiques de (2.1).

DÉFINITION 3

Lorsque les hypothèses (\mathbf{H}_1) et (\mathbf{H}_2) sont vérifiées : si l'on se donne $X_* \in U$ tel que $X(\cdot; X_*, \alpha)$ soit une solution ω -périodique de (2.1) et $J \subset U$ un intervalle, alors $X(\cdot; X_*, \alpha)$ est dite

- i) *stable* si pour tout voisinage V de X_* il existe un voisinage W de X_* tel que, pour tout $X_0 \in W$ et pour tout $k \in \mathbb{N}$, $X(k\omega, X_0, \alpha) \in V$;
- ii) *asymptotiquement stable* si elle est stable et qu'il existe un voisinage V de X_* tel que, pour tout $X_0 \in V$, $\lim_{k \rightarrow +\infty} X(k\omega; X_0, \alpha) = X_*$;
- iii) *instable* si elle n'est pas stable;
- iv) *attractive sur J* si, pour tout $X_0 \in J$, la suite $(|X(k\omega; X_0, \alpha) - X_*|)_{k \in \mathbb{N}}$ décroît et converge vers zéro;
- v) *répulsive sur J* si, pour tout $X_0 \in J$, la suite $(|X(k\omega; X_0, \alpha) - X_*|)_{k \in \mathbb{N}}$ croît.

Une conséquence immédiate de la Proposition 4 est que, sous les hypothèses (\mathbf{H}_1) and (\mathbf{H}_2) , la stabilité d'une solution périodique $X(\cdot; X_0, \alpha)$ est donnée par le signe de $\gamma_{\omega, \alpha}$ de part et d'autre de X_0 , comme décrit par le corollaire suivant, dont la preuve sera omise.

COROLLAIRE 1

Supposons que les hypothèses (\mathbf{H}_1) et (\mathbf{H}_2) sont vérifiées. Supposons en outre qu'il existe $X_0 \in U$ tel que $\gamma_{\omega, \alpha}(X_0) = 0$, i.e. tel que $X(\cdot; X_0, \alpha)$ soit périodique. Enfin, notons $Y^+ = \min(K^+)$ et $Y^- = \max(K^-)$ avec la convention $\min\{\emptyset\} = +\infty$ et $\max\{\emptyset\} = -\infty$. Alors :

- i) *s'il existe un voisinage V de X_0 tel que $\gamma_{\omega, \alpha}$ est strictement décroissante (resp. croissante) sur V alors la solution périodique $X(\cdot; X_0, \alpha)$ est asymptotiquement stable et attractive (resp. instable et répulsive) sur $]Y_-, Y_+[$;*
- ii) *s'il existe un voisinage V de X_0 tel que $\gamma_{\omega, \alpha}$ est strictement positive (resp. strictement négative) sur $V \setminus \{X_0\}$ alors la solution périodique $X(\cdot; X_0, \alpha)$ est instable, attractive sur $]Y_-, X_0]$ et répulsive sur $]X_0, Y_+[$ (resp. répulsive sur $]Y_-, X_0[$ et attractive sur $[X_0, Y_+[$).*

Notons que si $g \in \mathcal{C}^p(U)$, où $\mathcal{C}^p(U) = \{h : U \rightarrow \mathbb{R}, h^{(p)} \text{ existe et est continue}\}$, pour un certain $p \in \mathbb{N}^*$, alors $\varphi_\omega \in \mathcal{C}^p(U)$ (résultat connu sous le nom de *théorème de*

différentiabilité du flot ou considéré comme une version étendue du *théorème de Cauchy-Lipschitz*), et donc $\gamma_{\omega,\alpha} \in \mathcal{C}^p(U)$. Ainsi, si la fonction g est suffisamment régulière, la stabilité des solutions périodiques de (2.1) peut être déduite des dérivées de $\gamma_{\omega,\alpha}$.

Nous avons vu que, sous les hypothèses (\mathbf{H}_1) and (\mathbf{H}_2) , pour tout α fixé, les conditions initiales des solutions périodiques de (2.1) sont les racines de la fonction $\gamma_{\omega,\alpha}$. Réciproquement, pour tout $X_0 \in U$ tel que $\varphi_\omega(X_0) \neq 0$ il existe un unique α tel que $X(\cdot; X_0, \alpha)$ soit périodique, c'est ce qui sera énoncé dans la Proposition 5. Auparavant, nous introduisons la fonction Γ_ω définie par

$$\Gamma_\omega : X_0 \in U \setminus \{\varphi_\omega^{-1}(0)\} \mapsto \frac{X_0}{\varphi_\omega(X_0)} - 1 \in \mathbb{R}. \quad (3.8)$$

PROPOSITION 5

Supposons les hypothèses (\mathbf{H}_1) et (\mathbf{H}_2) vérifiées. Pour toute condition initiale $X_0 \in U$ telle que $\varphi_\omega(X_0) \neq 0$, la solution $X(\cdot; X_0, \alpha)$ de (2.1) est périodique si et seulement si

$$\alpha = \Gamma_\omega(X_0).$$

Dans le cas $\varphi_\omega(X_0) = 0$: soit $g(0) = 0$ et alors, pour tout $\alpha \in \mathbb{R}$, $X(\cdot; X_0, \alpha)$ est périodique car identiquement nulle ; soit $g(0) \neq 0$ et, quel que soit $\alpha > -1$, la solution $X(\cdot; X_0, \alpha)$ de (2.1) n'est pas périodique.

Preuve. D'après le Lemme 2 et la Proposition 3, $X = X(\cdot; X_0, \alpha)$ est périodique si et seulement si $X(\omega) = X_0$, c'est à dire, d'après (3.6), $(1 + \alpha)\varphi_\omega(X_0) = X_0$.

Si $\varphi_\omega(X_0) \neq 0$, X est périodique si et seulement si $(1 + \alpha)\varphi_\omega(X_0) = X_0$, c'est à dire, d'après (3.8), $\alpha = \Gamma_\omega(X_0)$. Dans le reste de la preuve nous supposons que $\varphi_\omega(X_0) = 0$.

Si $g(0) = 0$, la seule solution de $\varphi_\omega(X_0) = 0$ est $X_0 = 0$ (injectivité de φ_ω). Ainsi, quel que soit $\alpha > -1$, $X(\cdot; X_0, \alpha) \equiv 0$, en particulier X est périodique.

Si $g(0) \neq 0$, alors $X_0 \neq 0$. En effet, si $X_0 = 0$, alors X est strictement monotone sur $[0, \omega[$, ainsi $\varphi_\omega(X_0) \neq 0$. Or, par hypothèse, $\varphi_\omega(X_0) = 0$. Donc $X_0 \neq 0$. De plus, pour tout $\alpha \in \mathbb{R}$, $X(\omega) = (1 + \alpha)\varphi_\omega(X_0) = 0$. Par conséquent $X(\omega) \neq X(0)$ et, d'après la Proposition 3, X n'est pas périodique. ■

Remarque 1. En pratique – ainsi que nous le ferons dans les Chapitres 5 et 6 –, il peut

être plus commode d'étudier la fonction Γ_ω , car sa valeur ne dépend pas de α , puis d'en déduire a posteriori l'existence de solutions périodiques et leur stabilité selon la valeur de α ; quitte à discuter le cas $\varphi_\omega(X_0) = 0$ séparément.

En effet, lorsqu'elle est définie, i.e. lorsque $\varphi_\omega(X_0) \neq 0$, la fonction Γ_ω peut être exprimée en fonction de $\gamma_{\omega,\alpha}$ et de α par la formule

$$\Gamma_\omega(X_0) = \alpha - (1 + \alpha)\gamma_{\omega,\alpha}(X_0)/\varphi(X_0).$$

Ainsi, la connaissance de Γ_ω permet de remonter aux résultats de la Proposition 4 et du Corollaire 1, portant sur $\gamma_{\omega,\alpha}$.

D'après la Proposition 2, sous les hypothèses (\mathbf{H}_1) and (\mathbf{H}_2) , il suffit de déterminer les solutions périodiques du Système (2.1) ainsi que leur stabilité pour conclure sur le comportement asymptotique de l'ensemble des solutions. Dans ce chapitre, nous avons donc discuté de l'existence, pour tout $\alpha > -1$ fixé, de conditions initiales $X_0 \in U$ pour lesquelles la solution $X = X(\cdot; X_0, \alpha)$ de (2.1) est périodique. Nous avons donné des conditions nécessaires et suffisantes pour déterminer la stabilité de ces solutions périodiques (Proposition 4, Corollaire 1) qui s'appuient sur les propriétés du flot φ_ω . Réciproquement, pour tout $X_0 \in U$ tel que $\varphi_\omega(X_0) \neq 0$ il existe un unique $\alpha \in \mathbb{R}$ tel que $X(\cdot; X_0, \alpha)$ soit une solution périodique de (2.1) (Proposition 5).

En général, il n'est pas possible d'obtenir une expression formelle du flot φ_ω , les conditions initiales des solutions périodiques (2.1) ne peuvent alors être déterminées explicitement et des méthodes *ad hoc* doivent être employées. La Proposition 4 ci-dessus propose d'étudier les solutions périodiques d'une EDI en étudiant les racines de la fonction $\gamma_{\omega,\alpha}$, c'est à dire en étudiant les intersections entre le graphe du flot φ_ω et celui de la fonction linéaire $X_0 \mapsto X_0/(1 + \alpha)$, qui est une droite vectorielle. Pour se faire, il peut être bénéfique de connaître la convexité du flot φ_ω . Dans le Chapitre 4, nous proposons une condition suffisante pour que le flot d'une équation différentielle ordinaire soit convexe. Ce résultat sera utilisé dans les Chapitres 5 et 6.

Convexité du flot d'une équation différentielle ordinaire

Ce chapitre peut être lu indépendamment du reste du manuscrit. Nous y étudions la convexité du flot d'une équation différentielle ordinaire autonome. Soient $a, b \in \mathbb{R}$ et $h \in \mathcal{C}^1([a, b], \mathbb{R})$ une fonction lipschitzienne, strictement positive sur $]a, b[$ et satisfaisant $h(b) = 0$. Considérons le problème de Cauchy autonome suivant :

$$\begin{cases} X'(t) = h(X(t)), t \geq 0, \\ X(0) = X_0 \in [a, b]. \end{cases} \quad (4.1)$$

Notons que la contrainte $h(b) = 0$ ne sert qu'à garantir que pour tout $X_0 \in [a, b]$, la solution de (4.1) reste dans $[a, b]$.

Pour toute condition initiale X_0 , le théorème de Cauchy-Lipschitz garantit l'existence et l'unicité de la solution X de (4.1).

Pour un temps $t > 0$ fixé, nous nous intéressons à la convexité de $\varphi_t : X_0 \mapsto X(t)$. Celle-ci peut être déterminée à l'aide du théorème suivant, illustré sur la Figure 4.1.

THÉORÈME 1

Soit $X_0 \in]a, b[$, $t > 0$ et $\varphi_t : X_0 \mapsto X(t)$, le flot associé au Système (4.1) au temps t . Si $h'(\varphi_t(X_0)) - h'(X_0) > 0$ (resp. < 0), alors φ_t est convexe (resp. concave) au voisinage de X_0 .

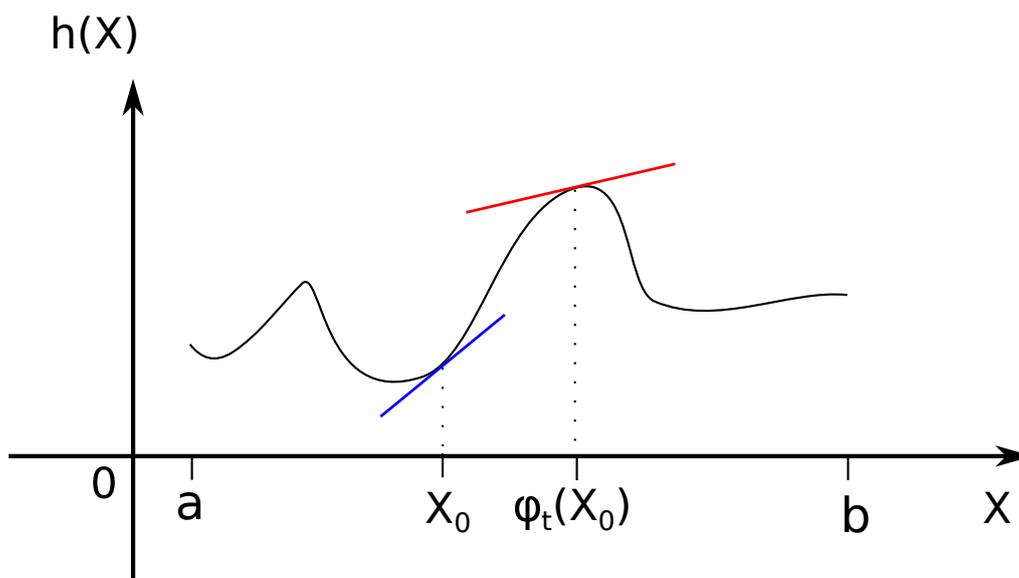


FIGURE 4.1: Une illustration du Théorème 1. Dans cet exemple, $h'(\varphi_t(X_0)) < h'(X_0)$ donc d'après le Théorème 1, le flot φ_t est concave au voisinage de X_0 .

Remarque 2.

- i) Le Théorème 1 peut évidemment être adapté au cas où la fonction h est strictement négative sur $]a, b[$ et satisfait $h(a) = 0$. On montrerait alors qu'on obtient la conclusion inverse, c'est à dire : si $h'(\varphi_t(X_0)) - h'(X_0) > 0$ (resp. < 0), alors φ_t est concave (resp. convexe) au voisinage de X_0 .
- ii) Le Théorème 1 reste valide si l'on considère une fonction lipschitzienne $h \in \mathcal{C}^1([a, +\infty[, \mathbb{R})$ et strictement positive sur $]a, +\infty[$. En effet, pour tout $X_0 \in]a, +\infty[$ et tout $t > 0$ fixés, on a $\{X(s), s \in [0, t]\} = [\min(X(0), X(t)), \max(X(0), X(t))]$. Il suffit alors d'appliquer le Théorème 1 en considérant n'importe quel intervalle $[a, b]$ contenant $[\min(X(0), X(t)), \max(X(0), X(t))]$.

L'intégralité du Chapitre 4 consiste à prouver le Théorème 1. Dans la Section 4.1, nous introduisons un résultat analogue au Théorème 1 mais portant sur une équation différentielle de la forme $X'(t) = h_n(X(t))$ où h_n est une fonction affine par morceaux.

Dans la Section 4.2, nous procédons à un passage à la limite sur le nombre de morceaux afin d'étendre ce résultat au cas du problème (4.1), achevant ainsi la preuve du Théorème 1.

4.1 Cas d'une équation différentielle affine par morceaux

Soit $n \in \mathbb{N}^*$ et $(c_i)_{0 \leq i \leq n}$ une subdivision de l'intervalle $[a, b]$ telle que $c_0 = a$, $c_n = b$ et, pour tout $i \in \{0, \dots, n-1\}$, $c_i < c_{i+1}$. Introduisons la fonction affine par morceaux h_n définie sur $[a, b]$ par

$$h_n(x) = a_{i+1}x + b_{i+1} \text{ si } x \in [c_i, c_{i+1}[, i \in \{0, \dots, n-1\} \text{ et } h_n(c_n) = a_n c_n + b_n,$$

où les suites réelles $(a_i)_{1 \leq i \leq n}$ et $(b_i)_{1 \leq i \leq n}$ sont telles que h_n soit continue sur $[a, b]$, strictement positive sur $[a, b[$ et s'annule en $\{b\}$, c'est à dire

$$\forall 1 \leq i \leq n-1, a_i c_i + b_i = a_{i+1} c_i + b_{i+1} = h_n(c_i) > 0, \tag{4.2}$$

$$h_n(c_0) = a_1 c_0 + b_1 > 0, \text{ et } h_n(c_n) = a_n c_n + b_n = 0.$$

Introduisons alors le problème de Cauchy autonome suivant

$$\begin{cases} X'_n(t) = h_n(X_n(t)), t \geq 0, \\ X_n(0) = X_0 \in [a, b]. \end{cases} \tag{4.3}$$

Pour tout $X_0 \in [a, b]$, l'existence et l'unicité d'une solution X_n au Système (4.3) est garantie par le théorème de Cauchy-Lipschitz.

Nous déterminons à présent les valeurs de t pour lesquelles, pour $i = 0, \dots, n-1$, $X_n(t) = c_i$ (Lemme 3 ci-après), puis nous donnerons une expression explicite de X_n (Proposition 6 ci-après).

Puisque $h_n(x) > 0$ pour tout $x \in [c_0, c_n[$ et $h_n(c_n) = 0$, il est clair que pour tout $X_0 \in]c_0, c_n[$, X_n est une fonction strictement croissante et $\lim_{t \rightarrow +\infty} X_n(t) = c_n$. De plus, si $X_0 \in [c_i, c_{i+1}[$ pour $i \in \{0, \dots, n-2\}$, alors, tant que $X_n(t) < c_{i+1}$, X_n est solution d'une équation différentielle linéaire. Il vient alors que $X_n(t) = c_{i+1}$ si et seulement si

$t = \lambda_{i+1}(X_0)$, où λ_{i+1} est défini pour tout $x \in [c_i, c_{i+1}[$ par

$$\lambda_{i+1}(x) = \begin{cases} \frac{1}{a_{i+1}} \ln \left(\frac{h_n(c_{i+1})}{h_n(x)} \right), & \text{si } a_{i+1} \neq 0, \\ \frac{c_{i+1} - x}{b_{i+1}}, & \text{si } a_{i+1} = 0. \end{cases}$$

Un raisonnement par récurrence permet d'en déduire l'expression de $\lambda_k(X_0)$ pour tout $X_0 < c_k$.

LEMME 3

Soient $i \in \{0, \dots, n-2\}$, $X_0 \in [c_i, c_{i+1}[$ et soit X_n la solution de (4.3). Soit $k \in \{i+1, \dots, n-1\}$, alors $X_n(t) = c_k$ si et seulement si $t = \lambda_k(X_0)$, défini par

$$\lambda_k(X_0) = \lambda_{i+1}(X_0) + \sum_{p=i+1}^{k-1} \lambda_{p+1}(c_p). \quad (4.4)$$

Autrement dit, $\lambda_k(X_0)$ correspond au temps que met la solution X_n de (4.3) pour aller de X_0 à c_k . Si $X_0 \geq c_p$ pour $p \in \{0, \dots, n-1\}$, nous posons $\lambda_p(X_0) = 0$. Puisque $c_n = \lim_{t \rightarrow +\infty} X_n(t)$, nous posons $\lambda_n(X_0) = +\infty$ pour tout $X_0 \in [c_0, c_n[$.

Grâce au Lemme 3, nous pouvons donner une expression concise de $X_n(t)$ pour tout $t > 0$.

PROPOSITION 6

Soient $i \in \{0, \dots, n-1\}$, $X_0 \in [c_i, c_{i+1}[$ et soit X_n la solution de (4.3). Alors, si $t \in [0, \lambda_{i+1}(X_0)[$,

$$X_n(t) = \begin{cases} \frac{h_n(X_0)}{a_{i+1}} e^{a_{i+1}t} - \frac{b_{i+1}}{a_{i+1}}, & \text{si } a_{i+1} \neq 0, \\ X_0 + b_{i+1}t, & \text{si } a_{i+1} = 0. \end{cases} \quad (4.5)$$

Si $t \in [\lambda_k(X_0), \lambda_{k+1}(X_0)[$ pour $k \in \{i+1, \dots, n-1\}$, alors

$$X_n(t) = \begin{cases} \left(c_k + \frac{b_{k+1}}{a_{k+1}} \right) e^{a_{k+1}(t - \lambda_k(X_0))} - \frac{b_{k+1}}{a_{k+1}}, & \text{si } a_{k+1} \neq 0, \\ c_k + b_{k+1}(t - \lambda_k(X_0)), & \text{si } a_{k+1} = 0. \end{cases} \quad (4.6)$$

Considérons à présent $t > 0$ fixé et φ_t^n , le flot du Système (4.3) au temps t , défini par

$$\varphi_t^n : X_0 \in [a, b] \mapsto X_n(t) \in [a, b], \quad (4.7)$$

où X_n est la solution de (4.3). La Proposition 6 fournit une expression explicite de $\varphi_t^n(X_0)$.

Dans la suite, nous déterminons la convexité de φ_t^n en étudiant sa dérivée seconde. Si $X_0 = c_k$ ou $\varphi_t^n(X_0) = c_k$ pour $k \in \{0, \dots, n\}$, l'expression de φ_t^n n'est pas la même de part et d'autre de X_0 . Par conséquent, nous étudierons d'abord la convexité de φ_t^n dans les cas $X_0 \neq c_k$ et $\varphi_t^n(X_0) \neq c_k$, c'est à dire sur l'ensemble J_n défini par

$$J_n = \{c_k, k = 1, \dots, n-1\} \cup \{(\varphi_t^n)^{-1}(c_k), k = 1, \dots, n-1\}. \quad (4.8)$$

Nous concluons dans un second temps sur la convexité de φ_t^n sur l'intervalle $]a, b[$ dans sa totalité. Remarquons que, d'après l'expression de φ_t donnée par la Proposition 6, φ_t est une application de classe \mathcal{C}^∞ sur $[a, b] \setminus J_n$.

LEMME 4

Soit $X_0 \in]a, b[\setminus J_n$ et $i, k \in \{0, \dots, n-1\}$ tels que $X_0 \in]c_i, c_{i+1}[$ et $\varphi_t^n(X_0) \in]c_k, c_{k+1}[$. Alors, sur un voisinage de X_0 , φ_t^n est strictement convexe (resp. strictement concave, resp. affine) si et seulement si $a_{k+1} > a_{i+1}$ (resp. $a_{k+1} < a_{i+1}$, resp. $a_{k+1} = a_{i+1}$).

Preuve. Pour prouver le Lemme 4, il suffit de déterminer le signe de la dérivée seconde de φ_t^n . Selon que a_{i+1} et a_{k+1} sont nuls ou non, l'expression de φ_t^n revêt quatre formes différentes. Nous nous contenterons de traiter le cas $a_{i+1} \neq 0$ et $a_{k+1} \neq 0$; les preuves des trois autres cas sont analogues.

Soit $X_0 \in]c_i, c_{i+1}[$ tel que $\varphi_t^n(X_0) \in]c_k, c_{k+1}[$. Considérons d'abord le cas où $k > i$. Alors, d'après les équations (4.4) et (4.6)

$$\begin{aligned} \varphi_t^n(X_0) &= \left(c_k + \frac{b_{k+1}}{a_{k+1}} \right) e^{a_{k+1}(t-\lambda_k(X_0))} - \frac{b_{k+1}}{a_{k+1}}, \\ &= \frac{h_n(c_k)}{a_{k+1}} e^{a_{k+1}t} \prod_{p=i+1}^{k-1} e^{-a_{k+1}\lambda_{p+1}(c_p)} e^{-a_{k+1}\lambda_{i+1}(X_0)} - \frac{b_{k+1}}{a_{k+1}}, \\ &= \frac{h_n(c_k)}{a_{k+1}} h_n(X_0)^{\frac{a_{k+1}}{a_{i+1}}} M_{i,k}^{a_{k+1}} - \frac{b_{k+1}}{a_{k+1}}, \end{aligned} \quad (4.9)$$

où

$$M_{i,k} = e^t \left(\frac{1}{h_n(c_{i+1})} \right)^{\frac{1}{a_{i+1}}} \prod_{p=i+1}^{k-1} \left(\frac{h_n(c_p)}{h_n(c_{p+1})} \right)^{\frac{1}{a_{p+1}}} > 0.$$

Ainsi

$$\begin{aligned} \frac{d^2 \varphi_t^n}{dX_0^2}(X_0) &= \frac{h_n(c_k) M_{i,k}^{a_{k+1}}}{a_{k+1}} \left(\frac{a_{k+1}}{a_{i+1}} \right) \left(\frac{a_{k+1}}{a_{i+1}} - 1 \right) a_{i+1}^2 h_n(X_0)^{\left(\frac{a_{k+1}}{a_{i+1}} - 2 \right)}, \\ &= h_n(c_k) M_{i,k}^{a_{k+1}} (a_{k+1} - a_{i+1}) h_n(X_0)^{\left(\frac{a_{k+1}}{a_{i+1}} - 2 \right)}. \end{aligned}$$

Par conséquent, la convexité de φ_t^n , déterminée par le signe de sa dérivée seconde, est donnée par le signe de $(a_{k+1} - a_{i+1})$, la fonction h_n étant strictement positive sur $[c_0, c_n]$.

Dans le cas $k = i$, d'après l'équation (4.5), φ_t est une fonction affine. ■

Grâce au Lemme 4, nous pouvons déterminer la convexité de φ_t^n sur tout intervalle $]a, b[\setminus J_n$. Pour étendre ce résultat à l'intervalle $]a, b[$, nous introduisons le lemme suivant.

LEMME 5

φ_t^n est continument différentiable sur $]a, b[$.

Preuve. Nous savons que φ_t^n est de classe C^∞ sur $]a, b[\setminus J_n$. Soit $X_0 \in J_n$ et soient $i, k \in \{0, \dots, n-1\}$ les indices tels que $X_0 = c_i$ ou $\varphi_t^n(X_0) = c_k$. Nous voulons montrer que la dérivée de φ_t^n est continue en X_0 . Nous nous contenterons de le prouver pour le cas où a_i, a_{i+1}, a_k et a_{k+1} sont non nuls, $X_0 = c_i$ et $\varphi_t^n(X_0) = c_k$; les autres cas peuvent être traités de façon analogue.

Soient $X_1 \in]c_{i-1}, c_i[$ tel que $\varphi_t^n(X_1) \in]c_{k-1}, c_k[$ et $X_2 \in]c_i, c_{i+1}[$ tel que $\varphi_t^n(X_2) \in]c_k, c_{k+1}[$. D'après (4.9),

$$\varphi_t^n(X_2) = \frac{h_n(c_k)}{a_{k+1}} h_n(X_2)^{\frac{a_{k+1}}{a_{i+1}}} M_{i,k}^{a_{k+1}} - \frac{b_{k+1}}{a_{k+1}}.$$

De même, en réécrivant l'expression (4.9), on obtient

$$\begin{aligned} \varphi_t^n(X_1) &= \frac{h_n(c_{k-1})}{a_k} h_n(X_1)^{\frac{a_k}{a_i}} M_{i-1,k-1}^{a_k} - \frac{b_k}{a_k}, \\ &= \frac{h_n(c_k)}{a_k} h_n(X_1)^{\frac{a_k}{a_i}} M_{i,k}^{a_k} h_n(X_0)^{\frac{a_k}{a_{i+1}} - \frac{a_k}{a_i}} - \frac{b_k}{a_k}. \end{aligned}$$

Dès lors,

$$(\varphi_t^n)'(X_2) = h_n(c_k)h_n(X_2)^{\frac{a_{k+1}}{a_{i+1}}-1}M_{i,k}^{a_{k+1}} \quad (4.10)$$

et

$$(\varphi_t^n)'(X_1) = h_n(c_k)h_n(X_1)^{\frac{a_k}{a_i}-1}M_{i,k}^{a_k}h_n(X_0)^{\frac{a_k}{a_{i+1}}-\frac{a_k}{a_i}}. \quad (4.11)$$

Par ailleurs, puisque h_n est continue et $\varphi_t^n(X_0) = c_k$, on obtient

$$c_k = \varphi_t^n(X_0) = \lim_{X_2 \rightarrow X_0} \varphi_t^n(X_2) = \frac{h_n(c_k)}{a_{k+1}}h_n(X_0)^{\frac{a_{k+1}}{a_{i+1}}}M_{i,k}^{a_{k+1}} - \frac{b_{k+1}}{a_{k+1}},$$

c'est à dire

$$a_{k+1}c_k + b_{k+1} = h_n(c_k) \left(h_n(X_0)^{\frac{1}{a_{i+1}}} M_{i,k} \right)^{a_{k+1}}. \quad (4.12)$$

Or, d'après (4.2), $h_n, h_n(c_k) = a_{k+1}c_k + b_{k+1} \neq 0$. On obtient donc

$$h_n(X_0)^{\frac{1}{a_{i+1}}} M_{i,k} = 1.$$

Finalement, d'après (4.10), (4.11) et (4.12), nous obtenons

$$\begin{aligned} \lim_{X_2 \rightarrow X_0^+} (\varphi_t^n)'(X_2) &= \frac{h_n(c_k)}{h_n(X_0)} \left(h_n(X_0)^{\frac{1}{a_{i+1}}} M_{i,k} \right)^{a_{k+1}} = \frac{h_n(c_k)}{h_n(X_0)}, \\ \lim_{X_1 \rightarrow X_0^-} (\varphi_t^n)'(X_1) &= \frac{h_n(c_k)}{h_n(X_0)} \left(h_n(X_0)^{\frac{1}{a_{i+1}}} M_{i,k} \right)^{a_k} = \frac{h_n(c_k)}{h_n(X_0)}, \end{aligned}$$

ce qui achève la preuve. ■

La convexité de φ_t^n peut désormais être déterminée sur l'intégralité de l'intervalle $]a, b[$, comme décrit dans la Proposition 7 ci-dessous.

Nous notons, pour tout $n \in \mathbb{N}^*$, h_n^* et *h_n les dérivées à droite et la dérivée à gauche, respectivement, de h_n . Ainsi, h_n^* et *h_n sont définies sur $]a, b[$ par

$$\begin{cases} {}^*h_n(x) = h_n^*(x) = h_n'(x) = a_{i+1}, & \text{si } x \in]c_i, c_{i+1}[, \\ {}^*h_n(c_i) = a_i, \quad h_n^*(c_i) = a_{i+1}. \end{cases} \quad (4.13)$$

PROPOSITION 7

Soit $X_0 \in]a, b[$. Alors φ_t^n est strictement convexe (resp. strictement concave, resp. affine) au voisinage de X_0 si et seulement si $h_n^*(X_0) - h_n^*(\varphi_t^n(X_0)) < 0$ (resp. > 0 , resp. $= 0$) et

${}^*h_n(X_0) - {}^*h_n(\varphi_t^n(X_0)) < 0$ (resp. > 0 , resp. $= 0$).

Le Lemme 4 fournit des conditions nécessaires et suffisantes pour déterminer la convexité de φ_t^n sur tout intervalle de $]a, b[\setminus J_n$. Le Lemme 5 assure que, pour tout $X_0 \in J_n$, si il existe $X_0^- < X_0$ et $X_0^+ > X_0$ tels que φ_t^n soit strictement convexe (resp. strictement concave, resp. affine) sur $]X_0^-, X_0^0[$ et $]X_0, X_0^+[$, alors elle est strictement convexe (resp. strictement concave, resp. affine) sur $]X_0^-, X_0^+[$. En effet, une fonction dérivable est strictement convexe (resp. strictement concave, resp. affine) sur un intervalle si et seulement si sa dérivée est strictement croissante (resp. strictement décroissante, resp. constante) sur cet intervalle. La continuité de $(\varphi_t^n)'$ sur $]a, b[$ assure que si $(\varphi_t^n)'$ est strictement croissante (resp. strictement décroissante, resp. constante) sur $]X_0^-, X_0^0[$ et $]X_0, X_0^+[$, alors $(\varphi_t^n)'$ est strictement croissante (resp. strictement décroissante, resp. constante) sur $]X_0^-, X_0^+[$.

La Proposition 7 est ainsi une conséquence immédiate des Lemmes 4 et 5.

4.2 Extension au cas d'une fonction régulière

Dans cette section, nous nous intéressons au problème de Cauchy (4.1) et nous nous appuyons sur la Proposition 7 pour démontrer le Théorème 1.

Rappelons que $h \in \mathcal{C}^1([a, b], \mathbb{R})$ est une fonction lipschitzienne, strictement positive sur $]a, b[$ et satisfaisant $h(b) = 0$. Pour tout $n \in \mathbb{N}^*$, considérons h_n , telle que définie en Section 4.1, l'interpolation linéaire d'ordre n de la fonction h sur $[a, b]$, avec distribution uniforme des noeuds. Autrement dit, avec les notations de la Section 4.1,

$$\begin{cases} \forall i \in \{0, \dots, n\}, & c_i = a + i \frac{b-a}{n}, \\ \forall i \in \{0, \dots, n-1\}, & a_{i+1} = \frac{h(c_{i+1}) - h(c_i)}{c_{i+1} - c_i} \text{ et } b_{i+1} = h(c_i) - a_{i+1} c_i. \end{cases} \quad (4.14)$$

Ainsi, pour tout $n \in \mathbb{N}^*$, h_n est continue, pour tout $i \in \{0, \dots, n\}$, $c_{i+1} - c_i = 1/n$ et $h_n(c_i) = h(c_i)$. De plus, on peut facilement montrer que la suite $(h_n)_{n \in \mathbb{N}^*}$ converge uniformément vers h sur $[a, b]$. En cas d'ambiguïté sur l'ordre n , nous l'indiquerons de la façon suivante : $a_i = a_i^{(n)}$, $b_i = b_i^{(n)}$ et $c_i = c_i^{(n)}$.

LEMME 6

Soit $X_0 \in [a, b]$, alors $\lim_{n \rightarrow +\infty} \varphi_t^n(X_0) = \varphi_t(X_0)$.

Preuve. Soient X et X_n les solutions respectives de (4.1) et (4.3). Par convergence uniforme de $(h_n)_{n \in \mathbb{N}^*}$ vers h , pour tout $\varepsilon > 0$, il existe $n_\varepsilon \in \mathbb{N}^*$ tel que pour tout $n \geq n_\varepsilon$ et tout $x \in [a, b]$, $|h(x) - h_n(x)| < \varepsilon$. Ainsi, pour tout $x \in [a, b]$, $h(x) - \varepsilon \leq h_n(x) \leq h(x) + \varepsilon$.

Soit $\varepsilon > 0$, considérons X_ε et $X_{-\varepsilon}$ les solutions respectives de $X'_\varepsilon = h(X_\varepsilon) + \varepsilon$ et $X'_{-\varepsilon} = h(X_{-\varepsilon}) - \varepsilon$ satisfaisant $X_\varepsilon(0) = X_{-\varepsilon}(0) = X_0$. Alors, pour tout $n \geq n_\varepsilon$ et tout $s > 0$,

$$X_n(s) \in [X_\varepsilon(s), X_{-\varepsilon}(s)]. \quad (4.15)$$

Il nous reste à montrer que $\lim_{\varepsilon \rightarrow 0^+} X_\varepsilon(t) = \lim_{\varepsilon \rightarrow 0^+} X_{-\varepsilon}(t) = X(t)$. Posons $Z = X - X_\varepsilon$. Puisque h est Lipschitzienne, il existe $C_h > 0$ tel que, pour tout $s \geq 0$,

$$|Z'(s)| = |h(X(s)) - h(X_\varepsilon(s)) - \varepsilon| \leq C_h |X(s) - X_\varepsilon(s)| + \varepsilon = C_h |Z(s)| + \varepsilon.$$

Le lemme de Gronwall donne alors,

$$\forall s \geq 0, |Z(s)| \leq |Z(0)|e^{C_h s} + \frac{\varepsilon}{C_h}(e^{C_h s} - 1) = \frac{\varepsilon}{C_h}(e^{C_h s} - 1).$$

Par conséquent $\lim_{\varepsilon \rightarrow 0^+} Z(t) = 0$, c'est à dire $\lim_{\varepsilon \rightarrow 0^+} X_\varepsilon(t) = X(t)$. En procédant de même, on obtient $\lim_{\varepsilon \rightarrow 0^+} X_{-\varepsilon}(t) = X(t)$. Ainsi $\lim_{n \rightarrow +\infty} X_n(t) = X(t)$. ■

Enfin, appliquons le Lemme 6 et la Proposition 7 pour achever la preuve du Théorème 1.

Preuve du Théorème 1. Nous nous contentons de donner ici la preuve du cas où $h'(\varphi_t(X_0)) - h'(X_0) > 0$; la preuve du cas $h'(\varphi_t(X_0)) - h'(X_0) < 0$ est analogue.

Soit $x \in]a, b[$ et $(x_n)_{n \in \mathbb{N}}$ une suite telle que $\forall n \in \mathbb{N}$, $x_n \in]a, b[$ et $\lim_{n \rightarrow +\infty} x_n = x$. Nous commençons par montrer que

$$\lim_{n \rightarrow +\infty} h_n^*(x_n) = \lim_{n \rightarrow +\infty} {}^*h_n(x_n) = h'(x), \quad (4.16)$$

avec h_n^* et *h_n définies par (4.13).

Pour tout $n \in \mathbb{N}^*$, il existe un unique $i \in \{0, \dots, n-1\}$ tel que $x_n \in [c_i^{(n)}, c_{i+1}^{(n)}[$, notons le $i = i_n$. Puisque $\lim_{n \rightarrow +\infty} x_n = x$ et que,

$$\forall i \in \{0, \dots, n-1\}, \lim_{n \rightarrow +\infty} |c_{i+1}^{(n)} - c_i^{(n)}| = \lim_{n \rightarrow +\infty} 1/n = 0,$$

on obtient

$$\lim_{n \rightarrow +\infty} c_{i_n-1}^{(n)} = \lim_{n \rightarrow +\infty} c_{i_n+1}^{(n)} = x. \quad (4.17)$$

L'application du théorème des accroissements finis à l'expression de a_i donnée par (4.14) montre que, pour tout $n \in \mathbb{N}^*$, il existe $\alpha_n \in]c_{i_n-1}^{(n)}, c_{i_n}^{(n)}[$ et $\beta_n \in]c_{i_n}^{(n)}, c_{i_n+1}^{(n)}[$ tels que

$$a_{i_n} = h'(\alpha_n) \text{ et } a_{i_n+1} = h'(\beta_n). \quad (4.18)$$

Puisque $h \in \mathcal{C}^1([a, b], \mathbb{R})$, les équations (4.17) et (4.18) permettent de conclure que

$$\lim_{n \rightarrow +\infty} a_{i_n} = \lim_{n \rightarrow +\infty} a_{i_n+1} = h'(x). \quad (4.19)$$

D'autre part, d'après (4.13), pour tout $n \in \mathbb{N}^*$,

$$h_n^*(x_n), {}^*h_n(x_n) \in \{a_{i_n}, a_{i_n+1}\}. \quad (4.20)$$

L'équation (4.16) résulte immédiatement des équations (4.19) et (4.20). En particulier, en considérant le cas $x_n = x$ et le cas $x_n = \varphi_\omega^n(x)$ – on rappelle que $\lim_{n \rightarrow +\infty} \varphi_\omega^n(x) = \varphi_\omega(x)$ (Lemme 6) –, on obtient

$$\begin{cases} \lim_{n \rightarrow +\infty} h_n^*(x) = \lim_{n \rightarrow \infty} {}^*h_n(x) = h'(x), \\ \lim_{n \rightarrow +\infty} h_n^*(\varphi_t^n(x)) = \lim_{n \rightarrow \infty} {}^*h_n(\varphi_t^n(x)) = h'(\varphi(x)). \end{cases} \quad (4.21)$$

Par hypothèse $h'(\varphi_t(X_0)) > h'(X_0)$, puisque h' et φ_t sont continues, il existe un voisinage I_{X_0} de X_0 tel que, pour tout $y \in I_{X_0}$, $h'(\varphi_t(y)) > h'(y)$.

De plus, (4.21) implique qu'il existe un voisinage $J_{X_0} \subset I_{X_0}$ de X_0 et $N_0 \in \mathbb{N}^*$ tels que pour tout $n \geq N_0$ et tout $y \in J_{X_0}$,

$${}^*h_n(y) < {}^*h_n(\varphi_t^n(y)) \text{ et } h_n^*(y) < h_n^*(\varphi_t^n(y)).$$

Selon la Proposition 7, pour tout $n \geq N_0$, φ_t^n est strictement convexe sur J_{X_0} .

Finalement, en tant que limite d'une suite de fonctions strictement convexes (Lemme 4), φ_t est convexe sur J_{X_0} . ■

Dans ce chapitre, nous avons introduit et prouvé le Théorème 1, permettant d'étudier

la convexité du flot d'une équation différentielle ordinaire autonome. Dans les chapitres suivants, nous appliquons les résultats présentés dans les Chapitres 3 et 4 au cas particulier d'une EDI modélisant la concentration de la protéine Tbet dans un lymphocyte T-CD8 et la répartition inégale des protéines lors de la division cellulaire.

Équation sur la concentration de Tbet dans un lymphocyte T-CD8

Nous voudrions ici étudier comment la distribution inégale du contenu moléculaire lors des divisions cellulaires peut contribuer à l'émergence de deux sous-populations de lymphocytes T-CD8 effecteurs, la première étant composée de cellules capables de développer des propriétés de lymphocytes mémoires (ces cellules sont alors caractérisées par une faible expression de Tbet) ; la seconde étant composée de cellules destinées à mourir au cours de la phase de contraction cellulaire [70, 84] (ces cellules sont caractérisées par une forte expression de Tbet). Nous faisons donc l'hypothèse que, quand un lymphocyte T-CD8 se divise, le contenu moléculaire de la cellule mère n'est pas réparti équitablement entre les cellules filles mais que, au contraire, cette division donne naissance à deux cellules ayant des contenus moléculaires différents [15, 128] ; en l'occurrence, différentes concentrations de Tbet.

Dans ce chapitre, nous commençons par introduire une équation différentielle modélisant la dynamique de la concentration de Tbet en l'absence de division cellulaire. Nous proposons ensuite d'étudier une IDE décrivant la concentration de Tbet dans un seul lymphocyte T-CD8 étant soumis, à instants fixés, à des divisions inégales. Nous nous intéressons à l'existence et la stabilité de solutions périodiques de cette EDI. Ces résultats seront discutés, au regard de notre problématique biologique initiale, dans le Chapitre 6.

5.1 Dynamique de la concentration de Tbet en l'absence de division

Nous modélisons l'évolution de la concentration X de Tbet dans un lymphocyte en l'absence de division, ou entre deux divisions consécutives, par l'équation différentielle autonome suivante :

$$\frac{dX}{dt} = f(X) := \eta \frac{X^n}{\theta^n + X^n} - \delta X, \quad (5.1)$$

où n , η , θ et δ sont des nombres réels strictement positifs et $n > 1$. Le premier terme dans l'expression de f rend compte d'une boucle de rétroaction positive (d'où la contrainte $n > 1$) entre la protéine Tbet et le gène *Tbx21* codant cette même protéine [51, 76, 116]. Le second terme dans l'expression de f correspond à la dégradation de protéines et à leur dilution due à la croissance cellulaire.

Nous ne considérerons que les solutions positives de (5.1), les seules à avoir un sens biologique. La Proposition 8, dont la preuve sera omise, traite de l'existence et de la stabilité d'équilibres pour l'équation autonome (5.1). Cette proposition est illustrée par la Figure 5.1.

PROPOSITION 8

Soit $\Theta = \theta \sqrt[n]{(n-1)/(n+1)}$, alors

- i) Θ est un point d'inflexion de f : f est strictement convexe sur $]0, \Theta[$ et strictement concave sur $]\Theta, +\infty[$;
- ii) si $\eta(n-1)^{\frac{n-1}{n}} < n\delta\theta$, la solution nulle $X \equiv 0$ est l'unique équilibre de (5.1) et elle est globalement asymptotiquement stable (sur \mathbb{R}^+);
- iii) si $\eta(n-1)^{\frac{n-1}{n}} = n\delta\theta$, l'équation (5.1) admet exactement deux équilibres : $X \equiv 0$, qui est localement asymptotiquement stable, et $X \equiv \theta \sqrt[n]{n-1}$ qui est instable (attractive sur $]\theta \sqrt[n]{n-1}, +\infty[$ et répulsive sur $]0, \theta \sqrt[n]{n-1}[$);
- iv) si $\eta(n-1)^{\frac{n-1}{n}} > n\delta\theta$, l'équation (5.1) admet exactement trois équilibres $0 < X_u < X_s$. La solution $X \equiv 0$ est localement asymptotiquement stable (attractive sur $]0, X_u[$), $X \equiv X_u$ est instable et $X \equiv X_s$ est localement asymptotiquement stable (attractive sur $]X_u, +\infty[$). De plus, $0 < X_u < \theta \sqrt[n]{n-1} < X_s < \eta/\delta$ et $\Theta \in]0, X_s[$.

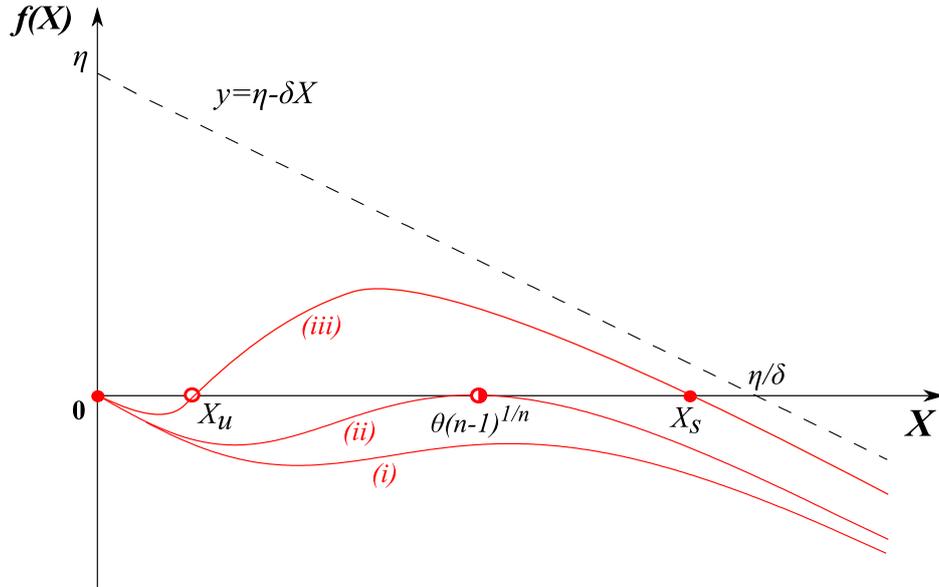


FIGURE 5.1: **Équilibres de l'équation (5.1)** ; rouge : stable, blanc : instable. Les courbes rouges correspondent aux trois cas discutés dans la Proposition 8. La droite pointillée est le graphe de la fonction $X \mapsto \eta - \delta X$.

Pour des raison de modélisation, nous nous intéresserons dans la suite au cas où (5.1) est bistable (cas *ii*) de la Proposition 8). Par conséquent nous emploierons l'hypothèse suivante :

(**H₃**) L'inégalité $\eta(n-1)^{\frac{n-1}{n}} > n\delta\theta$ est vérifiée.

5.2 Modélisation des divisions inégales par des impulsions

Pour modéliser le phénomène de divisions inégales, illustré par la Figure 5.2, nous considérons l'EDI (5.2) suivante, qui est un cas particulier de (2.1),

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dX(t)}{dt} = f(X(t)), \quad t \in \mathbb{R}^+ \setminus \{\tau_k, k \in \mathbb{N}^*\}, \\ X(\tau_k^+) = (1 + \alpha_k)X(\tau_k^-), \quad k \in \mathbb{N}^*, \\ X(0) = X_0 \in \mathbb{R}^+. \end{array} \right. \quad (5.2)$$

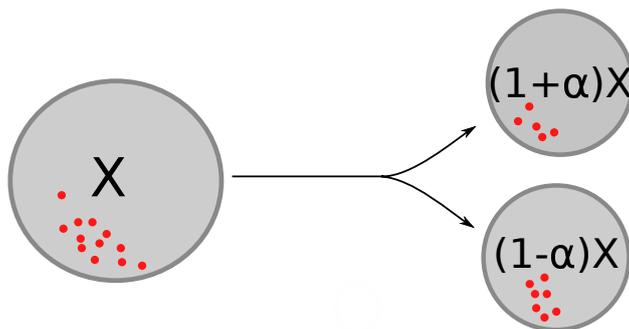


FIGURE 5.2: **Partage inégal du contenu moléculaire lors d'une division.** En se divisant, une cellule donne naissance à deux cellules filles qui lui sont deux fois inférieures en volume. Si la concentration de protéines (points rouges) dans la cellule mère est égale à X , les deux cellules filles héritent respectivement de concentrations $(1 + \alpha)X$ et $(1 - \alpha)X$, $-1 \leq \alpha \leq 1$. En particulier, $\alpha = 0$ si le partage des protéines est équitable.

Cette EDI décrit l'effet de divisions inégales, survenant à instants fixés τ_k , $k \in \mathbb{N}^*$, sur la concentration X de la protéine Tbet dans un lymphocyte T-CD8 subissant une série de divisions cellulaires. À chaque temps τ_k , $k \in \mathbb{N}^*$, la cellule se divise. L'une de ses cellules filles hérite d'une concentration $(1 + \alpha_k)X(\tau_k^-)$ de protéine Tbet, où $X(\tau_k^-)$ est la concentration de Tbet dans la cellule mère avant qu'elle ne se divise ; la seconde cellule fille, que nous ne modélisons pas, hérite de la concentration $(1 - \alpha_k)X(\tau_k^-)$, de telle sorte que la concentration moyenne dans les deux cellules filles reste égale à $X(\tau_k^-)$ [51, 116]. De cette façon, chaque cellule fille étant supposée deux fois moins volumineuse que la cellule mère, la masse totale est préservée lors de la division. Notons que pour être biologiquement cohérent, pour tout $k \in \mathbb{N}^*$, α_k doit appartenir à l'intervalle $[-1, 1]$.

Puisque f est lipschitzienne sur \mathbb{R}^+ et $f(0) = 0$, le Système (5.2) est un cas particulier du Système (2.1) où $g = f$ et $U = \mathbb{R}^+$. Les résultats présentés dans les Chapitres 3 et 4 s'appliquent donc au Système (5.2).

Dans cette section, nous supposons que les hypothèses (\mathbf{H}_1) , (\mathbf{H}_2) et (\mathbf{H}_3) sont vérifiées et nous nous intéressons aux solutions périodiques de (5.2). Nous avons vu (Proposition 3) que la plus petite période de ces solutions périodiques, lorsqu'elle ne sont pas constantes, est ω .

Le Théorème 2 ci-dessous recense les solutions périodiques de (5.2) sous les hypothèses (\mathbf{H}_1) , (\mathbf{H}_2) et (\mathbf{H}_3) et pour différentes valeurs de α . Il est illustré par les Figures 5.3 et

5.4. Sa démonstration est donnée en Section 5.3.

THÉORÈME 2

Supposons les hypothèses (\mathbf{H}_1) , (\mathbf{H}_2) et (\mathbf{H}_3) vérifiées. Alors, il existe $\alpha^* \in (-1, 0)$ et un intervalle non vide $I = [I_m, I_M] \subset [X_u, X_s)$ tel que

- i) si $\alpha < \alpha^*$, $X \equiv 0$ est l'unique solution périodique de (5.2) et elle est globalement asymptotiquement stable;
- ii) $X(\cdot, X_0, \alpha^*)$ est périodique si et seulement si $X_0 \in \{0\} \cup I$;
- iii) si $\alpha^* < \alpha < \exp(\delta\omega) - 1$, (5.2) admet exactement trois solutions périodiques : $X \equiv 0$, $X(\cdot; X_l, \alpha)$ et $X(\cdot; X_h, \alpha)$ où $0 < X_l < X_h$ et ces solutions sont respectivement localement asymptotiquement stable (attractive sur $[0, X_l[)$, instable (répulsive sur $]0, X_l[\cup]X_l, X_h[$) et localement asymptotiquement stable (attractive sur $]X_l, +\infty[$. De plus, X_l (resp. X_h) est une fonction décroissante (resp. croissante) de α . En particulier, si $\alpha < 0$, $X_l \in]X_u, I_m[$ et $X_h \in]I_M, X_s[$, si $\alpha = 0$, $X_l = X_u$ et $X_h = X_s$, si $\alpha > 0$, $X_l \in]0, X_u[$ et $X_h \in]X_s, +\infty[$;
- iv) si $\alpha \geq \exp(\delta\omega) - 1$, $X \equiv 0$ est l'unique solution périodique de (5.2), elle est instable et pour tout $X_0 > 0$, $\lim_{t \rightarrow +\infty} X(t; X_0, \alpha) = +\infty$.

De plus,, si $\Theta \neq X_u$, $I \subset]X_u, X_s[$, et si $\Theta = X_u$, $I = \{X_u\}$.

La Figure 5.4, propose une illustration numérique des résultats du Théorème 2 lorsque $\omega = 360$ min et avec les valeurs de paramètres suivantes, satisfaisant (\mathbf{H}_3) ,

$$\begin{aligned} \eta &= 0.05 \text{ mol.L}^{-1}.\text{min}^{-1}, & \theta &= 35 \text{ mol.L}^{-1}, \\ \delta &= 4.1 \times 10^{-4} \text{ min}^{-1}, & n &= 3. \end{aligned} \tag{5.3}$$

Notons que d'après la Figure 5.4.(C) (ainsi que la Figure 5.5), l'intervalle I du Théorème 2 est réduit à un singleton, c'est à dire $I_m = I_M \approx 41.5 \text{ mol.L}^{-1}$. De plus, $X_u \approx 20.5 \text{ mol.L}^{-1}$, $X_s \approx 119 \text{ mol.L}^{-1}$, $\alpha^* \approx -0.116$ et $\exp(\delta\omega) - 1 \approx 0.159$.

5.3 Preuve du Théorème 2

Désormais φ_ω désigne le flot associé à l'équation (5.1) au temps ω , tel que défini par (3.5). Remarquons qu'en tant que quotient de fonctions continues, la fonction Γ_ω , définie

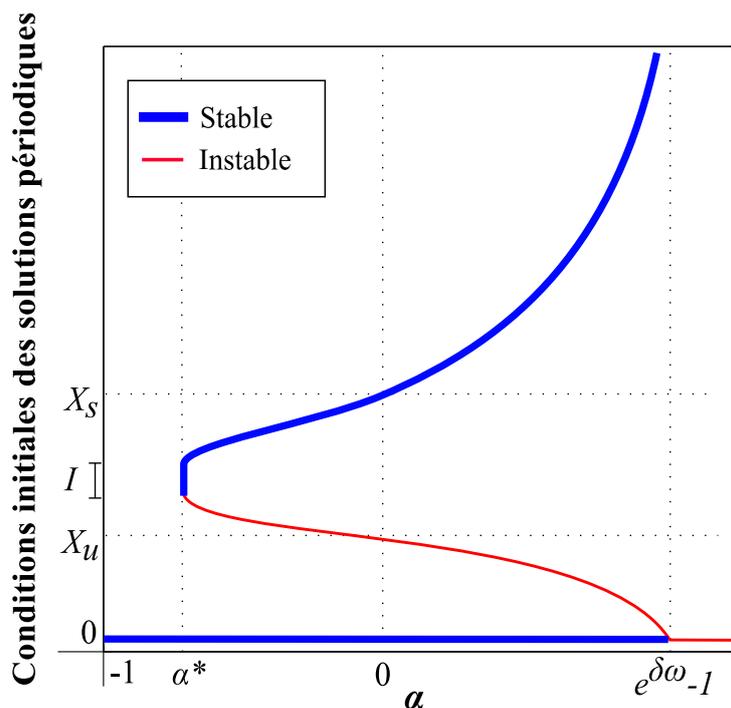


FIGURE 5.3: Conditions initiales des solutions périodiques de (5.2) sous les hypothèses (\mathbf{H}_1) , (\mathbf{H}_2) et (\mathbf{H}_3) avec les notations du Théorème 2. Pour tout $\alpha > -1$, les conditions initiales X_0 telles que $X(\cdot; X_0, \alpha)$ est périodique et stable (resp. instable) sont tracées en trait bleu et épais (resp. rouge et fin).

par (3.8), est continue partout où φ_ω ne s'annule pas. Ici, $f(0) = 0$ donc $\varphi_\omega^{-1}(0) = 0$ et la fonction Γ_ω est définie sur \mathbb{R}^+ et elle y est continue.

La stabilité des solutions périodiques de (5.2) peut également être déduite de l'étude de Γ_ω (Remarque 1). En effet, soit $X_0 > 0$, alors, d'après (3.7) et (3.8), $\gamma_{\omega,\alpha}(X_0) > 0$ (resp. $\gamma_{\omega,\alpha}(X_0) < 0$, resp. $\gamma_{\omega,\alpha}(X_0) = 0$) si et seulement si $\Gamma_\omega(X_0) < \alpha$ (resp. $\Gamma_\omega(X_0) > \alpha$, resp. $\Gamma_\omega(X_0) = \alpha$). Ainsi, on peut conclure sur le comportement asymptotique de $X(\cdot; X_0, \alpha)$ à partir de la Proposition 4 en étudiant le graphe de Γ_ω .

COROLLAIRE 2

Supposons les hypothèses (\mathbf{H}_1) , (\mathbf{H}_2) et (\mathbf{H}_3) vérifiées. Soit $X_0 > 0$ tel que $\Gamma_\omega(X_0) = \alpha$. Si Γ_ω est strictement croissante (resp. décroissante) sur un voisinage de X_0 , alors $X(\cdot; X_0, \alpha)$ est asymptotiquement stable (resp. instable).

Pour prouver le Théorème 2, nous allons appliquer la Proposition 5 et le Corollaire 2 au Système (5.2). Pour cela, nous commençons par introduire des résultats préliminaires sur φ_ω et Γ_ω .

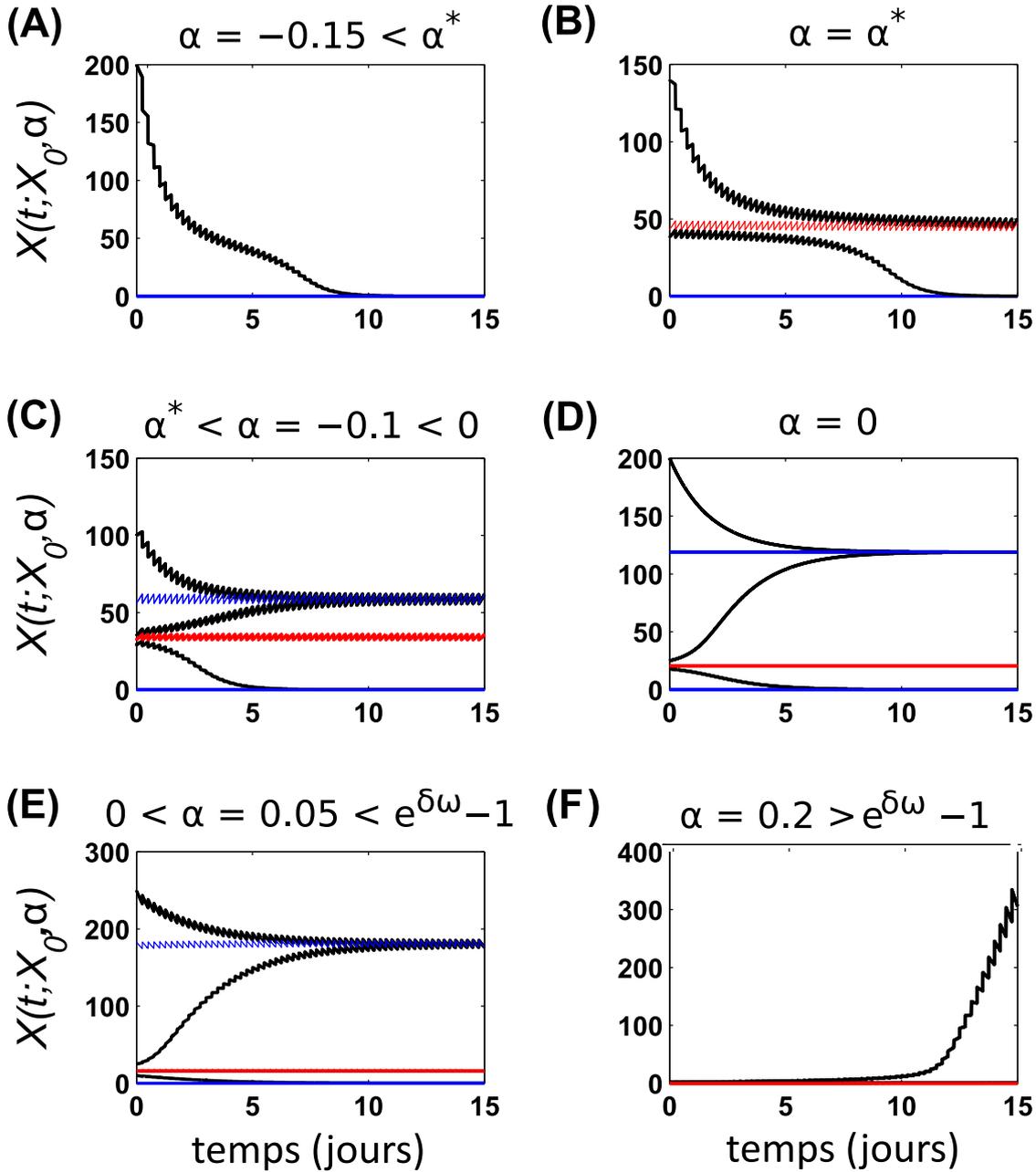


FIGURE 5.4: Solutions du Système (5.2), sous les hypothèses (H_1) , (H_2) et (H_3) , pour différentes conditions initiales et différentes valeurs de α correspondant aux six cas mentionnés par le Théorème 2. Les solutions périodiques stables (resp. instables) sont tracées en bleu (resp. en rouge) et les solutions non périodiques sont tracées en noir. (A) $\alpha < \alpha^*$ et toute solution positive de (5.2) converge vers la solution constante $X \equiv 0$; (B) $\alpha = \alpha^*$ et pour tout $X_0 > I_m$ la solution $X(\cdot; X_0, \alpha^*)$ converge vers la solution périodique $X(\cdot; I_m, \alpha^*)$ tandis que pour tout $X_0 < I_m$, la solution $X(\cdot; X_0, \alpha^*)$ converge vers la solution constante $X \equiv 0$; (C), (D), (E) correspondent aux trois cas bistables : deux solutions périodiques stables sont isolées par une solution périodique instable (en particulier, (D) correspond à la situation sans impulsion); (F) $\alpha > \exp(\delta\omega) - 1$ et toute solution non nulle de (5.2) diverge vers $+\infty$.

LEMME 7

Supposons les hypothèses (\mathbf{H}_1) , (\mathbf{H}_2) et (\mathbf{H}_3) vérifiées. Alors

$$\lim_{X_0 \rightarrow 0^+} \Gamma_\omega(X_0) = \lim_{X_0 \rightarrow +\infty} \Gamma_\omega(X_0) = \exp(\delta\omega) - 1.$$

Preuve. Réécrivons l'équation (5.1) sous la forme $X'(t) = \mathcal{H}(X(t)) - \delta X(t)$ avec

$$\mathcal{H} : x \in \mathbb{R}^+ \mapsto \eta \frac{x^n}{\theta^n + x^n} \in [0, \eta[.$$

Puis, pour tout $X_0 \in \mathbb{R}_*^+$,

$$\varphi_\omega(X_0) = X(\omega; X_0, 0) = X_0 e^{-\delta\omega} + e^{-\delta\omega} \int_0^\omega e^{\delta s} \mathcal{H}(X(s)) \, ds,$$

ainsi

$$\frac{\varphi_\omega(X_0)}{X_0} = e^{-\delta\omega} + e^{-\delta\omega} \int_0^\omega e^{\delta s} \frac{\mathcal{H}(X(s))}{X_0} \, ds. \quad (5.4)$$

Puisque $\mathcal{H} < \eta$ sur \mathbb{R}^+ et $e^{\delta s} \leq e^{\delta\omega}$ pour tout $s \in]0, \omega[$, on obtient

$$0 \leq e^{-\delta\omega} \int_0^\omega e^{\delta s} \frac{\mathcal{H}(X(s))}{X_0} \, ds \leq \omega \frac{\eta}{X_0}.$$

En injectant cette majoration dans (5.4) nous obtenons

$$\lim_{X_0 \rightarrow +\infty} \frac{\varphi_\omega(X_0)}{X_0} = \exp(-\delta\omega)$$

et ainsi, d'après (3.8), $\lim_{X_0 \rightarrow +\infty} \Gamma_\omega(X_0) = \exp(\delta\omega) - 1$.

Étudions à présent la limite de Γ_ω lorsque X_0 tend vers zéro. Rappelons que si $X_0 < X_u$, alors $f(X_0) < 0$ et $X(\cdot; X_0, 0)$ décroît sur $[0, \omega]$. Par conséquent, pour $s \in [0, \omega]$, $X(\omega) \leq X(s) \leq X_0$, si bien que

$$\frac{\mathcal{H}(X(s))}{X_0} = \eta \frac{X(s)^n}{(\theta^n + X(s)^n) X_0} \leq \eta \frac{X_0^{n-1}}{\theta^n + X(\omega)^n}.$$

Ainsi

$$e^{-\delta\omega} \int_0^\omega e^{\delta s} \frac{\mathcal{H}(X(s))}{X_0} \, ds \leq \omega \eta \frac{X_0^{n-1}}{\theta^n + X(\omega)^n}.$$

Finalement, d'après (5.4),

$$\lim_{x_0 \rightarrow 0^+} \frac{\varphi_\omega(X_0)}{X_0} = \exp(-\delta\omega),$$

donc $\lim_{X_0 \rightarrow 0^+} \Gamma_\omega(X_0) = \exp(\delta\omega) - 1$ et la preuve est complète. \blacksquare

LEMME 8

Supposons les hypothèses (\mathbf{H}_1) , (\mathbf{H}_2) et (\mathbf{H}_3) vérifiées. Alors il existe un unique $X_c \in]0, X_s[$ tel que φ_ω soit convexe sur $]0, X_c[$ et concave sur $]X_c, +\infty[$. De plus, $X_c = X_u$ si et seulement si $X_u = \Theta$, où Θ est défini dans la Proposition 8.

Preuve. D'après la Proposition 8, $\Theta \in]0, X_s[$. Supposons d'abord que $\Theta \in]X_u, X_s[$, la preuve du cas $\Theta \in]0, X_u[$ est analogue et sera omise, le cas $X_u = \Theta$ sera traité ensuite. Afin d'appliquer le Théorème 1, étudions le signe de $f' - f' \circ \varphi_\omega$ sur $]0, +\infty[$.

En tant qu'équilibres de (5.1), 0 , X_u et X_s sont des points fixes de φ_ω . Ainsi, si $x \in \{0, X_u, X_s\}$, alors $f'(x) - f'(\varphi_\omega(x)) = 0$.

Si $X_0 \in]0, X_u[\cup]X_s, +\infty[$, alors $f(X_0) < 0$ et la solution de (5.2) décroît sur $[0, \omega[$, ainsi $0 < \varphi_\omega(X_0) < X_0$. D'après la Proposition 8, f est strictement convexe sur $]0, X_u[\subset]0, \Theta[$ et strictement concave sur $]X_s, +\infty[\subset]\Theta, +\infty[$. Par conséquent, pour tout $X_0 \in]0, X_u[$, $f'(X_0) - f'(\varphi_\omega(X_0)) > 0$ et pour tout $X_0 \in]X_s, +\infty[$, $f'(X_0) - f'(\varphi_\omega(X_0)) < 0$.

Si $X_0 \in]X_u, X_s[$, alors $f(X_0) > 0$ et la solution de (5.2) croît sur $[0, \omega[$ et $\varphi_\omega(X_0) > X_0$. De plus, si $X_0 \in]X_u, \varphi_\omega^{-1}(\Theta)[$, alors $\varphi_\omega(X_0) \in]X_0, \Theta[$, c'est à dire $X_u < X_0 < \varphi_\omega(X_0) < \Theta$. Puisque f est strictement convexe sur $]X_u, \Theta[$ (Proposition 8), alors $f'(X_0) - f'(\varphi_\omega(X_0)) < 0$. De la même façon, pour tout $X_0 \in [\Theta, X_s[$, $f'(X_0) - f'(\varphi_\omega(X_0)) > 0$. Il reste à montrer l'existence d'un unique $X_c \in]\varphi_\omega^{-1}(\Theta), \Theta[$ tel que $f'(X_c) - f'(\varphi_\omega(X_c)) = 0$.

Puisque $f, \varphi_\omega \in \mathcal{C}^\infty(\mathbb{R}^+)$, alors $f' - f' \circ \varphi_\omega \in \mathcal{C}^\infty(\mathbb{R}^+)$. Ainsi il existe $X_c \in]\varphi_\omega^{-1}(\Theta), \Theta[$ tel que $f'(X_c) - f'(\varphi_\omega(X_c)) = 0$. Supposons qu'il existe $Y_c \in]\varphi_\omega^{-1}(\Theta), \Theta[$, $Y_c \neq X_c$, tel que $f'(Y_c) - f'(\varphi_\omega(Y_c)) = 0$. Sans perte de généralité, nous pouvons considérer que $Y_c > X_c$. Puisque φ_ω est croissante et $\varphi_\omega(X_s) = X_s$, il vient que $X_c < Y_c < \Theta < \varphi_\omega(X_c) < \varphi_\omega(Y_c) < \varphi_\omega(\Theta) < X_s$. D'après la Proposition 8, f est strictement convexe sur $] \varphi_\omega^{-1}(\Theta), \Theta[$, d'où $f'(X_c) < f'(Y_c)$. D'autre part, d'après la Proposition 8, f est strictement concave sur (Θ, X_s) , d'où $f'(\varphi_\omega(X_c)) > f'(\varphi_\omega(Y_c))$. Il y a là une contradiction puisque $f'(X_c) = f'(\varphi_\omega(X_c))$ et $f'(Y_c) = f'(\varphi_\omega(Y_c))$.

Ainsi $f'(\varphi_\omega(x)) = f'(x)$ si et seulement si $x \in \{0, X_u, X_c, X_s\}$ et $f'(\varphi_\omega(x)) - f'(x) < 0$

(resp. > 0) si $x \in]0, X_u[\cup]X_c, X_s[$ (resp. if $x \in]X_u, X_c[\cup]X_s, +\infty[$).

D'après la Remarque 2 qui suit le Théorème 1, puisque $f < 0$ sur $]0, X_u[\cup]X_s, +\infty[$, nous pouvons conclure que φ_ω est convexe sur $]0, X_u[$ ainsi que sur $]X_u, X_c[$ et concave sur $]X_c, X_s[$ ainsi que sur $]X_s, +\infty[$. Puisque $\varphi_\omega \in \mathcal{C}^\infty(\mathbb{R}^+)$, φ_ω est convexe sur $]0, X_c[$ et concave sur $]X_c, +\infty[$.

Enfin, dans le cas $X_u = \Theta$, f est strictement convexe sur $]0, X_u[$ et strictement concave sur $]X_u, +\infty[$. Ainsi $f'(\varphi_\omega(x)) - f'(x) < 0$ si $x \in]0, X_u[\cup]X_u, X_s[$ et $f'(\varphi_\omega(x)) - f'(x) < 0$ si $x \in]X_s, +\infty[$. Par conséquent φ_ω est convexe sur $]0, X_u[$ et concave sur $]X_u, +\infty[$, *i.e.* $X_c = X_u$. ■

LEMME 9

Supposons les hypothèses (\mathbf{H}_1) , (\mathbf{H}_2) et (\mathbf{H}_3) vérifiées. Alors il existe $\beta > 1$ et $x_\beta > 0$ tels que pour tout $x > 0$, $\varphi_\omega(x) \leq \beta x$ et $\varphi_\omega(x_\beta) = \beta x_\beta$. De plus, s'il existe $x > 0$ tel que $\varphi_\omega(x) = \beta x$, alors $\varphi'_\omega(x) = \beta$.

Preuve. La fonction $x \mapsto \varphi_\omega(x)/x$ est continue sur \mathbb{R}_*^+ et, en particulier, sur l'intervalle fermé $[X_u, X_s]$, elle y admet donc un maximum $\beta = \max_{x \in [X_u, X_s]} \varphi_\omega(x)/x$. De plus, pour tout $x \in]X_u, X_s[$, $\varphi_\omega(x)/x > 1$ et pour tout $x \in]0, X_u[\cup]X_s, +\infty[$, $\varphi_\omega(x)/x \leq 1$. Par conséquent, $\beta = \max_{x > 0} \varphi_\omega(x)/x$ et $\beta > 1$. Ainsi, il existe $x_\beta \in [X_u, X_s]$ tel que $\varphi_\omega(x_\beta) = \beta x_\beta$ et, pour tout $x > 0$, $\varphi_\omega(x) \leq \beta x$.

Soit $x > 0$ tel que $\varphi_\omega(x)/x = \beta$. Alors $x \in \arg \max_{x > 0} (\varphi_\omega/id)$, où id est la fonction identité sur \mathbb{R}^+ . En tant qu'extremum d'une fonction de classe \mathcal{C}^∞ , x satisfait $(\varphi_\omega/id)'(x) = 0$. C'est à dire $\varphi'_\omega(x) = \varphi_\omega(x)/x = \beta$. ■

DÉFINITION 4

Pour $\omega > 0$, lorsque l'hypothèse (\mathbf{H}_3) est vérifiée, X_c désigne le point d'inflexion de φ_ω introduit par le Lemme 8, $\beta := \max_{x > 0} (\varphi_\omega(x)/x)$, dont l'existence est assurée par le Lemme 9, et $I := \{x > 0, \varphi_\omega(x) = \beta x\}$. Notons que X_c , β et I dépendent de la valeur de ω .

LEMME 10

Supposons les hypothèses (\mathbf{H}_1) , (\mathbf{H}_2) et (\mathbf{H}_3) vérifiées et soit $x \geq 0$. Aors

- i) $I = [I_m, I_M]$ avec $X_c < I_m \leq I_M < X_s$,
- ii) si $x \in]0, I_m[$, alors $\varphi'_\omega(x) > \varphi_\omega(x)/x$ et si $x \in]I_M, +\infty[$, alors $\varphi'_\omega(x) < \varphi_\omega(x)/x$.
 Sinon, $\varphi'_\omega(x) = \varphi_\omega(x)/x$.

Preuve. Commençons par prouver le point **i**).

D'après le Lemme 9, I est non vide et $I \subset]X_u, X_s[$. De plus $I = (\varphi_\omega/id)^{-1}(\{\beta\})$, où id est la fonction identité, et, puisque φ_ω/id est continue sur $]0, +\infty[$, I est un ensemble fermé. Montrons que $I \subset]X_c, X_s[$.

Procédons par l'absurde. Supposons qu'il existe $x_0 \in I$ tel que $X_u < x_0 \leq X_c$. D'après les Lemmes 8 et 9, pour tout $0 < x < x_0$, $\varphi'_\omega(x) \leq \varphi'_\omega(x_0) = \beta$. Ainsi la fonction $x \mapsto \varphi_\omega(x) - \beta x$ est décroissante sur $]0, x_0[$. Par conséquent, pour tout $x \in]0, x_0[$, $\varphi_\omega(x) - \beta x \geq \varphi_\omega(x_0) - \beta x_0 = 0$, par définition de x_0 , et en particulier $\varphi_\omega(X_u) - \beta X_u \geq 0$.

D'autre part, X_u étant un équilibre de (5.1), $\varphi_\omega(X_u) = X_u$ et, puisque $\beta > 1$ (Lemme 9), $\varphi_\omega(X_u) - \beta X_u = X_u(1 - \beta) < 0$. Nous avons obtenu une contradiction, ainsi $I \subset (X_c, X_s)$.

Il nous reste à montrer que I est un intervalle. Si I est un singleton, la preuve est terminée. Soient $x_0, y_0 \in I$ avec $x_0 < y_0$ et soit $z_0 \in]x_0, y_0[$. Puisque $x_0 > X_c$ et que φ_ω est concave sur $]X_c, +\infty[$, il découle du Lemme 9 et de la Définition 4 que

$$\beta = \varphi'_\omega(x_0) \geq \varphi'_\omega(z_0) \geq \varphi'_\omega(y_0) = \beta.$$

Ainsi $\varphi'_\omega(z_0) = \beta$ pour tout $z_0 \in]x_0, y_0[$, donc φ_ω est affine sur $]x_0, y_0[$. Puisque $\varphi_\omega(x_0) = \beta x_0$, il vient que $\varphi_\omega(z_0) = \beta z_0$, c'est à dire $z_0 \in I$, ou encore, I est un intervalle.

Prouvons maintenant le point **ii**).

Intéressons nous d'abord à l'intervalle $]0, X_c[\subset]0, I_m[$. Puisque φ_ω est convexe sur $]0, X_c[$ (Lemme 8) et que $\varphi_\omega(0) = 0$, d'après le théorème des accroissements finis, pour tout $x \in]0, X_c[$, $\varphi'_\omega(x) \geq \varphi_\omega(x)/x$.

Supposons qu'il existe $x_0 \in]0, X_c[$ tel que $\varphi'_\omega(x_0) = \varphi_\omega(x_0)/x_0$, montrons qu'alors nous aurions, pour tout $x \in]0, x_0[$, $\varphi_\omega(x)/x = \varphi_\omega(x_0)/x_0$, puis montrons que cela n'est pas possible. En effet, par convexité de φ_ω , pour tout $x \in]0, x_0[$,

$$\varphi_\omega(x)/x \leq \varphi'_\omega(x) \leq \varphi'_\omega(x_0) = \varphi_\omega(x_0)/x_0. \quad (5.5)$$

Par ailleurs, supposons qu'il existe $x \in]0, x_0[$ tel que $\varphi_\omega(x)/x < \varphi_\omega(x_0)/x_0$. Alors, toujours d'après le théorème des accroissements finis, il existe $y \in]x, x_0[$ tel que

$$\varphi'_\omega(y) = \frac{\varphi_\omega(x_0) - \varphi_\omega(x)}{x_0 - x} > \frac{\varphi_\omega(x_0) - x\varphi_\omega(x_0)/x_0}{x_0 - x} = \frac{\varphi_\omega(x_0)}{x_0}.$$

Ceci est en contradiction avec (5.5), ainsi pour tout $x \in]0, x_0[$, $\varphi_\omega(x)/x = \varphi_\omega(x_0)/x_0$.

D'autre part, selon le Lemme 7,

$$\lim_{x \rightarrow 0^+} \varphi_\omega(x)/x = \lim_{x \rightarrow 0^+} (\Gamma_\omega(x) + 1)^{-1} = \exp(-\delta\omega).$$

Il en résulte que $\varphi_\omega(x_0)/x_0 = \exp(-\delta\omega)$ et donc, pour tout $x \in]0, x_0[$, $\varphi_\omega(x) = \exp(-\delta\omega)x$. Par conséquent, φ_ω coïncide avec le flot au temps ω de l'équation linéaire $Y'(t) = -\delta Y(t)$. Or ceci est impossible puisque pour tout $x > 0$, $f(x) > -\delta x$, donc la première supposition de notre preuve était fautive. Nous pouvons donc conclure que, pour tout $x_0 \in]0, X_c[$, $\varphi'_\omega(x_0) > \varphi_\omega(x_0)/x_0$.

Considérons maintenant $x_0 \in [X_c, I_m[$ et supposons que $\varphi'_\omega(x_0) \leq \varphi_\omega(x_0)/x_0$. Par concavité de φ_ω sur $]X_c, +\infty[$ (Lemme 8), pour tout $x \geq x_0$, $\varphi'_\omega(x) \leq \varphi'_\omega(x_0) \leq \varphi_\omega(x_0)/x_0$. Par conséquent, pour tout $y \in]x_0, +\infty[$,

$$\varphi_\omega(y) = \varphi_\omega(x_0) + \int_{x_0}^y \varphi'_\omega(x) dx \leq \varphi_\omega(x_0) + \frac{\varphi_\omega(x_0)}{x_0}(y - x_0) = y \frac{\varphi_\omega(x_0)}{x_0}.$$

En particulier, $\varphi_\omega(I_m) \leq I_m \frac{\varphi_\omega(x_0)}{x_0}$. Cependant, par définition de I , $\varphi_\omega(I_m) = I_m \beta$ et ainsi $\beta \leq \varphi_\omega(x_0)/x_0$. Puisque $x_0 \notin I = [I_m, I_M]$, $\beta > \varphi_\omega(x_0)/x_0$ (Lemme 9). Il y a donc une contradiction. Par conséquent, pour tout $x_0 \in [X_c, I_m[$, $\varphi'_\omega(x_0) > \varphi_\omega(x_0)/x_0$.

De la même façon, nous pouvons montrer que $\varphi'_\omega(x) < \varphi_\omega(x)/x$ pour $x \in]I_M, +\infty[$.

Enfin, si $x \in [I_m, I_M]$, d'après le Lemmes 10.i), $x \in I$. D'après le Lemme 9, $\varphi'_\omega(x) = \beta$ et $\varphi_\omega(x) = \beta x$, ce qui achève la preuve. ■

Nous pouvons désormais prouver le Théorème 2.

Preuve. Puisque $f(0) = 0$, $X \equiv 0$ est une solution du Système (5.2).

Considérons à présent les solutions strictement positives. D'après la définition de Γ_ω

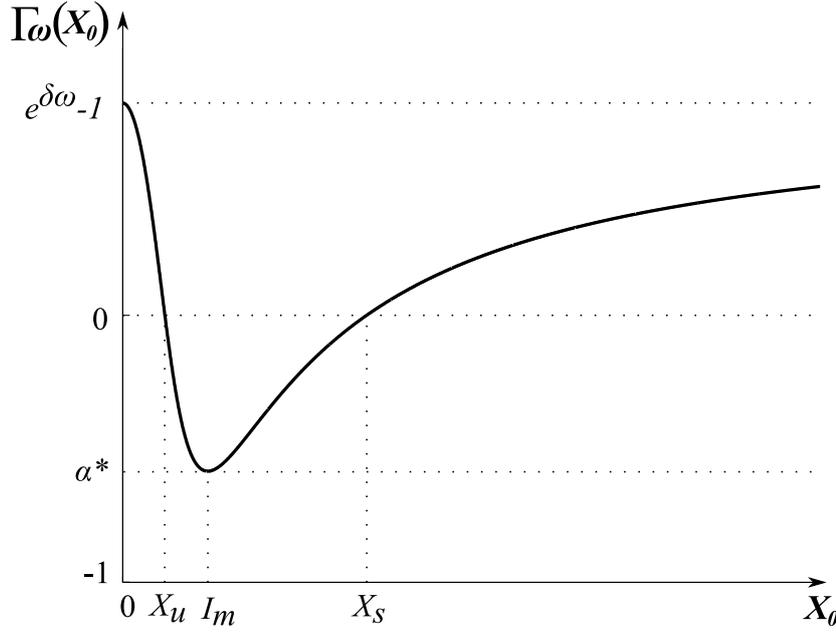


FIGURE 5.5: **Graphe de la fonction** Γ_ω avec le jeu de paramètres (5.3), $\omega = 360$ min, X_u , X_s définis par la Proposition 8, I_m défini par le Lemme 10 et α^* défini par le Théorème 2.

par (3.8), pour $x > 0$ la dérivée de Γ_ω est donnée par

$$\Gamma'_\omega(x) = \frac{\varphi_\omega(x) - x\varphi'_\omega(x)}{\varphi_\omega(x)^2}.$$

Ainsi, en appliquant le Lemme 10, il vient que Γ_ω est décroissante sur $]0, I_m[$, constante sur $I = [I_m, I_M]$ avec $\Gamma_\omega(x) = \alpha^* := (1/\beta) - 1$ (Lemme 9) et croissante sur $]I_M, +\infty[$.

De plus, d'après le Lemme 7, $\lim_{x \rightarrow +\infty} \Gamma_\omega(x) = \lim_{x \rightarrow 0^+} \Gamma_\omega(x) = \exp(\delta\omega) - 1$. Par ailleurs, puisque que X_u et X_s sont deux équilibres de (5.1), $\Gamma_\omega(X_u) = \Gamma_\omega(X_s) = 0$. Par conséquent, pour les différentes valeurs de α considérées dans le Théorème 2, nous pouvons conclure sur $\Gamma_\omega^{-1}(\{\alpha\})$ (voir Figure 5.5) et, dès lors, sur les conditions initiales des solutions périodiques de (5.2) (Proposition 5). En particulier $\Gamma_\omega^{-1}(\{\alpha^*\}) = I$ donc le point *ii*) est prouvé.

Pour conclure la preuve, il reste à étudier la stabilité de ces solutions périodiques. Comme conséquence de la Proposition 4, celle-ci peut être déterminée depuis le graphe de Γ_ω (Corollaire 2).

Preuve de *iii*). Considérons $\alpha^* < \alpha < \exp(\delta\omega) - 1$, alors $\Gamma_\omega^{-1}(\{\alpha\}) = \{X_l, X_h\}$ avec $X_l \in (0, I_m)$ et $X_h \in]I_M, +\infty[$. À partir de la monotonie de Γ_ω déterminée auparavant, nous pouvons conclure que $X(\cdot; X_l, \alpha)$ est instable et $X(\cdot; X_h, \alpha)$ est asymptotiquement

stable (Corollaire 2). Il reste à étudier la stabilité de $X \equiv 0$. Soit $X_0 \in]0, X_l[$. Alors, pour tout $t \geq 0$, $0 < X(t; X_0, \alpha) < X(t; X_l, \alpha)$ et, en tant que fonction périodique, $X(\cdot; X_l, \alpha)$ est bornée, donc $X(\cdot; X_0, \alpha)$ est bornée. D'après la Proposition 2, $X(\cdot; X_0, \alpha)$ converge vers une solution périodique. Puisque $X(\cdot; X_l, \alpha)$ est instable, $X(\cdot; X_0, \alpha)$ converge nécessairement vers 0, c'est à dire $X \equiv 0$ est asymptotiquement stable.

Preuve de *iv*). Soit $\alpha \geq \exp(\delta\omega) - 1$, alors $\Gamma_\omega^{-1}(\{\alpha\}) = \{\emptyset\}$ et $X \equiv 0$ est l'unique solution périodique de (5.2). De plus, soit $X_0 > 0$, alors $\Gamma_\omega(X_0) < \alpha$, c'est à dire

$$\frac{X_0}{\varphi_\omega(X_0)} - 1 < \alpha \Leftrightarrow X(\omega; X_0, \alpha) := (1 + \alpha)\varphi_\omega(X_0) > X_0.$$

Ainsi, $(X(k\omega; X_0, \alpha))_{k \in \mathbb{N}^*}$ est une suite strictement croissante (Lemme 2). Par suite, ou bien cette suite converge vers une solution périodique, ou bien elle diverge (Proposition 2). La suite $(X(k\omega; X_0, \alpha))_{k \in \mathbb{N}^*}$ étant strictement croissante, il vient que $X(\cdot; X_0, \alpha)$ diverge vers $+\infty$.

Preuve de *i*). De la même façon, si $\alpha < \alpha^*$, alors $\Gamma_\omega^{-1}(\{\alpha\}) = \{\emptyset\}$ et $X \equiv 0$ est l'unique solution périodique de (5.2). Pour tout $X_0 > 0$, $(X(k\omega; X_0, \alpha))_{k \in \mathbb{N}^*}$ décroît. Il s'ensuit que pour tout $s \geq 0$, $0 < X(s; X_0, \alpha) \leq \max_{t \in [0, \omega)} X(t; X_0, \alpha) < +\infty$. En tant que solution bornée de (5.2), $X(\cdot; X_0, \alpha)$ converge vers une solution périodique (Proposition 2) de (5.2), c'est à dire vers $X \equiv 0$. ■

5.4 Commentaire sur une approche différente des EDI

Une approche usuelle, que nous n'emploierons pas dans cette thèse, pour étudier une EDI de la forme de (5.2) est de la convertir en une équation différentielle sans impulsion, puis d'étudier cette dernière [149]. En effet, si l'on pose $P(t) = \prod_{0 < \tau_k \leq t} (1 + \alpha_k)^{-1}$ (avec la convention $P(t) = 1$ si $t < \tau_1$), l'EDI (5.2) peut être réécrite comme l'équation différentielle suivante

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{d\mathcal{X}(t)}{dt} = P(t)\eta \frac{\mathcal{X}(t)^n}{P(t)^n \theta^n + \mathcal{X}(t)^n} - \delta \mathcal{X}(t), \quad t \in \mathbb{R}^+ \setminus \{\tau_k, k \in \mathbb{N}^*\}, \\ \mathcal{X}(0) = X_0, \end{array} \right. \quad (5.6)$$

telle que X est solution de l'EDI (5.2) si et seulement si $\mathcal{X} : t \mapsto P(t)X(t)$ est solution de (5.6). La preuve de ce résultat est similaire à celle du Théorème 1 dans [149].

Cette approche se révèle particulièrement efficace sous l'hypothèse que P est périodique sur \mathbb{R}^+ [82, 87, 124, 148, 151]. En effet, dans ce cas, la périodicité de \mathcal{X} implique la périodicité de X et ainsi l'existence et la stabilité de solutions périodiques de (5.2) peuvent être déduites de l'analyse du système sans impulsion (5.6), dont les solutions sont continues. Notons que quelques auteurs ont réussi à obtenir des résultats sous des hypothèses plus faibles [46, 92], mais uniquement pour des équations différentielles spécifiques. Comme l'ont mentionné Liu et Takeuchi [92], l'hypothèse de périodicité est trop restrictive. Cette hypothèse a parfois été abusivement utilisée, sans tenir compte de son interprétation physique et a donc fourni des conclusions irréalistes. En particulier, cette hypothèse ne serait pas judicieuse pour décrire le processus biologique que l'on souhaite étudier, c'est pourquoi nous ne présentons pas de résultats obtenus par cette approche.

Dans ce chapitre, nous avons discuté l'existence et la stabilité de solutions périodiques de (5.2) sous l'hypothèse (\mathbf{H}_2) qui impose à $(\alpha_k)_{k \geq 1}$ d'être constante. Dans le chapitre suivant, nous remplaçons l'hypothèse (\mathbf{H}_2) par une hypothèse plus faible afin de modéliser un partage inégal et aléatoire du contenu moléculaire lors de la division cellulaire. Nous considérerons aussi une version plus faible de l'hypothèse (\mathbf{H}_1) .

CHAPITRE 6

Application à la différenciation cellulaire

Dans ce chapitre, nous nous basons sur les résultats du Chapitre 5 pour étudier les solutions de (5.2) lorsque les hypothèses (\mathbf{H}_1) et (\mathbf{H}_2) sont relâchées. Nous proposons une explication, basée sur le partage inégal du contenu moléculaire lors de la division cellulaire, à l'émergence de deux sous-populations de cellules au destins différents au sein d'une population engendrée par une unique cellule initiale.

Comme le firent Prokopiou *et al.* [116] et Gao *et al.* [51], nous supposons que lorsqu'une cellule exprimant une concentration X pour la protéine Tbet se divise pour la $k^{\text{ième}}$ fois, elle engendre deux cellules filles exprimant respectivement les concentrations $(1 + \alpha_k)X$ et $(1 - \alpha_k)X$. Pour modéliser ce phénomène, il n'est pas judicieux de considérer que la suite $(\alpha_k)_{k \in \mathbb{N}^*}$ est constante, comme nous l'avons fait dans les chapitres précédents. À l'aide du Lemme 1, nous proposons d'extrapoler les résultats du Théorème 2 au cas plus général où (\mathbf{H}_2) est remplacée par l'hypothèse plus faible (\mathbf{H}_4) ci-dessous :

(\mathbf{H}_4) Il existe $-1 < \alpha_{min} < \alpha_{max} < +\infty$ tel que, pour tout $k \in \mathbb{N}^*$, $\alpha_k \in [\alpha_{min}, \alpha_{max}] \subset]-1, +\infty[$.

D'après le Lemme 1, si (\mathbf{H}_4) est vérifiée, alors pour toute condition initiale X_0 , la solution $X(\cdot; X_0, \alpha_k)$ de (5.2) est bornée par les deux solutions $X(\cdot; X_0, \alpha_{min})$ et $X(\cdot; X_0, \alpha_{max})$ obtenues lorsque $m_k = \alpha_{min}$ et $M_k = \alpha_{max}$, respectivement. Par conséquent, bien que (\mathbf{H}_2) soit *a priori* très restrictive sur les paramètres $(\alpha_k)_{k \in \mathbb{N}^*}$, étudier

l'EDI (5.2) sous (\mathbf{H}_2) fournit un encadrement des solutions de l'EDI (5.2) sous l'hypothèse (\mathbf{H}_4) . Contrairement au cas de l'équation sans impulsion (5.1) et à celui de l'EDI (5.2) munie des hypothèses (\mathbf{H}_1) et (\mathbf{H}_2) – pour lesquels l'évolution de la concentration X et sa convergence asymptotique sont entièrement déterminées par la concentration initiale X_0 (Proposition 8 et Théorème 2) –, l'évolution de la solution de l'EDI (5.2) munie des hypothèses (\mathbf{H}_1) et (\mathbf{H}_4) dépend donc également des valeurs prises par la suite $(\alpha_k)_{k \in \mathbb{N}^*}$.

La Proposition 9 ci-dessous résulte immédiatement du cas *iii*) du Théorème 2 et du Lemme 1. Les grandeurs X_1, X_2, X_3, X_4 mentionnées dans celle-ci sont illustrées sur la Figure 6.1.

PROPOSITION 9

Supposons les hypothèses (\mathbf{H}_1) et (\mathbf{H}_3) vérifiées. Supposons de plus que α^* (du Théorème 2) et $\alpha_{min}, \alpha_{max}$ vérifient $\alpha^* < \alpha_{min} < 0 < \alpha_{max} < \exp(\delta\omega) - 1$. Alors il existe $X_1, X_2, X_3, X_4 \in \mathbb{R}^+$, vérifiant

$$0 < X_1 < X_u < X_2 < X_3 < X_s < X_4,$$

tels que les solutions $X(\cdot; X_1, \alpha_{max}), X(\cdot; X_2, \alpha_{min}), X(\cdot; X_3, \alpha_{min})$ et $X(\cdot; X_4, \alpha_{max})$, respectivement notées X_1^p, X_2^p, X_3^p et X_4^p , soient périodiques.

De plus, pour toute suite $(\alpha_k)_{k \in \mathbb{N}}$ satisfaisant (\mathbf{H}_4) ,

- i) si $0 \leq X_0 < X_1$, alors $X(\cdot; X_0, \alpha_k)$ converge vers zéro;
- ii) si $X_1 < X_0 \leq X_2$, alors, pour tout $t \geq 0$, $X(t; X_0, \alpha_k) \in [0, X_4^p(t)] \subset [0, X_4]$;
- iii) si $X_2 < X_0 < X_3$, alors, pour tout $t \geq 0$, $X(t; X_0, \alpha_k) \in]X_2^p(t), X_4^p(t)[\subset]X_2, X_4[$.
De plus, pour tout $\varepsilon > 0$ il existe $t^* > 0$ tel que, pour tout $t > t^*$, $X(t; X_0, \alpha_k) \in]X_3^p(t) - \varepsilon, X_4^p(t)[\subset]X_3 - \varepsilon, X_4[$;
- iv) si $X_3 < X_0 \leq X_4$, alors, pour tout $t \geq 0$, $X(t; X_0, \alpha_k) \in]X_3^p(t), X_4^p(t)[\subset]X_3, X_4[$;
- v) si $X_4 < X_0$, alors, pour tout $t \geq 0$, $X(t; X_0, \alpha_k) \in]X_3^p(t), X_0[\subset]X_3, X_0[$. De plus, pour tout $\varepsilon > 0$ il existe $t^* > 0$ tel que, pour tout $t > t^*$, $X(t; X_0, \alpha_k) \in]X_3^p(t), X_4^p(t) + \varepsilon[\subset]X_3, X_4 + \varepsilon[$.

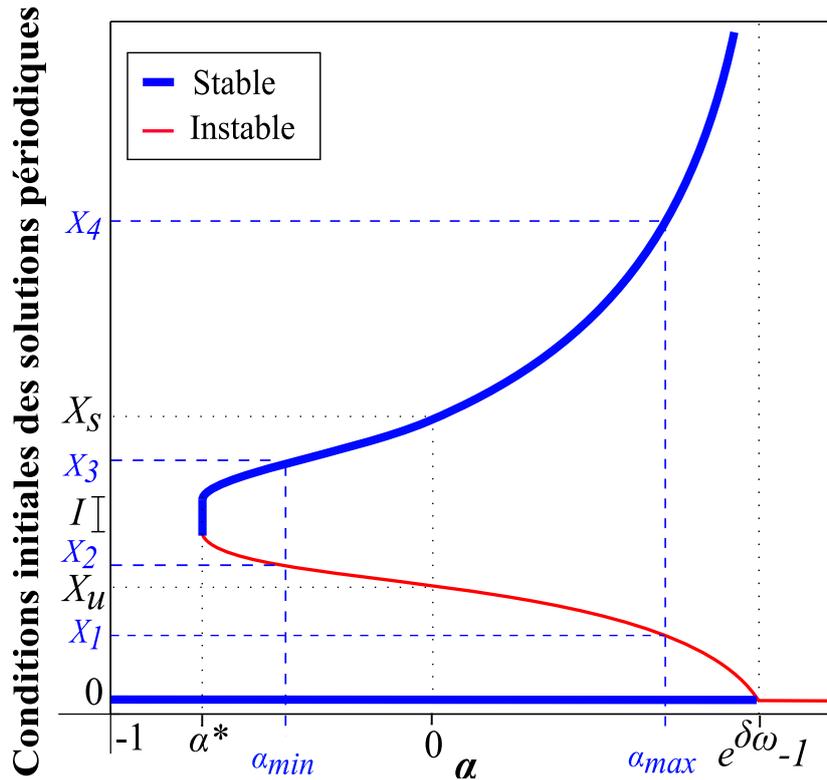


FIGURE 6.1: Conditions initiales des solutions périodiques de (5.2) sous les hypothèses (\mathbf{H}_1) , (\mathbf{H}_2) et (\mathbf{H}_3) avec les notations du Théorème 2. Pour tout $\alpha > -1$, les conditions initiales X_0 telles que $X(\cdot; X_0, \alpha)$ est périodique et stable (resp. instable) sont tracées en trait bleu et épais (resp. rouge et fin).

6.1 Différenciation cellulaire et réversibilité du phénotype

Discutons à présent les résultats du Théorème 2 et de la Proposition 9 au regard du phénomène biologique qui nous intéresse. Tout au long de la Section 6.1, les hypothèses (\mathbf{H}_1) , (\mathbf{H}_3) et (\mathbf{H}_4) sont supposées vérifiées.

Pour rester biologiquement cohérents, imposons la contrainte $\alpha_{max} < 1$ afin que la concentration de Tbet dans chaque cellule fille soit positive et au plus égale au double de celle observée chez la cellule mère, chaque cellule fille étant deux fois moins volumineuse que la cellule mère.

De plus, par souci de symétrie, considérons que $\alpha_{min} = -\alpha_{max}$. Autrement dit, pour tout $k \in \mathbb{N}^*$, $\alpha_k \in [-q, q]$ où $q \in [0, 1[$ est un paramètre fixé, que nous appellerons *degré d'inégalité*. Notons bien que le degré d'inégalité q ne définit pas l'inégalité de partage observée à chaque division mais qu'il détermine dans quelle mesure les divisions peuvent être inégales. Par exemple, les coefficients α_k peuvent être tirés aléatoirement selon la loi

uniforme $\mathcal{U}_{[-q,q]}$ [51, 116].

Dans le raisonnement qui suit, la concentration de Tbet dans une cellule est vue comme une mesure du niveau de différenciation de cette cellule. Une forte concentration de Tbet ($X > X_u$, où X_u est l'équilibre instable de l'équation (5.1) défini par la Proposition 8) est associée à un phénotype effecteur tandis qu'une concentration faible ($X < X_u$) correspond à un phénotype mémoire [67, 70, 84]. Enfin, nous qualifions un phénotype cellulaire d'*irréversible* si, pour toute suite $(\alpha_k)_{k \in \mathbb{N}^*}$ satisfaisant (\mathbf{H}_4) , la concentration X de Tbet dans cette cellule, modélisée par l'EDI (5.2), est définitivement supérieure ou définitivement inférieure à X_u . Nous discutons en particulier l'influence du degré d'inégalité q sur les phénotypes développés par une population cellulaire et sur la réversibilité de ceux-ci.

D'après le cas *iv*) du Théorème 2, les solutions de (5.2) sont bornées, pour toute suite $(\alpha_k)_{k \in \mathbb{N}^*}$ satisfaisant (\mathbf{H}_4) , si et seulement si $\alpha_{max} < \exp(\delta\omega) - 1$, c'est à dire $q < \exp(\delta\omega) - 1$. En effet, si $q \geq \exp(\delta\omega) - 1$, quelle que soit la concentration initiale $X_0 > 0$, il existe une suite $(\alpha_k)_{k \in \mathbb{N}}$ pour laquelle $X(\cdot; X_0, \alpha_k)$ diverge vers $+\infty$ (par exemple, $\alpha_k \equiv q$).

De même, si $\alpha_{min} < \alpha^*$, c'est à dire $q > -\alpha^*$, quelle que soit la concentration initiale $X_0 > 0$, il existe une suite $(\alpha_k)_{k \in \mathbb{N}}$ pour laquelle $X(\cdot; X_0, \alpha_k)$ converge vers 0 (par exemple, $\alpha_k \equiv q$).

En revanche, si l'on suppose que $q < \min(-\alpha^*, \exp(\delta\omega) - 1)$, alors $[-q, q] \subset]\alpha^*, \exp(\delta\omega) - 1[$ et la Proposition 9 s'applique. Connaissant la concentration $X(K\omega)$ au temps $K\omega$, pour un $K \in \mathbb{N}$ quelconque, trois cas notoires sont à distinguer :

- i)** si $X(K\omega) < X_1$, alors pour toute suite $(\alpha_k)_{k \geq K}$ satisfaisant (\mathbf{H}_4) , la concentration $X(\cdot; X_0, \alpha_k)$ de Tbet converge vers zéro. Dans ce cas le phénotype mémoire est donc irréversible pour la cellule considérée ainsi que pour toute la lignée cellulaire qu'elle engendrera ;
- i)** si $X(K\omega) > X_2$, alors pour toute suite $(\alpha_k)_{k \geq K}$ satisfaisant (\mathbf{H}_4) , pour tout $\varepsilon > 0$, il existe $K^* > K$ tel que pour tout $k > K^*$, $X(k\omega; X_0, \alpha_k) \in [X_3 - \varepsilon, X_4 + \varepsilon] \subset]X_u, +\infty[$. Dans ce cas le phénotype effecteur est donc irréversible pour la cellule considérée ainsi que pour toute la lignée cellulaire qu'elle engendrera ;
- ii)** si $X_1 < X(K\omega) < X_2$, le phénotype de la cellule concerné n'est pas fixé, il peut évoluer selon les valeurs prises par $(\alpha_k)_{k \geq K}$.

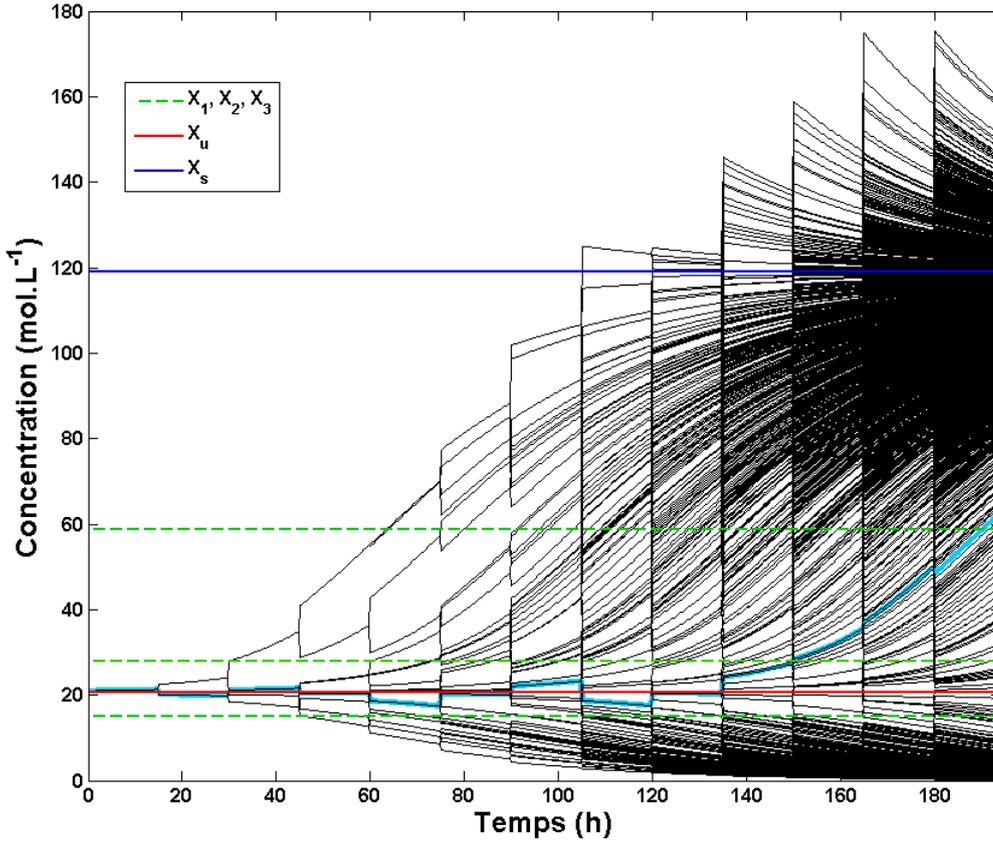


FIGURE 6.2: **Concentration de Tbet dans une population cellulaire** engendrée par une cellule de concentration initiale $X_0 = 21$ mol et une durée ce cycle cellulaire $\omega = 15h$. Droites vertes en pointillé, de bas en haut : $X_1 \approx 12$ mol.L⁻¹, $X_2 \approx 32$ mol.L⁻¹, $X_3 \approx 56$ mol.L⁻¹ ($X_4 \approx 361$ mol.L⁻¹, hors cadre). La trajectoire bleu clair illustre un cas où la concentration de Tbet franchit X_u à plusieurs reprises puis s'extrait finalement de l'intervalle $[X_1, X_2]$ au temps $t = 135$ h et, dès lors, son phénotype effecteur est irréversible. Droite rouge : $X_u \approx 20$ mol.L⁻¹. Droite bleue : $X_s \approx 119$ mol.L⁻¹.

En somme, si le degré d'inégalité auquel sont soumises les divisions cellulaires n'est pas trop élevé (*i.e.* si $q < \min(-\alpha^*, \exp(\delta\omega) - 1)$), il existe deux concentrations critiques, ou encore deux niveaux critiques dans le processus de différenciation vers les phénotypes effecteur et mémoire, au delà desquelles le phénotype d'une cellule, et celui de toute la lignée issue de cette cellule, sont irréversibles. Finalement, à tout instant $t = k\omega$, $k \in \mathbb{N}$, le phénotype qui sera développé par une lignée cellulaire est indéterminé si et seulement si dans cette cellule $X_1 < X(t) < X_2$.

Ces résultats sont illustrés sur la Figure 6.2 par des simulations numériques effectuées à partir des valeurs de paramètres (5.3), $\omega = 900$ min = 15 h et $q = 0.2$, de sorte que $q < \min(-\alpha^*, \exp(\delta\omega) - 1) \approx 0.26$. La Figure 6.2 représente l'évolution de la concentration de

Tbet dans une lignée cellulaire engendrée par une unique cellule ayant pour concentration de Tbet initiale $X_0 = 21 \in]X_1, X_2[$. À chaque fois qu'une cellule se divise, un coefficient α est tiré aléatoirement selon une loi uniforme sur $[-q, q]$ et ses deux cellules filles naissent avec les concentrations $(1 + \alpha)X$ et $(1 - \alpha)X$ respectivement, où X est la concentration observée chez la cellule mère juste avant sa division. L'EDI (5.2) ne décrit qu'une seule branche de la lignée cellulaire présentée par la Figure 6.2. Par exemple, la trajectoire bleu clair de la Figure 6.2 correspond à une solution de l'EDI (5.2). Pour réaliser la Figure 6.2, une nouvelle EDI est donc générée à chaque division, avec pour condition initiale la concentration de Tbet héritée par la seconde cellule fille.

Après quelques divisions, nous constatons l'émergence d'une poignée de cellules exprimant de faibles concentrations de Tbet (inférieures à X_1), associées à une différenciation irréversible en lymphocytes mémoires. Dans le même temps, nous voyons apparaître des cellules exprimant de fortes concentrations de Tbet (supérieures à X_2), associées à une différenciation irréversible en lymphocyte effecteur. Toutefois, au temps $t = 12\omega = 180$ h, 34 cellules sont toujours caractérisées par une concentration de Tbet intermédiaire (entre X_1 et X_2). Celles-ci peuvent toujours engendrer des lignées composées à la fois de lymphocytes effecteurs et de lymphocytes mémoires.

6.2 Cas d'un cycle cellulaire de durée croissante

Lors d'une réponse immunitaire T-CD8, le cycle cellulaire est très court pour les cellules qui viennent d'être activées puis s'allonge dans les jours suivants [153]. Il est alors intéressant d'étudier le cas où la durée du cycle cellulaire n'est pas constante mais donnée par une suite croissante $(\omega_k)_{k \in \mathbb{N}^*}$.

Il est facile de montrer que si $\tilde{\omega} > \omega$, alors $\Gamma_{\tilde{\omega}}(X_0) < \Gamma_{\omega}(X_0)$ sur $]X_u, X_s[$ et $\Gamma_{\tilde{\omega}}(X_0) > \Gamma_{\omega}(X_0)$ sur $]0, X_u[\cup]X_s, +\infty[$. En particulier, pour des valeurs fixées de α_{min} et α_{max} , les valeurs X_1 et X_2 , définies par la Proposition 9 et illustrées sur la Figure 5.3, sont respectivement croissante et décroissante lorsque la durée de cycle ω augmente. En outre, X_1 et X_2 convergent vers X_u lorsque ω tend vers $+\infty$. Par conséquent, au fur et à mesure que le cycle cellulaire s'allonge, l'intervalle $[X_1, X_2]$ des concentrations de Tbet pour lesquelles le phénotype cellulaire reste réversible se resserre autour de X_u . Ainsi, dans notre modèle, l'allongement du cycle cellulaire ralentit évidemment l'expansion de

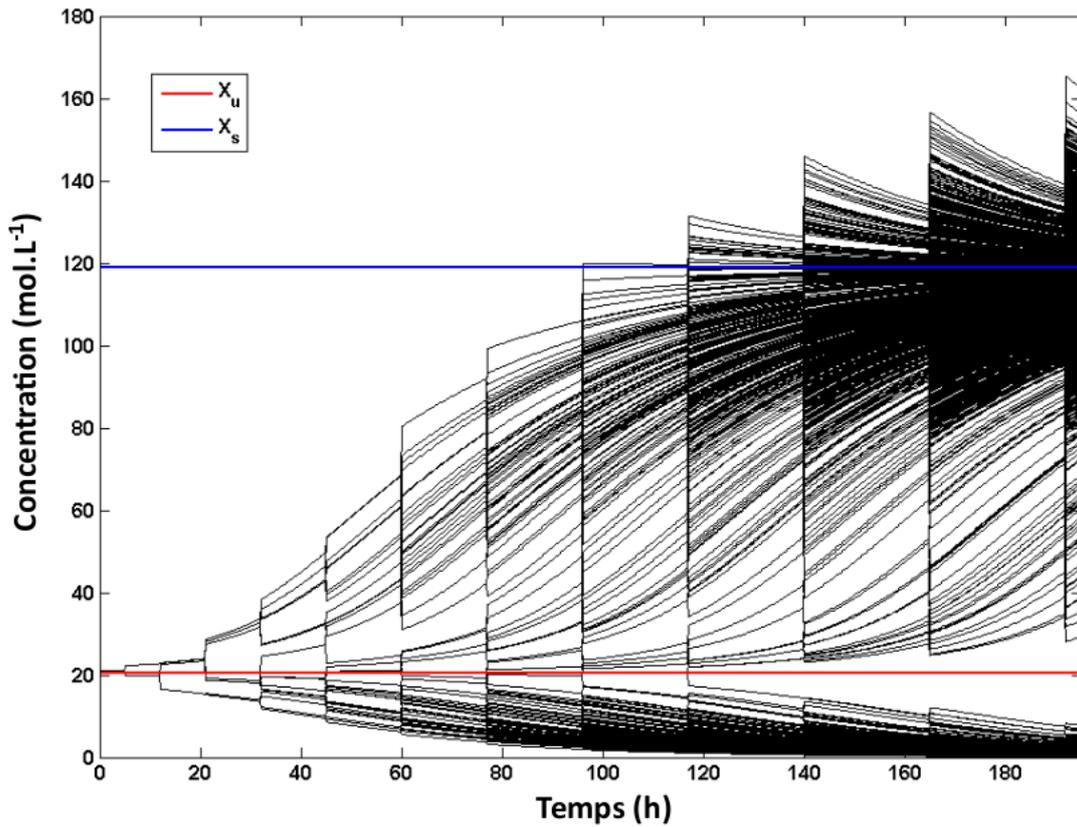


FIGURE 6.3: **Concentration de Tbet dans une population cellulaire** engendrée par une cellule de concentration initiale $X_0 = 21$ mol et pour un cycle cellulaire de durée croissante : $\omega_k = 300 + 120k$ min, $k \in \mathbb{N}$. Droite rouge : $X_u \approx 20$ mol.L⁻¹. Droite bleue : $X_s \approx 119$ mol.L⁻¹.

la population de cellules (en réduisant le nombre de divisions); mais il précipite aussi l'adoption de phénotypes irréversibles par les lymphocytes T-CD8.

C'est ce qui est illustré par la Figure 6.3 Les valeurs de paramètres sont identiques à celles utilisées pour la Figure 6.2, à l'exception de la durée du cycle cellulaire, fixée initialement à 300 min puis augmentant de deux heures à chaque division, c'est à dire $\omega_k = 300 + 120k$ min, $k \in \mathbb{N}$. En particulier, au temps $t = 45$ h les cellules entrent dans un cycle d'une durée de $\omega_5 = 900$ min, soit la durée du cycle cellulaire sur la Figure 6.2. Plus le cycle cellulaire s'allonge, plus l'intervalle de concentrations pour lesquelles le phénotype est réversible rétrécit (non visible sur la figure) si bien qu'au temps $t = 160$ h, toutes les cellules ont un phénotype irréversible.

CHAPITRE 7

Discussion

Dans cette partie, nous avons étudié l'effet du partage inégal des protéines lors de la division cellulaire sur l'émergence d'une hétérogénéité phénotypique au sein d'une population de lymphocytes T-CD8. Nous avons premièrement introduit l'IDE (2.1), définie par une équation différentielle ordinaire de forme générale soumise à des impulsions de formes spécifiques. Sous de bonnes hypothèses, les solutions périodiques de cette IDE constituent des bornes pour l'ensemble de ses solutions. Par conséquent, nous avons présenté des résultats sur l'existence et la stabilité des solutions périodiques. Ces résultats reposent principalement sur les propriétés du flot d'une équation différentielle autonome. En particulier, les conditions initiales des solutions périodiques de (5.2) correspondent aux points d'intersection entre le graphe de ce flot et une droite vectorielle (Proposition 4). Nous avons énoncé, dans le Théorème 1, des conditions permettant d'étudier la convexité de ce flot. En effet, s'il est en général impossible de déterminer une expression explicite de celui-ci, certaines des propriétés évoquées ci-dessus peuvent être déduites de l'étude qualitative de sa monotonie et de sa convexité.

Ces résultats ont été appliqués dans les Chapitres 5 et 6 à l'IDE (5.2), modélisant la régulation de la protéine Tbet dans un lymphocyte T-CD8 et son partage inégal lors des divisions cellulaires. Nous avons discuté de l'influence du degré d'inégalité appliqué aux divisions cellulaires sur la différenciation d'un lymphocyte vers les phénotypes effecteur et mémoire; une forte concentration de Tbet correspondant au phénotype effecteur tandis que le phénotype mémoire est associé à une faible concentration de Tbet [67, 70, 84]. Nous avons montré que ces phénotypes sont réversibles si le degré d'inégalité est suffisamment grand, c'est à dire que tout lymphocyte effecteur peut se différencier en lymphocyte mémoire, et réciproquement. En revanche, notre étude a montré que pour des degrés d'inégalité plus faibles, la réversibilité du phénotype d'une cellule dépend du niveau de

différenciation de celle-ci. Plus précisément, si la concentration de Tbet dans un lymphocyte est suffisamment grande (resp. faible), alors son phénotype effecteur (resp. mémoire) est irréversible. Les lymphocytes exprimant des concentrations intermédiaires de Tbet peuvent ainsi être vus comme des cellules indifférenciées qui, tant qu'elles le demeurent, peuvent aussi bien engendrer des lymphocytes effecteurs que des lymphocytes mémoires. De plus, notre étude suggère que l'allongement du cycle cellulaire au cours de la réponse T-CD8 [153] précipite la différenciation de ces cellules indifférenciées vers des phénotypes effecteurs ou mémoires irréversibles.

L'EDI (5.2) est bien entendu un modèle trop simpliste pour permettre des prédictions quantitatives biologiquement réalistes, notamment parce que le processus de différenciation des lymphocytes T-CD8 est complexe et ne peut se réduire à l'expression de la seule protéine Tbet, ou encore parce que le partage inégal et aléatoire des protéines n'est pas la seule source d'hétérogénéité. À cet égard, Huh et Paulsson [63] ont souligné que différentes sources d'hétérogénéité (*e.g.* le partage inégal et la fluctuation aléatoire de l'expression des gènes) pouvaient avoir des répercussions similaires, si bien que discerner la contribution de chacune de ces sources est particulièrement délicat. Il serait intéressant de considérer un système à impulsions, de la forme (5.2), dans lequel l'équation différentielle serait stochastique afin de prendre en compte l'expression partiellement stochastique des gènes.

Deuxième partie

Modélisation multiéchelle de la réponse immunitaire T-CD8

—

Réponse programmée, Partage inégal des protéines, Hétérogénéité moléculaire

Introduction : modélisation multiéchelle de la réponse T-CD8

Préambule : le travail présenté dans cette partie est le fruit d'une collaboration immunologistes, biologistes et mathématiciens. Il a été soumis pour publication au journal Frontiers in Immunology (mai 2018) sous la référence Model-based assessment of the role of uneven partitioning of molecular content on heterogeneity and regulation of differentiation in CD8 T-cell immune responses ; auteurs : Simon Girel, Christophe Arpin, Jacqueline Marvel, Olivier Gandrillon et Fabien Crauste.

Suite à l'infection d'un organisme par un agent pathogène intracellulaire, les cellules présentatrices d'antigène (CPA) activent les lymphocytes T-CD8 naïfs et déclenchent chez ces derniers la synthèse de protéines contrôlant leur prolifération et leur différenciation. À l'échelle de la population de cellules, la dynamique de la réponse T-CD8 a été abondamment décrite [35, 108]. En revanche, les mécanismes moléculaires qui la régissent demeurent incertains et leur étude constitue un axe majeur de recherche en immunologie. En particulier, déterminer l'influence d'événements moléculaires sur la génération de cellules mémoires est essentiel pour optimiser la conception des vaccins. Des études *in vivo* et *in vitro* ont démontré qu'une seule présentation de l'antigène aux lymphocytes T-CD8 naïfs était suffisante pour déclencher une réponse immunitaire complète [71, 139, 144]. Ainsi, une fois initiées, des voies moléculaires indépendantes de la présence d'antigène pilotent un programme de prolifération et de différenciation des lymphocytes T-CD8 [3, 123].

La réponse immunitaire T-CD8 débute par l'activation des lymphocytes T-CD8 naïfs par les CPA, *via* la liaison entre le CMH I (complexe majeur d'histocompatibilité de classe

I) et le TCR (pour *T-cell receptor*), et se déroule en trois phases principales. Les lymphocytes T-CD8 prolifèrent rapidement durant la phase d'expansion clonale, entraînant ainsi un accroissement de la population cellulaire selon un facteur 10^3 à 10^5 [14, 35]. En parallèle, ces lymphocytes se différencient en lymphocytes effecteurs, capables d'éliminer les cellules infectées par cytotoxicité. À l'issue de la phase d'expansion, on parle alors du pic de la réponse, débute la phase de contraction cellulaire au cours de laquelle meurent une majorité des lymphocytes T-CD8. Les lymphocytes T-CD8 qui se sont différenciés en lymphocytes mémoires échappent à la contraction. Ces cellules quiescentes et douées d'un fort potentiel d'expansion survivent dans l'organisme durant plusieurs années et garantissent une réponse plus rapide et plus forte en cas d'infection ultérieure de l'organisme par le même agent pathogène.

La population de lymphocytes effecteurs est hétérogène, elle est composée de deux sous-populations présentant des destins antagonistes [67] : les MPEC (pour *memory precursor effector cell*) et les SLEC (pour *short-lived effector cell*), caractérisées par leur expression des protéines KLRG1 et CD127. Les MPEC ($KLRG1^{low}CD127^{hi}$) et les SLEC ($KLRG1^{high}CD127^{low}$) possèdent toutes deux des qualités de lymphocytes effecteurs (cytotoxicité, prolifération), le pouvoir cytotoxique des MPEC est toutefois inférieur à celui des SLEC [2]. Les MPEC sont capables de se différencier en lymphocytes mémoires tandis que les SLEC sont destinées à mourir au cours de la phase de contraction cellulaire [67].

Parmi les gènes et protéines impliqués dans la réponse T-CD8, certains jouent des rôles clés dans les processus de différenciation. Les facteurs de transcription Tbet et Eomesodermin (Eomes) semblent jouer un rôle critique dans l'acquisition des phénotypes effecteur et mémoire. Il a été montré que l'expression de Tbet induit le développement du phénotype SLEC et réprime celui du phénotype MPEC [62, 67, 84]. Eomes n'intervient pas dans la régulation des phénotypes SLEC et MPEC [9, 70]. En revanche, l'expression d'Eomes est nécessaire au développement de plusieurs propriétés des lymphocytes mémoires (survie, migration vers les ganglions, réactivité en cas de seconde infection) [9, 84, 107]. Au cours de la différenciation du stade effecteur vers le stade mémoire, la concentration de Tbet dans un lymphocyte T-CD8 décroît, tandis que la concentration d'Eomes croît [68, 84].

Puisqu'il suffit d'une seule stimulation antigénique des lymphocytes naïfs pour entraîner une réponse complète, l'hétérogénéité phénotypique et moléculaire observée au cours de la réponse ne saurait s'expliquer uniquement par l'abondance d'antigènes dans le milieu

ou par le contexte inflammatoire. Des mécanismes indépendants de l'infection contribuent donc à créer cette hétérogénéité. Chang *et al.* [27, 28] ont montré que la liaison entre le CMH I et le TCR lors de l'activation d'un lymphocyte naïf provoquait la polarisation de ce dernier : certaines des protéines qu'il contient migrent vers le côté portant le TCR engagé, d'autres migrent vers le côté opposé. Le lymphocyte activé et polarisé se divise alors perpendiculairement à son axe de polarisation, si bien que la cellule fille issue de la partie portant le TCR (cellule proximale) reçoit davantage de protéines associées au phénotype effecteur, dont Tbet, tandis que la seconde cellule fille (cellule distale) reçoit davantage de protéines associées au phénotype mémoire [27, 28, 32]. Ce phénomène de division asymétrique des lymphocytes polarisés semble être l'un des mécanismes majeurs dans l'attribution des destinées SLEC et MPEC [27, 28, 32].

Dès l'issue de leur première division, les lymphocytes ne sont plus polarisés. Néanmoins, au cours des divisions suivantes, un partage inégal, car aléatoire, des protéines est observé [128]. Les conséquences de ce partage inégal, répété à chaque division, sont peu connues. Toutefois, des études mathématiques ont montré que la prise en compte d'un partage inégal du colorant cytoplasmique CFSE dans une population de lymphocytes permettait, en contribuant à la dispersion des niveaux d'expression de CFSE, de mieux expliquer les données acquises *in vivo* [16, 95].

Dans la Partie I, tirée de [54], nous avons étudié l'influence du partage inégal du contenu moléculaire sur l'émergence des phénotypes effecteur et mémoire dans une lignée de lymphocytes T-CD8. Pour cela, nous avons analysé une équation différentielle à impulsions décrivant la concentration de la protéine Tbet dans un lymphocyte en prolifération, les impulsions étant associées au partage inégal des protéines Tbet. Les concentrations fortes et faibles de Tbet sont respectivement associées aux phénotypes effecteur et mémoire. Nous avons montré que, lorsque l'inégalité du partage n'est pas trop forte, un lymphocyte exprimant une concentration de Tbet intermédiaire peut toujours générer des lymphocytes effecteurs et mémoires. En revanche, si la concentration de Tbet dans un lymphocyte est trop grande ou trop faible, la différenciation est irréversible. Nous avons également montré qu'un allongement du cycle cellulaire au cours de la réponse T-CD8 [153] favorise l'adoption de phénotypes irréversibles.

Plusieurs travaux de modélisation (voir [43] et les références qui s'y trouvent) se sont intéressés au couplage entre la dynamique de la population cellulaire et les mécanismes

moléculaires sous-jacents au cours de la réponse immunitaire. Nombre d'entre eux reposent sur une modélisation à base d'agents.

Gong *et al.* [56, 57] (Section 1.2.2.2) ont conçu un modèle hybride à deux compartiments (ganglion et sang) afin d'étudier comment le nombre de CPA ainsi que la quantité de CMH I exprimés sur leur membrane influencent la taille et la composition d'une population de lymphocytes T. Dans ces travaux, les auteurs ne considèrent aucune description de la dynamique moléculaire. Dès lors, cette étude ne permet pas de s'intéresser aux origines moléculaire de la mort ou de la différenciation cellulaire et, par conséquent, de l'hétérogénéité.

Prokopiou *et al.* [116] et Gao *et al.* [51] (Section 1.2.2.3) ont développé un modèle multiéchelle des premiers instants de la réponse immunitaire T-CD8 (jour 3 à jour 5.5 post-infection). Une population discrète de lymphocytes T-CD8 et de CPA évoluant dans un ganglion lymphatique est modélisée grâce à un modèle de Potts cellulaire (CPM, pour *Cellular Potts Model*), également connu sous le nom de modèle de Glazier-Graner-Hegeweg [58]. À l'échelle moléculaire, un système d'équations différentielles, implémenté dans chaque lymphocyte, décrit la dynamique d'un réseau de régulation moléculaire contenant protéines et gènes, dont l'état détermine le phénotype et la mort du lymphocyte. Les cellules communiquent entre elles par contact cellule-cellule ainsi qu'à travers la sécrétion de la cytokine IL2, si bien que l'environnement d'une cellule affecte l'évolution de son profil moléculaire.

Le modèle présenté dans cette partie est basé sur le modèle multiéchelle à base d'agents proposé dans [51, 116]. Ce dernier ne concernant que les premiers instants suivant l'activation des lymphocytes T-CD8 naïfs, les processus conduisant à la génération de cellules mémoires ne sont pas considérés. Nous l'avons enrichi afin de pouvoir étudier une réponse complète, de l'activation des cellules naïves au développement d'une population mémoire. En particulier, la protéine Eomes a été ajoutée au réseau de régulation moléculaire.

Dans cette partie, nous nous appliquerons à comprendre comment, à partir de l'activation de lymphocytes T-CD8 naïfs, une régulation du contenu moléculaire indépendante de l'antigène peut piloter une réponse immunitaire T-CD8 complète. Nous nous intéresserons particulièrement au rôle de l'hétérogénéité des contenus moléculaires au sein d'une population de lymphocytes T-CD8.

Nous commencerons par une présentation exhaustive de notre modèle (Chapitre 9).

Les résultats de ce modèle seront présentés dans le Chapitre 10. Dans la Section 10.1, nous nous assurerons de l’aptitude de notre modèle à retrouver la dynamique observée *in vivo* aux échelles cellulaire et moléculaire. Puis, dans la Section 10.2, nous étudierons l’influence de l’hétérogénéité des contenus moléculaires sur l’émergence de sous-populations, caractérisées par leur expression des protéines Tbet, Eomes et Caspases. Nous discuterons (Section 10.3) la façon dont un partage inégal du contenu moléculaire à la division peut influencer sur la dynamique cellulaire (taille de la population cellulaire, différenciation et mort). Nos résultats suggèrent que les cellules mémoires sont générées plus efficacement lorsque l’inégalité de ce partage est modérée. Enfin, nous vérifierons dans la Section 10.4 que les cellules mémoires générées par notre modèle sont capables de reproduire certains traits de la réponse T-CD8 secondaire. En effet, lorsque les cellules mémoires sont stimulée de nouveau *in silico* par présentation d’un antigène, elles engendrent davantage de cellules au pic de la réponse ainsi qu’en phase mémoire.

Modélisation, données et méthodes

Dans ce chapitre, nous commençons (Section 9.1) par présenter les procédures expérimentales à l'origine des données *in vivo*, aux échelles cellulaire et moléculaire, à partir desquelles les valeurs de paramètres du modèle présenté dans cette partie ont été estimées. Nous donnons ensuite une description complète de ce modèle : description à base d'équations différentielles de la dynamique moléculaire (Section 9.2), règles de différenciation, de division et d'apoptose (Section 9.3), modélisation spatiale de la population cellulaire (Section 9.4). Enfin, nous décrivons la méthodologie utilisée pour comparer les résultats du modèle aux données expérimentales et les valeurs de paramètres utilisées pour réaliser les simulations présentées dans le Chapitre 10.

9.1 Données

4×10^5 lymphocytes T-CD8 naïfs de souris CD45.1+ transgéniques pour le TCR F5 (B6.SJL-Ptprc^aPepc^b/BoyCr1-Tg(CD2-TcraF5, CD2-TcrbF5)1Kio/Jmar) reconnaissant l'épitope NP68 ont été transférés par voie intraveineuse dans des souris congéniques CD45.2+ C57BL/6 (C57BL6/J). Le lendemain, les souris hôtes ont été inoculées par voie intranasale avec 2×10^5 PFU (pour *plaque forming units*) de virus de la vaccine (ou *vaccinia virus*) portant l'épitope NP68 [69]. Entre le quatrième et le vingt-deuxième jour suivant l'infection, les rates des souris infectées ont été prélevées et le nombre de lymphocytes T-CD8 transgéniques pour le récepteur F5 (CD45.1⁺CD45.2⁻) a été estimé par cytométrie de flux en se basant sur l'expression de CD8/CD45.1/CD45.2, afin de les distinguer des lymphocytes natifs de la souris hôte (CD45.1⁻CD45.2⁺). Les lymphocytes T-CD8 naïfs (CD44⁻ Mki67⁻ Bcl2⁺), effecteurs (CD44⁺ Bcl2⁻) et mémoires (CD44⁺

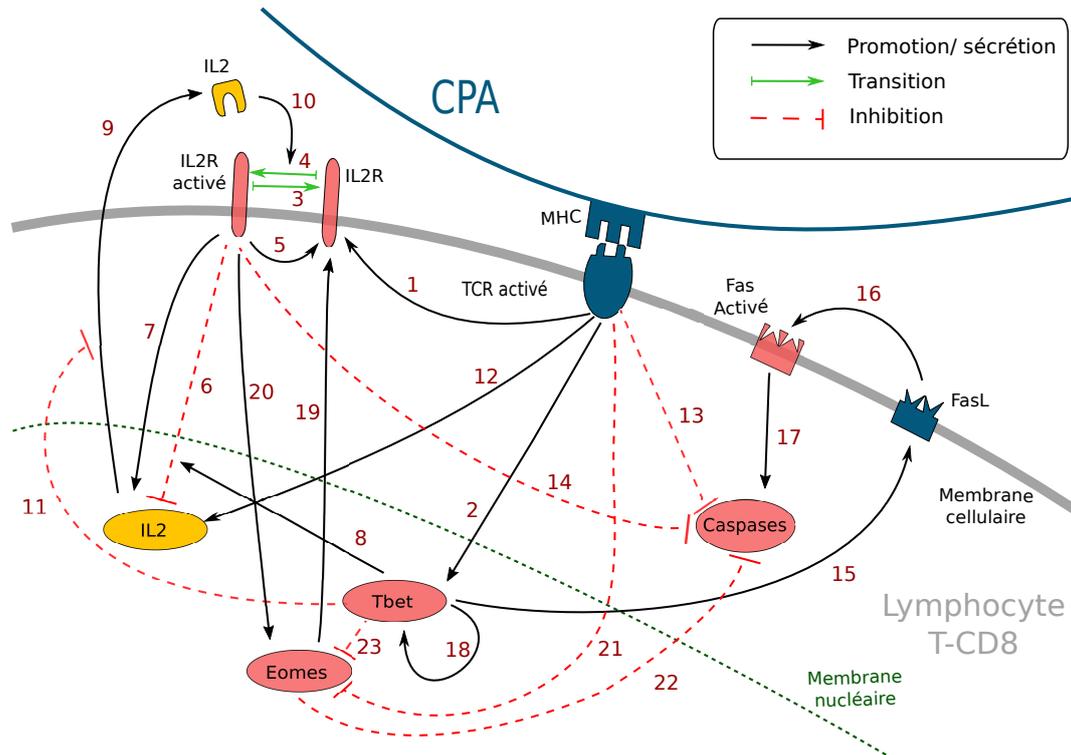


FIGURE 9.1: Réseau de régulation moléculaire simplifié dans un lymphocyte T-CD8. La dynamique des facteurs moléculaires rouges est décrite par le Système (9.1)-(9.6); la dynamique des facteurs moléculaires jaunes est décrite par l'équation (9.7); flèches noires : promotion ou sécrétion; flèches vertes : transition entre les formes activée et non activée de IL2R; flèches rouges en pointillés : inhibition. Les flèches numérotées sont légendées dans la Table 9.1.

Mki67⁻ Bcl2⁺) ont été identifiés [34]. Toutes les procédures expérimentales ont été approuvées par un comité d'éthique en expérimentation animale (CECCAPP; Lyon, France) et les accréditations ont été accordées par le gouvernement français.

Les données d'expression d'ARNm par des lymphocytes T-CD8 proviennent du projet ImmGen (<http://www.immgen.org>). D'après les informations fournies par ImmGen.org, les données ARNm *in vivo* (Figure 10.2) ont été générées à partir de lymphocytes T-CD8 OT1 stimulés selon des procédures expérimentales similaires, à savoir, la réponse de lymphocytes T-CD8 OT-I transgéniques pour le TCR et transférés dans une souris hôte à une infection par un virus de la stomatite vésiculaire (ou *vesicular stomatitis virus*) exprimant l'antigène dont ils sont spécifiques.

9.2 Dynamique intracellulaire et diffusion de l'IL2

Nous souhaitons décrire la régulation de facteurs moléculaires intracellulaires d'un lymphocyte T-CD8 au cours de la réponse immunitaire T-CD8, ainsi que la façon dont ceux-ci déterminent le stade de différenciation de ce dernier. Le réseau de régulation moléculaire que nous considérons à travers ce manuscrit est illustré sur la Figure 9.1, dont une description détaillée est fournie par la Table 9.1. Ce réseau contient quelques facteurs moléculaires clés dans les processus de différenciation, d'apoptose et de communication entre cellules. Il s'agit d'une version enrichie du réseau moléculaire développé dans [51, 116], qui se limitait à la description de la différenciation jusqu'au stade effecteur. Afin de prendre en compte la différenciation vers le stade mémoire, nous y avons introduit la protéine Eomes et ses interactions avec le reste du réseau, telles qu'elles sont décrites dans la littérature. En effet, Eomes est impliquée dans le développement de propriétés essentielles des cellules mémoires, telles que la survie, la migration vers les ganglions lymphatiques et la rapidité à réagir à une nouvelle infection [9, 84, 107].

9.2.1 Réseau de régulation moléculaire

Le régulation moléculaire moléculaire de la Figure 9.1 est initié par la présentation d'un antigène, par une CPA, au TCR d'un lymphocyte T-CD8 naïf. Cette stimulation antigénique induit la synthèse de l'interleukine-2 (IL2) par le lymphocyte T-CD8 ainsi que l'expression de récepteurs à IL2 (IL2R) sur sa membrane [61]. L'IL2 synthétisé est alors libéré dans le milieu extracellulaire et peut se lier à son récepteur pour former un complexe IL2-IL2R [47], que nous désignerons par IL2R activé. Les IL2R activés favorisent la production de nouveaux récepteurs à IL2 [61] ainsi que la synthèse de l'IL2 [61]. Dans le même temps, les IL2R activés inhibent l'expression du gène *IL2* par l'intermédiaire de la protéine Blimp1, cet effet est renforcé par Tbet [100, 152].

Parallèlement, la stimulation antigénique induit chez un lymphocyte la synthèse de la protéine Tbet [103], impliquée dans l'acquisition de la cytotoxicité. En effet, Tbet est connue pour induire l'expression du ligand de Fas (FasL) [132], une protéine transmembranaire capable de se lier à la protéine transmembranaire Fas exprimée par une autre cellule. Cette liaison peut induire l'apoptose de la cellule portant Fas en activant, chez cette dernière, les Caspases. [20]. Les Caspases forment une famille de protéines jouant un

rôle central dans le déclenchement de l'apoptose [131]. Plusieurs types de Caspases interviennent dans ce processus mais, par soucis de simplicité, nous les agrégeons en une unique variable [Cas]. De plus, Tbet induit sa propre synthèse (*via* le gène $Tbx21$) [76, 129].

L'expression d'Eomes, impliquée dans l'acquisition du phénotype mémoire [9], est d'abord inhibée par l'engagement du TCR durant la phase d'activation (*via* l'activation de la voie Akt/mTOR et l'inhibition de FOXO1 et TCF7) [70, 78, 123]. Eomes est induite plus tardivement [36, 84] et son expression est renforcée par l'activation des récepteurs à IL2 [70, 86, 123]. Eomes promeut le développement de nouveaux récepteurs à IL2 sur la membrane cellulaire [107].

La protéine Eomes ainsi que l'activation des récepteurs à IL2 et du TCR protègent de l'apoptose en inhibant l'activation des Caspases, notamment *via* l'intermédiaire de la protéine Bcl2 [9, 44, 77].

9.2.2 Dynamique moléculaire intracellulaire

À partir des réactions présentées ci-dessus et des équations considérées dans [51, 116], nous décrivons la dynamique des concentrations de récepteurs à IL2 sous forme non activée ($[R]$) et activée ($[L \bullet R]$), de Tbet ($[Tb]$), de Fas sous forme activée ($[Fs^*]$), de Caspases ($[Cas]$) et d'Eomes ($[E]$) dans un lymphocyte T-CD8 à l'aide du système d'équations différentielles suivant

$$\frac{d}{dt}[R] = \lambda_{R1} f_{CPA} + (\mu_{IL2}^- + \lambda_{R2})[L \bullet R] + \lambda_{E1}[E] - (\mu_{IL2}^+[IL2^{cm}] + k_R)[R], \quad (9.1)$$

$$\frac{d}{dt}[L \bullet R] = \mu_{IL2}^+[IL2^{cm}][R] - \mu_{IL2}^-[L \bullet R] - k_e[L \bullet R], \quad (9.2)$$

$$\frac{d}{dt}[Tb] = \lambda_{T1} f_{CPA} + \lambda_{T2} \frac{[Tb]^n}{\lambda_{T3}^n + [Tb]^n} - k_T[Tb], \quad (9.3)$$

$$\frac{d}{dt}[Fs^*] = H\mu_F^+[Tb^{cm}] \left(\frac{\lambda_F}{k_F} - [Fs^*] \right) - \mu_F^-[Fs^*] - k_F[Fs^*], \quad (9.4)$$

$$\frac{d}{dt}[Cas] = G\lambda_{c1} \frac{1}{1 + \lambda_{c2}[L \bullet R]} \cdot \frac{1}{1 + \lambda_{c3}f_{CPA}} \cdot \frac{1}{1 + \lambda_{E2}[E]} + \lambda_{c4}[Fs^*] - k_c[Cas], \quad (9.5)$$

$$\frac{d}{dt}[E] = \frac{1}{1 + \lambda_{E5}f_{CPA}} \cdot \left(\frac{\lambda_{E3}[L \bullet R]}{\lambda_{E6} + [L \bullet R]} + \frac{G\lambda_{E4}}{1 + \lambda_{E7}[Tb]} \right) - k_E[E]. \quad (9.6)$$

Tous les paramètres sont supposés strictement positifs. La notation λ est associée aux effets d'inhibition et d'induction, μ est associé aux paramètres d'activation et de

n°	Description	Référence
1	L'activation du TCR induit le développement de récepteurs à IL2	[21, 47]
2	L'activation du TCR induit la synthèse de Tbet	[103]
3	Désactivation du récepteur à IL2	[47]
4	Activation du récepteur à IL2	[47]
5	IL2R activé induit le développement de IL2R supplémentaires	[61]
6	IL2R activé inhibe l'expression du gène <i>IL2</i> (via Blimp1)	[100]
7	IL2R activé induit l'expression du gène <i>IL2</i>	[61]
8	Tbet renforce l'inhibition du gène <i>IL2</i> par IL2R activé	[152]
9	L'IL2 interne est sécrété dans l'environnement extracellulaire	[47]
10	L'IL2 externe se lie à IL2R et l'active	[61]
11	Tbet inhibe la sécrétion d'IL2	[2, 64, 135]
12	L'activation du TCR active le gène <i>IL2</i> (via Erk)	[61]
13	L'activation du TCR inhibe les Caspases (via Erk, Bim, Bax et Bcl2)	[44]
14	Le récepteur à IL2 activé inhibe les Caspases (via Stat5, Bax et Bcl2)	[77]
15	Tbet induit l'expression de FasL	[132]
16	FasL active Fas par contact entre cellules	[20]
17	L'activation de Fas active les Caspases	[20]
18	Tbet induit sa propre synthèse via l'activation du gène <i>Tbx21</i> (boucle de rétroaction positive)	[76, 129]
19	Eomes induit l'expression de IL2R	[107]
20	IL2R activé induit l'expression de <i>Eomes</i> (via Runx3)	[70, 86, 123]
21	L'activation du TCR inhibe l'expression du gène <i>Eomes</i> (via Akt, mTOR, Tcf1, Foxo1)	[70, 78, 123]
22	Eomes inhibe les Caspases (via Bcl2)	[9]
23	Tbet inhibe l'expression de <i>Eomes</i> (via IFN γ , IL12R)	[1, 12]

TABLE 9.1: Description des voies de signalisation moléculaires de la Figure 9.1 et références bibliographiques correspondantes.

désactivation de protéines transmembranaires et k correspond à des taux de dégradation et de dilution. Les concentrations du Système (9.1)-(9.6) sont supposées nulles dans les lymphocytes T-CD8 naïfs, elles le demeurent jusqu'à l'engagement du TCR.

Les effets de l'environnement extracellulaire sur le système intracellulaire (9.1)-(9.6) sont pris en considération à travers cinq variables :

- La variable f_{CPA} (équations (9.1), (9.3), (9.5) et (9.6)) est égale au nombre de CPA

liées au lymphocyte T-CD8 considéré, elle correspond à l'intensité du signal reçu par le TCR.

- La variable G (équations (9.5) et (9.6)) est égale à 0 dans un lymphocyte T-CD8 naïf et à 1 sinon, i.e. dans tout lymphocyte T-CD8 ayant déjà rencontré une CPA. Cette variable G traduit le fait que la régulation positive des Caspases et d'Eomes décrite par les paramètres λ_{c1} et λ_{E4} n'a pas lieu dans les lymphocytes naïfs.
- La variable H (équation (9.4)) correspond à l'expression de FasL par les lymphocytes effecteurs et mémoires et à l'activation de Fas lorsque deux lymphocytes entrent en contact. Ainsi, H est égale à 1 dans un lymphocyte non-naïf en contact avec un lymphocyte effecteur ou mémoire, elle est égale à 0 sinon.
- La variable $[IL2^{cm}]$ est égale à la concentration d'IL2 autour de la membrane cellulaire, dans le milieu extracellulaire.
- Finalement, $[Tb^{cm}]$ est définie comme la somme des concentrations de Tbet dans les lymphocytes effecteurs et mémoires au contact du lymphocyte considéré, elle opère comme un proxy de l'expression de Fas par ces lymphocytes.

9.2.2.1 Modification du modèle moléculaire de Gao *et al.* [51]

À partir du système d'équations utilisé dans [51], nous avons introduit la variable $[E]$ et l'équation associée (9.6) afin de considérer la synthèse de la protéine Eomes et ses interactions avec les autres facteurs moléculaires. Le terme $\lambda_{E1}[E]$, dans (9.1), correspond à l'action positive d'Eomes sur la synthèse de récepteurs à IL2. Eomes limite l'apoptose en activant le gène *Bcl-2*, tout comme le font l'IL2 et le TCR. Cette voie moléculaire commune justifie l'emploi de la forme multiplicative adoptée pour l'inhibition des Caspases par Eomes, IL2 et le TCR dans l'équation (9.5).

Avec les équations proposées dans [51], l'inhibition des Caspases par les récepteurs à IL2 activés n'opère que lors de la phase d'activation ($f_{CPA} \neq 0$), ce qui ne correspond pas aux informations de la littérature, nous avons donc introduit la fonction G dans l'équation (9.5) pour appliquer cet effet à tout lymphocyte non-naïf.

Pour modéliser la boucle de rétroaction positive sur Tbet, nous employons, à l'instar de Friedman *et al.* [49, 50], une fonction de Hill d'ordre n . Comme discuté en introduction, une forte concentration de Tbet peut être associée à un fort niveau de différen-

ciation en lymphocyte effecteur tandis qu'une faible concentration de Tbet est associée aux lymphocytes mémoires et aux lymphocytes effecteurs précurseurs à fort potentiel de différenciation en lymphocyte mémoire. La Proposition 10 ci-dessous, reproduite d'après la Proposition 8 (Chapitre 5), fournit les conditions nécessaires et suffisantes pour que la concentration de Tbet suive une dynamique bistable :

PROPOSITION 10

Supposons que $f_{CPA} = 0$, $n > 1$ et $\lambda_{T2}(n-1)^{\frac{n-1}{n}} > nk_T\lambda_{T3}$, alors l'équation (9.3) a exactement trois équilibres positifs : 0, $[Tb]_u$ et $[Tb]_s$ tels que $0 < [Tb]_u < [Tb]_s$. Les équilibres 0 et $[Tb]_s$ sont localement asymptotiquement stables et $[Tb]_u$ est instable.

Dans la suite de cette thèse, nous supposons que les conditions $n > 1$ et $\lambda_{T2}(n-1)^{\frac{n-1}{n}} > nk_T\lambda_{T3}$ sont satisfaites.

Le Système (9.1)-(9.6) est implémenté dans chaque lymphocyte T-CD8. Toutefois, les contacts entre cellules, les événements stochastiques (durée du cycle cellulaire, partage des protéines lors de la division) et la concentration d'IL2 dans le milieu extracellulaire affectent l'évolution de ce système, si bien que chaque lymphocyte T-CD8 développe un profil moléculaire unique, dépendant de sa propre histoire.

9.2.3 Diffusion de l'IL2 extracellulaire

La sécrétion de l'IL2 par les lymphocytes T-CD8 et sa diffusion isotropique dans le milieu extracellulaire (avec des conditions aux bords périodiques) sont modélisées par l'équation aux dérivées partielles suivante, introduite par Prokopiou *et al.* [116],

$$\frac{\partial[IL2]}{\partial t} = D\nabla^2[IL2] + \left(\lambda_{R3} \frac{[L \bullet R]}{\lambda_{R4} + [L \bullet R]} + \lambda_1 f_{CPA} \right) \frac{1}{1 + \lambda_{T4}[Tb]} - \delta[IL2], \quad (9.7)$$

où $[IL2]$ est la concentration d'IL2. Les lymphocytes T-CD8 réagissent à l'IL2 extracellulaire grâce à leurs récepteurs à IL2 au travers du terme $[IL2^{cm}]$ (équations (9.1) et (9.2)).

Cellule \ Propriété	Sécrétion d'IL2	Expression de Fas	Expression de FasL	Division	Apoptose
CPA	○	○	○	○	✓
Lymphocyte naïf	✓	○	○	○	✓
Lymphocyte pré-activé	✓	○	○	○	✓
Lymphocyte activé	✓	✓	○	✓	✓
Lymphocyte effecteur	✓	✓	✓	✓	✓
Lymphocyte mémoire	✓	✓	✓	○	✓

TABLE 9.2: **Principales règles de modélisation appliquées aux CPA et lymphocytes T-CD8.** Les propriétés marquées d'un ✓ reposent sur le contenu moléculaire du lymphocyte et les règles de divisions de la Section 9.3.2; les propriétés marquées d'un ○ ne peuvent être exprimées.

9.3 Différenciation et division cellulaire

Les règles s'appliquant à la division cellulaire (dont le partage des protéines lors de la division), à l'apoptose et à la différenciation cellulaire sont détaillées ci-dessous et récapitulées dans la Table 9.2. Notons que les propriétés d'un lymphocyte T-CD8 découlent principalement de son profil moléculaire. Par exemple, les propriétés observées *in vivo* chez les lymphocytes mémoires (survie, faible sécrétion d'IL2, faible cytotoxicité) ne sont pas imposées par les règles du modèle mais acquises en conséquence de l'évolution du Système (9.1)-(9.6). La seule différence imposée entre lymphocytes effecteurs et mémoires est l'absence de division. La durée du cycle cellulaire est une exception à ce principe (voir Section 9.3.2).

9.3.1 Différenciation

Nous considérons l'ensemble de règles de différenciation suivant, basé sur le schéma de différenciation linéaire et irréversible employé dans [51, 116]. Ce système de règles permet la description d'une réponse T-CD8 complète, c'est à dire de l'activation des lymphocytes naïfs jusqu'à la génération de lymphocytes mémoires. Le schéma de différenciation est illustré par la Figure 9.2.

Un lymphocyte naïf devient pré-activé lorsqu'il se lie à une CPA, il maintient cette liaison grâce à de bonnes propriétés d'adhésion (cf. Section 9.4 et Table 9.3 en Section 9.7). Si la concentration $[L \bullet R]$ de récepteurs à IL2 activés dans un lymphocyte pré-activé

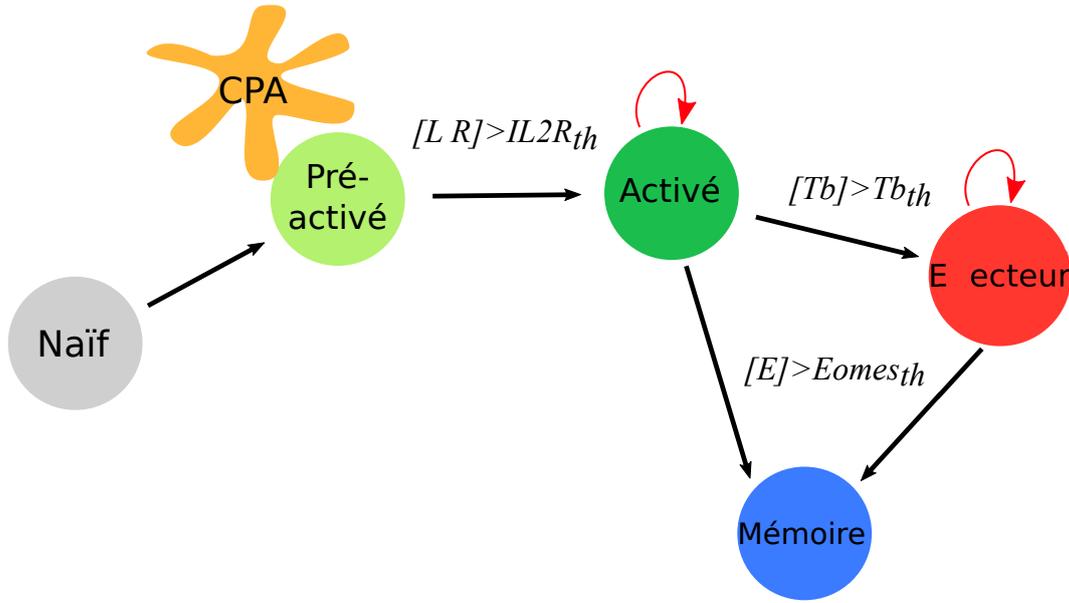


FIGURE 9.2: **Schéma de différenciation d'un lymphocyte T-CD8.** Flèches rouges : prolifération ; flèches noires : différenciation ; $th = threshold$ (seuil).

franchit le seuil $IL2R_{th}$, le lymphocyte devient activé : il se sépare de la CPA et commence à proliférer. Lorsqu'un lymphocyte activé se divise, il donne naissance à deux lymphocytes dont le stade de différenciation est déterminé par leurs concentrations respectives de Tbet en comparaison du seuil $Tbet_{th}$: activé si $[Tb] < Tbet_{th}$, effecteur sinon. Enfin, si la concentration d'Eomes est supérieure au seuil $Eomes_{th}$ dans un lymphocyte activé ou effecteur à la fin de son cycle cellulaire, celui-ci se différencie en lymphocyte mémoire et cesse de proliférer.

9.3.2 Durée du cycle cellulaire

Seules les lymphocytes activés et effecteurs se divisent. Comme dans [51, 116] la durée des cycles cellulaire est choisie aléatoirement. En outre, afin que l'espérance de la durée du cycle cellulaire croisse avec le nombre de divisions [80, 153], dans notre modèle la durée du cycle cellulaire (en heures) d'un lymphocyte préparant sa k -ième division ($k \geq 0$) est choisi, à la naissance du lymphocyte, d'après la loi uniforme $\mathcal{U}_{[c_k-4, c_k+4]}$, où $c_k = 6 + 28k^2/(k^2 + 100)$. À l'issue d'une division, les lymphocytes activés et effecteurs entrent immédiatement dans un nouveau cycle.

9.3.3 Partage du contenu intracellulaire entre cellules filles

Lorsqu'un lymphocyte T-CD8 se divise, le contenu moléculaire de la cellule mère est partagé aléatoirement entre les deux cellules filles. Si l'on note $[i]$, $i = 1, \dots, 6$, les six concentrations de protéines du Système (9.1)-(9.6) dans la cellule mère, la première cellule fille hérite d'une concentration $k_i[i]$ et la seconde d'une concentration $(2 - k_i)[i]$. Les coefficients k_i , $i = 1, \dots, 6$, différents pour chaque protéine, chaque cellule et chaque division, sont choisis aléatoirement selon une loi uniforme sur l'intervalle $[1 - q, 1 + q]$ où q est un paramètre appelé *degré d'inégalité*, également considéré dans la Section 6.1 du Chapitre 6. Par soucis de clarté, précisons que, comme dans le Chapitre 6, le degré d'inégalité q ne détermine pas la fraction exacte de protéines reçue par chaque cellule fille à chaque division mais qu'il indique à quel point le partage des protéines peut être inégal. Notons que $k_i \in [0, 1]$, ainsi la quantité de protéines est préservée à chaque division puisque le volume de chaque cellule fille est deux fois inférieur à celui de la cellule mère.

Sauf indication contraire, nous considérerons un degré d'inégalité $q = 0.1$, i.e. $k_i \in [0.9, 1.1]$ pour $i = 1, \dots, 6$. Ainsi, en terme de nombre de protéines, le partage le plus inégal distribue respectivement 45% et 55% des protéines de la cellule mère à chacune des cellules filles. Différents degrés d'inégalité seront considérés dans la Section 10.3.

Première division asymétrique

Pour tenir compte de la polarisation des lymphocytes naïfs lorsqu'un antigène leur est présenté et de la division asymétrique qui s'ensuit, la première division d'un lymphocyte, consécutive à son activation par une CPA, engendre un partage particulièrement inégal de la protéine Tbet : un coefficient K est choisi aléatoirement selon la loi uniforme $\mathcal{U}_{[0.5, 1]}$, l'une des cellules filles est arbitrairement désignée comme cellule proximale et hérite d'une concentration $(2 - K)[Tb]$ pour la protéine Tbet, l'autre cellule fille est désignée comme cellule distale et hérite d'une concentration $K[Tb]$, où $[Tb]$ est la concentration de Tbet dans la cellule mère. Ainsi, la protéine Tbet se concentre dans les cellules proximales [27, 28].

9.3.4 Apoptose

L'apoptose d'un lymphocyte T-CD8 survient dès lors que la concentration $[Cas]$ de Caspases franchit le seuil $Caspases_{th}$. Les CPA sont présentes dès l'initialisation de la simulation et leur durée de vie est choisie aléatoirement selon la loi uniforme $\mathcal{U}_{[48, 96]}$

(heures). Dans notre modèle, l'unique rôle des CPA est d'activer les lymphocytes naïfs, c'est pourquoi nous ne modélisons aucune activité moléculaire dans celles-ci. Les cellules mortes sont retirées du domaine.

9.4 Modélisation spatiale et interactions cellulaires

À l'échelle cellulaire, un CPM permet de décrire une population de lymphocytes T-CD8 et de CPA évoluant dans un domaine en deux dimensions. Sommairement, un CPM est un algorithme en temps discret dans lequel des cellules (ou agents), définies comme des ensembles de pixels, se déplacent sur une grille, pixel par pixel, selon des règles probabilistes basées sur la minimisation de l'énergie du système, dite Hamiltonienne.

9.4.1 Définitions

Dans notre modèle, basé sur les modèles issus de [51, 116], le domaine spatial est une grille carrée de $S = 150 \times 150$ pixels et munie de conditions aux bords périodiques. Chaque pixel \vec{x} porte un indice $\sigma(\vec{x})$. Un ensemble de pixels portant le même indice σ définit une cellule, également notée σ . Enfin, chaque cellule σ possède un type $\tau(\sigma)$ qui définit ses propriétés. Dans notre cas, les différents types sont : milieu extracellulaire, CPA, lymphocyte naïf, lymphocyte pré-activé, lymphocyte activé, lymphocyte effecteur et lymphocyte mémoire. Remarquons que, sur un plan technique, le milieu extracellulaire est considéré comme une cellule, dénotée par σ_e .

L'Hamiltonien Ω est donnée par la formule suivante :

$$\Omega = \underbrace{\lambda_{pm} \sum_{\sigma \neq \sigma_e} (p_\sigma - P_{\tau(\sigma)})^2}_{\text{périmètre}} + \underbrace{\lambda_{aire} \sum_{\sigma \neq \sigma_e} (a_\sigma - A_{\tau(\sigma)})^2}_{\text{aire}} + \underbrace{\sum_{\text{voisins } (\vec{x}, \vec{x}^*)} J_{\tau(\sigma(\vec{x})), \tau(\sigma(\vec{x}^*))} (1 - \delta_{\sigma(\vec{x}), \sigma(\vec{x}^*)})}_{\text{contact}}, \quad (9.8)$$

où J_{τ_1, τ_2} représente l'énergie de contact entre deux cellules de types τ_1 et τ_2 . Le terme $1 - \delta_{\sigma(\vec{x}), \sigma(\vec{x}^*)}$ assure que deux pixels voisins appartenant à la même cellule ne coûtent aucune énergie de contact. p_σ et a_σ sont respectivement le périmètre et l'aire effectifs de la cellule σ ; $P_{\tau(\sigma)}$ et $A_{\tau(\sigma)}$ sont respectivement le périmètre et l'aire de référence pour une cellule de type $\tau(\sigma)$. Les contraintes de périmètre et d'aire pénalisent donc les

configurations dans lesquelles le périmètre et l'aire d'une cellule sont éloignés de leur valeur de référence. Les paramètres λ_{aire} et λ_{pm} définissent les poids associés à ces contraintes. La contrainte de périmètre a été ajoutée à la définition de l'Hamiltonien utilisée dans [51, 116] afin d'éviter le phénomène de fragmentation d'une cellule en un ensemble disjoint de pixels.

9.4.2 Déplacement des cellules

Le déplacement d'une cellule et la variation de sa taille procèdent d'une succession de copies d'indices entre les pixels de cette cellule et les pixels voisins : la cellule grandit en convertissant l'indice d'un des pixels voisins et rapetisse lorsqu'un de ses pixels adopte un autre indice. Ces copies sont gouvernées par la minimisation de l'Hamiltonien Ω (équation (9.8)) grâce à un algorithme de recuit simulé. Concrètement, à chaque itération du CPM, appelée Monte Carlo Step (MCS) , l'algorithme suivant est exécuté $N = 3 \times S$ fois :

1^{ère} étape Choisir aléatoirement un pixel x_s , dit pixel source et, parmi ses quatre voisins du premier ordre, un pixel cible x_c .

2^{ème} étape Calculer l'Hamiltonien Ω , puis la valeur de l'Hamiltonien potentielle Ω' que l'on obtiendrait si le pixel x_s recopiait son indice sur le pixel x_c , i.e. si la cellule $\sigma(x_s)$ assimilait le pixel x_c .

3^{ème} étape Calculer $\Delta\Omega = \Omega - \Omega' + \Delta_{motilité}$ (voir équation (9.9) ci-dessous) pour évaluer le coup énergétique d'une telle copie. Si $\Delta\Omega > 0$, x_s recopie son indice $\sigma(x_s)$ sur x_c , i.e. x_c est assimilé par la cellule $\sigma(x_s)$. Sinon, la copie est acceptée avec probabilité $\exp(-\Delta\Omega/T)$, dite probabilité de Boltzman, où le paramètre T caractérise la propension du système à évoluer.

L'énergie $\Delta_{motilité}$ est définie par

$$\Delta_{motilité} = v(\tau(\sigma(x_s))) (\cos(\theta(\sigma(x_s), t)), \sin(\theta(\sigma(x_s), t))) \cdot (x_c - x_s), \quad (9.9)$$

où $v(\tau(\sigma(x_s)))$ est le poids associé à l'énergie de motilité pour une cellule de type $\tau(\sigma(x_s))$ et $\theta(\sigma(x_s), t)$ est l'angle de la direction privilégiée pour la cellule $\sigma(x_s)$ au temps t , mis à jour de façon aléatoire au cours de la simulation. L'opérateur “.” correspond au produit scalaire. Ainsi, $\Delta_{motilité}$ est d'autant plus grande (la copie est donc d'autant plus facilement acceptée) que la direction de copie $(x_c - x_s)$ est alignée à $(\cos(\theta(t)), \sin(\theta(t)))$.

Les équations différentielles du Système (9.1)-(9.6), implémentées dans chaque lymphocyte du domaine, et l'équation de diffusion (9.7) sont intégrées une fois par MCS.

Il est habituel de considérer $N = S$ tentatives de copies par MCS. Toutefois, dans ce cas la vitesse maximale qu'une cellule peut atteindre est limitée à environ 0.1 pixel par MCS [133]. Pour accorder une vitesse donnée aux cellules il faut donc considérer qu'une MCS correspond à un temps suffisamment faible dans l'interprétation biologique du modèle, ce qui peut conduire à réaliser davantage de MCS que souhaité [134]. Signalons que cette limitation peut être évitée en choisissant de réaliser davantage de tentatives de copies par MCS (ici $N = 3 \times S$), ce qui a pour effet d'accélérer le déplacement des cellules sans augmenter le nombre de MCS, et donc le nombre d'appel au solveur des équations différentielles.

9.5 Résolution numérique

La population initiale de cellules est composée de 30 lymphocytes naïfs et de 3 CPA. Une simulation compte 30 000 itérations (MCS), soit 20 jours et 20 heures dans l'interprétation biologique, 1 MCS correspondant à 1 minute. Nous considérons que l'instant initial d'une simulation correspond au jour 4 après infection (J4 a.i.), les CPA étant déjà présentes et prêtes à activer les lymphocytes naïfs, ce qui correspond au premier point de mesure de nos données *in vivo*.

Un pixel de la grille correspond à une parcelle de $4 \times 4 \mu m^2$ dans l'interprétation biologique (contre $3 \times 3 \mu m^2$ dans [51, 116], afin d'économiser en temps de calcul). L'aire de référence des lymphocytes T-CD8 est fixée à 9 pixels ($144 \mu m^2$), celle des CPA à 140 pixels ($2240 \mu m^2$). Le périmètre de référence des lymphocytes T-CD8 est fixé à $48 \mu m$ de sorte à favoriser les formes compactes (la configuration la moins coûteuse en énergie est le carré de 3×3 pixels) ; il n'y a pas de contrainte sur le périmètre des CPA. Les simulations ont été effectuées sur les serveurs du CC-IN2P3, sur le logiciel CompuCell3D [133] avec, sauf indication contraire, les paramètres des Tables 9.3-9.6, Section 9.7.

Dans la Section 10.4, nous étudions la capacité de notre modèle à simuler une réponse immunitaire secondaire. Dans ce cas, les simulations sont réalisées avec une population initiale de 3 CPA et 30 lymphocytes mémoires. Ces lymphocytes mémoires ont un profil moléculaire initial identique à celui développé par les cellules mémoires à la fin d'une

réponse primaire *in silico* (voir Section 10.2) et sont capables de se lier à une CPA pour devenir pré-activé, après quoi le schéma de différenciation présenté dans la Section 9.3.1 s'applique. En particulier, la polarisation due à la présentation de l'antigène et la division asymétrique qui s'ensuit (9.3.3) s'applique aux lymphocytes mémoires comme aux lymphocytes naïfs [32].

9.6 Calibration du modèle

Les paramètres des équations (9.1)-(9.9) ont été calibrés sur des données *in vivo*, en se basant sur les valeurs de paramètres utilisées dans [51, 116]. Modéliser de grandes populations de cellules avec un modèle à base d'agents est très coûteux en temps de calcul, c'est pourquoi nous nous sommes appliqués à capturer la proportion — plutôt que le nombre — de lymphocytes T-CD8 dans chaque stade de différenciation au sein de la population de lymphocytes tout entière. Afin de comparer les données *in vivo* et les simulations *in silico* aux échelles moléculaire et cellulaire, nous employons la distance $D = D_{cell} + D_{prot}$ où

$$D_{cell} = \frac{1}{(\#S)(\#V)} \sum_{\text{simulation } \mathcal{S}} \cdot \sum_{\text{souris } \mathcal{V}} \cdot \sum_{\text{type cellulaire } \mathcal{C}} \cdot \sum_{\text{temps de mesure } t} |\mathcal{S}(\mathcal{C}, t) - \mathcal{V}(\mathcal{C}, t)| \quad (9.10)$$

et

$$D_{prot} = \frac{1}{(\#S)(\#V)} \sum_{\text{simulation } \mathcal{S}} \cdot \sum_{\text{souris } \mathcal{V}} \cdot \sum_{\text{protéine } \mathcal{P}} \cdot \sum_{\text{temps de mesure } t} |\mathcal{S}(\mathcal{P}, t) - \mathcal{V}(\mathcal{P}, t)|, \quad (9.11)$$

avec $\#S$ le nombre de simulations réalisées avec un jeu de paramètres donné et $\#V$ le nombre de souris sur lesquelles les données *in vivo* ont été collectées. $\mathcal{S}(\mathcal{C}, t)$ (resp. $\mathcal{V}(\mathcal{C}, t)$) est le ratio entre le nombre de cellules de type \mathcal{C} et la taille de la population de lymphocytes T-CD8 au temps t dans la simulation \mathcal{S} (resp. la souris \mathcal{V}). $\mathcal{S}(\mathcal{P}, t)$ (resp. $\mathcal{V}(\mathcal{P}, t)$) est le ratio entre la concentration moyenne pour la protéine (resp. l'expression moyenne pour l'ARNm) \mathcal{P} observée au sein de la population de lymphocytes T-CD8 au temps t dans la simulation \mathcal{S} (resp. la souris \mathcal{V}) et la concentration (resp. expression) maximale observée parmi tous les temps de mesure.

Puisque les stades de différenciations pré-activé et activé considérés dans notre modèle ne sont pas identifiées dans les données *in vivo*, les lymphocytes pré-activés sont regroupés

avec les lymphocytes naïfs, et les lymphocytes activés avec les lymphocytes effecteurs dans le calcul de D_{cell} . Au final, les types cellulaires \mathcal{C} dans l'équation (9.10) sont : naïf/pré-activé, activé/effecteur et mémoire. Dans l'équation (9.11), les protéines \mathcal{P} sont celles pour lesquelles nous disposons de données *in vivo* pour l'expression d'ARNm : IL2R (forme activée ou non), Tbet et Eomes.

9.7 Valeurs de paramètres

Les valeurs de paramètres utilisées pour simuler le CPM sont présentées dans la Table 9.3. Les valeurs de paramètres utilisées pour simuler le Système (9.1)-(9.6) et l'équation (9.7) sont respectivement présentées dans les Tables 9.4 et 9.5. La Table 9.6 contient les valeurs des seuils utilisés pour définir la différenciation et la mort des lymphocytes T-CD8 (Section 9.3).

Paramètre	Description	Valeur	Référence
A_T	Aire de référence d'un lymphocyte T-CD8	144 μm^2	[51]
A_{CPA}	Aire de référence d'une CPA	2250 μm^2	/
P_T	Périmètre de référence d'un lymphocyte T-CD8	48 μm	/
λ_{pm}	Poids de la contrainte de périmètre	10	/
λ_{aire}	Poids de la contrainte d'aire	10	[116]
T	Température	10	[116]
$J_{CPA,m}$	Énergie de contact CPA-milieu extracellulaire	30	[116]
$J_{T,m}$	Énergie de contact lymphocyte-milieu extracellulaire	30	[116]
$J_{CPA,CPA}$	Énergie de contact CPA-CPA	100	[116]
$J_{CPA,NPA}$	Énergie de contact CPA-lymphocyte naïf ou pré-activé	35	[116]
$J_{CPA,AEM}$	Énergie de contact CPA-lymphocyte activé, effecteur ou mémoire	100	/
$J_{T,T}$	Énergie de contact lymphocyte-lymphocyte	100	[116]
$v(\sigma_{CPA})$	Poids de l'énergie de motilité pour une CPA	25	[51]
$v(\sigma_{PA})$	Poids de l'énergie de motilité pour un lymphocyte pré-activé	0	[51]
$v(\sigma_T)$	Poids de l'énergie de motilité pour un lymphocyte (sauf pré-activé)	250	[51]

TABLE 9.3: Valeurs de paramètres pour le modèle de Potts cellulaire. Les poids, les énergies et le paramètre de température sont sans dimension.

Paramètre	Valeur	Unité	Référence
Inhibition et induction			
λ_{R1}	0.58	mol L ⁻¹ min ⁻¹	/
λ_{R2}	0.007	min ⁻¹	/
λ_{E1}	0.001	min ⁻¹	/
λ_{T1}	0.07	mol L ⁻¹ min ⁻¹	/
λ_{T2}	0.06175	min ⁻¹	/
λ_{T3}	35	mol L ⁻¹	/
λ_{c1}	0.096	mol L ⁻¹ min ⁻¹	/
λ_{c2}	0.07	L mol ⁻¹	/
λ_{c3}	0.23	/	/
λ_{c4}	1.4	min ⁻¹	/
λ_{E2}	0.073	L mol ⁻¹	/
λ_{E3}	0.06	mol L ⁻¹ min ⁻¹	/
λ_{E4}	0.09	mol L ⁻¹ min ⁻¹	/
λ_{E5}	20	/	/
λ_{E6}	10	mol L ⁻¹	/
λ_{E7}	0.035	L mol ⁻¹	/
Dégradation/dilution			
k_R	0.0077	min ⁻¹	/
k_e	0.0154	min ⁻¹	/
k_T	0.00051	min ⁻¹	/
k_F	0.003	min ⁻¹	/
k_c	0.0038	min ⁻¹	[116]
k_E	0.0035	min ⁻¹	/
Activation et désactivation			
μ_{IL2}^+	6×10^6	L mol ⁻¹ min ⁻¹	/
μ_{IL2}^-	0.12	min ⁻¹	/
μ_F^+	0.0002	L mol ⁻¹ min ⁻¹	[51]
μ_F^-	0.004	min ⁻¹	[116]
k_E	0.0035	min ⁻¹	/
Other			
λ_F	4.2×10^{-5}	mol L ⁻¹ min ⁻¹	[116]
n	3	/	/

TABLE 9.4: Valeurs de paramètres pour le Système (9.1)-(9.6).

Paramètre	Valeur	Unité	Référence
λ_{R3}	5×10^{-9}	$\text{mol L}^{-1} \text{min}^{-1}$	/
λ_{R4}	15	mol L^{-1}	/
λ_{T4}	0.08	L mol^{-1}	/
λ_1	3×10^{-8}	L mol^{-1}	/
D	1.776	$\mu\text{m}^2 \text{min}^{-1}$	/
δ	0.187	min^{-1}	[51]

TABLE 9.5: Valeurs de paramètres pour l'équation (9.7).

Seuil	Valeur	Unité
$IL2R_{th}$	62.9	mol L^{-1}
$Tbet_{th}$	16.8	mol L^{-1}
$Eomes_{th}$	16	mol L^{-1}
$Caspases_{th}$	19.42	mol L^{-1}

TABLE 9.6: Seuils pour la différenciation et la mort des lymphocytes T-CD8.

Résultats : comparaison aux données et hétérogénéité moléculaire

Dans ce chapitre, nous présentons des résultats obtenus à partir du modèle à base d’agents présenté dans le Chapitre 9. Nous comparons dans un premier temps (Section 10.1) les dynamiques générées par ce modèle pour les échelles cellulaire et moléculaire avec des données expérimentales *in vivo* (cf. Section 9.1). Dans la Section 10.2, nous montrons que la dynamique cellulaire *in silico* peut être expliquée à partir de l’étude de l’hétérogénéité moléculaire de la population de lymphocytes T-CD8. Dans la Section 10.3, nous discutons l’effet du degré d’inégalité du partage moléculaire lors des divisions sur l’issue de la réponse T-CD8. Enfin, dans la Section 10.5 nous présentons la simulation d’une réponse secondaire, générée à partir de l’activation de cellules mémoires.

10.1 Validation aux échelles cellulaire et moléculaire

Nous commençons par évaluer la capacité de notre modèle à reproduire la dynamique cellulaire et moléculaire observée *in vivo*.

10.1.1 Échelle cellulaire

La Figure 10.1.A. illustre l’évolution de la composition d’une population de lymphocytes T-CD8 entre J4 et J22 a.i.. Dès J6 a.i., la proportion de lymphocytes naïfs/pré-activés au sein de la population cellulaire est négligeable aussi bien dans les données *in vivo* que *in silico*. Au pic de la réponse, mesuré J8 a.i. *in vivo* et *in silico* (Figure 10.1.B.), plus de 94% des lymphocytes T-CD8 sont dans le stade activé ou effecteur. Suite au pic de la réponse, débute une phase de contraction cellulaire. Au cours de cette phase, une

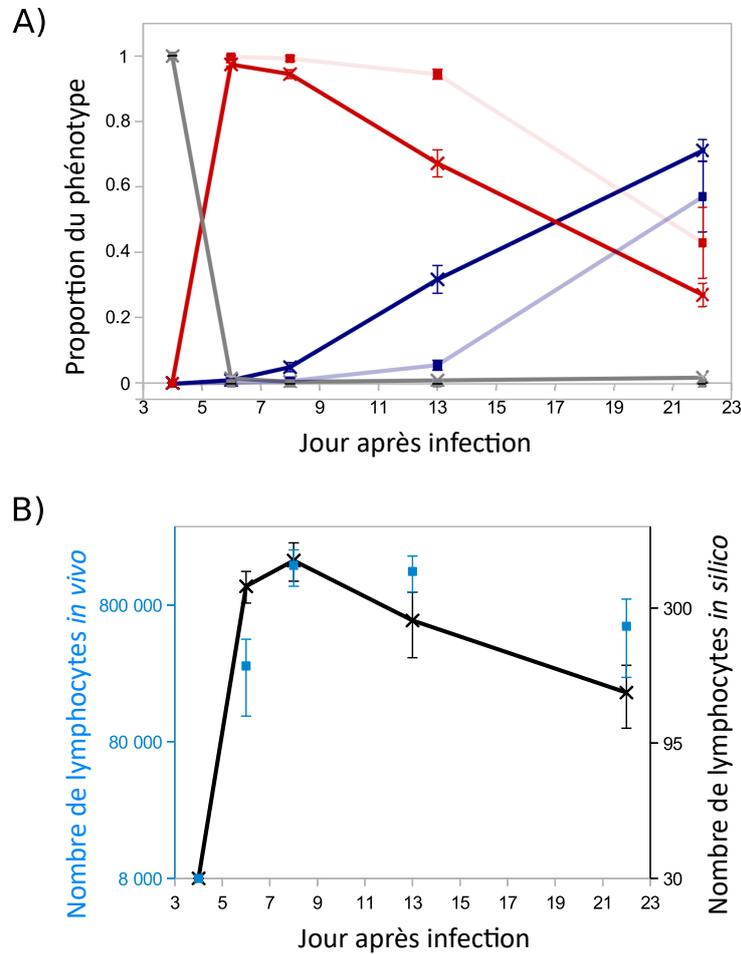


FIGURE 10.1: **Dynamique d'une population de lymphocytes T-CD8.** (A) Fraction de la population de lymphocytes occupée par chaque stade de différenciation. Gris : lymphocytes naïfs + pré-activés ; rouge : lymphocytes activés + effecteurs ; bleu : lymphocytes mémoires. Croix reliées en traits pleins : *in silico* (moyenne \pm écart-type sur 10 simulations) ; carrés reliés en traits transparents : *in vivo* (moyenne \pm écart-type, évalués sur des données provenant de 5 souris). La plupart des barres d'erreur sont imperceptibles parce que trop courtes. (B) Taille de la population de lymphocytes T-CD8 *in silico* (croix noires, axe des ordonnées droit, moyenne \pm écart-type sur 10 simulations) et *in vivo* (carrés bleus, axe des ordonnées gauche, moyenne \pm écart-type, évalués sur des données provenant de 5 souris).

population de lymphocytes mémoires naît de la différenciation d'une partie des lymphocytes effecteurs tandis que les autres lymphocytes effecteurs meurent par apoptose. Ainsi, les lymphocytes mémoires représentent la majorité de la population au dernier temps de mesure, J22 a.i..

La Figure 10.1.B représente la taille (en nombre de cellules) de la population de lymphocytes T-CD8. Qualitativement, la dynamique observée *in vivo* se retrouve dans celle observée *in silico* : la présentation de l'antigène aux lymphocytes naïfs à partir de J4 a.i. provoque l'expansion clonale de la population, celle-ci atteint sa taille maximale J8 a.i. puis s'ensuit une phase de contraction au cours de laquelle la majorité des lymphocytes (64% *in vivo* et 67% *in silico*) meurent.

10.1.2 Échelle moléculaire

Sur la Figure 10.2, les concentrations moyennes *in silico* d'IL2R, de Tbet et d'Eomes sont comparées aux expressions moyennes *in vivo* d'ARNm associés à ces protéines. Les évolutions de IL2R et Tbet *in silico* sont fidèles aux observations *in vivo*.

En réaction à la présentation de l'antigène aux lymphocytes naïfs, la concentration moyenne d'IL2R croît brutalement et atteint un maximum J5 a.i., permettant ainsi aux lymphocytes de capturer davantage d'IL2 et de s'activer. Par la suite, cette concentration décroît jusqu'à J8 a.i. puis croît légèrement entre J8 et J15 a.i..

La concentration moyenne de Tbet croît de J4 à J6 a.i., reste stable jusqu'à J8 a.i., puis décroît jusqu'à J15 a.i.. Observons que l'évolution de la concentration de Tbet suit celle de la taille de la population de lymphocytes effecteurs (Figures 10.1.A et 10.2.B), ce qui est cohérent avec le rôle de Tbet dans le développement des propriétés effectrices.

Concernant Eomes, l'accroissement observé *in vivo* entre J4 et J8 a.i. est bien reproduit par notre modèle. En revanche, la diminution de l'expression d'Eomes observée J15 a.i. *in vivo* ne correspond pas à la concentration obtenue *in silico*. En effet, dans notre modèle, la concentration d'Eomes croît au fur et à mesure que le phénotype mémoire se développe. Cet accroissement de la concentration *in silico* d'Eomes induit la promotion de l'expression d'IL2R au sein de la population et explique l'accroissement de la concentration *in silico* d'IL2R entre J8 et J15 a.i., permettant ainsi d'exacerber la sensibilité des lymphocytes mémoires à l'IL2. Notons malgré tout que de nombreuses études supportent l'idée d'un renforcement de l'expression d'Eomes dans les lymphocytes effecteurs évoluant

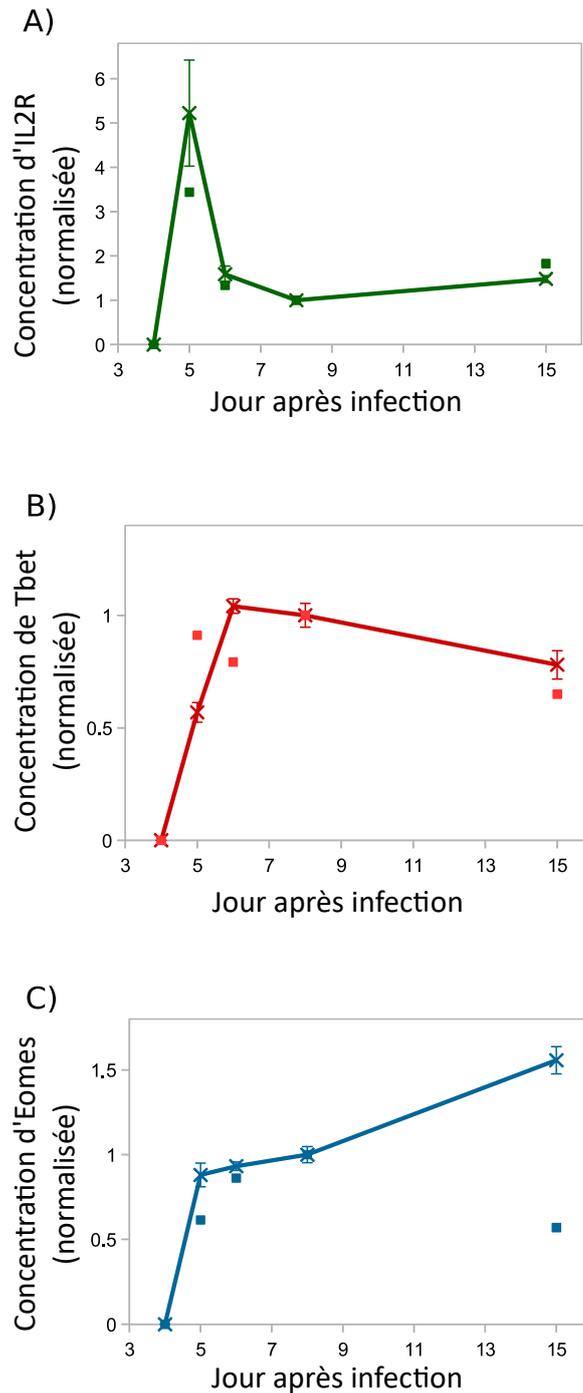


FIGURE 10.2: **Dynamique moléculaire intracellulaire moyenne.** Concentration moyenne de (A) récepteurs à IL2 (forme activée + non activée), (B) Tbet et (C) Eomes au sein d'une population de lymphocytes, normalisée par la valeur de cette concentration J8 a.i.. Croix reliées en traits pleins : *in silico* (moyenne \pm écart-type sur 10 simulations) ; carrés non reliés : données *in vivo* d'expression d'ARNm fournies par le projet ImmGen.

vers un phénotype mémoire [68, 84, 103], ce qui n'est pas le cas dans les données *in vivo* exploitées ici.

10.2 La dynamique cellulaire expliquée par l'hétérogénéité moléculaire

Dans notre modèle, chaque lymphocyte développe son propre profil moléculaire, la population de lymphocytes est donc hétérogène. Dès lors, étudier l'évolution de la concentration moyenne d'une protéine au sein de la population — comme sur la Figure 10.2 — n'est pas suffisant pour comprendre l'évolution de l'hétérogénéité moléculaire qui structure cette population.

Afin d'étudier l'hétérogénéité des contenus moléculaires de l'ensemble des lymphocytes et son rôle sur la dynamique cellulaire, nous présentons sur la Figure 10.3 les concentrations *in silico* de Tbet, Eomes et Caspases dans chacun des lymphocytes de la population, à différents instants de la réponse.

Entre J5 et J8 a.i., correspondant à la phase d'expansion clonale (cf. Figure 10.1), les concentrations sont hétérogènes mais semblent distribuées uniformément autour de leur valeur moyenne. Cette hétérogénéité s'explique principalement par les conditions d'activation de chacune des cellules et par le partage du contenu moléculaire lors de leurs premières divisions.

En revanche, entre J8 et J24 a.i., correspondant à la phase de contraction cellulaire (Figure 10.1), deux sous populations de cellules se distinguent progressivement : l'une est caractérisée par de fortes concentrations de Tbet (distribuées autour de $[Tb]_s \approx 118$ mol/L), l'autre par de faibles concentrations de Tbet (≈ 0 mol/L). Notons que l'équilibre instable de l'équation (9.3), défini par la Proposition 10 et séparant les équilibres stables 0 et $[Tb]_s$, est donné par $[Tb]_u \approx 21$ mol/L. Nous constatons de plus que les lymphocytes exprimant de fortes concentrations de Tbet expriment également des concentrations fortes de Caspases mais faibles d'Eomes (Tbet^{high}Caspases^{high}Eomes^{low}). Ce profil moléculaire correspond à de fortes capacités cytotoxiques, une inclination à l'apoptose et un faible potentiel de différenciation en lymphocyte mémoire. Au contraire, les cellules exprimant faiblement Tbet expriment des concentrations faibles de Caspases mais fortes d'Eomes (Tbet^{low}Caspases^{low}Eomes^{high}), elles jouissent donc d'un fort potentiel de survie et de

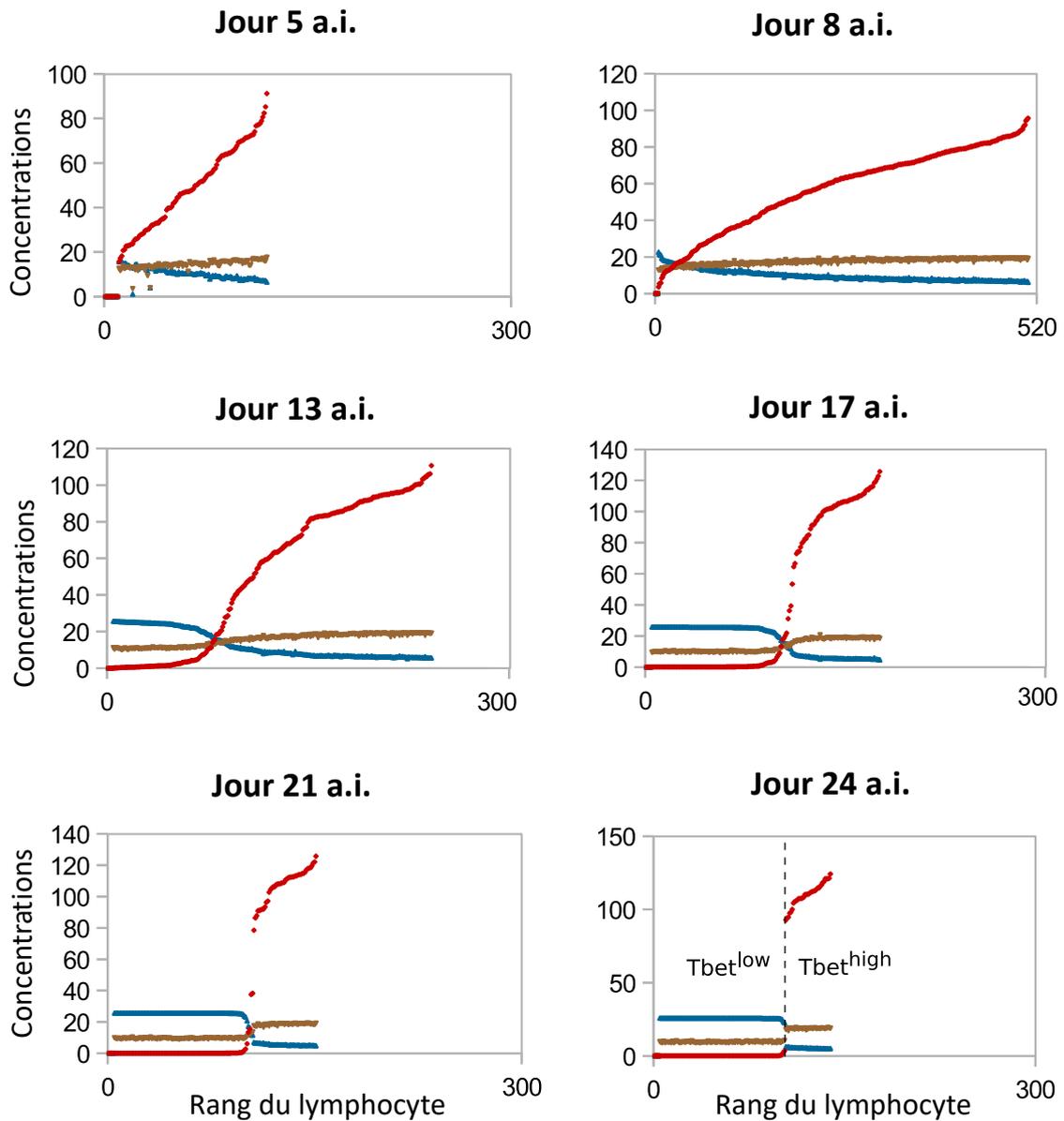


FIGURE 10.3: Concentrations (mol/L) de Tbet, Caspases et Eomes dans tous les lymphocytes d'une population *in silico* J5, J8, J13, J17, J21 et J24 a.i.. Rouge : Tbet ; marron : Caspases ; bleu : Eomes. Les lymphocytes (abscisse) sont ordonnés selon leur concentration de Tbet (croissante de gauche à droite).

différenciation en lymphocyte mémoire tandis que leur pouvoir cytotoxique décline.

Progressivement, les lymphocytes associés aux fortes concentration de Tbet meurent (lorsque leur concentration de Caspases franchit le seuil $Caspases_{th} \approx 19$ mol/L) tandis que ceux associés aux faibles concentrations de Tbet se différencient en lymphocytes mémoires (lorsque leur concentration d'Eomes franchit le seuil $Eomes_{th} = 16$ mol/L) et cessent de proliférer. L'épuisement du nombre de lymphocytes ayant un profil intermédiaire ($Tbet^{int}Caspases^{int}Eomes^{int}$) est renforcé par l'allongement des cycles cellulaires tout au long de la réponse (voir Section 6.2 du Chapitre 6).

Au J24 a.i., il ne reste aucun lymphocyte ayant un profil intermédiaire : la population est principalement composée de lymphocytes mémoires bien que quelques lymphocytes effecteurs survivent toujours. Nous pouvons relever que les profils moléculaires des cellules mémoires, celles-ci ayant cessé de se diviser, évoluent vers le même état, défini par les concentrations $[Tb] = 0$ mol/L, $[E] \approx 26$ mol/L et $[Cas] \approx 9$ mol/L.

Le développement de ces sous-populations caractérisées par leur concentration de Tbet, Caspase et Eomes permet d'expliquer la dynamique de la population *in silico* observée sur la Figure 10.1. Après leur activation, les lymphocytes prolifèrent rapidement et meurent peu (phase d'expansion). Malgré la prolifération des lymphocytes effecteurs, l'apoptose d'un grand nombre d'entre eux, due à leur faible capacité de survie et à leurs interactions cytotoxiques *via* la voie Fas/FasL, entraîne un effondrement du nombre total de lymphocytes T-CD8 (phase de contraction). D'autres lymphocytes effecteurs, ayant développé d'importantes capacités de survie, ne prennent pas part à la contraction cellulaire et cessent progressivement de proliférer en se différenciant en lymphocytes mémoire (phase mémoire).

Dans l'introduction de cette thèse (Section 1.1.5.1), nous avons vu qu'en se basant sur l'expression des deux protéines KLRG1 et CD127, il est possible de définir deux sous-populations de lymphocytes ayant des destins opposés : les SLEC et les MPEC [68, 123]. Dans cette section, nous avons vu que l'hétérogénéité des concentrations de Tbet au sein d'une population *in silico* de lymphocytes T-CD8 explique le développement progressif de deux sous-populations de lymphocytes T-CD8. La première d'entre elle, définie par de fortes concentrations de Tbet, est comparable de par ses propriétés (apoptose et cytotoxicité) à la sous-population SLEC. La seconde, définie par de faibles concentrations de Tbet, possède les propriétés de la population MPEC (différenciation en lymphocyte

mémoire, survie). Ceci est en accord avec la littérature puisque Tbet est connue pour favoriser le développement de SLEC et réprimer celui de MPEC [62, 67, 84]. Nous avons discuté comment cette hétérogénéité phénotypique (prolifération ou quiescence, apoptose ou survie, forte ou faible cytotoxicité) permet d'expliquer l'évolution de la taille de la population, présentée sur la Figure 10.1.B., à travers la succession des phases d'expansion clonale, de contraction et mémoire.

10.3 Effet du degré d'inégalité sur la réponse T-CD8

Dans notre modèle, le partage aléatoire du contenu moléculaire lors de la division cellulaire, déterminé par le degré d'inégalité q (voir Section 9.3.3), est une source importante d'hétérogénéité au sein d'une population de cellules. Dans cette section, nous nous intéressons à l'influence de la valeur de q sur la dynamique observée à l'échelle de la population de lymphocytes.

Dans la Section 10.2, nous avons discuté l'influence de la concentration de Tbet sur le destin d'un lymphocyte effecteur (apoptose ou différenciation en lymphocyte mémoire).

Dans le cas d'un partage équitable des protéines à la division ($q = 0$), tous les lymphocytes d'une même lignée expriment, pour chaque protéine, la même concentration. En particulier, d'après la Proposition 10 (Section 9.2.2), la concentration de Tbet converge irréversiblement vers 0 mol/L ou vers $[Tb]_s$, selon sa valeur vis à vis de l'équilibre instable $[Tb]_u$. Cette irréversibilité de destin conduit l'ensemble de la lignée vers l'apoptose ou la différenciation en lymphocytes mémoires.

Comme nous l'avons vu dans le Chapitre 6, le partage inégal de Tbet à la division ($q > 0$) peut permettre à un unique lymphocyte de générer une lignée constituée de lymphocytes aux destins différents. Cette réversibilité des destins cellulaires est d'autant plus probable que la concentration $[Tb]$ est proche de $[Tb]_u$. Elle est également d'autant plus probable que le degré d'inégalité q est élevé. Finalement, le degré d'inégalité q favorise le maintien d'une population au destin incertain et capable d'engendrer aussi bien des lymphocytes effecteurs qui mourront au cours de la réponse que des lymphocytes mémoires.

Dans la Partie I, nous considérons une population de lymphocytes proliférant indéfiniment. Ici, au contraire, les lymphocytes peuvent mourir ou cesser de proliférer (lymphocytes mémoires), modifiant ainsi la dynamique observée à l'échelle cellulaire. De plus, le

partage inégal du contenu moléculaire à la division s'applique ici également aux 5 autres protéines du Système (9.1)-(9.6).

La Figure 10.4 illustre l'effet de la valeur de q sur la taille maximale atteinte par la population de lymphocytes (pic de la réponse) ainsi que sur le nombre de lymphocytes mémoires générés J25 a.i. Il apparaît que la taille de la population au pic de la réponse décroît lorsque le degré d'inégalité q augmente. De plus, il n'y a pas une relation monotone entre le degré d'inégalité et la taille de la population mémoire générée en fin de réponse, J25 a.i., les populations mémoires les plus importantes étant obtenues pour des degrés d'inégalité intermédiaires (0.1–0.5). Les populations mémoires les plus petites sont obtenues pour les degrés d'inégalité les plus importants (0.65–0.8). Les causes de ces observations sont difficilement identifiables. Remarquons tout de même qu'un plus fort degré d'inégalité permet l'apparition plus précoce de lymphocytes exprimant de fortes concentrations de Caspases et d'Eomes. Ceux-ci meurent donc par apoptose ou bien cessent de proliférer en se différenciant en lymphocytes mémoires. L'accroissement du degré d'inégalité agit donc de façon complexe sur la dynamique cellulaire : il favorise la réversibilité des phénotypes des lymphocytes proliférants, et donc le maintien d'une population de lymphocytes Tbet^{int}Caspases^{int}Eomes^{int} capables de générer de nouveaux lymphocytes effecteurs et mémoires (Chapitre 6), mais il favorise également l'expression de concentrations importantes d'Eomes et de Caspases, et donc l'émergence de lymphocytes non proliférants (morts ou mémoires).

La taille de la population de lymphocytes au pic d'une réponse immunitaire peut être vue comme une mesure de l'effort que représente cette réponse pour l'organisme. Dans une logique vaccinale il est intéressant de générer une population mémoire importante en minimisant l'impact sur l'organisme. Le ratio entre le nombre de lymphocytes mémoires J25 a.i. et le nombre de lymphocytes au pic de la réponse (Figure 10.4, croix rouges) est maximal (supérieur à 0.3) lorsque l'on considère un degré d'inégalité intermédiaire ($q = 0.5$).

10.4 Réponse mémoire

Une caractéristique importante des cellules mémoires est leur capacité à déployer une réponse plus rapide, plus forte et composée d'une fraction plus importante de cellules

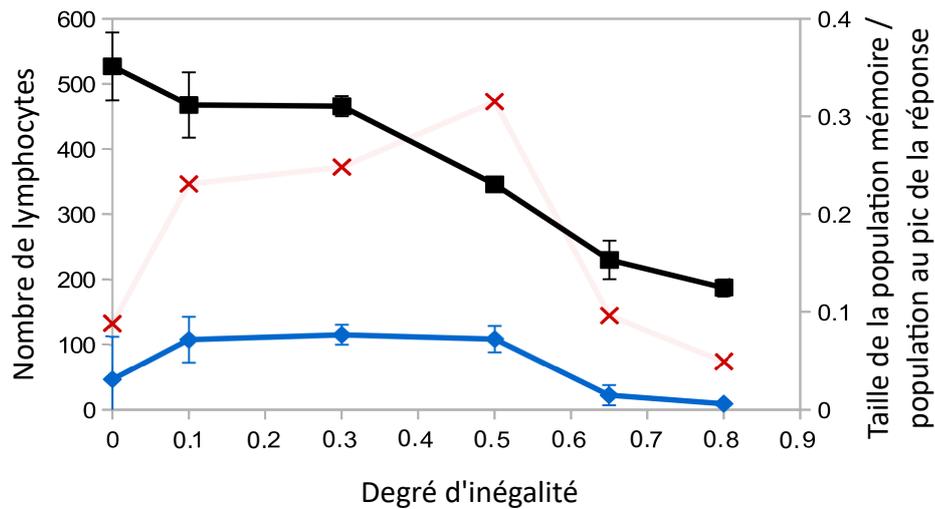


FIGURE 10.4: **Expansion clonale et taille de la population mémoire en fonction du degré d'inégalité du partage du contenu moléculaire.** Carrés noirs, axe des ordonnées gauche : nombre de lymphocytes T-CD8 au pic de la réponse ; losanges bleus, axe des ordonnées gauche : nombre de lymphocytes mémoires J25 a.i. (moyennes \pm écart-type sur 5 simulations). Les croix rouges (axe des ordonnées droit) illustrent l'efficacité de la génération de lymphocytes mémoires, mesurée comme le quotient entre la taille de la population mémoire J25 a.i. et la taille de la population au pic de la réponse (moyennes sur 5 simulations).

mémoires que ne le font les cellules naïves [145]. Pour évaluer la capacité de notre modèle à reproduire certains aspects de la réponse mémoire, ou réponse secondaire, nous comparons la réponse primaire *in silico* décrite dans la Section 10.1 avec une réponse secondaire *in silico*.

La Figure 10.5 illustre le nombre de lymphocytes activés/effecteurs et de lymphocytes mémoires au cours d'une réponse secondaire initiée par l'activation de 30 lymphocytes mémoires, comme décrit dans la Section 9.5. Ces résultats sont comparés à ceux obtenus lors de la réponse primaire, initiée par l'activation de 30 lymphocytes naïfs (Section 10.1). La réponse secondaire se caractérise par une population de lymphocytes T-CD8 plus importante à chaque instant de la réponse. De la réponse primaire à la réponse secondaire, nous ne constatons qu'un faible accroissement du nombre de lymphocytes activés et effecteurs. En revanche le nombre de lymphocytes mémoires croît nettement plus rapidement au cours de la réponse secondaire et J25 a.i. la population mémoire est plus grande de 68% que celle générée par la réponse primaire. Ceci peut s'expliquer par le fait que les lymphocytes mémoires s'activent plus rapidement que les lymphocytes naïfs en raison de

leur profil moléculaire. En effet, grâce à l'action d'Eomes sur IL2R (Figure 9.1), les lymphocytes mémoires expriment de plus fortes concentrations d'IL2R que les lymphocytes naïfs. Ainsi le seuil $IL2R_{th}$ sur la concentration d'IL2R (Section 9.3.1) est atteint plus tôt chez les lymphocytes mémoires. Par conséquent, la concentration de Tbet, dont la production est stimulée durant la liaison du lymphocyte avec une CPA, est plus faible après l'activation d'un lymphocyte mémoire qu'après celle d'un lymphocyte naïf, or les faibles concentrations de Tbet favorisent les phénotypes faiblement cytotoxiques, la survie et la différenciation en lymphocyte mémoire.

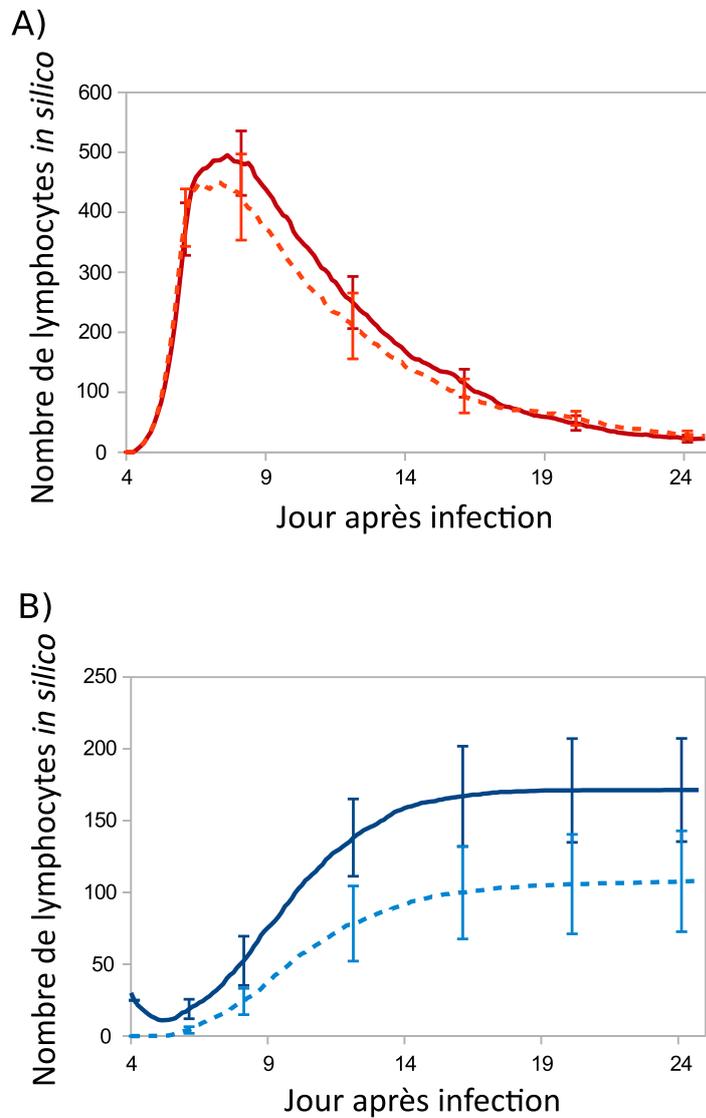


FIGURE 10.5: Nombre de lymphocytes activés/effecteurs et mémoires au cours des réponses *in silico* primaire et secondaire. (A) lymphocytes activés/effecteurs ; (B) lymphocytes mémoires ; lignes pointillées : réponse primaire ; lignes pleines : réponse secondaire. Moyenne \pm écart-type sur 10 simulations.

Discussion

L'activation des lymphocytes T-CD8 naïfs déclenche une réponse immunitaire primaire, coordonnée par un programme de prolifération, différenciation, mort et migration des lymphocytes T-CD8. Il est aujourd'hui bien connu que les lymphocytes T-CD8 prenant part à la réponse forment une population hétérogène, et que des lymphocytes T-CD8 aux phénotypes différents peuvent provenir d'un même lymphocyte naïf [53]. Cependant, il reste difficile d'identifier quels mécanismes cellulaires ou moléculaires contribuent à cette hétérogénéité et d'évaluer leurs conséquences sur l'issue de la réponse immunitaire T-CD8.

À cet égard, nous avons développé un modèle hybride et multiéchelle de la réponse immunitaire T-CD8, dans lequel les propriétés des lymphocytes sont déterminées par leur contenu intracellulaire. Les paramètres du modèle ont été ajustés à partir de données *in vivo* aux échelles cellulaire et moléculaire. Du fait de la durée importante des simulations, nous avons été contraint de simuler de petites populations cellulaires et nous sommes donc restreints à considérer des critères qualitatifs, ou partiellement quantitatifs, pour comparer données *in silico* et données *in vivo*. Après calibration des paramètres, notre modèle s'est montré capable de reproduire la dynamique temporelle d'une réponse T-CD8 *in vivo*, au regard de la taille de la population de lymphocytes et de la proportion de lymphocytes dans chaque stade de différenciation. Excepté une divergence sur la concentration moyenne d'Eomes J25 a.i., les dynamiques des concentrations moyennes des protéines IL2R, Tbet et Eomes — jouant des rôles clefs dans le processus de différenciation — obtenues par notre modèle sont conformes à celles mesurées *in vivo*.

En outre, les lymphocytes mémoires générés au cours de la réponse primaire *in silico* donnent lieu, lorsqu'ils sont activés par présentation de l'antigène, à une réponse secondaire plus forte que la réponse primaire suscitée par l'activation des lymphocytes naïfs (Figure 10.5). Notons que les différences observées entre réponses primaire et secondaire des Sections 10.1 et 10.4 s'explique entièrement par la spécificité du profil moléculaire

des lymphocytes mémoires, qui s'avère être plus avantageux que celui des lymphocytes naïfs. Dans l'optique d'étudier plus précisément les mécanismes justifiant l'efficacité de la réponse mémoire, il conviendrait de prendre en compte des caractéristiques supplémentaires de la réponse secondaire telles que des cycles cellulaires plus courts [140], une population initiale de lymphocytes mémoires plus grande [14] ou encore une sensibilité accrue des lymphocytes mémoires à certaines cytokines inflammatoires, et en particulier à l'IL12 [68].

Nous avons commenté de quelle façon le couplage entre une description déterministe de l'évolution de concentrations moléculaires, d'une part, et des événements stochastiques tels qu'un partage aléatoire des protéines lors des divisions cellulaires, d'autre part, permet de réguler l'émergence et le maintien de deux sous-populations de lymphocytes T-CD8. Ces sous-populations, caractérisées par leurs contenus moléculaires, coexistent mais arborent des propriétés différentes et des destins antagonistes, comparables à ceux des populations SLEC et MPEC décrites dans la littérature [67]. Nous avons montré que la dynamique observée à l'échelle de la population de cellules (taille de la population, différenciation, succession des différentes phases de la réponse) peut être expliqué par l'hétérogénéité des contenus moléculaires au sein de cette population. Dans notre modèle, cette hétérogénéité est principalement introduite par le partage inégal des contenus moléculaires, puis amplifié par l'évolution du Système (9.1)-(9.6) et en particulier par la bistabilité de l'équation sur la concentration de Tbet. Toutefois, l'effet de la fluctuation de l'expression des gènes, souvent considérée comme stochastique et reconnue comme une importante source d'hétérogénéité [119] n'est pas du tout pris en compte. Il s'agit alors d'être prudent quant à nos conclusions, l'hétérogénéité que nous attribuons au partage du contenu moléculaire pouvant également être due, en des proportions que nous ignorons, à l'expression stochastique des gènes [63].

Dans notre modèle, l'hétérogénéité phénotypique et moléculaire, résulte dans un premier temps de la division asymétrique des lymphocytes naïfs polarisés. Elle est par la suite constamment régulée par le partage inégal et aléatoire du contenu moléculaire à chaque division. Ceci est en accord avec les observations de Lemaître *et al.* [85], qui affirment que la diversification des lymphocytes T-CD8 est un processus continu, se prolongeant sur la réponse T-CD8 tout entière, incluant la division asymétrique des lymphocytes polarisés ainsi que des événements plus tardifs, survenant au cours des divisions suivantes. De surcroît, Lemaître *et al.* [85] ont indiqué que les lymphocytes naïfs présentent déjà

des signes d'hétérogénéité avant même le début de l'infection, notamment en matière de sensibilité à certaines cytokines ou de leur TCR. Dans notre étude, nous ne considérons aucune hétérogénéité au sein de la population de lymphocytes naïfs. Ceci pourrait être corrigé en introduisant de la variabilité au niveau des valeurs des paramètres associés au Système (9.1)-(9.6) attaché à chaque lymphocyte. Nous pouvons nous attendre à ce que cela confère à chaque lymphocyte naïf une prédisposition à engendrer une lignée cellulaire plutôt orientée vers l'apoptose ou vers la mémoire. De plus, cette hétérogénéité antérieure à l'infection pourrait être conservée au travers de la réponse, jusqu'à former une population hétérogène de lymphocytes mémoires, cette propriété n'étant actuellement pas satisfaite par notre modèle [73].

Dans notre étude, accroître le degré d'inégalité du partage du contenu moléculaire a pour effet de réduire l'expansion de la population de lymphocytes T-CD8 tandis que la taille de la sous-populations de lymphocytes mémoires est maximale pour des degrés d'inégalité intermédiaires. Par conséquent, le ratio entre le nombre de lymphocytes mémoires générés par une réponse et l'amplitude de cette réponse, ce ratio pouvant être vu comme une mesure de l'efficacité d'une réponse T-CD8 à générer une population mémoire, est maximal lorsque le degré d'inégalité est de égal à 0.5. Comme indiqué auparavant, le partage inégal du contenu moléculaire n'est pas, *in vivo*, l'unique source d'hétérogénéité. Ainsi, nous pouvons supposer que notre degré optimal d'inégalité est surestimé et qu'il est plus raisonnable d'en conclure que la génération de cellules mémoires est la plus efficace lorsqu'une hétérogénéité — de quelque origine que ce soit — modérée est entretenue tout au long de la réponse.

Dans les travaux portant sur la réponse T-CD8, il est extrêmement courant de considérer que 5 à 10% des lymphocytes présents au pic de la réponse survivent à la contraction et se différencient en lymphocytes mémoires [14]; un ratio que l'on retrouve lorsque nous considérons un degré d'inégalité nul ou très élevé (0.65 et 0.8). Or cette convention peut-être remise en cause [34]. Dans les données *in vivo* présentées sur la Figure 10.1, J22 a.i. la population mémoire représente 19.5% de la population au pic de réponse, J8 a.i.. Cela suggère que l'amplitude, et peut être la cinétique, de la contraction cellulaire n'est pas une propriété intrinsèque de la réponse T-CD8 mais dépend également d'acteurs externes tels que les des cytokines inflammatoires.

Dans de nombreux modèles mathématiques de la réponse T-CD8, tels que ceux référen-

cés dans [3], la prolifération et la différenciation des lymphocytes T-CD8 sont contrôlées par la quantité d'agent pathogène dans l'environnement, exactement à la manière des modèles proie-prédateur employés en écologie. Dans notre modèle, une présentation de l'antigène aux lymphocytes naïfs est suffisante pour déclencher un programme de prolifération et de différenciation autonome, indépendant du contexte inflammatoire, comme décrit dans la littérature [71, 139, 144]. Néanmoins, bien que facultatif, la présence de facteurs inflammatoires n'est pas sans effet sur le déroulement de la réponse T-CD8 *in vivo* [13]. Une perspective intéressante serait d'évaluer les contributions respectives du programme autonome et des facteurs inflammatoires, de telle sorte que la dynamique de la réponse T-CD8 pourrait être calibrée en contrôlant l'environnement inflammatoire. Par exemple, élargir notre modèle en y incorporant la cytokine IL12, sécrétée par les CPA, pourrait fortement influencer la balance lymphocytes effecteurs/lymphocytes mémoires puisque l'IL12 promeut la synthèse de Tbet et réprime celle d'Eomes [2, 67, 136].

Enfin, nous considérons pour notre modèle une durée du cycle cellulaire dépendant du nombre de divisions qu'un lymphocyte a connues. Il serait instructif d'introduire un contrôle moléculaire de la prolifération cellulaire puisque l'existence éventuelle de sous-populations présentant des taux de proliférations significativement différents pourrait affecter considérablement la dynamique cellulaire. Le facteur de transcription Foxo1 serait un choix judicieux. Foxo1 est connu pour induire l'expression d'Eomes tout en inhibant celle de Tbet et la progression du cycle cellulaire [26], suggérant ainsi que les lymphocytes effecteurs $Tbet^{low} Eomes^{high}$ étudiés dans la Section 10.2, à l'origine des lymphocytes mémoires, pourraient être soumis à un cycle cellulaire plus long que ne le sont les lymphocytes $Tbet^{high} Eomes^{low}$.

En conclusion, notre modèle multiéchelle à base d'agents reproduit convenablement plusieurs aspects de la réponse T-CD8 aux échelles cellulaire et moléculaire. Il permet de penser que la dynamique observée à l'échelle cellulaire est le fruit de l'hétérogénéité moléculaire qui structure la population cellulaire, cette hétérogénéité étant continuellement alimentée par le partage inégal du contenu moléculaire à chaque division cellulaire. Notre étude suggère que le partage inégal et aléatoire du contenu moléculaire lors de la division régule l'évolution des lymphocytes effecteurs vers l'apoptose ou vers la différenciation en lymphocyte mémoire, il module l'amplitude de l'expansion clonale et contrôle la taille de la population mémoire échappant à la phase de contraction.

Troisième partie

Conclusion et perspectives

À travers cette ultime partie, nous revenons sur les travaux présentés dans ce manuscrit, les problématiques abordées et les réponses apportées. Nous présentons quelques perspectives qui pourraient permettre de prolonger ce travail ou d'en surmonter les limites.

Ce manuscrit s'articule autour de la présentation, dans les Parties I et II, de deux études complémentaires mais pouvant être lues indépendamment, dont nous nous proposons de faire la synthèse. Les résultats de la Partie I permettent d'éclairer ceux de la Partie II. Cependant, dans cette synthèse nous les présenterons dans l'ordre inverse, correspondant à l'ordre chronologique selon lequel ces travaux ont été conduits, afin d'en mieux percevoir les motivations.

Le modèle multiéchelle de la réponse immunitaire T-CD8 développé par Prokopiou *et al.* [116] puis par Gao *et al.* [51] (Section 1.2.2.3) constitue le point de départ de notre travail. Il s'agit d'un modèle à base d'agents dans lequel des lymphocytes T-CD8 et des CPA sont modélisés spatialement sur une grille de pixels en deux dimensions. L'évolution du contenu moléculaire de chaque lymphocyte est décrit à l'aide d'un système d'équations différentielles. Ce système d'équations traduit l'évolution d'un réseau de régulation moléculaire, construit par les auteurs à partir de la littérature en biologie. Une équation aux dérivées partielles modélise la diffusion d'une protéine, l'IL2, sécrétée dans le milieu extracellulaire par les lymphocytes T-CD8. L'évolution du contenu intracellulaire de chaque lymphocyte T-CD8 est affecté par ses interactions avec les autres cellules et par la présence d'IL2 à son voisinage. Réciproquement, les interactions entre lymphocytes, la sécrétion d'IL2 par ces derniers, leur différenciation et leur mort dépendent de leur contenu moléculaire.

Ce modèle [51, 116] permet de coupler deux échelles : moléculaire (contenus intracellulaires et diffusion de l'IL2) et cellulaire (stade de différenciation, cytotoxicité et apoptose des lymphocytes ainsi que l'évolution du nombre de lymphocytes T-CD8 dans chaque stade de différenciation). Jusqu'à la publication des travaux de Barbaroux *et al.* [10, 11], il s'agissait du seul modèle de la réponse T-CD8 dans lequel le stade de différenciation d'un lymphocyte était défini par son contenu intracellulaire, et non par des taux ou des probabilités de transition. Cette approche est particulièrement pertinente lorsqu'il s'agit d'étudier les processus de différenciation cellulaire. En effet, les stades de différenciation des lymphocytes T-CD8 sont biologiquement définis à partir de l'expression de marqueurs moléculaires. En outre, le formalisme utilisé permet d'introduire de la stochasticité aux

différentes échelles (mouvement des cellules, répartition du contenu moléculaire à la division, durées des cycles cellulaires). Cependant, dans [51, 116], seuls les deux premiers jours après activation des lymphocytes naïfs — correspondant au début de la phase d’expansion clonale (Section 1.1.1) — sont modélisés. Ce modèle ne permet pas de s’intéresser à des questions, encore ouvertes, telles que l’origine des cellules mémoires, les causes de la contraction cellulaire ou les mécanismes de la réponse autopilote (Section 1.1.3).

Dans la Partie II, nous avons présenté un modèle multiéchelle de la réponse immunitaire T-CD8 allant de l’activation des lymphocytes naïfs à l’établissement de la mémoire immunitaire. Notre modèle peut être vu comme une extension de celui proposé dans [51, 116] puisque le formalisme et les propriétés de ce dernier, récapitulés ci-dessus, ont été préservés. Les modifications les plus importantes apportées au modèle de [51, 116] concernent le système d’équation différentielles modélisant le contenu moléculaire des lymphocytes T-CD8 ainsi que l’ajout d’un stade supplémentaire de différenciation (stade mémoire). Les hypothèses de ce modèle (véracité des phénomènes biologiques modélisés, réseau de régulation moléculaire, schéma de différenciation. . .) s’appuient sur la littérature en immunologie. À chaque étape de développement du modèle, hypothèses et résultats ont été discutés par les coauteurs immunologistes, biologistes et mathématiciens de ce travail (voir le préambule du Chapitre 8).

Nous avons présenté les résultats de notre modèle à base d’agents dans le Chapitre 10. Plusieurs propriétés de la réponse T-CD8 sont correctement reproduites. Premièrement, la réponse T-CD8 modélisée est entièrement autopilote (Section 1.1.3) : suite à l’activation des lymphocytes naïfs, aucune influence de l’antigène n’est nécessaire pour que se succèdent les phases d’expansion clonale, de contraction cellulaire et mémoire (Section 1.1.1). La dynamique de la réponse dépend donc uniquement de l’évolution du contenu moléculaire des lymphocytes et de leurs interactions. De plus, au cours de ces trois phases, les lymphocytes adoptent différents phénotypes, correspondant à différents contenus moléculaires, et les dynamiques générées correspondent qualitativement à celles observées *in vivo* à l’échelle moléculaire et à l’échelle cellulaire, y compris lorsque l’on s’intéresse à la fraction de lymphocytes dans chaque stade de différenciation. Conformément à ce qui est attendu lors d’une réponse secondaire, les cellules mémoires générées à l’issue d’une réponse primaire *in silico* développent, lorsqu’elles sont activées par des CPA, une réponse secondaire plus forte que ne l’était la réponse primaire.

L'hypothèse selon laquelle les lymphocytes effecteurs forment une population hétérogène, composée de lymphocytes voués à mourir (SLEC) et d'autres destinés à devenir des lymphocytes mémoires (MPEC) (Section 1.1.5.1), est abondamment décrite dans la littérature en immunologie mais n'avait pas encore été envisagée du point de vue de la modélisation. Ces deux sous-populations sont habituellement identifiées par l'expression des marqueurs KLRG1 et CD127 mais il a été montré que l'expression de la protéine Tbet favorisait le phénotype SLEC, au détriment du phénotype MPEC.

Dans notre modèle, deux sous-populations de lymphocytes aux destins différents sont identifiables : l'une exprimant fortement les protéines Caspases et Tbet, et vouée à mourir lors de la contraction cellulaire, l'autre exprimant faiblement Tbet mais fortement la protéine Eomes et destinée à former la mémoire immunitaire. Lors des premiers instants de la réponse, la régulation des contenus moléculaires des lymphocytes est fortement déterminée par la présence des CPA et par le phénomène de division asymétrique des cellules activées, polarisées lors de leur activation (Section 1.1.6.3). Dans un second temps, l'appartenance d'un lymphocyte à l'une ou l'autre de ces sous-populations est fortement conditionnée par la concentration de la protéine Tbet.

Dans cette étude, nous avons visualisé à l'aide de simulations numériques l'émergence au cours de la réponse de ces deux sous-populations dont l'extinction, pour l'une, et la survie, pour l'autre, se traduisent respectivement par la contraction cellulaire et la phase mémoire observées lorsque l'on regarde l'évolution de la population totale de lymphocytes T-CD8. Il apparaît donc que l'hétérogénéité moléculaire, et donc l'hétérogénéité des destins cellulaires, permet d'expliquer la succession des différentes phases caractéristiques de la réponse T-CD8. Dans notre modèle, cette hétérogénéité est principalement générée lors des divisions cellulaires, suite au partage inégal du contenu moléculaire de la cellule mère. En simulant plusieurs réponses T-CD8 au cours desquelles le partage du contenu moléculaire peut être plus ou moins inégal, nous concluons que la génération de cellules mémoires est optimale lorsqu'un degré intermédiaire d'inégalité du partage moléculaire est considéré. Comme nous l'avons soulevé dans la discussion du Chapitre 7, cette conclusion doit être lue avec prudence puisque notre modèle omet d'autres sources d'hétérogénéité, telles que la stochasticité de l'expression des gènes, dont l'effet pourrait être redondant avec celui du partage aléatoire des protéines. D'un point de vue purement qualitatif, ce résultat souligne la possibilité d'une relation non triviale entre l'intensité des

sources d'hétérogénéité et certains aspects de la réponse immunitaire.

Dans la Partie I, nous extrayons un sous-modèle de notre modèle à base d'agents. Ce sous-modèle peut être formalisé à l'aide d'une équation différentielle à impulsions (EDI). Il décrit l'évolution de la concentration de Tbet dans un lymphocyte T-CD8 subissant plusieurs divisions, au cours desquelles son contenu moléculaire est partagé inégalement entre les cellules filles. Une forte concentration de Tbet est associée à un phénotype effecteur voué à mourir tandis qu'une concentration faible est associée à un profil mémoire. Contrairement au modèle à base d'agents de la Partie II, ce modèle d'EDI se prête à une étude analytique et nous montrons comment le processus de partage inégal du contenu moléculaire peut affecter le destin du lymphocyte modélisé.

L'une des principales conclusions de notre étude est que le degré d'inégalité du partage moléculaire conditionne la réversibilité des destins cellulaires. Autrement dit, si l'inégalité du partage des protéines Tbet lors des divisions successives est très forte, quelle que soit la concentration de Tbet dans un lymphocyte, celle-ci peut, asymptotiquement, diverger vers l'infini ou converger vers 0 et donc, selon notre interprétation, le lymphocyte peut évoluer vers deux destins antagonistes. Dans le cas contraire, si l'inégalité du partage moléculaire lors des divisions est *suffisamment* modérée, nous concluons à l'existence d'états irréversibles de différenciation. Précisément, il existe un niveau de différenciation intermédiaire (associé à une concentration intermédiaire de Tbet) à partir duquel un lymphocyte peut évoluer vers la mort, vers la mémoire, ou demeurer dans cet état intermédiaire. L'ensemble des concentrations correspondant à cet état de réversibilité est par ailleurs d'autant plus petit que l'inégalité du partage moléculaire est faible. Dès lors que la concentration de Tbet dans un lymphocyte est supérieure ou inférieure à ce niveau intermédiaire, le destin de ce lymphocyte (mort ou mémoire) est irréversible.

Les processus biologiques qui initient la phase de contraction cellulaire n'ont toujours pas été clairement déterminés. Il a été montré que le début de la contraction cellulaire pouvait être retardé par la présence de certaines cytokines inflammatoires ainsi que par la persistance de l'infection [52, 114, 115]. De part la composante autopilote de la réponse T-CD8, la temporalité de la succession des différentes phases de la réponse ne saurait dépendre entièrement de facteurs externes. Quelques travaux de modélisation se sont intéressés à la réponse autopilote (cf. Section 1.2). Dans ces derniers, la phase de contraction est due à une limitation du nombre de divisions qu'un lymphocyte peut effectuer, ou de la

durée durant laquelle il peut proliférer. Cela pourrait signifier que lors de son activation, un lymphocyte hérite d'un certain potentiel de prolifération, ou encore qu'un lymphocyte est capable de conserver, au fil de ses divisions, une forme de souvenir de sa date d'activation.

Les résultats des travaux présentés dans ce manuscrit proposent une hypothèse différente. La contraction cellulaire pourrait être une conséquence de l'épuisement de la population de lymphocytes se trouvant dans un état de différenciation intermédiaire. En effet, ces lymphocytes, en proliférant, contribuent à l'expansion de la population cellulaire alors que les lymphocytes pleinement différenciés sont voués à mourir ou à se différencier en lymphocytes mémoires quiescents. De surcroît, nous avons montré dans la Partie I que l'allongement du cycle cellulaire au cours de la réponse a pour effet de précipiter l'adoption de destins cellulaires irréversibles. Autrement dit, l'allongement du cycle cellulaire aurait deux effets notoires sur la réponse T-CD8 : premièrement, une diminution de la vitesse d'expansion de la population cellulaire, comme conséquence immédiate du ralentissement de la prolifération ; deuxièmement, il s'opposerait au renouvellement de la population de lymphocytes aux destins irréversibles, ces derniers se dirigeraient ainsi vers une mort certaine ou cesseraient de proliférer en adoptant un phénotype mémoire, initiant ainsi la contraction cellulaire.

Les limites des travaux présentés dans les Parties I et II ont été discutées dans les Chapitres 7 et 11. Ici, nous traitons de quelques limites de notre travail, inédites ou déjà évoquées, et des perspectives qu'elles nous inspirent.

Dans la Partie I, nous avons étudié une IDE modélisant la concentration de Tbet dans un lymphocyte proliférant, le contenu moléculaire étant inégalement partagé lors des divisions. Pour ce faire, nous avons étudié l'existence et la stabilité de solutions périodiques de cette EDI. La démarche que nous avons adoptée pour étudier cette EDI particulière peut être suivie pour étudier n'importe quelle EDI d'une certaine classe (*i.e.* de la forme (2.1) lorsque les impulsions sont périodiques), c'est pourquoi les résultats présentés dans les Chapitres 3 et 4 sont formulés par rapport au problème général (2.1). Ainsi, la méthode développée pourrait être utilisée pour modéliser n'importe quel phénomène analogue (autre protéine, niveau d'expression d'un gène...). Pour donner un exemple prototypique de problème qualitativement équivalent à celui de la distribution des protéines lors de

la division, nous pourrions considérer l'évolution de la fortune d'un individu jouant, à chaque Jour de l'an, une fraction fixée $0 < f < 1$ de ses économies à un jeu de hasard. Avec les notations du système (2.1), le contenu X de la tirelire du joueur évoluerait au cours de l'année selon l'équation $X'(t) = g(X(t))$ (prenant en compte ses revenus et ses dépenses). Les coefficients $(\alpha_k)_{k \geq 1}$, associés à la perte ou aux gains réalisés, seraient choisis aléatoirement dans l'intervalle $[-f, Mf]$, où M est le facteur maximal par lequel le joueur peut espérer multiplier sa mise, selon une loi de probabilité adéquate, définie à partir des règles du jeu de hasard.

Nombre des résultats du Chapitre 3 reposent sur les propriétés de la convexité du flot d'une équation différentielle ordinaire autonome. On ne dispose, en général, pas d'expression explicite d'un tel flot. En revanche le Théorème 1 du Chapitre 4 fournit un outil pour étudier la convexité de ce flot. La preuve de ce théorème repose sur un passage à la limite d'une suite de fonctions affines par morceaux vers une fonction continument dérivable. Au cours de ce passage à la limite, le caractère *strict* de la convexité (ou concavité) est perdu. Nous n'avons pas su déterminer si cette perte est nécessaire à la validité du théorème ou si elle n'est qu'une conséquence de notre technique de preuve. L'étude analytique de cas particuliers simples et la réalisation de simulations numériques nous laissent penser qu'une version plus forte du Théorème 1 pourrait être établie. Avec les notations du Chapitre 4, il s'écrirait alors de la façon suivante :

Conjecture 1. *Soient $a, b \in \mathbb{R}$ et $h \in \mathcal{C}^1([a, b], \mathbb{R})$ une fonction lipschitzienne, strictement positive sur $]a, b[$ et satisfaisant $h(b) = 0$. Soient $t > 0$ et $\varphi_t : X_0 \mapsto X(t)$, le flot au temps t du système $X'(s) = h(X(s))$, $s \geq 0$, $X(0) = X_0 \in]a, b[$. Alors $h'(\varphi_t(X_0)) - h'(X_0) > 0$ (resp. < 0) si et seulement si φ_t est strictement convexe (resp. concave) au voisinage de X_0 .*

Pour ce qui est du modèle à base d'agents présenté dans la Partie II, ce modèle permet de prendre en compte le caractère discret de la population cellulaire : le contenu moléculaire de chaque cellule est décrit et lui confère des propriétés propres ; chaque cellule est modélisée spatialement et ses interactions avec son environnement sont prises en compte ; les phénomènes stochastiques comme le partage du contenu moléculaire lors des divisions sont considérées. Comme contre-partie de cette complexité, les temps de calculs nécessaires pour réaliser une simulation numérique du modèle sont très longs (environ 4 à 5 jours, selon le nombre de cellules générées, pour une simulation telle que celles présentées

en Section 10.1).

Nous pouvons, avec le formalisme actuel, utiliser notre modèle pour tester différentes hypothèses (comme nous l'avons fait pour le degré d'inégalité du partage moléculaire en Section 10.3) mais le nombre de simulations nécessaire rend cette tâche très fastidieuse. Un des enjeux d'une réduction des temps de calculs que requiert notre modèle serait de pouvoir réaliser un grand nombre des simulations en peu de temps. Ainsi il serait beaucoup plus aisé d'identifier quels sont les paramètres les plus influents et d'étudier l'effet de la variation de la valeur d'un paramètre sur la réponse T-CD8. De plus, un intérêt majeur d'un tel gain en temps de calcul serait de pouvoir simuler des populations cellulaires quantitativement — et non plus seulement qualitativement — comparables à celles observées *in vivo* ; ce qui est difficilement envisageable avec le formalisme actuel.

Certains paramètres de notre modèle peuvent être mesurés expérimentalement (durée des cycles cellulaire, taille des cellules. . .). D'autres paramètres — tels que les énergies et poids impliqués dans le calcul de l'énergie, ou l'Hamiltonien Ω du Modèle de Potts Cellulaire (voir Section 9.4 et les paramètres sans unité de la Table 9.3) — ne correspondent pas à des grandeurs biologiques. Ces paramètres sont abstraits et leurs valeurs n'ont de sens que comparées les unes aux autres. Elles ont été fixées pour garantir aux cellules des propriétés biologiquement cohérentes (vitesse de déplacement, pas de fragmentation d'une cellule en plusieurs morceaux. . .) et il ne nous semble pas pertinent de chercher à optimiser leurs valeurs.

En revanche, les valeurs des paramètres du modèle moléculaire (Tables 9.4 à 9.6) correspondent à des processus biologiques et ne peuvent pas être directement mesurés expérimentalement. Ces valeurs jouent un rôle déterminant dans la dynamique de notre modèle mais ont, pour la plupart d'entre elles, été choisies *à la main* afin d'optimiser la calibration du modèle sur les données *in vivo*, au sens de la distance D définie en Section 9.6. La question de l'estimation de la valeur de ces paramètres est délicate compte tenu du grand nombre de paramètres à estimer (environ trente), de la durée d'une simulation de notre modèle et du manque de données expérimentales adaptées. En effet, les données moléculaires utilisées dans la Partie II correspondent à un niveau d'expression moyen d'une protéine au sein de la population de lymphocytes. Du point de vue expérimental, la situation idéale serait d'exploiter des données d'expression de protéines à l'échelle de la cellule unique et rendant compte de l'hétérogénéité des lymphocytes. Dans ce cas,

nous pourrions simuler uniquement le modèle moléculaire et ajuster certains paramètres directement sur les données expérimentales, ce qui réduirait le nombre de paramètres à estimer simultanément. Du point de vue de la modélisation, pour réduire les temps de calculs et le nombre de paramètres libres, il nous faudrait modifier le formalisme utilisé ou réduire la complexité du modèle : c'est ce dont nous discutons ci-après.

Les interactions entre CPA et lymphocytes naïfs ainsi que la diffusion spatiale de la protéine IL2 sont au cœur de l'étude de Gao *et al.* [51], dans laquelle un faible nombre de cellules est modélisé. L'emploi du formalisme de Potts Cellulaire et de la plateforme CompuCell3D [133], permettant une description détaillée des propriétés de forme et d'adhésion des cellules au prix de temps de calculs importants, est donc adéquat. Les questions biologiques auxquelles nous nous sommes intéressés ont évolué au cours de cette thèse et *a posteriori* nous pensons qu'un tel niveau de description des interactions spatiale est moins judicieux dans le cadre de l'étude présentée en Partie II. En effet, les problématiques abordées dans cette partie nécessitent de modéliser de grandes populations cellulaires sur de grandes échelles de temps et une description précise de la forme et des liaisons cellulaires ne semble pas jouer un rôle important. Tout en conservant une description multiéchelle et à base d'agents de la réponse T-CD8, nous pourrions accélérer la résolution de notre modèle et réduire le nombre de paramètres en considérant une représentation simplifiée des cellules (cf. modèles de Nicolàs Corthon et Gaëlle Brunet ci-après). Nous pourrions également envisager d'abandonner la description spatiale des cellules et de définir une probabilité de rencontre entre les agents comme une fonction du nombre de cellules modélisées.

L'utilisation d'un modèle continu, déterministe et non spatial, basé par exemple sur le formalisme utilisé par Barbaroux *et al.* [10, 11] (Section 1.2.2.5), permettrait de réduire drastiquement ces temps de calcul. Il faudrait alors renoncer à décrire l'influence de la disposition spatiale de chaque cellule et des événements stochastiques qui l'affectent. Ces facteurs sont particulièrement significatifs pour de petites populations cellulaires, mais peuvent raisonnablement être moyennés lorsque le nombre de cellules devient élevé.

Comme perspective d'évolution de notre modèle à base d'agents, nous souhaitons développer un modèle hybride qui permettrait de basculer d'un modèle à base d'agents vers une approximation continue de ce modèle lorsque le nombre de cellules devient important, et réciproquement. Un tel modèle permettrait de modéliser une population cellulaire de

taille quelconque, tout en préservant l'influence du caractère discret de la population cellulaire lorsque celle-ci est significative. Ce travail a été initié lors des stages de Nicolas Corthon et de Gaëlle Brunet, co-encadrés par Fabien Crauste et moi-même, et s'est jusqu'à présent basé sur le réseau moléculaire de Barbaroux *et al.* [10, 11].

Un modèle à base d'agents a été développé à l'aide du logiciel Matlab et les concentrations des protéines Bcl2 et Ki67 dans chaque lymphocyte sont modélisées par un système de deux EDO. À l'échelle cellulaire, chaque cellule est définie par un disque caractérisé par les coordonnées de son centre, par sa direction de mouvement et par son rayon. Ce formalisme, moins complexe que celui du Potts Cellulaire est également beaucoup plus rapide à simuler. Il est alors possible de basculer de ce modèle à base d'agents vers le modèle continu de Barbaroux *et al.* [10, 11]. Lors de la transition, une densité discrète $\rho(t, \mu_1, \mu_2)$ est définie à partir des concentrations de Ki67 et Bcl2 de chaque lymphocyte du modèle à base d'agents. Lorsque le nombre de cellules est important, les résultats du modèle discret sont fidèlement approximés par le modèle continu. L'objectif serait à présent d'adapter ce formalisme au modèle décrit en Partie II, où à une version simplifiée de ce modèle contenant un nombre plus restreint de protéines. Nous pouvons par exemple remarquer que la production d'IL2 cesse rapidement après l'activation des cellules, ainsi la sécrétion de l'IL2, sa diffusion et sa fixation aux récepteurs portés par les lymphocytes pourraient être omises dans la version continue.

Nous avons pu constater que dans notre modèle à base d'agents présenté en Partie II, une fois passée la période d'activation des lymphocytes, la dynamique de la concentration de la protéine Tbet influe fortement celles des concentrations de Caspases et de Eomes, respectivement responsables de la mort et de la différenciation en lymphocyte mémoire. De plus, la concentration de Tbet est utilisée comme proxy pour l'expression du ligand de Fas, la protéine membranaire responsable de la cytotoxicité des lymphocytes. Une réduction extrême de notre modèle à base d'agents présenté en Partie II consisterait à ne conserver que la modélisation de la concentration de la protéine Tbet, comme nous l'avons fait dans la Partie I et à définir des règles de mortalité et de différenciation en lymphocytes mémoires. Mortalité et différenciation d'un lymphocyte seraient définies par des probabilités basées sur la concentration de Tbet dans ce lymphocyte ainsi que, dans le cas de la mortalité uniquement, sur la concentration de Tbet dans l'ensemble des autres lymphocytes afin de prendre en compte leur pouvoir cytotoxique. Dans un tel modèle, le

phénotype cellulaire ne serait alors plus modélisé que par un seul trait (l'expression de Tbet). En ce sens, ce modèle serait comparable à ceux de Antia *et al.* [3, 4] (Section 1.2.1.2) et de Terry *et al.* [138] (Section 1.2.1.5), dans lesquels le phénotype d'un lymphocyte est défini par son âge. Si cette version minimaliste s'avérait suffisante pour retrouver des résultats proches de ceux de notre modèle à base d'agents, il serait judicieux d'en tenir compte pour tenter de réduire la dimension de ce dernier.

Pour développer un tel modèle hybride, la première étape serait de développer une version continue et déterministe du modèle à base d'agents. Il faudrait en particulier gérer le phénomène de distribution inégal du contenu moléculaire lors des divisions. Formellement, cela pourrait s'écrire à l'aide d'une équation intégro-différentielle similaire à celle utilisée par Mantzaris [97, 98] (Section 1.2.3.1). Dans un second temps, il faudrait définir comment convertir l'ensemble discret des concentrations observées dans chaque cellule du modèle à base d'agent en une densité continue $n(t, C)$ de lymphocytes qui au temps t possède des concentrations $C \in \mathbb{R}^d$ où d est le nombre de protéines modélisées. Enfin, il faudrait définir quand effectuer la transition du modèle discret et stochastique vers le modèle continu et déterministe. Une solution envisageable serait d'utiliser simultanément ces deux versions. Par exemple, nous pourrions être tentés d'utiliser la version discrète pour les lymphocytes dont le destin peut encore être bouleversé par les événements stochastiques, mis en évidence dans le Chapitre 6, tandis que les lymphocytes aux destins irréversibles seraient décrits par la version continue.

Nous avons fait le choix de décrire une réponse complètement autopilote, afin de proposer des hypothèses sur les mécanismes mal identifiés du programme autopilote. À présent, il serait intéressant d'observer comment la dynamique de la réponse T-CD8 est affectée par le contexte inflammatoire. Cela nous permettrait d'isoler les effets de la composante intrinsèque de la réponse T-CD8 (réponse programmée) de ceux de ses composantes extrinsèques (cytokines, antigènes...). Nous pourrions pour cela ajouter une source extérieure de cytokines (comme l'IL2 produite par les lymphocytes T-CD4), ou encore prendre en compte la sécrétion de l'IL12 par les CPA, cette cytokine étant un régulateur important du phénotype cellulaire dans le paradigme SLEC/MPEC. Nous pouvons nous attendre à ce que de telles hypothèses perturbent l'équilibre entre lymphocytes voués à mourir et lymphocytes destinés à la mémoire immunitaire, modifiant ainsi l'intensité de la réponse et le nombre de cellules mémoires produites. Nous pouvons aussi nous attendre à ce que

l'initiation de la phase de contraction cellulaire soit différée. Dans un tel scénario, où l'infection se maintient et a un effet sur les lymphocytes T-CD8, il deviendrait nécessaire de modéliser l'évolution du degré d'infection, par exemple en modélisant à l'aide d'équations différentielles la quantité de virus dans l'organisme, à la façon de Chao *et al.* [29, 30] (Section 1.2.2.1). Remarquons que les données cellulaires utilisées dans la Partie II (Section 9.1) correspondent bien au cas d'une réponse T-CD8 sans implication des lymphocytes T-CD4. En effet, seuls les lymphocytes T-CD8 transférés dans la souris hôte par voie intraveineuse sont capables de reconnaître l'épitope NP68 porté par le virus inoculé par la suite.

Nous pourrions également recréer les conditions d'une infection chronique, au cours de laquelle l'infection, et son influence sur la réponse T-CD8, se poursuit bien au delà de l'activation des lymphocytes naïfs. Nous pourrions pour cela modifier le temps de présence des CPA dans le ganglion. L'influence indispensable des lymphocytes T-CD4 sur le maintien de la réponse T-CD8 [102] devrait alors être intégrée : soit de façon abstraite, par exemple en ajoutant une source uniforme d'IL2 sur le domaine spatial, soit en évoluant vers un modèle plus complexe, à la manière de Gong *et al.* [56] (Section 1.2.2.2), dans lequel les lymphocytes T-CD4 seraient modélisés avec les lymphocytes T-CD8.

Au cours des dernières décennies, notamment grâce à l'avènement de nouvelles technologies, les immunologistes ont constitué une collection remarquablement riche de connaissances sur de nombreux aspects de la réponse immunitaire. Un des grands défis de l'immunologie moderne est de parvenir à relier entre eux tous ces savoirs accumulés, afin de les organiser en une théorie cohérente. Depuis une vingtaine d'année, la modélisation mathématique a pris part à cet effort, auquel nous joignons le travail présenté dans ce manuscrit de thèse.

Bibliographie

- [1] M. Afkarian, J. R. Sedy, J. Yang, N. G. Jacobson, N. Cereb, S. Y. Yang, T. L. Murphy, and K. M. Murphy. T-bet is a STAT1-induced regulator of IL-12R expression in naïve CD4+ T cells. *Nat. Immunol.*, 3(6):549–557, 2002.
- [2] J. D. Ahlers and I. M. Belyakov. Memories that last forever: strategies for optimizing vaccine T-cell memory. *Blood*, 115(9):1678–1689, 2009.
- [3] R. Antia, C. T. Bergstrom, S. S. Pilyugin, S. M. Kaech, and R. Ahmed. Models of CD8+ responses: 1. What is the antigen-independent proliferation program. *J. Theor. Biol.*, 221(4):585–598, 2003.
- [4] R. Antia, V. V. Ganusov, and R. Ahmed. The role of models in understanding CD8+ T-cell memory. *Nat. Rev. Immunol.*, 5(2):101–111, 2005.
- [5] A. Ay and D. N. Arnosti. Mathematical modeling of gene expression: a guide for the perplexed biologist. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.*, 46(2):137–151, 2011.
- [6] D. D. Bainov, V. Lakshmikantham, and P. Simeonov. *Theory of Impulsive Differential Equations*. World Scientific, Singapore, 1989.
- [7] D. D. Bainov and P. Simeonov. *Impulsive differential equations: periodic solutions and applications*. Longman Scientific & Technical, Harlow, 1993.
- [8] R. Balyan, R. Gund, C. Ebenezer, J. K. Khalsa, D. A. Verghese, T. Krishnamurthy, A. George, V. Bal, S. Rath, and A. Chaudhry. Modulation of naive CD8 T cell response features by ligand density, affinity, and continued signaling via internalized TCRs. *J. Immunol.*, 198(5):1823–1837, 2017.
- [9] A. Banerjee, S. M. Gordon, A. M. Intlekofer, M. A. Paley, E. C. Mooney, T. Lindsten, E. J. Wherry, and S. L. Reiner. Cutting edge: The transcription factor eomesodermin enables CD8+ T cells to compete for the memory cell niche. *J. Immunol.*, 185(9):4988–4992, 2010.

- [10] L. Barbarroux, P. Michel, M. Adimy, and F. Crauste. A multiscale model of the CD8 T-cell immune response structured by intracellular content. *Discrete Continuous Dyn Syst Ser B*, in press.
- [11] L. Barbarroux, P. Michel, M. Adimy, and F. Crauste. Multi-scale modeling of the CD8 immune response. *AIP Conference Proceedings*, 1738(1):320002, 2016.
- [12] D. Baumjohann and K. M. Ansel. MicroRNA-mediated regulation of T helper cell differentiation and plasticity. *Nat. Rev. Immunol.*, 13(9):666–678, 2013.
- [13] M. J. Bevan and P. J. Fink. The CD8 response on autopilot. *Nat. Immunol.*, 2(5):381–382, 2001.
- [14] J. N. Blattman, R. Antia, D. J. Sourdive, X. Wang, S. M. Kaech, K. Murali-Krishna, J. D. Altman, and R. Ahmed. Estimating the precursor frequency of naive antigen-specific CD8 T cells. *J. Exp. Med.*, 195(5):657–664, 2002.
- [15] D. E. Block, P. D. Eitzman, J. D. Wangensteen, and F. Srienc. Slit scanning of *saccharomyces cerevisiae* cells: quantification of asymmetric cell division and cell cycle progression in asynchronous culture. *Biotechnol. Prog.*, 6(6):504–512, 1990.
- [16] G. Bocharov, T. Luzyanina, J. Cupovic, and B. Ludewig. Asymmetry of cell division in CFSE-based lymphocyte proliferation analysis. *Front Immunol*, 4:264, 2013.
- [17] R. J. D. Boer, M. Oprea, R. Antia, K. Murali-Krishna, R. Ahmed, and A. S. Perelson. Recruitment times, proliferation, and apoptosis rates during the CD8+ T-cell response to lymphocytic choriomeningitis virus. *J. Virol.*, 75(22):10663–10669, 2001.
- [18] R. J. D. Boer, V. V. Ganusov, D. Milutinović, P. D. Hodgkin, and A. S. Perelson. Estimating lymphocyte division and death rates from CFSE data. *Bull. Math. Biol.*, 68(5):1011–1031, 2006.
- [19] A. Bouchnita, G. Bocharov, A. Meyerhans, and V. Volpert. Hybrid approach to model the spatial regulation of T cell responses. *BMC Immunology*, 18(S1), 2017.
- [20] P. Bouillet and L. A. O’Reilly. CD95, BIM and T cell homeostasis. *Nat. Rev. Immunol.*, 9(7):514–519, 2009.

-
- [21] O. Boyman, J. Cho, and J. Sprent. The role of interleukin-2 in memory CD8 cell differentiation. In M. Zanetti and S. P. Schoenberger, editors, *Memory T Cells*, pages 28–41. Springer New York, New York, NY, 2010.
- [22] O. Boyman, S. Létourneau, C. Krieg, and J. Sprent. Homeostatic proliferation and survival of naïve and memory T cells. *Eur. J. Immunol.*, 39(8):2088–2094, 2009.
- [23] O. Boyman and J. Sprent. The role of interleukin-2 during homeostasis and activation of the immune system. *Nat. Rev. Immunol.*, 12(3):180–190, 2012.
- [24] C. C. Brinkman, S. J. Rouhani, N. Srinivasan, and V. H. Engelhard. Peripheral tissue homing receptors enable T cell entry into lymph nodes and affect the anatomical distribution of memory cells. *J. Immunol.*, 191(5):2412–2425, 2013.
- [25] V. R. Buchholz, M. Flossdorf, I. Hensel, L. Kretschmer, B. Weissbrich, P. Graf, A. Verschoor, M. Schiemann, T. Hofer, and D. H. Busch. Disparate individual fates compose robust CD8+ T cell immunity. *Science*, 340(6132):630–635, 2013.
- [26] V. R. Buchholz, T. N. Schumacher, and D. H. Busch. T cell fate at the single-cell level. *Annu. Rev. Immunol.*, 34(1):65–92, 2016.
- [27] J. T. Chang, M. L. Ciocca, I. Kinjyo, V. R. Palanivel, C. E. McClurkin, C. S. DeJong, E. C. Mooney, J. S. Kim, N. C. Steinel, J. Oliaro, C. C. Yin, B. I. Florea, H. S. Overkleeft, L. J. Berg, S. M. Russell, G. A. Koretzky, M. S. Jordan, and S. L. Reiner. Asymmetric proteasome segregation as a mechanism for unequal partitioning of the transcription factor T-bet during T lymphocyte division. *Immunity*, 34(4):492–504, 2011.
- [28] J. T. Chang, V. R. Palanivel, I. Kinjyo, F. Schambach, A. M. Intlekofer, A. Banerjee, S. A. Longworth, K. E. Vinup, P. Mrass, J. Oliaro, N. Killeen, J. S. Orange, S. M. Russell, W. Weninger, and S. L. Reiner. Asymmetric T lymphocyte division in the initiation of adaptive immune responses. *Science*, 315(5819):1687–1691, 2007.
- [29] D. L. Chao, M. P. Davenport, S. Forrest, and A. S. Perelson. Modelling the impact of antigen kinetics on T-cell activation and response. *Immunol. Cell Biol.*, 82(1):55–61, 2004.

- [30] D. L. Chao, M. P. Davenport, S. Forrest, and A. S. Perelson. A stochastic model of cytotoxic T cell responses. *J. Theor. Biol.*, 228(2):227–240, 2004.
- [31] N. A. Cilfone, C. R. Perry, D. E. Kirschner, and J. J. Linderman. Multi-scale modeling predicts a balance of tumor necrosis factor- α and interleukin-10 controls the granuloma environment during mycobacterium tuberculosis infection. *PLoS ONE*, 8(7):e68680, 2013.
- [32] M. L. Ciocca, B. E. Barnett, J. K. Burkhardt, J. T. Chang, and S. L. Reiner. Cutting edge: Asymmetric memory T cell division in response to rechallenge. *J. Immunol.*, 188(9):4145–4148, 2012.
- [33] M. A. Cox, L. E. Harrington, and A. J. Zajac. Cytokines and the inception of CD8 T cell responses. *Trends Immunol.*, 32(4):180–186, 2011.
- [34] F. Crauste, J. Mafille, L. Boucinha, S. Djebali, O. Gandrillon, J. Marvel, and C. Arpin. Identification of nascent memory CD8 T cells and modeling of their ontogeny. *Cell Syst*, 4(3):306–317.e4, 2017.
- [35] F. Crauste, E. Terry, I. L. Mercier, J. Mafille, S. Djebali, T. Andrieu, B. Mercier, G. Kaneko, C. Arpin, J. Marvel, and O. Gandrillon. Predicting pathogen-specific CD8 T Cell immune responses from a modeling approach. *J. Theor. Biol.*, 374:66–82, 2015.
- [36] F. Cruz-Guilloty, M. E. Pipkin, I. M. Djuretic, D. Levanon, J. Lotem, M. G. Lichtenheld, Y. Groner, and a. Rao. Runx3 and T-box proteins cooperate to establish the transcriptional program of effector CTLs. *J. Exp. Med.*, 206(1):51–59, 2009.
- [37] Z. Dai, B. T. Konieczny, and F. G. Lakkis. The dual role of IL-2 in the generation and maintenance of CD8+ memory T cells. *J. Immunol.*, 165(6):3031–3036, 2000.
- [38] L. M. D’Cruz, M. P. Rubinstein, and A. W. Goldrath. Surviving the crash: Transitioning from effector to memory CD8+ T cell. *Seminars in Immunology*, 21(2):92–98, 2009.
- [39] E. K. Deenick, A. V. Gett, and P. D. Hodgkin. Stochastic model of T cell proliferation: A calculus revealing IL-2 regulation of precursor frequencies, cell cycle time, and survival. *J. Immunol.*, 170(10):4963–4972, 2003.

-
- [40] A. DeFranco, R. Locksley, and M. Robertson. *Immunity: The Immune Response in Infectious and Inflammatory Disease*. Primers in Biology. OUP Oxford, 2007.
- [41] A. Dishliev, K. Dishlieva, and S. Nenov. *Specific asymptotic properties of the solutions of impulsive differential equations. Methods and applications*. Academic Publications, Ltd., 2012.
- [42] R. Eftimie, J. L. Bramson, and D. J. D. Earn. Interactions between the immune system and cancer: A brief review of non-spatial mathematical models. *Bull. Math. Biol.*, 73(1):2–32, 2010.
- [43] R. Eftimie, J. J. Gillard, and D. A. Cantrell. Mathematical models for immunology: Current state of the art and future research directions. *Bull. Math. Biol.*, 78(10):2091–2134, 2016.
- [44] K. E. Ewings, C. M. Wiggins, and S. J. Cook. Bim and the pro-survival Bcl-2 proteins: Opposites attract, ERK repels. *Cell Cycle*, 6(18):2236–2240, 2007.
- [45] M. Fallahi-Sichani, M. El-Kebir, S. Marino, D. E. Kirschner, and J. J. Linderman. Multiscale computational modeling reveals a critical role for TNF- receptor 1 dynamics in tuberculosis granuloma formation. *J. Immunol.*, 186(6):3472–3483, 2011.
- [46] T. Faria and J. J. Oliveira. On stability for impulsive delay differential equations and application to a periodic Lasota-Ważewska model. *Discrete Cont Dyn Syst Series B*, 21(8):2451–2472, 2016.
- [47] O. Feinerman, G. Jentsch, K. E. Tkach, J. W. Coward, M. M. Hathorn, M. W. Sneddon, T. Emonet, K. A. Smith, and G. Altan-Bonnet. Single-cell quantification of IL-2 response by effector and regulatory T cells reveals critical plasticity in immune response. *Mol. Syst. Biol.*, 6(1):437, 2010.
- [48] O. Feinerman, J. Veiga, J. R. Dorfman, R. N. Germain, and G. Altan-Bonnet. Variability and robustness in T cell activation from regulated heterogeneity in protein levels. *Science*, 321(5892):1081–1084, 2008.
- [49] A. Friedman, C.-Y. Kao, and C.-W. Shih. Asymptotic phases in a cell differentiation model. *Journal of Differential Equations*, 247(3):736–769, 2009.

- [50] A. Friedman, C.-Y. Kao, and C.-W. Shih. Asymptotic limit in a cell differentiation model with consideration of transcription. *Journal of Differential Equations*, 252(10):5679–5711, 2012.
- [51] X. Gao, C. Arpin, J. Marvel, S. A. Prokopiou, O. Gandrillon, and F. Crauste. IL-2 sensitivity and exogenous IL-2 concentration gradient tune the productive contact duration of CD8+ T cell-APC: a multiscale modeling study. *BMC Syst Biol*, 10(1):77, 2016.
- [52] K. R. Garrod, H. D. Moreau, Z. Garcia, F. Lemaître, I. Bouvier, M. L. Albert, and P. Bousso. Dissecting T cell contraction in vivo using a genetically encoded reporter of apoptosis. *Cell Reports*, 2(5):1438–1447, 2012.
- [53] C. Gerlach, J. W. van Heijst, E. Swart, D. Sie, N. Armstrong, R. M. Kerkhoven, D. Zehn, M. J. Bevan, K. Schepers, and T. N. Schumacher. One naive T cell, multiple fates in CD8+ T cell differentiation. *J. Exp. Med.*, 207(6):1235–1246, 2010.
- [54] S. Girel and F. Crauste. Existence and stability of periodic solutions of an impulsive differential equation and application to CD8 T-cell differentiation. *J. Math. Biol.*, 2018.
- [55] P. Golstein. Deux mécanismes moléculaires pour la cytotoxicité T : perforine/granzymes et fas. *médecine/sciences*, 11(1):99, 1995.
- [56] C. Gong, J. J. Linderman, and D. Kirschner. Harnessing the heterogeneity of T cell differentiation fate to fine-tune generation of effector and memory T cells. *Front Immunol*, 5, 2014.
- [57] C. Gong, J. T. Mattila, M. Miller, J. L. Flynn, J. J. Linderman, and D. Kirschner. Predicting lymph node output efficiency using systems biology. *J. Theor. Biol.*, 335:169–184, 2013.
- [58] F. Graner and J. A. Glazier. Simulation of biological cell sorting using a two-dimensional extended Potts model. *Phys. Rev. Lett.*, 69:2013–2016, 1992.

-
- [59] U. Herbach, A. Bonnaffoux, T. Espinasse, and O. Gandrillon. Inferring gene regulatory networks from single-cell data: a mechanistic approach. *BMC Systems Biology*, 11(1), 2017.
- [60] M. Hirano, S. Das, P. Guo, and M. D. Cooper. The evolution of adaptive immunity in vertebrates. In *Advances in Immunology*, pages 125–157. Elsevier, 2011.
- [61] K. K. Hoyer, H. Dooms, L. Barron, and A. K. Abbas. Interleukin-2 in the development and control of inflammatory disease. *Immunol. Rev.*, 226(1):19–28, 2008.
- [62] F. Huang, W. Huang, J. Briggs, T. Chew, Y. Bai, S. Deol, and A. August. The tyrosine kinase itk suppresses CD8+ memory T cell development in response to bacterial infection. *Sci Rep*, 5:7688, 2015.
- [63] D. Huh and J. Paulsson. Non-genetic heterogeneity from stochastic partitioning at cell division. *Nat. Genet.*, 43(2):95–100, 2010.
- [64] E. S. Hwang. IL-2 production in developing Th1 cells is regulated by heterodimerization of RelA and T-bet and requires T-bet serine residue 508. *J. Exp. Med.*, 202(9):1289–1300, 2005.
- [65] A. M. Intlekofer, N. Takemoto, C. Kao, A. Banerjee, F. Schambach, J. K. Northrop, H. Shen, E. J. Wherry, and S. L. Reiner. Requirement for T-bet in the aberrant differentiation of unhelped memory CD8+ T cells. *J. Exp. Med.*, 204(9):2015–2021, 2007.
- [66] C. Janeway, P. Travers, M. Walport, and M. Shlomchik. *Immunobiology: The Immune System in Health and Disease. 5th edition*. New York: Garland Science, 2001.
- [67] N. S. Joshi, W. Cui, A. Chandele, H. K. Lee, D. R. Urso, J. Hagman, L. Gapin, and S. M. Kaech. Inflammation directs memory precursor and short-lived effector CD8+ T cell fates via the graded expression of T-bet transcription factor. *Immunity*, 27(2):281–295, 2007.
- [68] N. S. Joshi, W. Cui, C. X. Dominguez, J. H. Chen, T. W. Hand, and S. M. Kaech. Increased numbers of preexisting memory CD8 T cells and decreased T-bet expres-

- sion can restrain terminal differentiation of secondary effector and memory CD8 T cells. *J. Immunol.*, 187(8):4068–4076, 2011.
- [69] V. Jubin, E. Ventre, Y. Leverrier, S. Djebali, K. Mayol, M. Tomkowiak, J. Mafille, M. Teixeira, D. Y.-L. Teoh, B. Lina, T. Walzer, C. Arpin, and J. Marvel. T inflammatory memory CD8 T cells participate to antiviral response and generate secondary memory cells with an advantage in XCL1 production. *Immunol. Res.*, 52(3):284–293, 2012.
- [70] S. M. Kaech and W. Cui. Transcriptional control of effector and memory CD8⁺ T cell differentiation. *Nat. Rev. Immunol.*, 12(11):749–761, 2012.
- [71] S. M. Kaech and R. Ahmed. Memory CD8⁺ T cell differentiation: initial antigen encounter triggers a developmental program in naïve cells. *Nat. Immunol.*, 2(5):415–422, 2001.
- [72] S. M. Kaech, J. T. Tan, E. J. Wherry, B. T. Konieczny, C. D. Surh, and R. Ahmed. Selective expression of the interleukin 7 receptor identifies effector CD8 T cells that give rise to long-lived memory cells. *Nat. Immunol.*, 4(12):1191–1198, 2003.
- [73] S. M. Kaech and E. J. Wherry. Heterogeneity and cell-fate decisions in effector and memory CD8⁺ T cell differentiation during viral infection. *Immunity*, 27(3):393–405, 2007.
- [74] V. Kalia, S. Sarkar, and R. Ahmed. CD8 T-cell memory differentiation during acute and chronic viral infections. In *Memory T Cells*, pages 79–95. Springer, 2010.
- [75] M. M. Kamiński, S. Liedmann, S. Milasta, and D. R. Green. Polarization and asymmetry in T cell metabolism. *Semin. Immunol.*, 28(5):525–534, 2016.
- [76] A. Kanhere, A. Hertweck, U. Bhatia, M. R. Gökmen, E. Perucha, I. Jackson, G. M. Lord, and R. G. Jenner. T-bet and GATA3 orchestrate Th1 and Th2 differentiation through lineage-specific targeting of distal regulatory elements. *Nat Commun*, 3:1268, 2012.
- [77] J. Kelly, R. Spolski, K. Imada, J. Bollenbacher, S. Lee, and W. J. Leonard. A role for Stat5 in CD8⁺ T cell homeostasis. *J. Immunol.*, 170(1):210–217, 2003.

-
- [78] E. H. Kim and M. Suresh. Role of PI3K/Akt signaling in memory CD8 T cell differentiation. *Front Immunol*, 4:20, 2013.
- [79] P. S. Kim, P. P. Lee, and D. Levy. Emergent group dynamics governed by regulatory cells produce a robust primary T cell response. *Bull. Math. Biol.*, 72(3):611–644, 2009.
- [80] I. Kinjyo, J. Qin, S.-Y. Tan, C. J. Wellard, P. Mrass, W. Ritchie, A. Doi, L. L. Cavanagh, M. Tomura, A. Sakaue-Sawano, O. Kanagawa, A. Miyawaki, P. D. Hodgkin, and W. Weninger. Real-time tracking of cell cycle progression during CD8+ effector and memory T-cell differentiation. *Nature Communications*, 6(1), 2015.
- [81] D. E. Kirschner, S. T. Chang, T. W. Riggs, N. Perry, and J. J. Linderman. Toward a multiscale model of antigen presentation in immunity. *Immunol. Rev.*, 216(1):93–118, 2007.
- [82] C. Kou, M. Adimy, and A. Ducrot. On the dynamics of an impulsive model of hematopoiesis. *Math Model Nat Phenom*, 4(02):68–91, 2009.
- [83] C. Kuehn. *Multiple time scale dynamics*. Springer, 2015.
- [84] V. Lazarevic, L. H. Glimcher, and G. M. Lord. T-bet: a bridge between innate and adaptive immunity. *Nat. Rev. Immunol.*, 13(11):777–789, 2013.
- [85] F. Lemaitre, H. D. Moreau, L. Vedele, and P. Bousso. Phenotypic CD8+ T cell diversification occurs before, during, and after the first T cell division. *J. Immunol.*, 191(4):1578–1585, 2013.
- [86] G. Li, Q. Yang, Y. Zhu, H. Wang, X. Chen, X. Zhang, and B. Lu. T-bet and eomes regulate the balance between the effector/central memory T cells versus memory stem like T cells. *PLoS ONE*, 8(6):e67401, 2013.
- [87] W.-T. Li and H.-F. Huo. Global attractivity of positive periodic solutions for an impulsive delay periodic model of respiratory dynamics. *J Comput Appl Math*, 174(2):227–238, 2005.
- [88] Y. Li and X. Liu. An impulsive model for wolbachia infection control of mosquito-borne diseases with general birth and death rate functions. *Nonlinear Analysis: Real World Applications*, 37:412–432, 2017.

- [89] J. J. Linderman, T. Riggs, M. Pande, M. Miller, S. Marino, and D. E. Kirschner. Characterizing the dynamics of CD4+ T cell priming within a lymph node. *J. Immunol.*, 184(6):2873–2885, 2010.
- [90] T. Lipniacki, P. Paszek, A. Marciniak-Czochra, A. R. Brasier, and M. Kimmel. Transcriptional stochasticity in gene expression. *J. Theor. Biol.*, 238(2):348–367, 2006.
- [91] X. Liu and L. Chen. Complex dynamics of Holling type II Lotka-Volterra predator-prey system with impulsive perturbations on the predator. *Chaos Solitons Fractals*, 16(2):311–320, 2003.
- [92] X. Liu and Y. Takeuchi. Periodicity and global dynamics of an impulsive delay Lasota-Ważewska model. *J Math Anal Appl*, 327(1):326–341, 2007.
- [93] Z. Liu and S. Zhong. An impulsive periodic predator-prey system with Holling type III functional response and diffusion. *Appl. Math. Model.*, 36(12):5976–5990, 2012.
- [94] I. F. Luescher, E. Vivier, A. Layer, J. Mahiou, F. Godeau, B. Malissen, and P. Romero. CD8 modulation of T-cell antigen receptor–ligand interactions on living cytotoxic T lymphocytes. *Nature*, 373(6512):353–356, 1995.
- [95] T. Luzyanina, J. Cupovic, B. Ludewig, and G. Bocharov. Mathematical models for CFSE labelled lymphocyte dynamics: asymmetry and time-lag in division. *J. Math. Biol.*, 69(6-7):1547–1583, 2013.
- [96] T. Luzyanina, S. Mrusek, J. T. Edwards, D. Roose, S. Ehl, and G. Bocharov. Computational analysis of CFSE proliferation assay. *J. Math. Biol.*, 54(1):57–89, 2006.
- [97] N. V. Mantzaris. Stochastic and deterministic simulations of heterogeneous cell population dynamics. *J. Theor. Biol.*, 241(3):690–706, 2006.
- [98] N. V. Mantzaris. From single-cell genetic architecture to cell population dynamics: Quantitatively decomposing the effects of different population heterogeneity sources for a genetic network with positive feedback architecture. *Biophys. J.*, 92(12):4271–4288, 2007.

-
- [99] S. Marino, M. El-Kebir, and D. Kirschner. A hybrid multi-compartment model of granuloma formation and T Cell priming in tuberculosis. *J. Theor. Biol.*, 280(1):50–62, 2011.
- [100] G. Martins and K. Calame. Regulation and functions of blimp-1 in T and B lymphocytes. *Annu. Rev. Immunol.*, 26(1):133–169, 2008.
- [101] M. P. Matheu, J. R. Teijaro, K. B. Walsh, M. L. Greenberg, D. Marsolais, I. Parker, H. Rosen, M. B. A. Oldstone, and M. D. Cahalan. Three phases of CD8 T cell response in the lung following h1n1 influenza infection and sphingosine 1 phosphate agonist therapy. *PLoS ONE*, 8(3):e58033, 2013.
- [102] M. Matloubian, R. J. Concepcion, and R. Ahmed. CD4+ T cells are required to sustain CD8+ cytotoxic T-cell responses during chronic viral infection. *J. Virol.*, 68(12):8056–8063, 1994.
- [103] L. M. McLane, P. P. Banerjee, G. L. Cosma, G. Makedonas, E. J. Wherry, J. S. Orange, and M. R. Betts. Differential localization of T-bet and eomes in CD8 T cell memory populations. *J. Immunol.*, 190(7):3207–3215, 2013.
- [104] R. Mercado, S. Vijh, S. E. Allen, K. Kerksiek, I. M. Pilip, and E. G. Pamer. Early programming of T Cell populations responding to bacterial infection. *J. Immunol.*, 165(12):6833–6839, 2000.
- [105] V. D. Mil’man and A. D. Myshkis. On the stability of motion in the presence of impulses. *Siberian Math. J.*, 1:233–237, 1960.
- [106] B. Molon, G. Gri, M. Bettella, C. Gómez-Moutón, A. Lanzavecchia, C. Martínez-A, S. Mañes, and A. Viola. T cell costimulation by chemokine receptors. *Nat. Immunol.*, 6(5):465–471, 2005.
- [107] I. Munitic, C. Evaristo, H. C. Sung, and B. Rocha. Transcriptional regulation during CD8 T-cell immune responses. In M. Zanetti and S. P. Schoenberger, editors, *Memory T Cells*, pages 11–27. Springer New York, New York, NY, 2010.
- [108] K. Murali-Krishna, J. D. Altman, M. Suresh, D. J. Sourdive, A. J. Zajac, J. D. Miller, J. Slansky, and R. Ahmed. Counting antigen-specific CD8 T cells: A reevaluation of bystander activation during viral infection. *Immunity*, 8(2):177–187, 1998.

- [109] J. T. Opferman. Linear differentiation of cytotoxic effectors into memory T lymphocytes. *Science*, 283(5408):1745–1748, 1999.
- [110] F. Pappalardo, A. Palladini, M. Pennisi, F. Castiglione, and S. Motta. Mathematical and computational models in tumor immunology. *Mathematical Modelling of Natural Phenomena*, 7(3):186–203, 2012.
- [111] S. Pilyugin, J. Mittler, and R. Antia. Modeling T-cell proliferation: an investigation of the consequences of the hayflick limit. *J. Theor. Biol.*, 186(1):117–129, 1997.
- [112] C. R. Plumlee, J. J. Obar, S. L. Colpitts, E. R. Jellison, W. N. Haining, L. Lefrançois, and K. M. Khanna. Early effector CD8 T Cells display plasticity in populating the short-lived effector and memory-precursor pools following bacterial or viral infection. *Scientific Reports*, 5(1), 2015.
- [113] C. R. Plumlee, B. S. Sheridan, B. B. Cicek, and L. Lefrançois. Environmental cues dictate the fate of individual CD8+ T Cells responding to infection. *Immunity*, 39(2):347–356, 2013.
- [114] B. B. Porter and J. T. Harty. The onset of CD8+ T-cell contraction is influenced by the peak of listeria monocytogenes infection and antigen display. *Infection and Immunity*, 74(3):1528–1536, 2006.
- [115] M. Prlic and M. J. Bevan. Exploring regulatory mechanisms of CD8+ T cell contraction. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(43):16689–16694, 2008.
- [116] S. A. Prokopiou, L. Barbarroux, S. Bernard, J. Mafille, Y. Leverrier, C. Arpin, J. Marvel, O. Gandrillon, and F. Crauste. Multiscale modeling of the early CD8 T-cell immune response in lymph nodes: an integrative study. *Computation*, 2(4):159–181, 2014.
- [117] A. Raj and A. van Oudenaarden. Nature, nurture, or chance: Stochastic gene expression and its consequences. *Cell*, 135(2):216–226, 2008.
- [118] J. M. Raser. Control of stochasticity in eukaryotic gene expression. *Science*, 304(5678):1811–1814, 2004.

-
- [119] J. M. Raser. Noise in gene expression: Origins, consequences, and control. *Science*, 309(5743):2010–2013, 2005.
- [120] A. Rauf, M. Khatri, M. V. Murgia, and Y. M. Saif. Fas/FasL and perforin–granzyme pathways mediated T cell cytotoxic responses in infectious bursal disease virus infected chickens. *Results in Immunology*, 2:112–119, 2012.
- [121] J. C. J. Ray, J. L. Flynn, and D. E. Kirschner. Synergy between individual TNF-dependent functions determines granuloma performance for controlling mycobacterium tuberculosis infection. *J. Immunol.*, 182(6):3706–3717, 2009.
- [122] T. Riggs, A. Walts, N. Perry, L. Bickle, J. N. Lynch, A. Myers, J. Flynn, J. J. Linderman, M. J. Miller, and D. E. Kirschner. A comparison of random vs. chemotaxis-driven contacts of T Cells with dendritic cells during repertoire scanning. *J. Theor. Biol.*, 250(4):732–751, 2008.
- [123] B. E. Russ, A. E. Denton, L. Hatton, H. Croom, M. R. Olson, and S. J. Turner. Defining the molecular blueprint that drives CD8+ T cell differentiation in response to infection. *Front Immunol*, 3:371, 2012.
- [124] S. Saker and J. Alzabut. Existence of periodic solutions, global attractivity and oscillation of impulsive delay population model. *Nonlinear Anal. Real. World Appl.*, 8(4):1029–1039, 2007.
- [125] A. M. Schell, E. L. Granger, F. Koczot, M. A. Fischer, and C. C. Norbury. Dendritic cell migration limits the duration of CD8+ T-cell priming to peripheral viral antigen. *J. Virol.*, 84(7):3586–3594, 2010.
- [126] A. Scholer, S. Hugues, A. Boissonnas, L. Fetler, and S. Amigorena. Intercellular adhesion molecule-1-dependent stable interactions between T cells and dendritic cells determine CD8+ T cell memory. *Immunity*, 28(2):258–270, 2008.
- [127] J. L. Segovia-Juarez, S. Ganguli, and D. Kirschner. Identifying control mechanisms of granuloma formation during m. tuberculosis infection using an agent-based model. *J. Theor. Biol.*, 231(3):357–376, 2004.
- [128] R. Sennerstam. Partition of protein (mass) to sister cell pairs at mitosis: a re-evaluation. *J. Cell Sci.*, 90(2)(11):301–6, 1988.

- [129] H. Shin, J. Lee, S. Park, J. Chang, and C. Lee. T-bet expression is regulated by EGR1-mediated signaling in activated T cells. *Clin. Immunol.*, 131(3):385–394, 2009.
- [130] C. Stemmerger, K. M. Huster, M. Koffler, F. Anderl, M. Schiemann, H. Wagner, and D. H. Busch. A single naive CD8+ T cell precursor can develop into diverse effector and memory subsets. *Immunity*, 27(6):985–997, 2007.
- [131] A. Strasser, P. J. Jost, and S. Nagata. The many roles of FAS receptor signaling in the immune system. *Immunity*, 30(2):180–192, 2009.
- [132] B. M. Sullivan, A. Juedes, S. J. Szabo, M. von Herrath, and L. H. Glimcher. Antigen-driven effector CD8 T cell function regulated by T-bet. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(26):15818–15823, 2003.
- [133] M. H. Swat, G. L. Thomas, J. M. Belmonte, A. Shirinifard, D. Hmeljak, and J. A. Glazier. Multi-scale modeling of tissues using CompuCell3D. *Methods Cell Biol.*, 110:325–366, 2012.
- [134] A. Szabó and R. M. H. Merks. Cellular Potts modeling of tumor growth, tumor invasion, and tumor evolution. *Frontiers in Oncology*, 3, 2013.
- [135] S. J. Szabo, S. T. Kim, G. L. Costa, X. Zhang, C. G. Fathman, and L. H. Glimcher. A novel transcription factor, T-bet, directs Th1 lineage commitment. *Cell*, 100(6):655–669, 2000.
- [136] N. Takemoto, A. M. Intlekofer, J. T. Northrup, E. J. Wherry, and S. L. Reiner. Cutting edge: IL-12 inversely regulates T-bet and eomesodermin expression during pathogen-induced CD8+ T cell differentiation. *J. Immunol.*, 177(11):7515–7519, 2006.
- [137] S. Tang and L. Chen. Density-dependent birth rate, birth pulses and their population dynamic consequences. *J. Math. Biol.*, 44(2):185–199, 2002.
- [138] E. Terry, J. Marvel, C. Arpin, O. Gandrillon, and F. Crauste. Mathematical model of the primary CD8 T cell immune response: stability analysis of a nonlinear age-structured system. *J. Math. Biol.*, 65(2):263–291, 2011.

-
- [139] M. J. Van Stipdonk, E. E. Lemmens, and S. P. Schoenberger. Naïve CTLs require a single brief period of antigenic stimulation for clonal expansion and differentiation. *Nat. Immunol.*, 2(5):423–429, 2001.
- [140] H. Veiga-Fernandes, U. Walter, C. Bourgeois, A. McLean, and B. Rocha. Response of naïve and memory CD8⁺ T Cells to antigen stimulation in vivo. *Nat. Immunol.*, 1(1):47–53, 2000.
- [141] E. Ventre. *Modulation des fonctions des lymphocytes T CD8 par l'Interleukine-4 et les cytokines de la famille γc* . PhD thesis, École Normale Supérieure de Lyon, 2011.
- [142] T. Walzer. *Caractérisation de lymphocytes T CD8 mémoire générés dans des souris transgéniques pour le TCR*. PhD thesis, École Normale Supérieure de Lyon, 2002.
- [143] Q. Wang, D. J. Klinke, and Z. Wang. CD8 + T cell response to adenovirus vaccination and subsequent suppression of tumor growth: modeling, simulation and analysis. *BMC Syst Biol*, 9(1), 2015.
- [144] E. J. Wherry and R. Ahmed. Memory CD8 T-cell differentiation during viral infection. *J. Virol.*, 78(11):5535–5545, 2004.
- [145] T. C. Wirth, H.-H. Xue, D. Rai, J. T. Sabel, T. Bair, J. T. Harty, and V. P. Badovinac. Repetitive antigen stimulation induces stepwise transcriptome diversification but preserves a core signature of memory CD8⁺ T cell differentiation. *Immunity*, 33(1):128–140, 2010.
- [146] D. Wodarz and A. R. Thomsen. Effect of the CTL proliferation program on virus dynamics. *Int. Immunol.*, 17(9):1269–1276, 2005.
- [147] D. L. Woodland and J. E. Kohlmeier. Migration, maintenance and recall of memory T cells in peripheral tissues. *Nat. Rev. Immunol.*, 9(3):153–161, 2009.
- [148] J. Yan. Existence and global attractivity of positive periodic solution for an impulsive Lasota–Ważewska model. *J Math Anal Appl*, 279(1):111–120, 2003.
- [149] J. Yan and A. Zhao. Oscillation and stability of linear impulsive delay differential equations. *J Math Anal Appl*, 227(1):187–194, 1998.

- [150] J. Yan, A. Zhao, and J. Nieto. Existence and global attractivity of positive periodic solution of periodic single-species impulsive Lotka-Volterra systems. *Math. Comput. Model.*, 40(5-6):509–518, 2004.
- [151] J. Yan, A. Zhao, and W. Yan. Existence and global attractivity of periodic solution for an impulsive delay differential equation with Allee effect. *J Math Anal Appl*, 309(2):489–504, 2005.
- [152] C. J. J. Yeo and D. T. Fearon. T-bet-mediated differentiation of the activated CD8+ T cell. *Eur. J. Immunol.*, 41(1):60–66, 2010.
- [153] H. Yoon, T. S. Kim, and T. J. Braciale. The cell cycle time of CD8+ T cells responding in vivo is controlled by the type of antigenic stimulus. *PLoS ONE*, 5(11):e15423, 2010.
- [154] Y. Yuzefpolskiy, F. M. Baumann, V. Kalia, and S. Sarkar. Early CD8 T-cell memory precursors and terminal effectors exhibit equipotent in vivo degranulation. *Cell. Mol. Immunol.*, 2014.
- [155] M. Zanetti and S. P. Schoenberger, editors. *Memory T Cells*. Springer New York, 2010.
- [156] X. Zhang, S. Tang, R. A. Cheke, and H. Zhu. Modeling the effects of augmentation strategies on the control of dengue fever with an impulsive differential equation. *Bull. Math. Biol.*, 78(10):1968–2010, 2016.

Modélisation de la Réponse Immunitaire T-CD8

Analyse Mathématique et Modèles Multiéchelles

Résumé : L'infection d'un organisme par un agent pathogène déclenche l'activation des lymphocytes T-CD8 et l'initiation de la réponse immunitaire. Il s'ensuit un programme complexe de prolifération et de différenciation des lymphocytes T-CD8, contrôlé par l'évolution de leur contenu moléculaire. Dans ce manuscrit, nous présentons deux modèles mathématiques de la réponse T-CD8. Le premier se présente comme une équation différentielle à impulsions grâce à laquelle nous étudions l'effet du partage inégal des protéines lors des divisions cellulaires sur la régulation de l'hétérogénéité moléculaire. Le second est un modèle à base d'agents couplant la description d'une population discrète de lymphocytes T-CD8 à celle du contenu moléculaire de ces derniers. Ce modèle s'avère capable de reproduire les différentes phases caractéristiques de la réponse T-CD8 aux échelles cellulaire et moléculaire. Ces deux travaux supportent l'hypothèse que la dynamique cellulaire observée *in vivo* est le reflet de l'hétérogénéité moléculaire qui structure la population de lymphocytes T-CD8.

Mots clés : Modèle à base d'agents ; Équation différentielle à impulsions ; Modèle multiéchelle ; Convexité du flot ; Réponse immunitaire ; Partage aléatoire du contenu moléculaire ; Différenciation cellulaire.

Modeling the CD8 T-cell Immune Response : Mathematical Analysis and Multiscale Models

Abstract : Infection of an organism by a pathogen triggers the activation of the CD8 T-cells and the initiation of the immune response. The result is a complex program of proliferation and differentiation of the CD8 T-cells, controlled by the evolution of their molecular content. In this manuscript, we present two mathematical models of the CD8 T-cell response. The first one is presented as an impulsive differential equation by which we study the effect of unequal molecular partitioning at cell division on the regulation of molecular heterogeneity. The second one is an agent-based-model that couples the description of a discrete population of CD8 T-cells and that of their molecular content. This model can reproduce the different typical phases of the CD8 T-cell response at both the cellular and the molecular scales. These two studies support the hypothesis that the cell dynamics observed *in vivo* is a consequence of the molecular heterogeneity structuring the CD8 T-cell population.

Keywords : Agent-based model ; Impulsive differential equation ; Multiscale modeling ; Flow convexity ; Immune response ; Random partitioning of molecular content ; Cellular differentiation.

Image en couverture : Concentration de Tbet dans une lignée cellulaire. Crédit image : Simon Girel.

