



**HAL**  
open science

# Morphogenèse et développement pulmonaire

Raphaël Clement

► **To cite this version:**

Raphaël Clement. Morphogenèse et développement pulmonaire. Biophysique [physics.bio-ph]. Université Paris-Diderot - Paris VII, 2011. Français. NNT: . tel-00585972

**HAL Id: tel-00585972**

**<https://theses.hal.science/tel-00585972>**

Submitted on 14 Apr 2011

**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.

UNIVERSITE PARIS DIDEROT (PARIS VII)  
ECOLE DOCTORALE MATIERE CONDENSEE ET INTERFACES

Laboratoire Matière et Systèmes Complexes

THESE DE DOCTORAT  
*Interface Physique-Biologie*

# Morphogenèse et développement pulmonaire

*Présentée par*  
Raphaël Clément

*Devant le jury composé de*

Martine Ben Amar	<i>Examinatrice</i>
Saverio Bellusci	<i>Rapporteur</i>
Stéphane Douady	<i>Directeur de Thèse</i>
Richard-Emmanuel Eastes	<i>Examineur</i>
Emmanuel Farge	<i>Rapporteur</i>
Benjamin Mauroy	<i>Examineur</i>
Olivier Pourquié	<i>Examineur</i>



---

*L'observation nous montre que partout les lois de la nature s'exercent avec une régularité absolue, excluant tout arbitraire, tout choix, toute intention, tout finalisme. La notion de l'universalité et de la régularité des lois de la nature est la base même de la science et domine, comme les autres sciences, la biologie et la médecine.*

**Stéphane Leduc, *La Biologie Synthétique***

1912





---

## Résumé

La forme émerge à toutes les échelles et dans tous les systèmes physiques, vivants ou non, comme le résultat de l'interaction suivant certaines règles des différents éléments constituant le système. L'enjeu de l'étude de la morphogenèse est donc d'établir quels éléments et quelles interactions sont responsables de l'émergence des traits frappants de la forme dont on souhaite expliquer la naissance. En biologie du développement, le contexte bio-moléculaire et l'importance du gène font souvent perdre de vue que comme dans tout système, la forme géométrique émerge suite à des interactions inscrites dans l'espace et dans le temps, interactions dont les gènes et les protéines pour lesquelles ils codent sont certainement acteurs. Dans ce manuscrit, nous traiterons de la morphogenèse de deux systèmes différents. Le premier se situe dans la lignée des expériences de croissance osmotique réalisée au XIX<sup>ème</sup> siècle par le Dr. Stéphane Leduc. Il consiste en la formation spontanée de tubes de silice poussant symétriquement autour d'une fracture se situant en leur milieu lors de l'injection d'une solution dans une seconde, un précipité se formant à l'interface. Le reste du manuscrit est dédié à l'étude de la morphogenèse pulmonaire chez les mammifères. Nous construirons d'abord le cadre théorique d'un modèle de croissance très général basé sur les observations de la biologie moléculaire et la géométrie de l'organe. Par la suite nous verrons comment de simples considérations de géométrie et de diffusion permettent d'expliquer le patterning des gènes impliqués, et comment ces mêmes considérations rendent compte de l'émergence des traits frappants de la morphologie du poumon embryonnaire : l'arborescence, l'évitement des bronches entre elles, et l'établissement d'une distance caractéristique entre l'épithélium distal et le mésenchyme distal. Nous introduirons aussi les outils théoriques permettant de comprendre en profondeur les mécanismes impliqués. Enfin nous présenterons une expérience physique simple basée sur les conclusions du modèle, et révélant des similitudes frappantes avec la croissance pulmonaire.



---

## Abstract

Shapes emerge at all scales and in all physical systems, living or not, as the result of interactions between the elements of the system according to a certain set of rules. The crucial issue of morphogenesis study is to identify which elements and which rules are responsible for the emergence of the shape's striking features that one seeks to explain. In developmental biology, the molecular context and the central role of genes often mask that, as in any material system, geometrical shapes emerge following interactions well defined in time and space, interactions in which genes and proteins are definitely crucial actors. In this manuscript, we will study the morphogenesis of two distinct systems. The first one refers to XIXth century's osmosis experiments by Dr. Stéphane Leduc. It consists in the spontaneous formation of silica tubes growing evenly on both sides of a central fracture, and occurs when injecting a solution in another, a precipitate forming at the interface. The rest of the manuscript deals with lung morphogenesis in mammals. We will first build the theoretical framework of a very general growth model based upon the observations of molecular biology as well as the geometry of the organ. Then, we will see how elementary considerations of geometry and diffusion account for the patterning of involved genes, and also for the emergence of the striking features of embryonic lung morphology : the arborescence, the fact that bronchi never penetrate another, and the apparition of a characteristic distance between distal epithelium and mesothelium. We will also introduce theoretical tools that allow a deeper understanding of the underlying mechanisms. Last, we will present a simple experiment of viscous fingering based on our model's conclusions and presenting striking similarities with lung growth.



# Remerciements

Je souhaite commencer par remercier Stéphane qui m'a permis de passer ces trois années fantastiques dans son laboratoire. Quand je l'ai rencontré pendant mon premier stage, sur la formation des dunes étoilées, je pense avoir eu la chance de trouver quelque chose que je n'avais jamais vraiment trouvé dans ma scolarité, mais qui m'avait sans doute manqué. La spontanéité de son approche d'un sujet a été vraiment une révélation et une source d'inspiration. Si ma thèse et les questions scientifiques qu'elle soulève m'ont tant passionné et fait réfléchir, c'est en majeure partie grâce à lui. Son approche très générale de problèmes si divers est aussi vraiment enrichissante, surtout pour un chercheur novice, et m'a poussé à essayer de construire des scénarios cohérents dans mon travail, autant pour le comprendre moi-même que pour pouvoir l'expliquer aux autres. Au delà de ses grandes qualités scientifiques je le remercie d'avoir toujours rendu le quotidien et l'ambiance au laboratoire si agréables ; d'avoir partagé sans compter ses idées avec moi avec une telle générosité ; pour son infatigable bonne humeur ; et pour tout ce qui a pu contribuer à faire de cette thèse une suite de bons moments.

Je tiens aussi à remercier Pierre Blanc, sans qui ma thèse ne serait non seulement pas ce qu'elle est, mais traiterait probablement d'un sujet différent. C'est grâce à lui que Stéphane et moi nous sommes intéressés au développement du poumon. Lorsque nous avons commencé à travailler ensemble, il a répondu sans jamais se lasser à nos questions sûrement naïves, et a écouté sans se lasser nos explications sur les champs laplaciens et les gradients. Je le remercie aussi pour son accueil au GReD à Clermont-Ferrand, où il a pris le temps de me montrer pas à pas les étapes des expériences et aussi celui de discuter longuement lorsque nous en avons besoin.

Je remercie beaucoup Sylvain Courrech du Pont pour son aide et sa compagnie toujours agréable. J'avais eu la chance de travailler aussi avec lui pendant mon premier stage, et j'ai été très content qu'elle se représente pendant ma thèse puisque nous avons travaillé ensemble sur le sable. Sa volonté de creuser un problème jusqu'au bout a été un vrai atout pour cette partie de mon travail, puisque c'était un nouveau sujet, et sans son aide les choses auraient été beaucoup plus difficiles et sûrement beaucoup moins intéressantes.

La compagnie des co-thésards qui ont partagé ces trois ans de vie dans le laboratoire a été une des choses les plus importantes au quotidien. Je remercie donc immensément :

---

Etienne, qui m'a prodigué autant de bons conseils pour matlab que pour la façon d'envisager une thèse (et plus) ; Simon, pour son humour infatigable et ses innombrables bonnes idées (dont plusieurs figurent dans ce manuscrit !), et bien sûr Renaud avec qui j'ai passé presque autant de mes soirées que de journées au laboratoire, et avec qui j'ai pu discuter de tout, et aussi de rien, sans jamais m'en lasser. De la même façon, la vie du laboratoire ne serait pas la même sans tous les gens dont l'aide ou la sympathie m'ont été très précieuses. Je remercie entre autres Mathieu Receveur qui a toujours eu une solution pour nos problèmes expérimentaux aussi farfelus soient-ils, et Laurent Réa qui m'a toujours aidé et accueilli avec bonne humeur quand je venais le voir.

Je remercie beaucoup Benjamin Mauroy, tant pour son aide, son travail et ses idées sur divers problèmes que pour ses encouragements qui m'ont fait tant plaisir lorsque je lui expliquais l'avancement de mon travail et ce que je faisais (de bien ou de mal). Je souhaite également remercier Annemieke Cornelissen pour toutes nos conversations sur la croissance, pour sa grande capacité à discuter avec les autres, pour ses cours très intéressants sur la morphogenèse et pour son soutien concernant mon travail de thèse.

Enfin je suis très reconnaissant aux rapporteurs de ce manuscrit, Saverio Bellusci et Emmanuel Farge, qui ont accepté de prendre le temps d'être les premiers lecteurs extérieurs de ce travail ; ainsi qu'à Martine Ben Amar, Richard-Emmanuel Eastes, Benjamin Mauroy et Olivier Pourquoié, qui m'ont fait l'honneur d'accepter de faire partie du jury et de se déplacer pour venir prendre part à la discussion.

Hors du cadre direct du laboratoire, je remercie (beaucoup) ma famille, mes parents et ma petite soeur. Inutile de dire que les vingt et quelques années ayant précédé ma thèse ont été déterminantes pour la suite, tout comme les innombrables discussions sur d'innombrables sujets... Je remercie aussi tous mes ami(e)s, qui se reconnaîtront, et dont la présence inébranlable durant ces trois ans (et bien plus) m'a permis de prendre une distance salutaire avec le travail. Ils ont aussi réussi à me faire comprendre (ou à me faire croire...) que les questions soulevées dans ma thèse pouvait les intéresser malgré leurs horizons très variés, et m'ont amené à me les poser différemment, ce qui bien sûr est une bonne chose. Pour toutes ces raisons je leur suis immensément reconnaissant. Ma dernière année de thèse a aussi été beaucoup occupée par la musique et je remercie tous ceux qui m'ont aidé dans ce sens, par leur participation ou leur soutien.

Enfin et surtout je remercie Alice qui m'a toujours encouragé, depuis bien avant le début de ma thèse, et dont l'affection a été un socle solide et précieux pour entreprendre ce travail de longue haleine.

# Table des matières

Avant-propos . . . . .	15
<b>1 Introduction</b>	<b>17</b>
1.1 La morphogenèse . . . . .	17
1.1.1 La forme . . . . .	17
1.1.2 L'étude de la morphogenèse . . . . .	19
1.2 La question du vivant en morphogenèse . . . . .	29
1.2.1 La notion de forme dans le vivant . . . . .	29
1.2.2 La morphogenèse vivante, support d'un conflit idéologique . . . . .	30
1.3 Plan de la thèse . . . . .	34
<b>2 Jardins chimiques et croissance de tubes de silice</b>	<b>37</b>
2.1 Introduction . . . . .	37
2.1.1 Stéphane Leduc, l'osmose et la vie : un conflit précurseur . . . . .	38
2.1.2 Morphogenèse 3D . . . . .	43
2.2 Expérience . . . . .	46
2.2.1 Motivations . . . . .	46
2.2.2 Description de l'expérience . . . . .	47
2.3 Résultats . . . . .	49
2.3.1 Régimes de croissance . . . . .	49
2.3.2 Description du régime de digitation . . . . .	52
2.3.3 Origine du taux d'élongation . . . . .	56
2.4 Discussion . . . . .	58
2.4.1 Formation des tubes . . . . .	58
2.4.2 Conséquences physiques . . . . .	61
2.4.3 En conclusion . . . . .	61
<b>3 Morphogenèse pulmonaire - Introduction et idées pour un modèle</b>	<b>63</b>
3.1 Evolution et développement du poumon chez les mammifères . . . . .	64
3.1.1 Evolution des appareils respiratoires aériens . . . . .	64
3.1.2 Le poumon chez les mammifères . . . . .	67



3.1.3	La forme, solution d'un problème d'optimisation? . . . . .	70
3.2	Acteurs du développement pulmonaire . . . . .	71
3.2.1	Lumière, épithélium et mésenchyme . . . . .	72
3.2.2	Aperçu de la génétique du développement pulmonaire . . . . .	76
3.3	Construction d'un modèle . . . . .	81
3.3.1	Les modèles de développement . . . . .	81
3.3.2	Construction du modèle . . . . .	84
<b>4</b>	<b>Modèle de morphogenèse pulmonaire</b>	<b>87</b>
4.1	Modèle statique et comparaison expérimentale . . . . .	87
4.1.1	Modélisation de la concentration en FGF10 . . . . .	87
4.1.2	Calcul numérique du champ et du flux : Eléments finis . . . . .	89
4.1.3	Comparaison expérimentale . . . . .	90
4.2	Modèle dynamique : croissance . . . . .	96
4.2.1	Principe : front tracking pour deux interfaces . . . . .	96
4.2.2	Réponse en croissance . . . . .	98
4.3	Simulations numériques . . . . .	100
4.3.1	Réponse en croissance proportionnelle aux flux . . . . .	100
4.3.2	Fonctions non-triviales du flux . . . . .	112
<b>5</b>	<b>Etude analytique et dynamique locale</b>	<b>125</b>
5.1	Calcul local . . . . .	125
5.1.1	Principe du calcul . . . . .	126
5.1.2	Calcul du gradient . . . . .	128
5.1.3	Intégration de la croissance . . . . .	129
5.2	Comparaison aux simulations . . . . .	130
5.2.1	Réponse en croissance linéaire . . . . .	131
5.2.2	Réponse en croissance saturée . . . . .	134
5.2.3	Réponse en croissance à seuil . . . . .	136
5.2.4	Fonction sigmoïdale . . . . .	137
<b>6</b>	<b>Nouvelle expérience et discussion des résultats</b>	<b>139</b>
6.1	Nouvelle expérience de morphogenèse . . . . .	139
6.1.1	Motivations et principe . . . . .	139
6.1.2	Résultats préliminaires . . . . .	140
6.2	Discussion sur la morphogenèse pulmonaire . . . . .	144
6.2.1	A propos des gènes évoqués . . . . .	144

---

6.2.2	Questions en suspens . . . . .	146
6.2.3	Les limites du modèle . . . . .	148
6.2.4	Portée des résultats . . . . .	149
<b>7</b>	<b>Conclusion et perspectives</b>	<b>153</b>
<b>A</b>	<b>Calcul local au bout d'une branche</b>	<b>159</b>
A.1	Principe du calcul . . . . .	159
A.2	Transformation conforme . . . . .	161
A.2.1	Principe . . . . .	161
A.2.2	Détermination de $\ u(z)\ $ , $b$ , et $R$ , et solution complète . . . . .	162
A.3	Calcul du gradient et réécriture du problème . . . . .	163
A.3.1	Gradient du champ . . . . .	163
A.3.2	Réécriture . . . . .	164
A.4	Intégration de la croissance . . . . .	165
A.4.1	Préliminaires . . . . .	165
A.4.2	Croissance . . . . .	168
<b>B</b>	<b>Morphogenèse dans une goutte de bicarbonate de soude</b>	<b>171</b>
B.1	Expériences . . . . .	171
B.2	Photos et questions . . . . .	171
<b>C</b>	<b>Blown-air-effect et pénétration dans un milieu granulaire</b>	<b>179</b>
C.1	Introduction . . . . .	179
C.1.1	Genèse de l'expérience . . . . .	179
C.1.2	Milieux granulaires et pénétration . . . . .	181
C.1.3	Dispositif expérimental . . . . .	182
C.2	Résultats . . . . .	184
C.2.1	Profondeur d'arrêt . . . . .	184
C.2.2	Dynamique de pénétration . . . . .	186
C.3	Discussion . . . . .	188
C.3.1	A propos des forces en jeu . . . . .	188
C.3.2	Conclusion et perspectives . . . . .	191
<b>D</b>	<b>Articles</b>	<b>195</b>
	<b>Bibliographie</b>	<b>212</b>



---

## Avant-propos

S'il est question dans ce travail de problèmes en apparence différents, le thème central est l'apparition spontanée de formes dans une situation physique et géométrique donnée, l'étude de la morphogenèse. Bien que le sujet de ma thèse n'ait pas été parfaitement défini au départ, puisque qu'elle faisait suite à des expériences très exploratoires de croissance chimique effectuées en stage l'année précédente, la morphogenèse est restée au centre de nos préoccupations. Cependant, j'ai été amené à étudier des objets assez différents, sans l'avoir nécessairement planifié, et ce en très grande partie grâce à Stéphane. Le corps du manuscrit traite donc logiquement des mécanismes de morphogenèse dans deux systèmes très différents.

La première étude, dont l'ambition initiale et un peu naïve était de reproduire certaines caractéristiques de la croissance pulmonaire, est finalement une étude expérimentale portant sur la formation spontanée de tubes de silice poussant par leur milieu dans des expériences dites de "jardins chimiques", passées à la postérité suite aux travaux pionniers de Stéphane Leduc au début du vingtième siècle.

La seconde étude, plus théorique, est le fruit d'une semi-réorientation dans la chronologie de ma thèse et fait suite à notre rencontre avec Pierre Blanc. Elle constitue la plus grosse partie du manuscrit, et traite du développement embryonnaire du poumon chez les mammifères, à travers la construction d'un modèle assez simple, basé à la fois sur la géométrie et la diffusion, et sur les observations de la biologie moléculaire.

Pour réunir ces travaux avec une certaine cohérence, le manuscrit commence par une introduction très générale sur la morphogenèse, son histoire et ses enjeux, notamment en biologie du développement. Pour les mêmes raisons, certains sujets "satellites" ont été traités intégralement en annexe. J'espère que ces choix permettront au lecteur d'apercevoir le fil conducteur que j'ai essayé de ne pas perdre de vue pendant ces trois dernières années.



# Chapitre 1

## Introduction

### Sommaire

---

<b>1.1 La morphogenèse</b> . . . . .	<b>17</b>
1.1.1 La forme . . . . .	17
1.1.2 L'étude de la morphogenèse . . . . .	19
<b>1.2 La question du vivant en morphogenèse</b> . . . . .	<b>29</b>
1.2.1 La notion de forme dans le vivant . . . . .	29
1.2.2 La morphogenèse vivante, support d'un conflit idéologique . . .	30
<b>1.3 Plan de la thèse</b> . . . . .	<b>34</b>

---

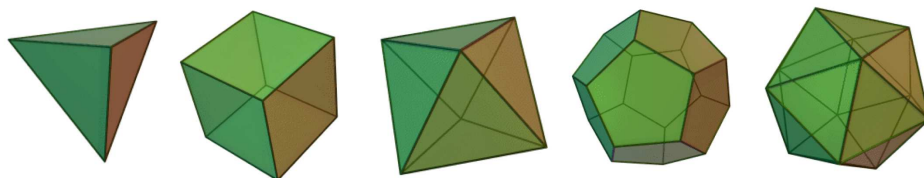
## 1.1 La morphogenèse

### 1.1.1 La forme

La forme semble être le support de la première analyse que nous effectuons pour appréhender un nouvel objet, animé ou inanimé, ou un autre individu. Prosaiquement, la forme d'un objet est le contour de la portion d'espace occupée par cet objet, sans considération supplémentaire liée à sa couleur, sa composition matérielle ou son contenu, sa position ou son orientation dans l'espace. Cette définition de la forme soulève aussi la question de la taille. Au sens de la géométrie, l'échelle n'est pas incluse dans la forme, c'est-à-dire qu'un cube de trois centimètres de côté et un cube de trois mètres de côté sont (trivialement) de même forme. Ainsi, deux objets dans l'espace ont la même forme seulement si on peut passer de l'un à l'autre par des rotations, translations et changements d'échelle. Cependant, si au sens mathématique le concept forme ne désigne qu'un contour immuable défini géométriquement par des lignes ou des surfaces, on étend, au moins au sens usuel, la forme à des objets mouvant (un animal dans différentes postures, par exemple). Ainsi, on dit de deux éléphants ou de deux lapins qu'ils ont la même forme, ce

qui confère à la forme un caractère plus général, plus lié à l'idée de l'objet auquel elle se rattache qu'à son essence géométrique.

Il semble que la notion de forme soit présente depuis toujours dans l'histoire humaine. Il est en tous cas certain que presque aussi loin que l'on remonte les traces qu'on a de l'homme, la forme est présente, ne serait-ce qu'en tant que manifestation de la trace en question : peintures, écrits. La pensée liée au concept de forme remonte elle aussi au moins aux philosophies antiques : étant associée aux mathématiques et à la géométrie, la forme est omniprésente chez les présocratiques. Chez Pythagore par exemple, comme l'écrit un de ses élèves [1], le 1 correspond au point, le 2 à la ligne, le 3 au triangle (au plan), et le 4 à la pyramide (volume), vision qui n'est pas sans rappeler le concept plus tardif de dimensions. Plus tard et de manière un petit peu analogue, dans la philosophie de Platon, la théorie des formes joue un rôle absolument central. Sa volonté de décomposer les quatre éléments supposés être les constituants ultimes de la matière en formes géométriques [2], appelés par la suite les solides de Platon (Fig. 1.1), témoigne très bien de la fascination qu'a toujours exercé la pureté de la géométrie sur l'esprit humain, comme si la matière était nécessairement sous-tendue par une abstraction, éventuellement mathématique, comme la géométrie et les formes. Par exemple, le concept de cercle, dont tous les points sont équidistants d'un centre, transcende toute tentative de représentation : chacun sait ce qu'est un cercle, même s'il n'en a jamais vu de parfait.



**Fig. 1.1** – *Les cinq solides de Platon. De gauche à droite : un tétraèdre, un hexaèdre, un octaèdre, un dodécaèdre et un icosaèdre.*

Il peut alors sembler que le rôle central du concept de forme dans la philosophie et les mathématiques est la manifestation du rôle central que jouent les formes dans notre perception des objets du monde. Si on considère la forme comme support de l'appréhension, il est certain que la perception humaine joue un rôle important dans l'analyse des formes. La gestalt ou psychologie de la forme se fonde en partie sur notre manière d'appréhender un ensemble de "points" [3]. Les implications dépassent de loin le seul concept de forme et sortent de notre propos, mais en ce qui concerne la seule perception, il est intéressant

de voir qu'il semble émerger une somme de règles de perceptions permettant de nous révéler une forme. La loi de proximité : on associe les points proches comme formant un tout ; la loi de similitude : la recherche de ressemblances qualitatives locales ; la loi de fermeture : la forme émerge plus volontiers lorsqu'on arrive à trouver un contour, la loi de continuité : on cherche à "prolonger" entre des points très proches ; et la loi de destin commun lorsqu'il y a du mouvement : on associe volontiers des points ayant une trajectoire similaire. Cet ensemble constitue la loi de la bonne forme : on tend à d'abord à chercher dans un ensemble informe de parties quelque chose de formé, simple, symétrique, stable. Ainsi dans le cadre de la perception humaine, la forme ne semble pas être quelque chose d'objectif. Pourtant, la fascination intellectuelle que les formes exercent trouve sa source dans le caractère universel, et parfaitement objectif, de la géométrie.

Ce caractère universel de la géométrie et des formes réside sans doute en grande partie dans leur émergence spontanée et parfois très régulière (dans l'espace mais aussi dans le temps). En effet, l'univers et la nature sont le siège de l'apparition spontanée de diverses formes. On peut même considérer d'un point de vue strictement géométrique que tout mouvement de parties selon des directions ou à une vitesse différente est créateur de formes, "morphogène". Le fait remarquable que la nature reproduise des formes semblables, c'est à dire, par exemple, que les toutes planètes soient sphériques, constitue en soi un problème fascinant et pose la question sous-jacente du mécanisme de l'apparition de la forme, de la morphogenèse. L'idée de l'apparition systématique d'une forme (la sphère pour les planètes) suppose déjà l'idée que certaines formes géométriques sont, au sens des lois de la physique, des attracteurs mathématiques. Mais si l'on va plus loin, il est plus remarquable encore de retrouver certaines formes dans des configurations physiques très différentes, à des échelles de taille très différentes, et sur des durées très différentes. Pour poursuivre l'image de la sphère, par exemple, on peut comparer à la forme d'une planète celle d'un melon ou d'une bulle de savon : dans les trois cas, naît spontanément une forme qualitativement équivalente, alors que les mécanismes sous-jacents sont fondamentalement différents (Fig. 1.2). La question est donc plus généralement de savoir comment une forme complexe mais régulière peut émerger de règles simples d'interactions et de croissance, et comment d'un système à l'autre des règles physiquement différentes peuvent être formulées de manière analogue par les mathématiques.

### 1.1.2 L'étude de la morphogenèse

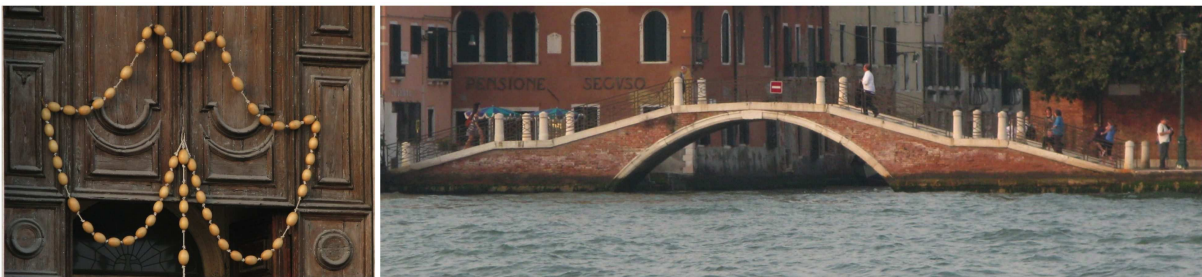
Ces questions anciennes que soulève l'observation de la nature a bien sûr piqué la curiosité de beaucoup de penseurs et de scientifiques, et l'étude de la morphogenèse est devenue, surtout à partir du vingtième siècle, un terrain de recherche important en





**Fig. 1.2** – Une planète, un melon et une bulle de savon. L'émergence de formes semblables à des échelles très différentes dans des systèmes très différents soulève la question de l'universalité des mécanismes de morphogenèse.

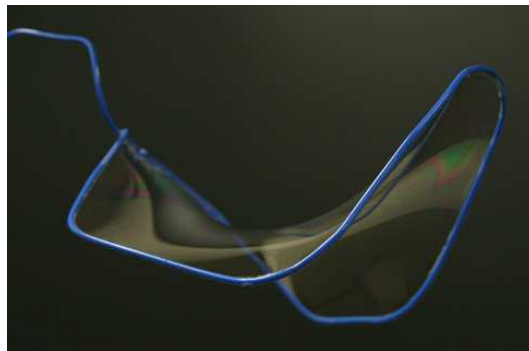
sciences physiques et en sciences de la vie. Néanmoins plusieurs problèmes bien plus anciens sont précurseurs des questions de morphogenèse au sens où on l'entend maintenant. Plus précisément, il s'agit de comprendre comment un système physique tend spontanément vers une forme, en d'autres termes comment la forme finale peut être le résultat mathématique d'un problème physique de minimisation d'énergie. On peut par exemple citer le problème de la chaînette, qui remonte à Galilée. La chaînette est le nom donné à la courbe que prend invariablement une chaîne ou une corde suspendue entre deux points (Fig. 1.3).



**Fig. 1.3** – A gauche : chapelets sur une porte d'église vénitienne. A droite : pont à Venise. Photographies de S. Douady.

Galilée suppose au dix-septième qu'il s'agit d'une parabole [4], mais Leibnitz et Bernoulli démontrent quasi-simultanément à la fin du siècle qu'il s'agit en fait d'un cosinus hyperbolique. La chaînette est omniprésente en architecture, où on utilise la chaînette inversée pour construire des arches, des ponts, etc... La forme, et donc la fonction mathématique la décrivant, découle mathématiquement de la minimisation de l'énergie potentielle.

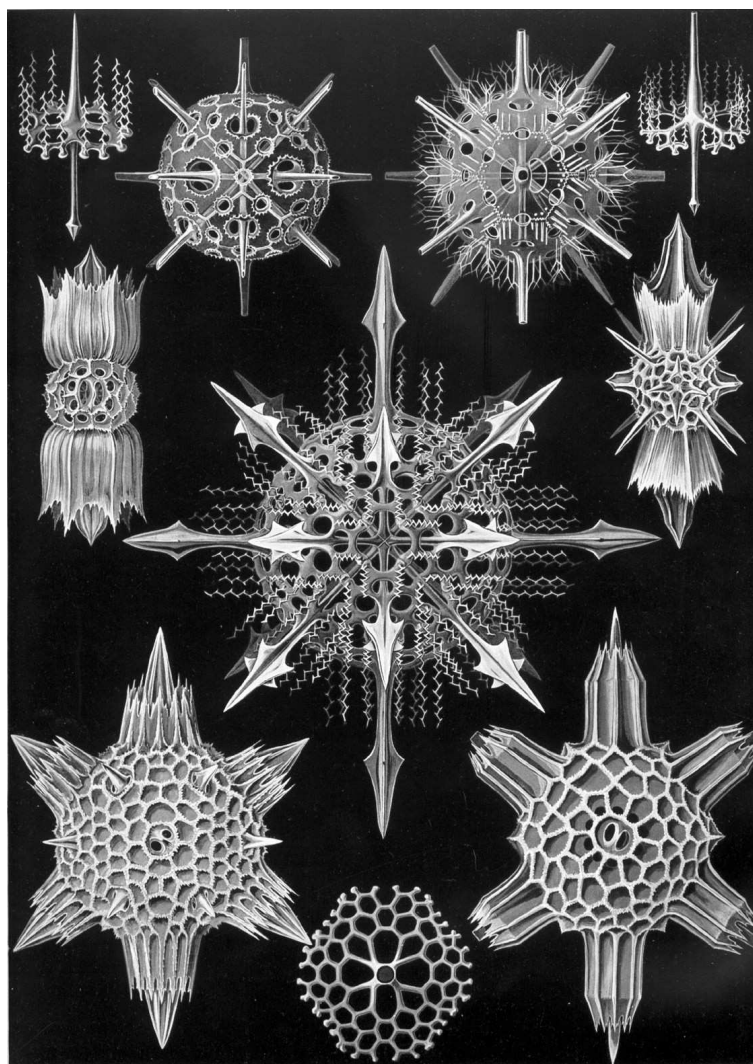
On peut aussi citer le cas de la loi de Laplace, savant français qui au début du dix-neuvième siècle qui a introduit la notion de tension de surface [5]. Complétée par Gauss vingt ans plus tard, cette loi permet de donner une condition géométrique d'équilibre pour une interface liquide-solide, ou liquide-gaz, etc. Une illustration classique est la forme d'un film de savon : si on trempe une boucle en fil de fer, de forme quelconque, dans de l'eau savonneuse, le film de savon va spontanément occuper la surface minimale reliant tous les points du fil de fer (Fig. 1.4), afin de minimiser son énergie libre, proportionnelle à la surface. Ces deux exemples illustrent très bien le concept de forme en tant que résultat d'un équilibre physique entre plusieurs forces, concept sous-jacent à l'étude des formes dans la physique moderne.



**Fig. 1.4** – *Le film de savon relie tous les points du contour en occupant la surface minimale possible.*

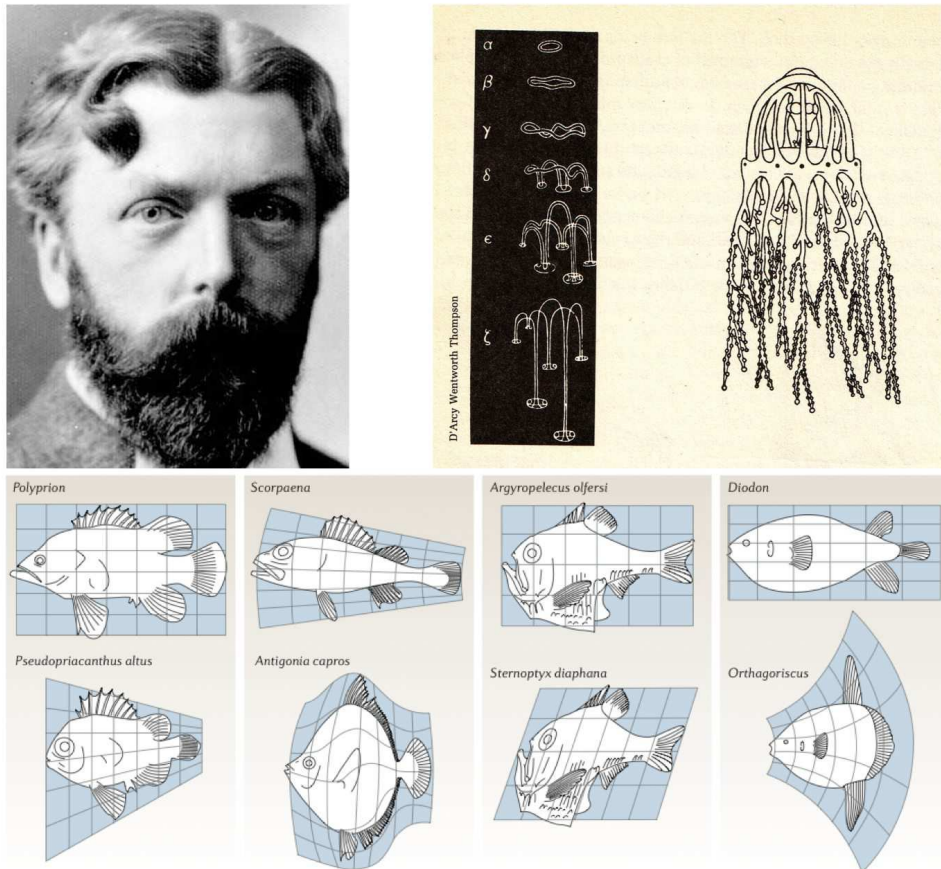
Les propriétés de symétries et de régularité existant dans les formes vivantes ont aussi passionné les penseurs. Ernst Haeckel, biologiste et philosophe allemand, passé à la postérité pour sa fameuse phrase «l'ontogénèse récapitule la phylogénèse», a produit des centaines de pages de dessins et gravures (que l'on retrouve en partie dans son livre *Kunstformen der Natur* [6]). Celles-ci font écho aux questions fondamentales que posent l'émergence de symétries et de formes régulières dans le monde vivant aux penseurs de l'évolution. Beaucoup de planches sont notamment consacrées aux radiolaires et aux diatomées (Fig. 1.5). Dans l'histoire de la morphogenèse et sur ces questions d'apparition spontanée de symétries dans le vivant, D'Arcy Wentworth Thompson fait figure de précurseur. Avant l'avènement de la physique non-linéaire, il comparait qualitativement une grande variété de formes observée dans le vivant à des formes naissant spontanément dans les fluides, et imaginait des mécanismes communs de formation. Par exemple les "arches" que forment une goutte d'encre lâchée dans de l'eau sont étonnamment ressemblantes à la formes de certaines méduses. Dans son livre "On Growth and Forms", publié en 1917, il introduit aussi une idée qui a beaucoup marqué les esprits et continue de faire

couler de l'encre [7] : sa fameuse théorie des transformations, dans laquelle il montre qu'on peut passer de la forme d'un animal à celle d'un autre d'une espèce plus ou moins voisine par des transformations géométriques du plan (Fig. 1.6). Cette constatation, bien que relayée plus tard par la paléontologie, était presque de l'ordre de la discussion dans son livre, comme si elle appelait à l'établissement d'un cadre théorique encore à déterminer.



**Fig. 1.5** – Une planche d'Haeckel dédiée aux radiolaires, extraite de son livre *Kunstformen der Natur*.

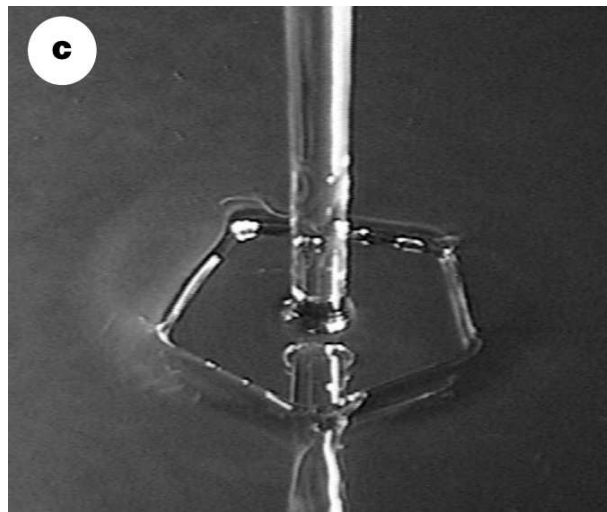
Le plus souvent, la démarche physique moderne de l'étude de la morphogenèse consiste à trouver les ingrédients physiques minimaux permettant de rendre compte, au moins qualitativement, de l'apparition d'une forme. En pratique, il s'agit de comprendre, par la théorie ou l'expérience, quels paramètres du problème sont déterminants pour engendrer la forme, quelles forces sont responsables du mouvement qui la crée. L'évolution du forma-



**Fig. 1.6** – D'Arcy Thompson. En haut à droite : analogie entre une goutte d'encore qui tombe dans l'eau et une méduse. En bas : exemples donnés par D'Arcy Thompson pour sa théorie des transformations.



lisme mathématique a modifié la manière d’appréhender la morphogenèse, par exemple l’étude des brisures spontanées de symétries, où la configuration géométrique obtenue a spontanément perdu une ou plusieurs des symétries des causes dont elle résulte. La figure 1.7 donne un exemple physique de brisure spontanée de symétrie, celui d’un ressaut hydraulique ayant perdu sa forme circulaire pour prendre la forme d’un pentagone. Plus généralement, ce domaine des sciences physiques et mathématiques, le domaine du non-linéaire, où le mouvement n’est pas linéairement lié aux forces, a subi un essor très important au vingtième siècle et constitue un nouveau paradigme pour la compréhension des problèmes de morphogenèse.

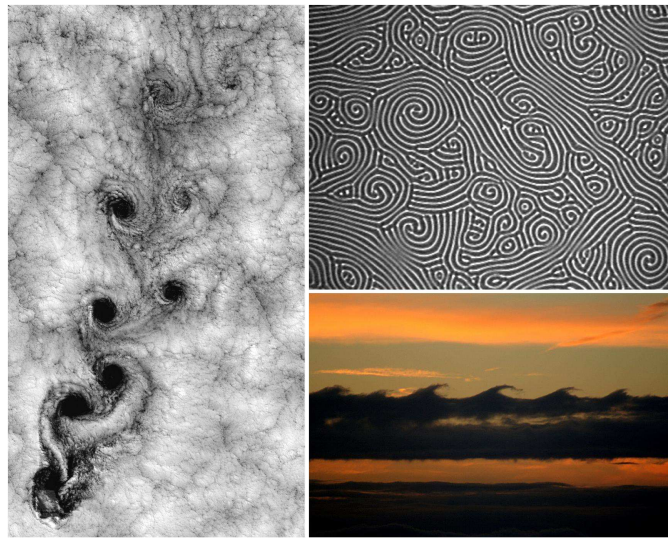


**Fig. 1.7** – *Ressaut hydraulique à symétrie cinq [8].*

Avant l’avènement du formalisme des systèmes dynamiques, Alan Mathison Turing, dans "The Chemical Basis of Morphogenesis" [9], propose un mécanisme archétype et visionnaire de morphogenèse : la réaction-diffusion, où plusieurs substances distribuées spatialement diffusent et interagissent (par exemple l’une inhibant la production de l’autre). Les équations de réaction-diffusion ont été utilisées par la suite dans beaucoup de problèmes très différents, de la formation des rayures de zèbres (ou les réactifs sont le pigment et l’inhibiteur) à la modélisation des empreintes digitales ou des motifs sur les coquillages. Le travail de Turing constitue en quelque sorte la première tentative aboutie de formalisation de la morphogenèse.

Dans les années 70/80, alors que se développent les mathématiques non linéaires et le chaos, les physiciens abordent l’étude des instabilités hydrodynamiques du point de vue de la formation de motifs. Celles-ci sont sources de formes observées depuis très longtemps (certaines depuis le dix-neuvième siècle) mais assez peu comprises jusque là. L’instabilité

de Rayleigh-Taylor, qui apparaît quand un fluide plus lourd est au dessus d'un fluide plus léger [10], l'instabilité de convection de Rayleigh-Bénard [11] (Fig. 1.8), l'instabilité de Kelvin-Helmoltz à l'interface entre deux fluides se déplaçant à des vitesses différentes [12], l'instabilité de Faraday apparaissant quand on fait vibrer un récipient peu profond empli de liquide [13], ou l'instabilité de Saffman-Taylor qui a lieu quand un fluide en pousse un autre plus visqueux [14], en sont quelques exemples. Ce sont notamment ce type d'instabilités qui ont pu inspirer D'Arcy Thompson dans son approche physique de la morphogenèse biologique.



**Fig. 1.8** – *A gauche : tourbillons de Bénard-Von Karman. A droite en haut : instabilité de Rayleigh-Bénard. A droite en bas : instabilité de Kelvin Helmolzt.*

Ainsi, l'apparition de formes aussi variées (Fig. 1.9) que celles des réseaux de rivières [15], des flocons de neige à qui Kepler consacrait déjà un de ses ouvrages [16], des rayures des zèbres ou des tâches de léopard [17], des décharges électriques [18], des dunes de sable [19], des feuilles d'arbre [20], des coquillages [21], des organes arborescents comme les poumons ou les reins [22], des formes des nuages [12], ont été étudiées, qu'elles relèvent du vivant ou de l'inorganique, qu'elles fassent quelques millimètres de taille ou plusieurs kilomètres.



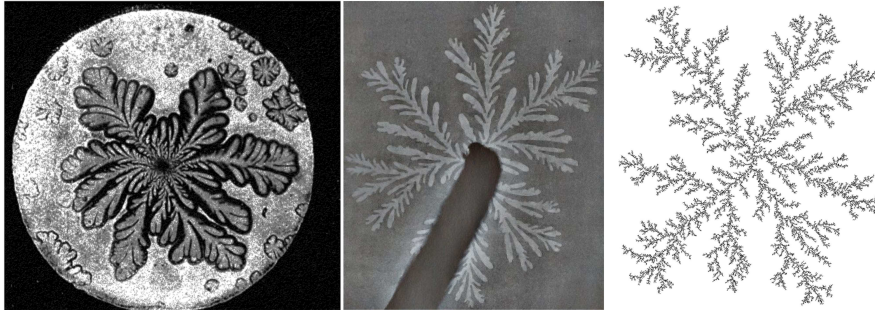
**Fig. 1.9** – *De gauche à droite et de bas en haut : des zèbres, un léopard, dune étoile du désert de Namib, un nautilus, une feuille d'érable, un champ de barchanes, une décharge électrique à la surface de l'eau, un moulage de poumon, une vue satellite de rivières.*

### Cas des arborescences

Le cas des structures arborescentes est particulièrement représentatif de la convergence vers une forme complexe pour des systèmes physiquement très différents. On les retrouve dans les conditions les plus variées, de la cristallisation aux colonies de bactéries...

Dans les années 50, Saffman et Taylor décrivent [14] ce qui s'avérera être un archétype des instabilités de croissance arborescentes [23], la digitation visqueuse, souvent appelée instabilité de Saffman-Taylor. Lorsque qu'un fluide peu visqueux (par exemple, de l'air) pousse un fluide plus visqueux (par exemple, de l'eau, ou de l'huile), l'interface entre les deux fluides se déstabilise, c'est à dire que des doigts d'air poussent dans l'eau. Le moteur de la croissance des doigts réside dans le fait qu'une perturbation de l'interface est spontanément favorisée car elle augmente le gradient local de pression qui est justement la cause du déplacement du fluide. Il en résulte une structure arborisée. Il s'agit d'un archétype au sens où il est formellement équivalent à d'autres problèmes de croissance proportionnellement au gradient d'un champ vérifiant l'équation de Laplace, où la phy-

sique n'est pourtant pas du tout la même. On peut citer par exemple la cristallisation, la solidification, ou la diffusion limitée par aggrégation, qui donnent aussi naissance à des structures arborisées.



**Fig. 1.10** – De gauche à droite : Motif de cristallisation de chlorure de sodium dans une solution colloïdale, d'après S. Leduc. Instabilité de Saffman-Taylor (extrait de "perspectives in fluid dynamics", CUP 2000). Simulation numérique de diffusion limitée par aggrégation.

Mais les structures arborescences apparaissent aussi de manière récurrente dans le monde vivant. Chez les végétaux, les structures branchées sont omniprésentes, et l'avantage lié à l'arborescence paraît clair : augmenter la surface susceptible de recevoir de la lumière. Les colonies de bactéries, dans certaines conditions expérimentales, poussent spontanément en formant des structures arborescentes [24]. Chez les animaux, beaucoup d'organes présentent une structure arborescente, acquise pendant le développement par des branchements successifs d'un épithélium. On peut entre autres citer le poumon, le rein ou les glandes salivaires, qui grâce à cette structure ont l'avantage de présenter une surface très importante dans un volume réduit, la surface d'un poumon adulte étant par exemple de l'ordre de  $100m^2$  et contenue dans un volume de quelques litres. Encore une fois émerge la question du mécanisme permettant d'engendrer des structures présentant d'importantes similitudes qualitatives dans des situations très différentes : dans quelle mesure s'agit-il de problèmes formellement analogues aux cas physiques de croissance arborescente mentionnés plus haut ? Dans le cas de la croissance de bactérie par exemple, il est apparu que la description en terme de champ laplacien de concentration en nutriments était très adaptée dans le cas où les nutriments étaient en défaut, cas expérimental qui permet de fait l'apparition d'une colonie arborescente.





**Fig. 1.11** – Un arbre, une colonie de bactérie poussant dans une boîte de Pétri, un rein et un moulage de poumon humain. Les règnes animal et végétal sont le siège de l'apparition de formes arborescentes, comme dans le non-vivant, soulevant la question de la similitude des mécanismes.

## 1.2 La question du vivant en morphogenèse

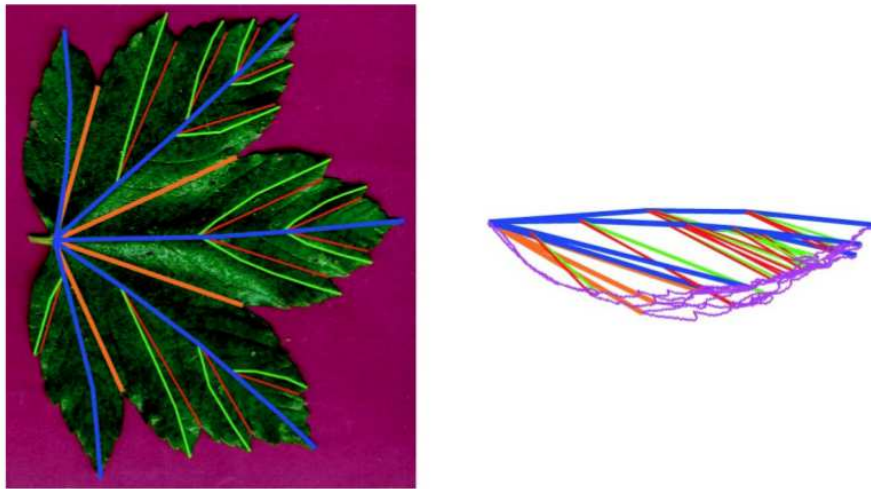
En biologie du développement, le mot de morphogenèse désigne généralement la formation de l'embryon pendant le développement. En réalité, il s'agit bien d'un cas de morphogenèse au sens large, c'est à dire qu'une forme se développe après avoir brisé la symétrie originelle de la cellule oeuf. Comme dans le non-vivant, les formes vivantes sont paradoxalement à la fois d'une grande diversité et pourtant redondantes, au sens où des motifs géométriques se retrouvent dans des règnes différents et dans des situations différentes, à des échelles différentes.

### 1.2.1 La notion de forme dans le vivant

La notion de forme dans le vivant semble soulever, d'un point de vue scientifique, une question supplémentaire. Comme pour les formes inorganiques, se pose la première question du mécanisme de morphogenèse susceptible d'avoir engendré la forme. Mais depuis la théorie de l'évolution des espèces introduite par Charles Darwin [25], il est difficile de parler de développement et de morphogenèse sans inscrire la réflexion dans un cadre évolutif. La seconde question relève donc de l'intérêt évolutif d'une forme au sens de la sélection naturelle. L'évolution des phénotypes et donc des formes pour une espèce donnée suppose dans le cadre de la sélection naturelle une plus grande efficacité dans le contexte environnemental donné où la forme évolue. Si on prend par exemple le cas de la main, il s'agira de permettre d'attraper un objet (doigts articulés, pouce opposable); ou pour le poumon, de présenter une grande surface de contact dans un petit volume (arborescence). Ainsi, de nombreux travaux de modélisation associés à de la morphométrie cherchent à caractériser le caractère optimal de certaines formes du point de vue de l'évolution [26].

Cependant, il semble concevable que l'apparition locale d'une forme puisse être le résultat collatéral d'un autre mécanisme. Par exemple, la forme d'une main humaine permet à l'homme de se saisir d'objets en pliant les doigts. Mais la forme des lignes de la main, qui résulte des plis de la peau, n'est que la conséquence évolutivement neutre, mais pourtant systématique, d'un autre caractère qui lui, est utile : pouvoir plier la main. Ainsi, de la même façon, il semble que les lobes des feuilles d'arbre ne soient que la conséquence collatérale du fait qu'elles commencent à grandir pliées dans le bourgeon pour résister au froid de l'hiver, ce qui est très contraignant géométriquement [20] (Fig. 1.12).

La question du mécanisme de morphogenèse soulève ainsi un problème : dans quelle mesure la forme finale est-elle directement encodée dans le génome? En biologie du développement, une idée assez admise est que toute forme, *a fortiori* si elle est considérée



**Fig. 1.12** – Le repliement numérique d’une feuille d’érable montre que sa forme “adulte” a hérité de la contrainte géométrique de la croissance dans le bourgeon : tout le contour de la feuille pliée est réuni sur un bord.

comme utile d’un point de vue évolutif, est encodée dans le génôme, et que les cascades biochimiques provoquent ici une croissance différentielle, ici de l’apoptose ou “mort cellulaire programmée”, ici telle différenciation, qui mèneront à la forme finale. Tout résulte alors du seul programme génétique. La question de l’encodage d’une telle quantité d’information, permettant le développement programmé dans le temps et dans l’espace de structures aussi complexes que celles qui constituent un être vivant, apparaît comme problématique et reste en suspens.

## 1.2.2 La morphogenèse vivante, support d’un conflit idéologique

Pourtant, longtemps avant l’avènement de la génétique et de la biologie moléculaire, la biologie était en grande partie tournée vers la description des formes des être vivants, et la classification de ces êtres était établie suivant leur similitudes morphologiques. L’analyse trop détaillée des lents effets transformistes de l’évolution sur la forme peut mener à oublier l’apparition de la forme elle même en tant que manifestation physique émergente. Un paradigme fondamentalement différent de celui de l’actuelle biologie du développement serait alors de considérer la matière vivante sans distinction *a priori*, et l’apparition d’une forme (vivante) comme le résultat d’une situation physique donnée, exactement comme dans le cas de l’inanimé. Une situation physique et géométrique pouvant spontanément générer des formes aussi complexes et cependant régulières que les arborescences de rivières ou

les figures de cristallisation, pourquoi alors en irait-il différemment dans le cas du vivant ? L'idée de génération spontanée est vieille de plusieurs siècles et a été introduite par des penseurs et scientifiques tels que Pierre Louis Moreau de Maupertuis, puis Stéphane Leduc et D'Arcy Wentworth Thompson dans le cadre de la morphogenèse.<sup>1</sup> Chez Maupertuis, la naissance de nouvelles formes et de nouvelles espèces morphologiquement différentes pouvait être le fruit de "générations spontanées", terme d'ailleurs introduit par lui mais qui sous tendait l'apparition de la vie à partir de quelque chose d'inerte, comme un vieux chiffon sale laissé longtemps à l'abandon. L'idée de Leduc ou de D'Arcy Thompson était plutôt que les formes dans le vivant peuvent apparaître grâce aux mêmes principes universels (de fait, les lois de la physique) que les formes dans le non-vivant, et n'a fait que persister marginalement depuis. Ainsi, Stéphane Leduc écrivait dans les années 1900 : «La vie est un phénomène dont le mécanisme ne peut être que purement physique ; elle est produite par les mêmes forces, régie par les mêmes lois qui agissent sur le monde non vivant. ». A moins d'attribuer aux être vivants des lois qui leur sont propres, à l'instar du "fluide vital" qui distinguerait l'animé de l'inanimé, la remarque semble triviale. Pourtant, les recherches de Stéphane Leduc, qui synthétisait par osmose et réactions chimiques des formes présentant des grandes similitudes avec certaines formes vivantes, lui ont valu la disgrâce de la communauté scientifique de l'époque. Il en va de même pour D'Arcy Thompson, qui jouit d'une certaine notoriété dans la communauté de la physique de la morphogenèse mais qui reste relativement méconnu en biologie du développement. Cependant, il semble que la physique de la morphogenèse vivante connaisse ces dernières années un essor relatif, à travers des travaux sur la mécanique et la géométrie du développement embryonnaire, notamment ceux de Lev Belousov [28] ou de Vincent Fleury [29].

Ainsi, l'idée que des caractères morphologiques observables dans le monde vivant peuvent apparaître grâce à une auto-organisation spontanée découlant de quelques règles d'interaction est controversée. Pourtant si l'on remonte à l'origine de la vie et à la fameuse "première cellule", il paraît logique qu'elle est le produit émergent d'interactions physico-chimiques de ses composants, tout comme les molécules sont le produit émergent des lois d'interaction entre les atomes, etc. Toute propriété d'interaction peut d'ailleurs être vue comme support inéluctable d'émergence (dans le cadre de ces règles d'interaction). Les

---

1. Anecdotiquement, rappelons que Maupertuis, premier physicien à avoir énoncé le principe de moindre action, avait pressenti de manière étonnante l'évolution comme fruit d'erreurs hasardeuses. Il écrit en 1754 dans son "Essai sur la formation des corps organisés" [27], à propos de la diversité des espèces : «Ne pourroit-on pas expliquer par là comment de deux seuls individus, la multiplication des espèces les plus dissemblables auroit pu s'ensuivre ? Elles n'auroient dû leur première origine qu'à quelques productions fortuites dans lesquelles les parties élémentaires n'auroient pas retenu l'ordre quelles tenoient dans les animaux pères et mères : chaque degré d'erreur auroit fait une nouvelle espèce ; et à force d'écarts répétés seroit venue la diversité infinie des animaux que nous voyons aujourd'hui, qui s'accroîtra peut-être encore avec le temps ».

expériences de Miller-Urey ont ainsi montré que des conditions physico-chimiques assez proches de celles supposées régner sur Terre après la formation de la croûte terrestre permettaient la formation de composés organiques, dont des acides aminés, à partir de composés inorganiques [30]. Ainsi lorsqu'on parle de l'abiogenèse, c'est à dire la supposée naissance spontanée de la première cellule dite "vivante", on place implicitement une frontière complètement arbitraire entre un stade d'auto-organisation qu'on ne considère pas encore comme vivant et un stade d'auto-organisation où la vie est supposée avoir émergé. La question idéologique du placement délibéré de cette frontière reste en suspens. Une idée peut alors être que l'élément nécessaire pour être qualifié de vivant est l'ADN, et que le gène, segment local de l'ADN codant pour une protéine, est l'entité élémentaire, et auto-reproductrice, de la vie. C'est, grossièrement, la théorie du gène égoïste de Richard Dawkins [31]. Cette vision "moderne" par rapport aux idées évoquées plus haut est très fortement teintée de la science de la deuxième moitié du vingtième siècle, et des progrès et découvertes récents de la biologie moléculaire. Un paradigme différent serait de voir le vivant comme un système auto-organisé comme un autre, et un moyen (non moins arbitraire!) de définition du vivant serait le degré d'auto-organisation, par exemple l'énergie nécessaire à maintenir cette auto-organisation, pour une certaine quantité de matière [32].

Les avancées spectaculaires de la biologie moléculaire et de la génétique semblent avoir rendu plus obsolètes encore les théories de Stéphane Leduc ou de D'Arcy Thompson, en établissant le rôle crucial de l'expression des gènes dans le développement. L'existence de mutants n'exprimant pas certains gènes à tel ou tel stade du développement et présentant des anomalies morphologiques semblent démontrer que toute modification phénotypique a une cause génétique. Pourtant le passage du génotype au phénotype est souvent assez mystérieux, au sens où les cascades physico-chimiques impliquées sont souvent trop complexes pour être comprises de A à Z. Et pour avoir une conséquence sur la forme, il est nécessaire que quelque part entre le gène et la modification géométrique se trouvent les propriétés physiques et géométriques du matériau composant l'organe ou l'être vivant. Non seulement ça, mais des travaux récents travaux [33] sur le développement embryonnaire de la drosophile ont montré l'action mécanique en amont sur l'expression même de gènes dits "architectes", c'est à dire jouant un rôle clef très tôt dans le développement ; et dont le niveau d'expression est lié à la déformation locale de l'embryon, montrant ainsi qu'il existait une action réciproque, et non pas à sens unique, entre l'expression des gènes et la géométrie. Enfin, l'auto-organisation existe sans gènes dans le cas de morphogenèse non-vivante, il paraît donc raisonnable de chercher des mécanismes d'auto-organisation dans le vivant aussi. Ainsi, Georges Rainey, cité par d'Arcy Thompson, écrivait : «It is illogical to suppose that in the case of vital organisms, a distinct force exists to produce

results perfectly within the reach of physical agencies ». L'idée d'auto-organisation n'est cependant pas du tout étrangère à la génétique, comme le montrent de nombreux travaux sur les cascades d'inductions ou réseaux de gènes. Dans ces modèles, l'expression d'un gène et donc la concentration de son produit est dépendante des autres gènes et de leur produit. Formellement, cela correspond à un système dynamique pouvant posséder spontanément, comme un système physique, des états d'équilibre stables ou instables, d'éventuelles multistabilités, etc. Mais pour nous renseigner sur la morphogenèse, il semble manquer à ce type de modélisation la géométrie du problème, c'est-à-dire un contexte spatial dans lequel s'inscrivent les interactions conduisant à la croissance.

Le débat sur la morphogenèse se situe aussi sur un terrain idéologique, au delà même du débat (déjà idéologique) qui peut naître de positions de principe sur le rôle de la mécanique, de la géométrie et de la génétique pendant le développement. En effet, la compréhension des mécanismes de développement touche à quelque chose de plus profond et plus sensible déjà évoqué, c'est à dire la spécificité du vivant et son origine, question dont les connotations métaphysiques et religieuses n'ont rien d'anodin. C'est ainsi qu'outre les généticiens et les physiciens ou mathématiciens, se sont invités dans le débat les néo-créationnistes, dont certains ont trouvé dans l'idée de génération spontanée une pierre tout à fait à leur goût dans l'édifice du "dessein intelligent", théorie pseudo-scientifique religieuse dont l'ambition est de se promouvoir comme alternative à la théorie de l'évolution.

Une série d'articles dans le journal *Le Monde* témoigne de façon très significative du caractère idéologique et très actuel de ce débat finalement ancien sur la morphogenèse vivante. A l'occasion de la sortie du film *Avatar*, Thomas Heams, généticien à l'Agro ParisTech met en garde, dans un article publié dans le *Monde* du 16 janvier 2010 [34], contre la vision à la limite du non darwinisme qui suppose l'existence d'êtres très semblables à nous sur une autre planète, vision qui mettrait "un coup dans l'aile" à la théorie de la sélection naturelle par l'environnement de mutations hasardeuses. Il explique que «poussée à l'extrême, dévoyée, cette position peut conduire à toutes les dérives comme l'Intelligent Design ». Une réponse est publiée [35] quelques jours plus tard par Jean Staune, "chercheur" indépendant souvent considéré, bien qu'il s'en défende, comme défenseur de l'intelligent design. Il fait état de travaux récents, notamment ceux de Vincent Fleury, montrant qu'une telle convergence dans les formes peut s'expliquer par le fait que les lois de la nature font émerger des chemins plus favorables que d'autres et rend l'évolution potentiellement plus reproductible si les conditions physico-chimiques sont semblables. Les généticiens reprennent alors la parole quelques jours après, par le biais de Jean-Baptiste André et Nicolas Baumard [36], et remettent en cause les deux articles précédents, ac-



cusant Heams de n'avoir pas compris la théorie de l'évolution et Staune et Fleury d'être anti-darwiniens. Ils défendent que la théorie darwinienne de sélection naturelle est tout à fait à même de rendre compte de convergences évolutives. Leur argument réside simplement dans le fait que les mutations avantageuses le sont dans le cadre des lois de la physique (ce qui implique par exemple que les éléphants n'ont pas d'ailes, puisqu'ils seraient trop lourds pour pouvoir voler) et qu'il est donc raisonnable d'observer une convergence dans des conditions physico-chimiques similaires, puisque les mêmes caractères y seraient avantageux dans le cadre des lois de la physique. Enfin, Vincent Fleury, cité à deux reprises dans les articles précédents, écrit à son tour pour défendre son point de vue [37] : sa théorie physique de la morphogenèse suppose que la matière vivante étant soumise aux lois de la physique, l'espace des formes susceptibles d'être créées est déjà très restreint *a priori*, la sélection naturelle ne criblant que les formes permises par les lois de la physique.

Pour finir, si la communauté de la biologie du développement accepte l'idée que la physique joue un rôle dans la forme d'un être vivant, c'est surtout un rôle situé en aval du développement, au sens où la sélection naturelle conservera les morphologies avantageuses dans le cadre des lois de la nature. Mais l'idée que les lois de la nature puissent restreindre les formes possible en amont du développement, et même qu'elles soient (trivialement) morphogènes, à l'instar de toutes règles d'interaction, reste encore assez peu développée et semble mériter discussion. Et cette dernière idée est finalement assez proche des théories de Stéphane Leduc ou D'Arcy Thompson. Le débat est donc nourri par les avancées de la physique non-linéaire, la théorie de l'évolution, la biologie moléculaire, la physique de la morphogenèse, mais le fond du problème conserve un charge idéologique forte liée à la spécificité du vivant, comme en témoignait déjà le rejet des travaux de Leduc par l'Académie des Sciences.

### 1.3 Plan de la thèse

C'est dans cette ligne que se situe ce travail de thèse, c'est à dire dans la recherche de mécanismes d'auto-organisation rendant compte de l'émergence de formes, dans le vivant et dans le non-vivant.

Dans une première partie nous détaillerons les résultats obtenus dans le cadre d'une expérience physico-chimique de morphogenèse où une solution est injectée dans une deuxième, un précipité solide se formant à l'interface. De façon anecdotique, l'expérience initiale était une tentative naïve de reproduire certaines caractéristiques de la croissance pulmonaire. Comme nous verrons par la suite, une étude en profondeur était nécessaire pour construire une telle expérience. Elle permet néanmoins l'observation de l'apparition

de formes non-triviales, en particulier lorsque le précipité prend la forme d'un tube croissant également de part et d'autre d'une fracture centrale autour de laquelle le précipité se dépose continuellement.

Dans une seconde partie nous nous attacherons à caractériser les traits frappants de la forme du poumon embryonnaire, et nous essaierons de construire un modèle simple, basé sur ce que l'on sait de la régulation génétique impliquée dans l'organogenèse et sur la géométrie de la croissance, et pouvant rendre compte de l'émergence de ces traits frappants.

Nous commencerons donc en essayant de rappeler les bases du développement pulmonaire, tout en essayant d'en tirer les éléments clés pour construire un modèle simple basé sur la diffusion d'un facteur de croissance dans la matrice extra-cellulaire.

Dans un second temps, nous tenterons de confronter ce que prédit le modèle aux données de la littérature sur le pattern d'expression de certains gènes, notamment en comparant modèle et expérience dans la même géométrie.

Ensuite, nous intégrerons la croissance au modèle par le biais de simulations numériques à l'échelle de l'organe entier, nous verrons comment émergent alors de façon très robuste les traits frappants dont on voulait comprendre l'origine, et enfin comment les propriétés statistiques de la géométrie sont modifiées quand la réponse en croissance de l'épithélium à la réception du facteur de croissance est modifiée.

Nous nous attacherons alors à comprendre les résultats obtenus par des mesures effectuées sur les simulations et dans le cadre d'un calcul décrivant localement le comportement dynamique d'une bronche.

Enfin, nous présenterons les résultats préliminaires d'une nouvelle expérience de morphogenèse physique basée cette fois sur le scénario construit tout au long des chapitres précédents, et présentant des similitudes frappantes avec la croissance pulmonaire.





# Chapitre 2

## Jardins chimiques et croissance de tubes de silice

### Sommaire

---

<b>2.1</b>	<b>Introduction</b>	<b>37</b>
2.1.1	Stéphane Leduc, l'osmose et la vie : un conflit précurseur	38
2.1.2	Morphogenèse 3D	43
<b>2.2</b>	<b>Expérience</b>	<b>46</b>
2.2.1	Motivations	46
2.2.2	Description de l'expérience	47
<b>2.3</b>	<b>Résultats</b>	<b>49</b>
2.3.1	Régimes de croissance	49
2.3.2	Description du régime de digitation	52
2.3.3	Origine du taux d'élongation	56
<b>2.4</b>	<b>Discussion</b>	<b>58</b>
2.4.1	Formation des tubes	58
2.4.2	Conséquences physiques	61
2.4.3	En conclusion	61

---

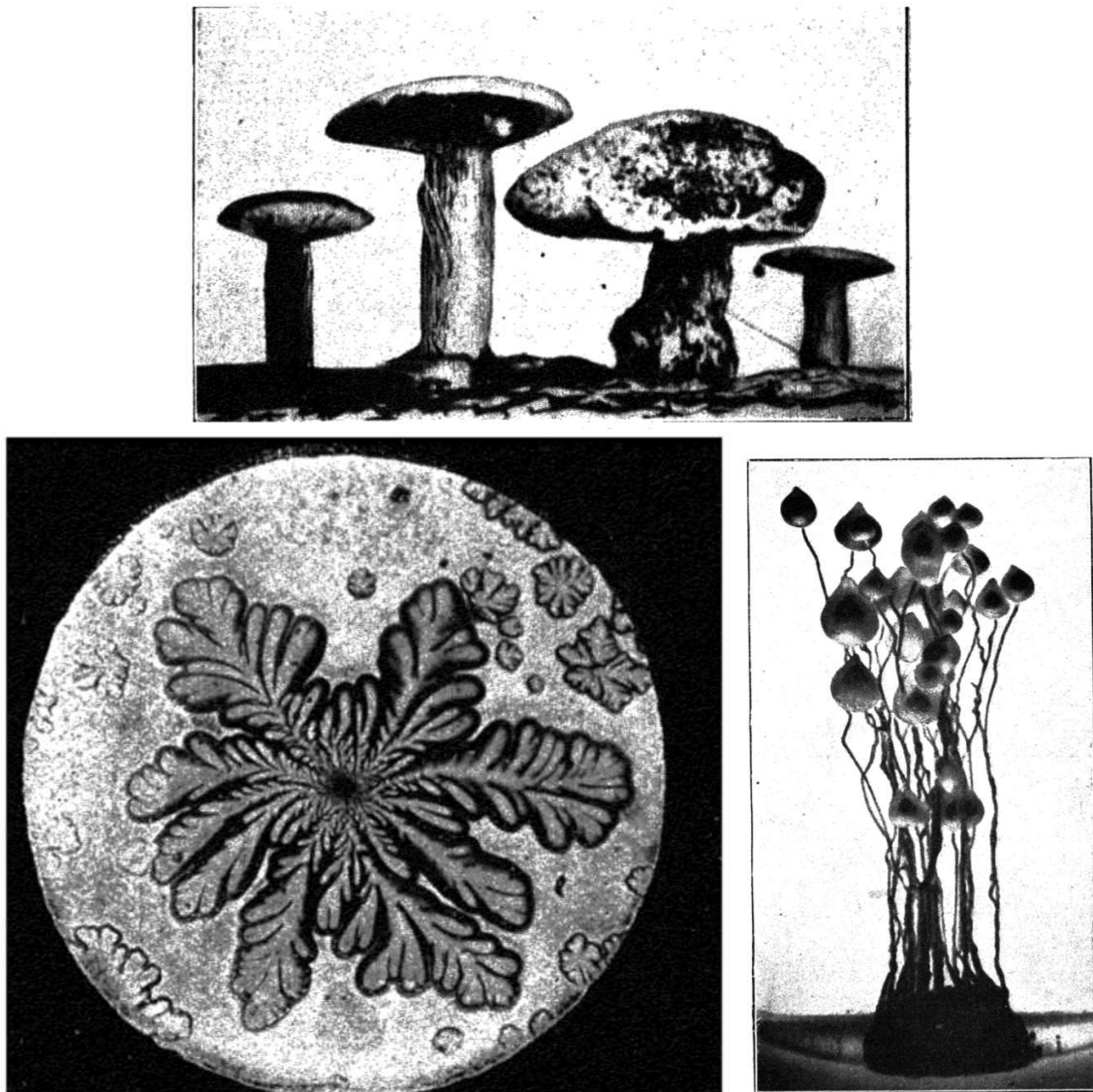
### 2.1 Introduction

Dans cette partie, sont présentés les résultats d'expériences de morphogenèse physico-chimique, dans la lignée de celles effectuées par le médecin Stéphane Leduc il y a plus de cent ans. De la même façon, il s'agit de regarder quelles formes particulières peuvent apparaître par "génération spontanée", terme cher à Leduc, lors de la croissance d'un sel métallique dans un bain de silicate de sodium, appelé aussi parfois "eau de pierre".

### 2.1.1 Stéphane Leduc, l'osmose et la vie : un conflit précurseur

Au tout début du vingtième siècle, Stéphane Leduc, professeur de l'école de médecine de Nantes, affirmait dans "La Biologie Synthétique" [18] : «La vie est un phénomène dont le mécanisme ne peut être que purement physique ; elle est produite par les mêmes forces, régie par les mêmes lois qui agissent sur le monde non vivant.». Sa foi inébranlable dans ce qu'il appelle le "physicisme" et son aversion pour le "mysticisme" qui selon lui, à cette époque, "règne encore sur la biologie", rendent son approche très originale et novatrice : père fondateur de la biologie synthétique, il cherche dans l'inorganique des principes d'organisation et de morphogenèse susceptibles de rendre compte de formes vivantes. Il est inspiré en partie par des chimistes "morphogénistes" précurseurs de la fin du dix-neuvième siècle, qui cherchaient des principes d'organisation spontanée dans les réactions chimiques. Moritz Traube, un chimiste allemand, découvrait vers 1866 les propriétés osmotiques de certains précipités et réalisait les premières "cellules artificielles". D. Monnier et C. Vogt écrivaient en 1882 [38] qu'il est possible avec le concours de deux sels de produire artificiellement «des éléments organiques présentant tous les caractères de forme appartenant aux éléments organiques, tels que cellules simples et à canaux poriques, tubes à parois, à cloisons, à contenu hétérogène granulé, etc...». L'ascendant scientifique, voire idéologique remonte donc à la seconde moitié du dix-neuvième, et si Leduc est présenté aujourd'hui comme un doux rêveur, il était vers 1910 le chef de file de ce qui aurait pu devenir une discipline nouvelle, dont il a toujours cherché à mettre en avant la légitimité théorique, plaidant pour un changement de paradigme en biologie. Pour Stéphane Leduc, «l'absence d'une théorie générale de la vie nuit beaucoup aux progrès de la biologie ». C'est pourquoi il cherchait dans l'osmose, la diffusion, et plus généralement dans les propriétés de la matière, des principes d'organisations universels susceptibles de générer les formes du vivant.

Ses talents d'expérimentateur hors du commun l'ont conduit à faire pousser (et photographier) des croissances osmotiques très diverses, par exemple en mettant en présence des sels métalliques et des bases avec lesquelles elles réagissaient. Si l'on prend par exemple du sulfate de fer (en sel) et qu'on le plonge dans une solution de silicate de sodium, un précipité se forme à l'interface qui laisse rentrer l'eau de la solution de silice, qui cherche à dissoudre le sel restant sous la membrane. Sous la pression du fluide la membrane casse et libère du sel, qui précipite à nouveau, etc... La plupart des réalisations osmotiques obtenues par Leduc constituent encore un mystère à l'heure actuelle, au sens où ses livres ne donnent qu'assez peu de détails expérimentaux, mais il est probable qu'il préparait ses solutions avec des gradients locaux de concentration en différents réactifs pour arriver produire des formes aussi variées et extérieurement semblables à toutes sortes de formes



**Fig. 2.1** – *Champignons osmotiques, chlorure de sodium en solution colloïdale, et fleurs osmotiques. Toutes les images sont tirées de "La Biologie Synthétique" ou "Théorie Physico-chimique de la Vie".*



**Fig. 2.2** – *Reconstitutions de formes marines variées par cristallisation et osmose.*

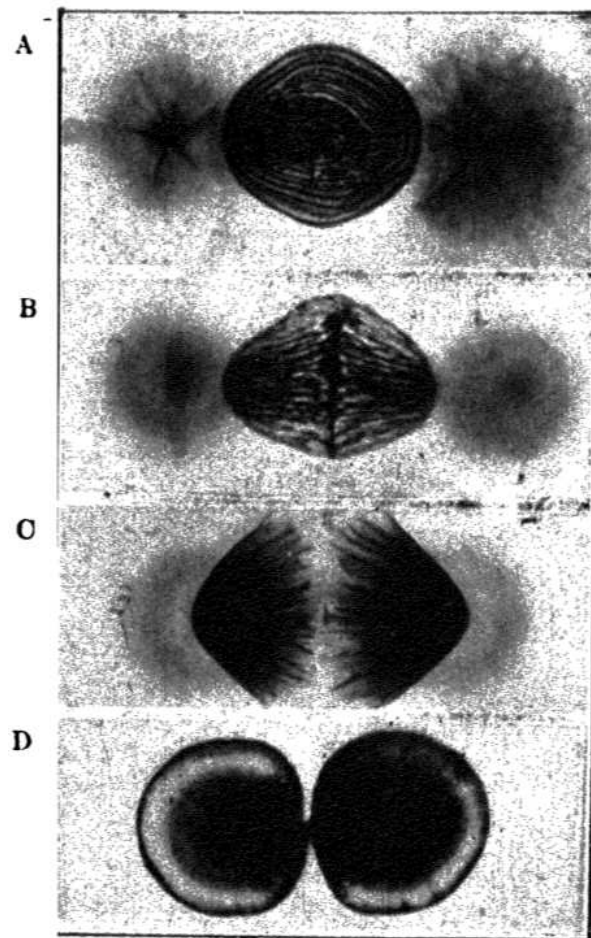


Fig. 2.3 – Mitose artificielle.

vivantes. Ses photographies livrent effectivement des images impressionnantes de champignons ou fleurs osmotiques, squelettes et exo-squelettes de coquillages et de diatomées, reproduction artificielles de mitoses (voir les figures 2.1, 2.2 et 2.3). Leduc pose alors la question : «Est-il possible de penser et d'admettre que les conditions si simples de la croissance osmotique ne se soient pas trouvées réalisées bien des fois dans le passé de la terre ? »

En affirmant alors que «la biologie est une partie de la physico-chimie des liquides», et que la fameuse "substance vitale" n'est autre que le liquide vaguement gélatineux composant la matière vivante, soumis aux mêmes principes physico-chimiques que toute autre matière, il s'attire les foudres des académiciens de l'époque fraîchement acquis au darwinisme. La génération spontanée est pour Leduc l'essence d'une théorie transformiste de l'évolution. Mais de manière implicite, le terme même de génération spontanée est alors lourd de signification pour la communauté scientifique. En effet, la génération spontanée a été la base d'un conflit scientifique entre plusieurs savants du dix-neuvième, notamment entre Pasteur et Pouchet, auteur d'un "Traité de génération spontanée". Les expériences et la victoire académique de Pasteur ayant fait tomber la théorie en désuétude. Toutefois, elle désignait plus précisément l'apparition d'organismes vivant à partir de matière inorganique et d'air. Pour Leduc, il s'agit plutôt de génération spontanée de *formes*. Mais son idée maîtresse est bien qu'il n'y a "rien de plus" dans le vivant que dans le non-vivant, et c'est ce qu'il cherche à montrer par ses expériences mimant la vie.

Au delà de l'idéologie, on lui oppose avec raison, notamment le philosophe Henri Bergson en 1907, qu'il est vain de reproduire la morphogénie tant qu'on est incapable de reproduire le fonctionnement physiologique. C'est d'ailleurs en 1907 que l'académie des sciences refuse les recherches de Leduc. Il dénoncera alors ce qu'il perçoit comme une rémanence du vitalisme, évoquant «les tendances mystiques d'un grand nombre de savants détenteurs de l'autorité, tendances qui se manifestent par l'invocation, pour expliquer les phénomènes de la vie, d'une force inconnue, (...), (et) par les incursions dans le domaine du spiritisme et du surnaturel».

Au cours du vingtième siècle les recherches de Stéphane Leduc tombent en désuétude, et ne sont guère plus évoquées que dans le cadre d'expériences simples, jolies et amusantes pour les enfants permettant de faire pousser les fameux jardins de silice aux couleurs surprenantes. Mais en regardant de plus près en arrière, il apparaît que l'idée chère à D'Arcy Thompson que les formes dans le vivant sont le fruit de principes physiques et géométriques est déjà bien présente dans les travaux de Leduc. Comme nous l'a déjà évoqué dans l'introduction, ce "débat" est toujours d'actualité (ce qui tient sans aucun doute à la charge idéologique que porte intrinsèquement ce problème de morphogénèse

vivante), et ni Stéphane Leduc ni D'Arcy Thompson ne sont réhabilités dans le cadre de la biologie moderne.

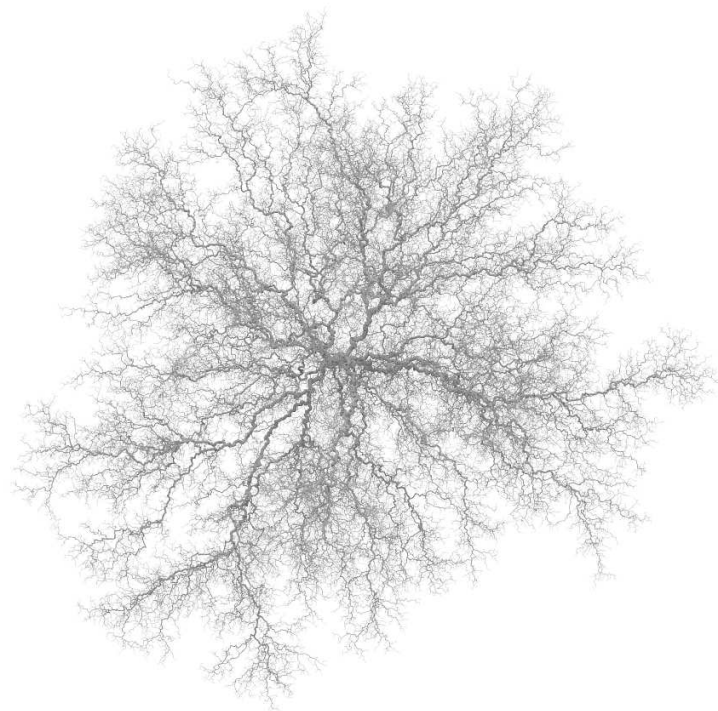
### 2.1.2 Morphogenèse 3D

Du point de vue physique, les expériences de Leduc sont aussi passionnantes car elles sont révélatrices de mécanismes propres à générer des formes ayant des propriétés géométriques tridimensionnelles bien définies, à l'instar d'instabilités hydrodynamiques classiques qui ont été source de nombreux travaux depuis une cinquantaine d'années. Cependant, s'il est parfois possible de décrire la sélection de motifs pour certaines instabilités hydrodynamiques bi-dimensionnelles, comme l'instabilité de Saffman-Taylor, c'est souvent grâce au fait qu'il s'agit justement de problèmes bi-dimensionnels. En effet, la digitation visqueuse, maintenant très bien décrite, survient lorsqu'un fluide confiné *entre deux plaques* est poussé par un autre fluide moins visqueux.

Mais la génération d'instabilités tri-dimensionnelles a principalement été décrite qualitativement, et les expériences sont relativement rares. Néanmoins il y a quelques exceptions, comme la dissolution du ciment de portland [39], et les simulations de diffusion limitée par agrégation (DLA) à trois dimensions (Fig. 2.4).

En ce qui concerne les jardins chimiques, nom donné plus tard aux "paysages osmotiques" à la Leduc pour rendre hommage à leur admirable diversité de formes et de couleurs, la littérature, par ailleurs assez peu abondante, décrit principalement la réaction chimique en elle-même et la pompe osmotique permettant la croissance. Il n'existe pas à proprement parler de travaux cherchant à interpréter plus généralement les différentes formes et régimes de croissance, même si R-E. Eastes et Clovis Darrigan ont fait un très beau travail à ce sujet [40], en réalisant et photographiant beaucoup d'expériences "à la Leduc" (Fig. 2.5). Dans ce chapitre nous détaillerons particulièrement un régime de croissance n'ayant jamais été décrit auparavant obtenu lorsqu'un précipité se forme à l'interface entre deux solutions, l'une étant injectée dans l'autre au fur et à mesure de l'expérience.





**Fig. 2.4** – *Figure de DLA à 3 dimensions, tirée du site web de Mark Stock.*

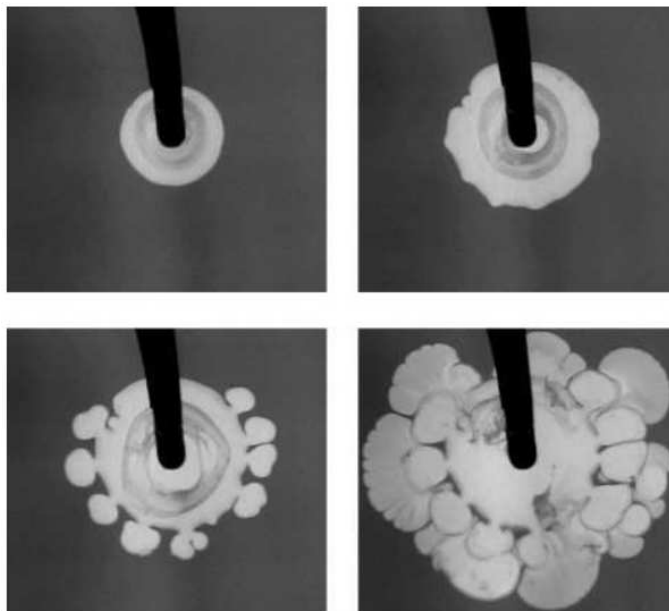


**Fig. 2.5** – *Jardins chimiques dans une solution de silicate de sodium. En bleu : croissance de sulfate de cuivre. En blanc : Croissance de chlorure de calcium. En orange : croissance de sulfate de fer III. Photos : S. Querbès ©*

## 2.2 Expérience

### 2.2.1 Motivations

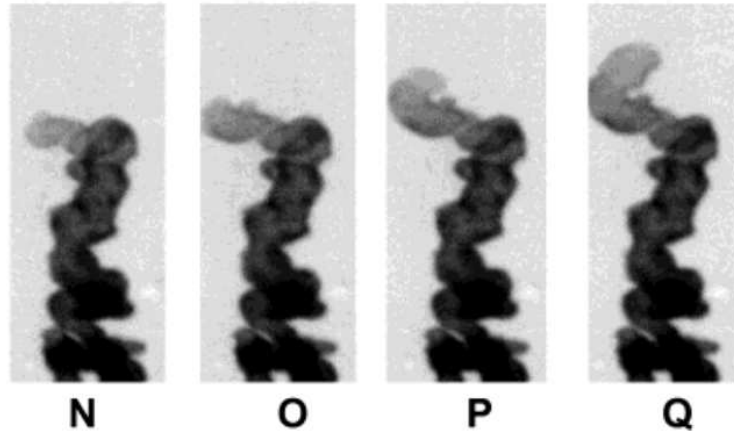
Il s'agit d'étudier un cas particulier de morphogenèse, lié à la croissance d'un précipité solide tri-dimensionnel à l'interface entre deux réactifs. Comme pour les jardins chimiques on s'attend à la croissance par ruptures successives de l'interface. Il existe dans la littérature des études théoriques [41, 42] et expérimentales [43] (Fig. 2.6) de la croissance d'une interface entre deux liquides lorsque celle-ci subit une transition de phase. Ces études se restreignent souvent pour des raisons de simplicité à des cas bi-dimensionnels, néanmoins de tels systèmes de réaction/précipitation pourraient, en trois dimensions, améliorer notre compréhension de structures naturelles auto-organisées créées par croissance interfaciale [44].



**Fig. 2.6** – Croissance d'une interface entre des solutions de surfactant cationique et de sel organique [43].

La physico-chimie des jardins chimiques est maintenant bien comprise [45, 46], et les précipités qui leur sont associés ont aussi servi de support à l'étude de morphogenèse réactive, notamment dans les travaux de S. Thouvenel-Romans et. al [47, 48, 49]. Ces études se sont concentrées sur l'apparition de tubes de silice poussant lors de l'injection très lente d'une solution dans l'autre (Fig. 2.7), sur leur diamètre et l'origine de leur sélection, et sur le guidage par des bulles de ces tubes. Notre approche sera d'observer l'évolution d'un précipité à l'interface entre une solution de persulfate de fer et une solution

de silicate de sodium dans une expérience d'injection. Du point de vue de la morphogénèse, cette expérience est conçue pour mettre en lumière d'éventuels régimes de génération spontanée de formes propre à une croissance tri-dimensionnelle réactive.



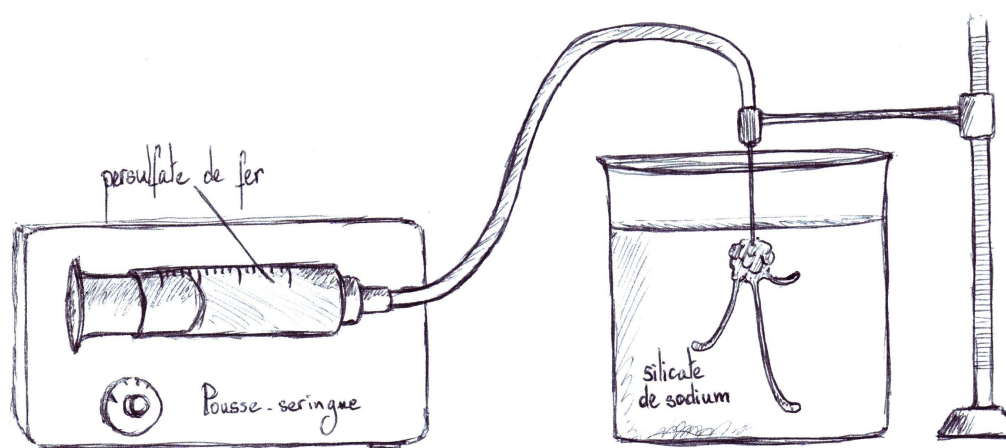
**Fig. 2.7** – *Résultat de l'injection d'une solution de sulfate de cuivre dans une solution de silicate de sodium [47].*

De façon plus anecdotique, l'idée à l'origine de cette expérience était, à la manière de Stéphane Leduc, de mimer un phénomène biologique, en l'occurrence le développement pulmonaire, par l'utilisation de "génération spontanée physico-chimique". Plus particulièrement, si l'on considère le développement d'un poumon embryonnaire "à l'ordre zéro de sa complexité", il s'agit de l'injection d'un liquide (le liquide amniotique emplissant la trachée en train de pousser de l'embryon) dans un autre "liquide" (le mésenchyme pulmonaire, tissu cellulaire dans lequel pousse l'organe), le tout à trois dimensions. Le précipité interfacial de l'expérience correspondrait dans le développement pulmonaire à la différenciation de cellules épithéliales en cellules musculaires sur les parois bronchiques, tandis que le bout des bronches en train de pousser est encore peu différencié. L'idée était donc de voir si la reproduction physico-chimique extrêmement naïve de ces conditions de croissance était susceptible de permettre l'apparition d'une structure branchée qualitativement similaire au poumon. Plus fondamentalement, il s'agissait de voir si la structure arborescente du poumon pouvait prendre ses racines dans un mécanisme de morphogénèse épi-génétique lié à une instabilité spontanée.

### 2.2.2 Description de l'expérience

L'expérience à proprement parler consiste donc en l'injection contrôlée d'une solution de persulfate de fer  $Fe_2(SO_4)_3$  initialement sous forme cristalline. Le persulfate de fer

est dilué dans de l'eau bouillie au préalable et dans du sucre de canne liquide (Canadou commercial) dans un ratio tel que la masse volumique de la solution obtenue soit égale à la masse volumique du bain. Le bain est une solution aqueuse commerciale de silicate de sodium ( $d=1.33$ ) diluée deux fois. Les deux solutions sont bien mélangées avant les expériences jusqu'à l'obtention de solutions homogène. L'injection de l'une dans l'autre est effectuée vers le bas, à débit constant ( $Q_{inj} = 2\text{mL}/\text{min}$  à  $8\text{mL}/\text{min}$ ) à l'aide d'un pousse seringue programmable. Le diamètre de l'aiguille de la seringue est 0.9 mm (le diamètre de la seringue n'ayant de toutes façons plus d'influence sur le régime de croissance après le premier précipité). La pointe de l'aiguille est immergée quelques millimètres sous la surface du bain au moment précis où l'injection commence, et il n'y a donc pas d'impact à la surface ni de précipité à la pointe de l'aiguille avant que l'expérience débute. Un schéma du dispositif est proposé figure 2.8.



**Fig. 2.8** – Schéma du dispositif expérimental. A  $t=0$ , l'aiguille est immergée dans le bain de silicate de sodium et l'injection commence.

Les paramètres de l'expérience sont donc d'une part la concentration de la solution de persulfate de fer injectée (notée  $c$ ), et d'autre part le débit d'injection (notée  $Q_{inj}$ ). Le bain de silicate de sodium est contenu dans un récipient rectangulaire (selon les expériences, 5 à 10cm de large, 1 à 4cm de profondeur, 10cm de hauteur). Le précipité est de couleur jaune est le bain de silicate de sodium est transparent. Toutes les expériences sont effectuées à température ambiante (20 à 22 degrés). Les expériences sont filmées depuis une distance suffisante (environ 30cm) pour minimiser les effets de parallaxe, que l'on souhaite éviter pour effectuer des mesures (voir plus loin).

L'ordre de grandeur des concentrations utilisées est typique des expériences de jardins chimiques, mais les débits d'injections sont de loin plus rapides que ceux qu'on peut trouver dans la littérature pour ce type d'expériences, ce qui permet en l'occurrence une croissance beaucoup plus rapide que ne le permet la croissance osmotique, et comme on le verra, un nouveau régime de croissance. Par ailleurs, les effets de poussée d'Archimède sont négligeables, puisque les deux liquides sont spécifiquement préparés pour avoir autant que possible la même densité.

## 2.3 Résultats

### 2.3.1 Régimes de croissance

Tout d'abord, il faut noter l'existence d'un seuil en dessous duquel il n'y a pas de précipité net entre les deux interfaces. C'est pourquoi toutes les expériences seront effectuées pour une concentration supérieure à ce seuil, d'environ  $30g/L$ .

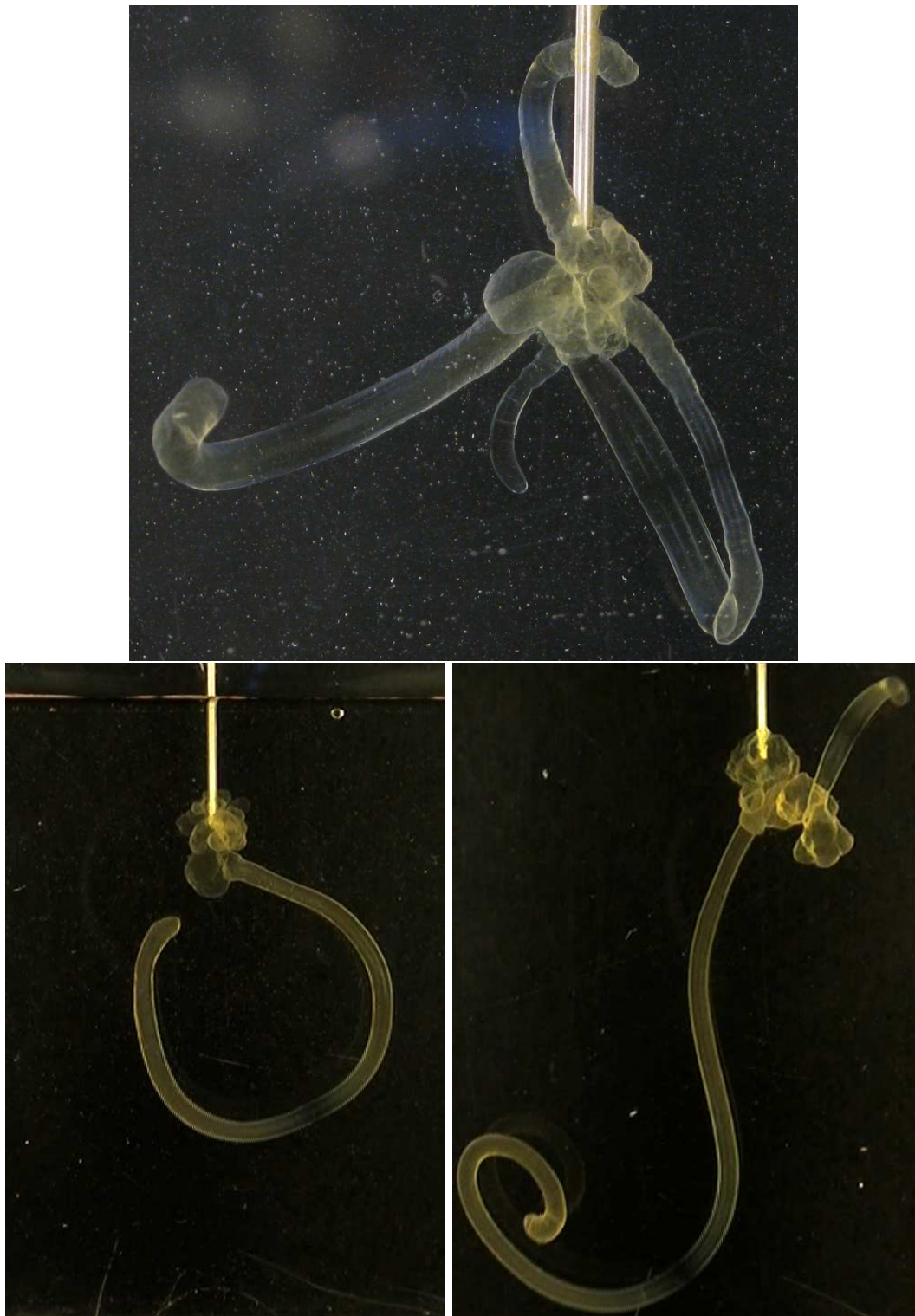
Dès que l'injection commence, un précipité se forme à l'interface entre les deux solutions, empêchant de ce fait tout mélange ou diffusion. Dans la gamme de concentrations choisie, les expériences permettent de distinguer principalement deux régimes de croissance. D'abord, pour des concentrations peu supérieures à la concentration seuil, on observe un régime de croissance par rupture successives, régime pour lequel chaque rupture de la membrane donne lieu à un nouveau "blob". Ce régime a été décrit qualitativement dans la littérature existante sous le terme "budding", et est assez similaire au régime de croissance des jardins osmotiques. Il faut noter qu'on peut observer de la croissance par blobs dans toutes les expériences, si tant est que la concentration soit supérieure au seuil mentionné plus haut. Les deux masses volumiques étant égales, l'ensemble des blobs forme une boule à peu près isotrope qui gonfle tant qu'on continue l'injection. Ceci constitue d'ailleurs un bon moyen *a posteriori* de vérifier que les masses volumiques sont égales (au poids du précipité près).

Pour des valeurs plus élevées de la concentration, et à débit assez élevé (5-6 mL/min), on peut observer un second régime de croissance qui n'est, en revanche, pas décrit dans la littérature. Lors de certaines ruptures de la membrane, au lieu de se refermer immédiatement sous l'action du précipité, la membrane pousse localement en doigts tubulaires qui s'allongent à une vitesse de quelques cm/s (Figs. 2.9 et 2.10). Il est alors très surprenant de constater que la zone de croissance des tubes ainsi formés semble se situer non pas à la pointe du tube, mais à la mi-longueur de celui-ci, et restant à mi-longueur au fur et à mesure qu'il s'allonge de part et d'autre de cette fracture initiale. La zone de





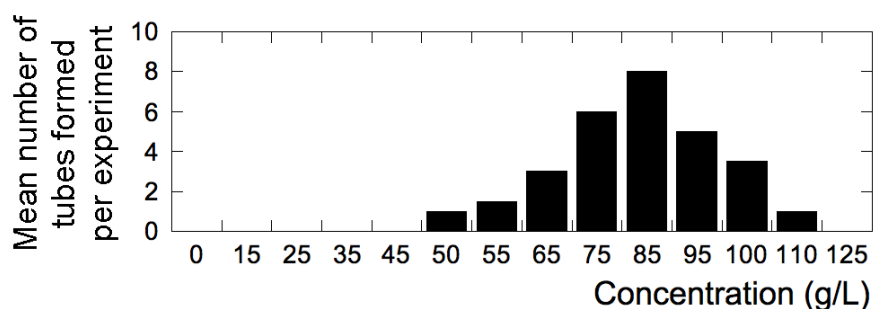
**Fig. 2.9** – Morphologies de précipités après une vingtaine de secondes.  $c = 65\text{g/L}$ ,  $Q_{inj} = 8\text{mL/min}$ . On voit bien au bout de l'aiguille d'injection la zone de blobs globalement sphérique de laquelle partent les tubes.



**Fig. 2.10** – Morphologies de précipités après quelques secondes.  $c = 65\text{g/L}$ ,  $Q_{inj} = 8\text{mL/min}$ . On voit clairement les zones où le précipité est moins dense au milieu des tubes en croissance. Les traits longitudinaux le long des tubes, visibles surtout sur les tubes de droite de la photographie du haut, sont le reflet des néons utilisés pour éclairer l'expérience.



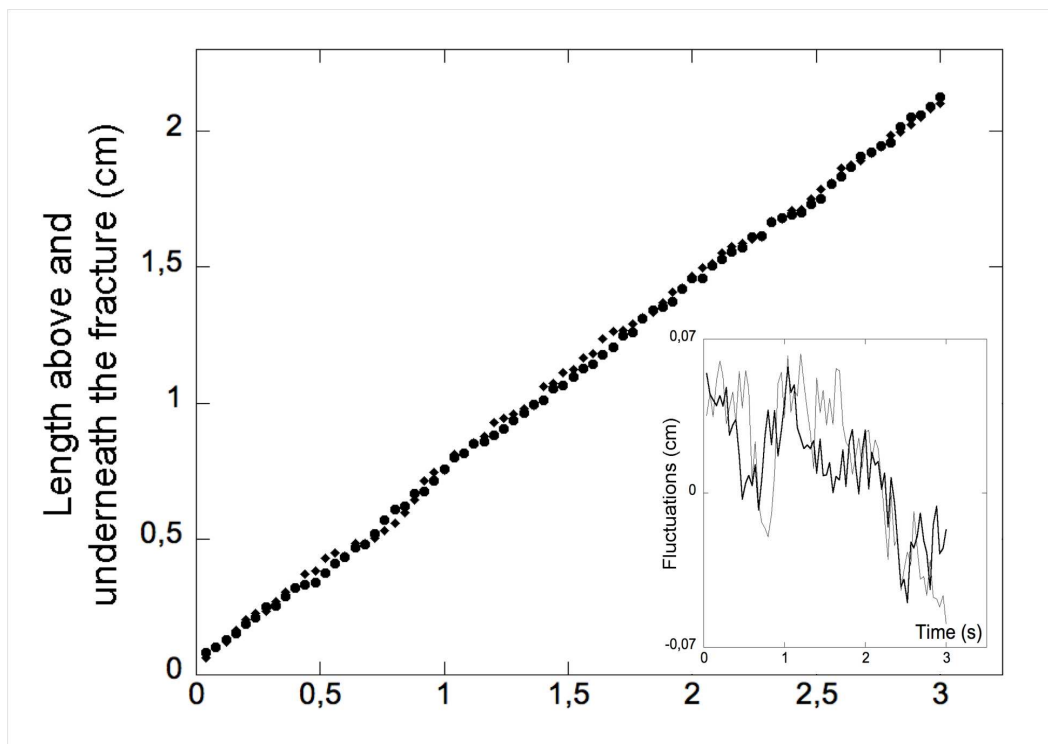
croissance est alors facilement identifiable, n'étant pas encore vraiment précipitée, par sa couleur moins jaune et plus transparente, donc plus sombre sur fond noir, que le reste du tube (voir figures 2.9 et 2.10). Cette croissance de part et d'autre du milieu est d'autant plus intéressante que le réactif qui permet au tube de continuer à pousser est apporté par l'injection, donc à la base du tube. Cette particularité le différencie fondamentalement des croissances tubulaires connues pour lesquelles la croissance se fait à la pointe, où par ruptures successives (et donc de façon semblable au "budding"). C'est ce régime de croissance tubulaire sur lequel nous allons nous pencher plus particulièrement. Comme dit plus haut, les expériences dans lesquelles on peut voir pousser des tubes présentent aussi de la croissance par blobs, l'un n'excluant pas l'autre. Un histogramme du nombre moyen de tubes formé par expérience d'une minute en fonction de la concentration est représenté figure 2.11.



**Fig. 2.11** – Nombre moyen de tubes formés par minute en fonction de la concentration de la solution injectée.

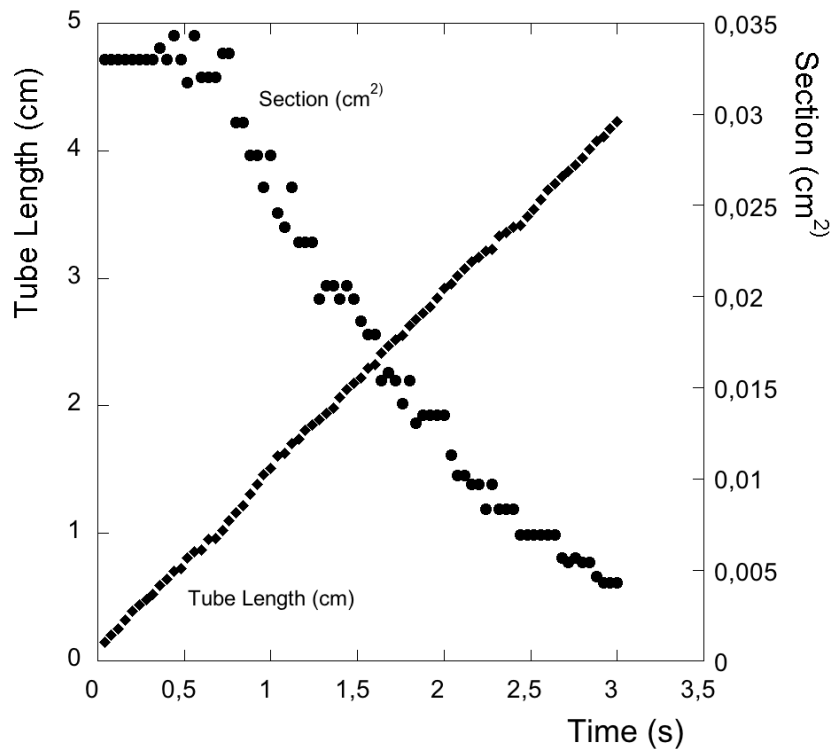
### 2.3.2 Description du régime de digitation

Pour mieux comprendre le régime de croissance par tubes, la première chose est de vérifier si la zone de croissance se maintient effectivement à la mi-longueur du tube. Pour de nombreux tubes et concentrations, nous avons donc mesuré la position de la zone de croissance, ou plus précisément la longueur au dessus (en amont) et en deçà (en aval) de la zone de croissance. Il apparaît d'une part que ces longueurs augmentent linéairement avec le temps, montrant d'abord que le taux d'élongation des tubes (leur vitesse de croissance) est constante. D'autre part, on constate que les deux longueurs restent en très bonne approximation égales pendant la croissance, confirmant ainsi que la zone de croissance se situe au milieu du tube. Même les fluctuations autour du taux d'élongation constant semblent symétriques durant la croissance. Des mesures typiques sont présentées figures 2.12.



**Fig. 2.12** – Evolution des longueurs au dessus et en dessous de la fracture au cours de la croissance d'un tube tube. Encart : Fluctuations autour de la régression linéaire.  $c = 55\text{g/L}$ ,  $Q_{inj} = 6\text{mL/min}$ .

Alors que le taux d'élongation des tubes est constant, la section d'un tube peut diminuer pendant la croissance. La figure 2.13 montre la section d'un tube diminuer tandis que sa vitesse de croissance reste constante. Comme le débit d'injection total est maintenu constant, la seule explication possible est que le débit relatif au tube considéré, lui, diminue (la membrane continuant à pousser à d'autres endroits). Une telle diminution n'est en aucun cas le fait de l'expérimentateur, et survient spontanément, par exemple lorsqu'un autre tube commence à pousser ailleurs, réduisant ainsi le débit dans le premier.



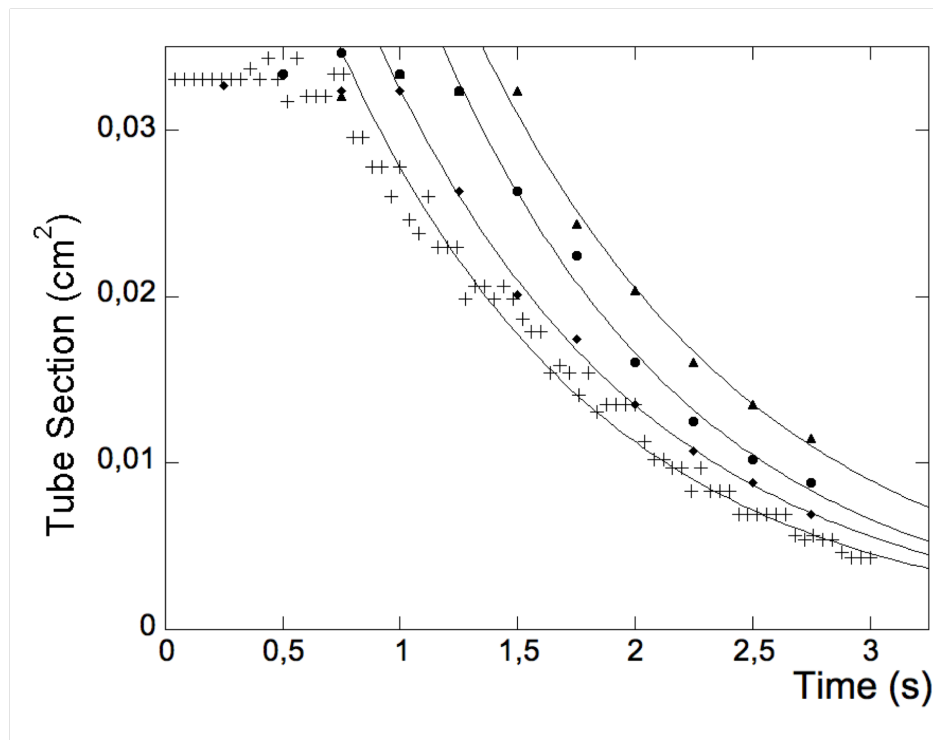
**Fig. 2.13** – Longueur et section au niveau de la fracture d'un tube en croissance.  $c = 65\text{g/L}$ ,  $Q_{inj} = 8\text{mL/min}$ . La section diminue dramatiquement alors que le tube continue à pousser à vitesse constante.

La conservation de la masse lie trivialement la section du tube au débit  $Q$  dans le tube. En ajoutant qu'un tube pousse avec une vitesse  $u$  (par ailleurs égal à la vitesse moyenne de l'écoulement de Poiseuille dans le tube) de part et d'autre de la zone de fracture de section  $S_f$ , l'accroissement de volume pendant  $dt$  s'écrit :

$$Q(t)dt = \frac{3}{4}uS_f(t)dt \quad (2.1)$$

Une brusque diminution de la section peut donc être la conséquence d'une diminution du débit dans le tube, qui change la section d'équilibre résultante. La section relaxe alors

vers une nouvelle valeur adaptée au nouveau débit. Comme la section reste symétrique de part et d'autre de la fracture, chaque "nouvelle" section s'éloigne de la zone de croissance à la vitesse  $u/2$ . La propagation de la diminution de section est mesurée figure 2.14, qui donne la section d'un tube à différentes distances de la zone de croissance en fonction du temps.



**Fig. 2.14** – Evolution de la section du tube à différentes distances  $l$  de la zone de fracture (croix :  $l = 0$ , losanges :  $l = ut/2$ , cercles :  $l = ut$ , triangles :  $l = 3ut/2$ ). Le rétrécissement de la section a d'abord lieu au niveau de la fracture et se propage à la vitesse  $u/2$ .

Chaque courbe est fittée par une exponentielle pour guider l'oeil, bien qu'il ne soit pas évident qu'il s'agisse effectivement d'une relaxation exponentielle. La diminution de section se propage à la vitesse  $0.72\text{cm/s}$ , effectivement très proche de la moitié du taux d'élongation  $u/2 = 0.68\text{cm/s}$ . La vitesse de propagation est obtenue en mesurant le temps auquel la section a été divisée par deux, pour différents points le long du tube. Cette mesure montre que la section du tube à une certaine distance  $l$  de la zone de fracture est égale à la section du tube au niveau de la zone de fracture  $2l/u$  secondes plus tôt :

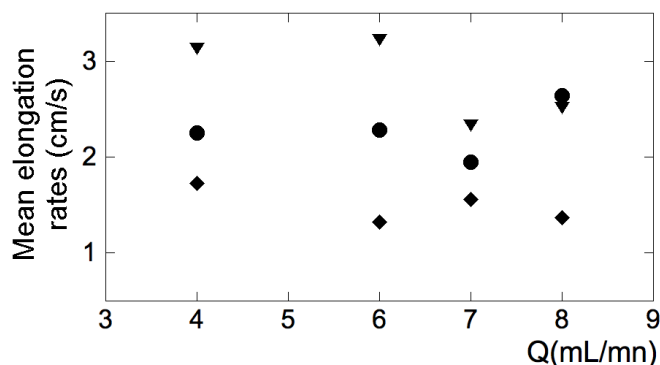
$$S(l, t) = S(0, 2l/u) = S_f(2l/u) \quad (2.2)$$

Une question fondamentale que soulève ce régime de croissance tubulaire à vitesse

constante est l'origine de la vitesse de croissance  $u$  des tubes sélectionnée. Nous avons en effet vu que ce taux d'élongation reste constant même lorsque le flux de réactif entrant dans le tube,  $Q(t)$ , diminue. Il semble donc raisonnable de penser que ce taux d'élongation n'est pas d'origine hydrodynamique, contrairement à ce qu'on aurait pu attendre pour une instabilité de croissance entre deux liquides. La prochaine partie sera donc dédiée à la détermination de l'origine du taux d'élongation.

### 2.3.3 Origine du taux d'élongation

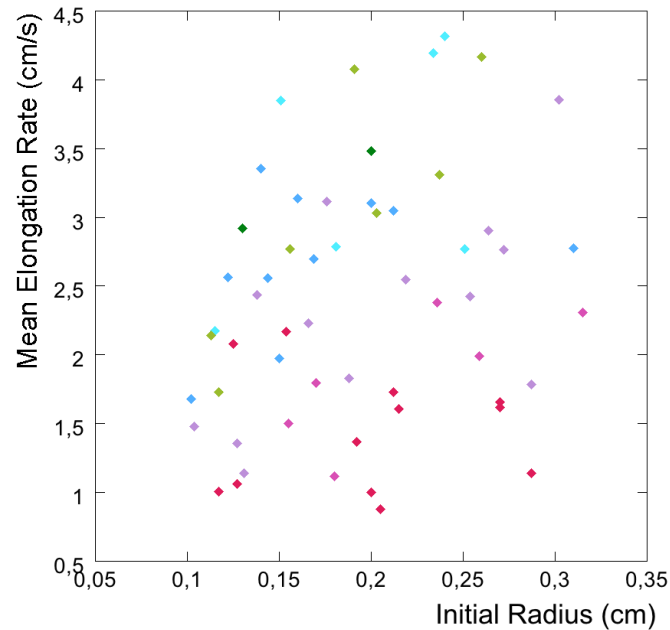
Pour s'assurer que le taux d'élongation n'est effectivement pas d'origine hydrodynamique, il est intéressant de mesurer la vitesse moyenne des tubes en fonction du débit total d'injection imposé dans l'expérience. Les résultats sont présentés figure 2.15, pour des valeurs distinctes de la concentration d'une part (losanges et triangles), et pour toutes les valeurs de la concentration d'autre part (ronds). Chaque point est une moyenne sur plusieurs tubes du taux d'élongation. Comme on peut le voir, il ne semble pas du tout lié au débit d'injection, ce qui confirme qu'il faut chercher ailleurs son origine.



**Fig. 2.15** – Taux d'élongation moyen en fonction de  $Q_{inj}$ , pour  $c = 55g/L$  (losanges),  $c = 85g/L$  (triangles), et pour toutes les concentrations (cercles).

De même, on peut chercher si le taux d'élongation d'un tube est une conséquence de sa section initiale. Les mesures montrent (Fig. 2.16) que ce n'est pas le cas.

Finalement, le taux d'élongation ne dépendant ni du débit entrant dans le tube  $Q(t)$ , ni du débit total injecté  $Q_{inj}$ , ni de sa propre section initiale, le seul paramètre pertinent restant est la concentration en persulfate de fer de la solution injectée. La figure 2.17 représente le taux d'élongation moyen (moyenne sur six à douze tubes par point), pour différentes valeurs de la concentration  $c$ . Malgré des fluctuations relativement importantes

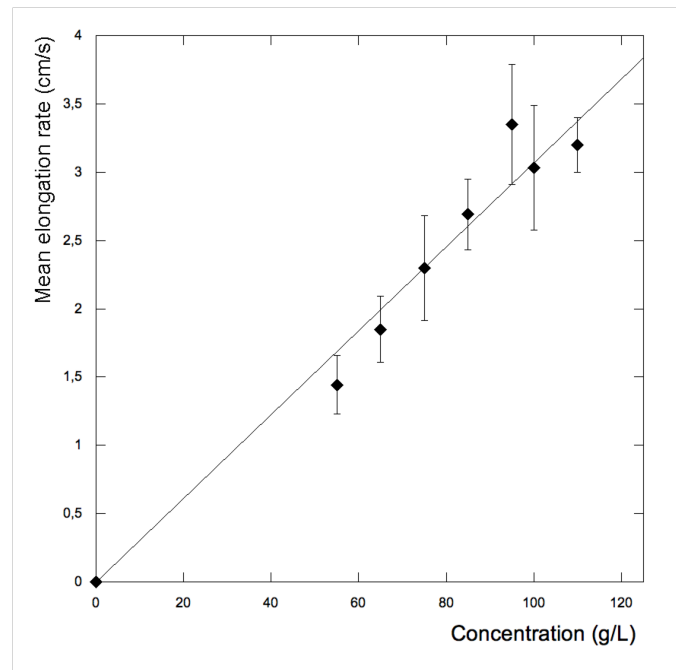


**Fig. 2.16** – Taux d'élongation moyen en fonction du rayon initial du tube. Chaque couleur correspond à une concentration. Dans tous les cas, on n'obtient qu'un nuage de points.

qui ne rendent pas évidente la détermination d'une loi pour  $u(c)$ , le taux d'élongation semble augmenter en assez bonne approximation linéairement avec la concentration  $c$ .

Il faut noter que le ratio eau/canadou de la solution injectée, établie pour avoir une masse volumique constante lorsqu'on fait varier la concentration, dépend légèrement de la concentration en sel métallique. Le canadou étant plus visqueux que l'eau, la viscosité de la solution injectée diminue lorsque la concentration en sel augmente (puisque l'on met alors plus d'eau et moins de canadou). On peut légitimement se demander si cette chute de viscosité n'explique pas l'augmentation de vitesse. En réalité elle ne peut en aucun cas l'expliquer : comme le montrent des mesures de viscosité pour différentes valeurs de la concentration, la variation de viscosité est beaucoup trop faible pour rendre compte d'un tel accroissement de la vitesse. En ajoutant ce résultat à ceux précédemment obtenus, il est maintenant clair que toute la dynamique de croissance et donc le moteur de cette instabilité tubulaire sont gouvernés par la cinétique de précipitation à l'interface entre les deux liquides.

Avant de discuter de ce résultat, une autre question peut être soulevée : l'origine de la section initiale d'un tube, c'est à dire la taille de la fracture qui lui a donné naissance. Diverses mesures montrent que cette section n'est liée ni à la concentration ni au débit d'injection. Avec un taux d'injection constant, la pression à l'intérieur de la structure



**Fig. 2.17** – Taux d'élongation moyen en fonction de la concentration de la solution injectée.

définie par le précipité augmente considérablement avant d'être relâchée. Il paraît alors raisonnable de penser que la section initiale est la conséquence de la surpression au moment de la fracture, et de la géométrie et de la résistance mécanique locales du bourgeon, sujettes à des variations importantes d'un bourgeon à l'autre.

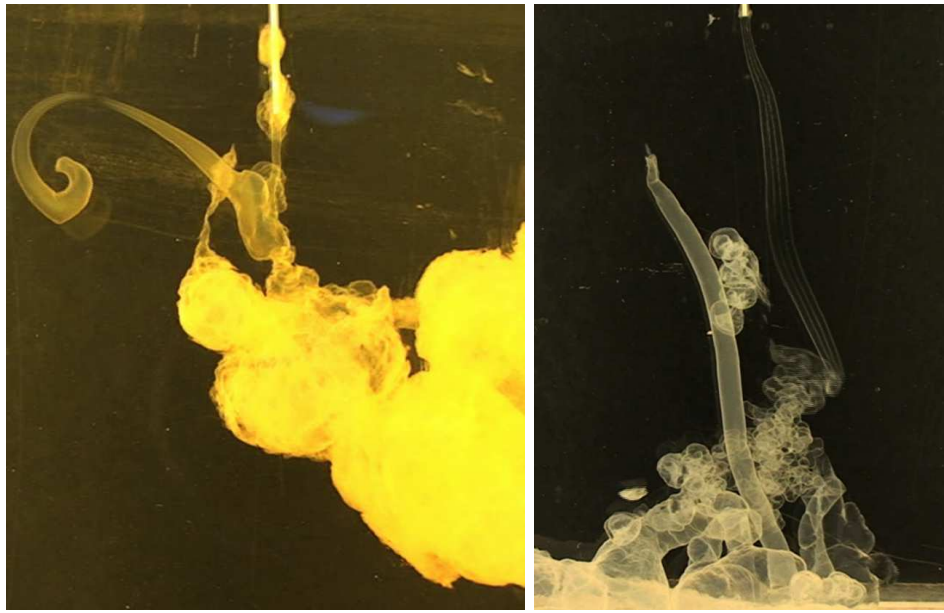
## 2.4 Discussion

Des expériences supplémentaires montrent que ces résultats sont robustes, au sens où la formation de tubes qualitativement similaires peut survenir lors d'expériences équivalentes effectuées avec d'autres sels métalliques (Fig. 2.18), et ne dépendent pas de quel fluide est injecté dans l'autre.

Nous allons maintenant discuter du mécanisme fondamental permettant la formation de ces tubes.

### 2.4.1 Formation des tubes

Le nouveau mécanisme impliqué, c'est à dire la croissance de part et d'autre d'une fracture, et le fait que le taux d'élongation dépend de la concentration et pas de l'hy-

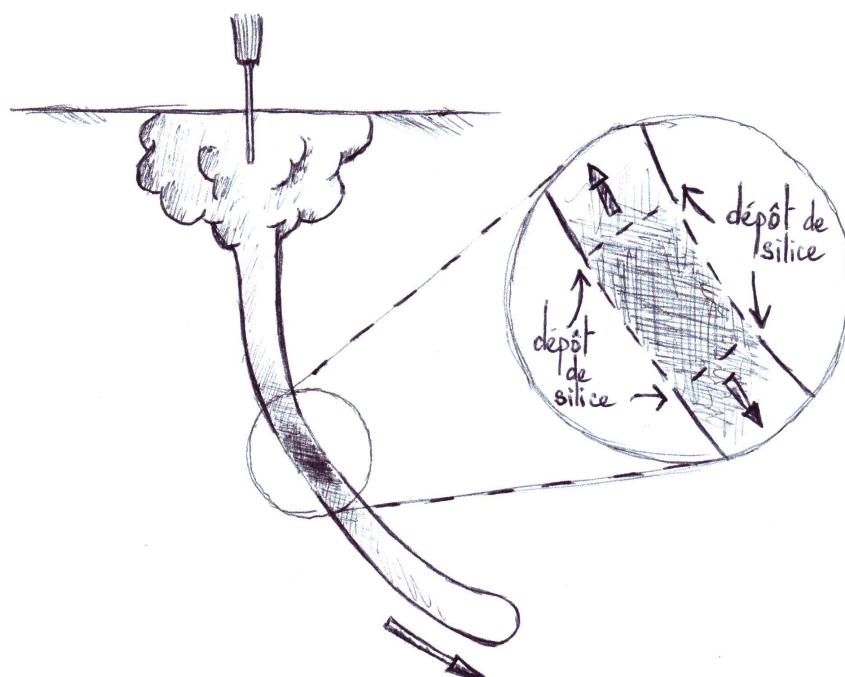


**Fig. 2.18** – *A gauche : tube obtenu dans une expérience où l'on injecte le silicate dans la solution saline (expérience inverse). A droite : tubes obtenus lors de l'injection de sulfate de manganèse dans du silicate de sodium. Dans le second cas, les masses volumiques ne sont pas équilibrées par le canadou.*

drodynamique sous-jacente montrent le rôle crucial joué par la transition de phase à l'interface. Pour rendre compte de la croissance par tubes et des résultats obtenus, notre interprétation est la suivante : dès l'instant où la membrane est fracturée, une "calotte" de précipité est arraché à la structure en train de pousser, et le sel métallique en solution relâché induit un dépôt de silice de chaque côté de la fracture, dépôt facilité par la présence d'un précipité plus ancien. La silice se déposant également et continuellement de chaque côté, le tube s'allonge également de part et d'autre de la fracture. Un schéma est proposé figure 2.19.

Pour des concentrations trop faibles, le précipité est trop mou et il n'y a pas de fracture suffisamment bien définie spatialement sur laquelle la silice peut se déposer pour permettre à un tube de pousser, et la structure gonfle tout entière. Si la concentration est trop élevée, le précipité ferme très rapidement la fracture et seuls des blobs peuvent être formés. La formation de tubes nécessite aussi un débit suffisant, sans lequel le précipité solidifie trop rapidement près de la fracture pour permettre la croissance de tubes. C'est pourquoi c'est seulement sur une gamme assez restreinte de concentration (Fig. 2.11) que l'on observe les tubes. Ce mécanisme de croissance rend aussi très bien compte de la relation de proportionnalité entre le taux d'élongation et la concentration : le dépôt





**Fig. 2.19** – Schéma du mécanisme de croissance : la silice se dépose continûment de part et d'autre de la fracture, là où il y a déjà eu précipitation. La croissance se fait donc également de part et d'autre de la fracture.

de silice, et donc le taux d'élongation, est proportionnel au taux de réaction. Comme le silicate de sodium est en excès, ce taux de réaction est proportionnel à la concentration du réactif limitant, c'est à dire à la concentration du persulfate de fer injecté.

## 2.4.2 Conséquences physiques

Cette influence de la cinétique de la réaction sur la dynamique de croissance soulève aussi des questions d'ordre physique. Si l'on écrit à l'instant  $t$  la loi de Poiseuille pour un tube de demi-longueur  $L(t)$ , on obtient :

$$Q(t) \int_0^{L(t)} S^{-2}(l, t) dl = \frac{\pi}{128\eta} \Delta p(t), \quad (2.3)$$

où  $\eta$  est la viscosité de la solution de persulfate de fer, et  $S(l, t)$  la section du tube à l'abscisse  $l$  et l'instant  $t$ . La section au niveau de la fracture s'écrit par conséquent  $S(L(t), t) = S_f(t)$ . Si l'on ajoute à cela les résultats de l'équation 2.1 et de l'équation 2.14, et que  $L(t) = ut/2$ , on peut transformer l'intégrale spatiale en intégrale temporelle et obtenir :

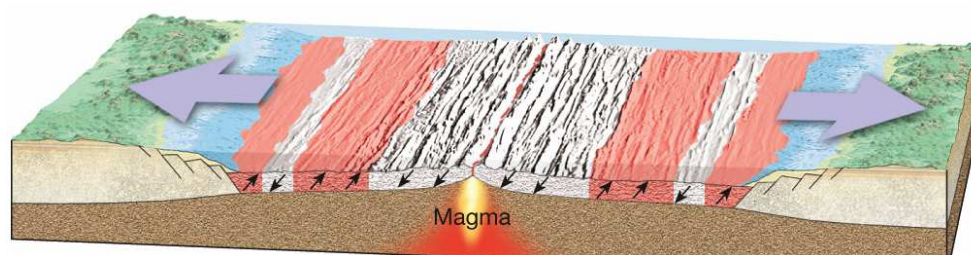
$$\Delta p(t) = \frac{48\eta u^2}{\pi} S_f(t) \int_0^t S_f^{-2}(\tau) d\tau \quad (2.4)$$

L'équation 2.4 montre que la différence de pression augmente au moins linéairement avec le temps lorsque la section est constante. Par ailleurs, elle peut augmenter beaucoup plus rapidement si la section du tube décroît exponentiellement, comme observé dans certaines expériences. Alors que le débit d'injection limité ne peut fournir qu'une surpression limitée, on voit ici que c'est le taux d'élongation constant dû au dépôt de silice et au taux de réaction qui impose la surpression. La cinétique chimique de croissance est donc susceptible d'engendrer une importante différence de pression, c'est à dire une pression faible à la zone de fracture. En d'autres termes, la croissance chimique agit d'un point de vue physique comme une pompe, en abaissant la pression au niveau du milieu du tube, ce qui permet de pomper le fluide jusqu'à la zone de croissance.

## 2.4.3 En conclusion

Les résultats expérimentaux présentés dans ce chapitre ont montré que la transition de phase due au précipité change en profondeur la dynamique de croissance et les patterns susceptibles d'être obtenus. Ce mécanisme de croissance tubulaire n'a jamais été décrit dans la littérature. Le fait particulier que la croissance ait lieu symétriquement de part et

d'autre de la fracture initiale rappelle la croissance des dorsales océaniques ou la lave solidifiée de part et d'autre du rift (Fig. 2.20), comme le révèle le paléomagnétisme [50]. Cette analogie qualitative est à l'origine du titre de l'article présenté en annexe. Cependant, ici la croissance n'est pas contrôlée par le flux interne (le flux de persulfate de fer, ou de lave dans le cas des dorsales), mais par la solidification à l'interface. Il apparaît donc qu'il s'agit d'une instabilité de croissance dirigée par le taux de réaction, qui peut même agir comme une pompe une fois la fracture initiée par la surpression d'origine hydrodynamique.



**Fig. 2.20** – Croissance de part et d'autre du rift. L'histoire de la lave solidifiée est symétrique de part et d'autre de la fracture centrale.

Dans le cadre général de cette thèse, il est très intéressant d'avoir pu mettre à jour un nouveau mécanisme de morphogenèse, d'une part en l'observant expérimentalement et en faisant des mesures quantitatives de la croissance, d'autre part en proposant un mécanisme rendant bien compte de toutes les propriétés observées.

Cependant, si l'on considère les ambitions qui précédaient l'expérience, c'est à dire la reproduction même très qualitative d'une structure branchée à la manière du poumon, force est de constater, d'une part que les tubes obtenus ont obstinément refusé toute bifurcation pouvant mener à une arborescence, d'autre part que les talents d'expérimentateur de Leduc pour reproduire des formes analogues à celles du vivant ne sont pas donnés à tout le monde ! Il semble en tous cas clair que la reproduction "artificielle" de la morphogenèse d'un arbre bronchique (il n'est pas bien sûr pas question de physiologie ici) peut difficilement aboutir si l'on réduit les conditions de la genèse de l'organe aux attributs physiques choisis ici. Plus particulièrement, la réaction de précipité pour mimer la différenciation cellulaire le long des bronches était sans doute très optimiste. Il est aussi probable qu'il ne s'agisse pas d'un élément déterminant pour la morphogenèse, mais que la différenciation survienne plutôt après que la forme a déjà commencé à apparaître. Dans les chapitres suivants, nous nous attacherons à caractériser avec plus de précision les éléments décisifs de la morphogenèse pulmonaire.

# Chapitre 3

## Morphogenèse pulmonaire - Introduction et idées pour un modèle

### Sommaire

---

<b>3.1</b>	<b>Evolution et développement du poumon chez les mammifères</b>	<b>64</b>
3.1.1	Evolution des appareils respiratoires aériens . . . . .	64
3.1.2	Le poumon chez les mammifères . . . . .	67
3.1.3	La forme, solution d'un problème d'optimisation ? . . . . .	70
<b>3.2</b>	<b>Acteurs du développement pulmonaire</b> . . . . .	<b>71</b>
3.2.1	Lumière, épithélium et mésenchyme . . . . .	72
3.2.2	Aperçu de la génétique du développement pulmonaire . . . . .	76
<b>3.3</b>	<b>Construction d'un modèle</b> . . . . .	<b>81</b>
3.3.1	Les modèles de développement . . . . .	81
3.3.2	Construction du modèle . . . . .	84

---

Dans le chapitre précédent, nous avons présenté les résultats d'expériences dans lesquelles un précipité de silice croît à l'interface entre deux solutions qui réagissent. On a pu voir de quelle manière peut émerger spontanément d'une simple expérience de physico-chimie (inorganique) une dynamique morphogène vraiment non-triviale (la formation de tubes poussant par leur milieu), de manière reproductible qui plus est. De la même façon, nous essaierons dans ce chapitre de comprendre dans quelle mesure la géométrie et la physique élémentaire de la croissance pulmonaire, associées aux observations de la biologie moléculaire, peuvent expliquer la formation d'un organe branché tel que l'arbre bronchique.

## 3.1 Evolution et développement du poumon chez les mammifères

L'apparition d'un appareil respiratoire aérien paraît être une condition nécessaire à un animal pour vivre hors de l'eau. Il semble effectivement que la plupart des animaux terrestres possèdent un organe respiratoire, de l'escargot au condor des Andes. Néanmoins il existe quelques espèces, y compris chez les vertébrés (par exemple, la grenouille *Barbourula kalimantanensis*, découverte à Bornéo à la fin des années 1970) dont la respiration est exclusivement cutanée. La forme que prend l'organe respiratoire aérien dépend beaucoup des espèces et de leur besoins métaboliques. Nous nous intéresserons plus particulièrement dans ce travail au poumon des mammifères.

### 3.1.1 Evolution des appareils respiratoires aériens

La respiration aérobie désigne couramment les échanges gazeux liés à l'inspiration et l'expiration initiés par la pompe buccale. Il s'agit en fait de fournir, d'une manière ou d'une autre, du dioxygène de l'air aux cellules du corps, dioxygène qui leur permet de dégrader le glucose et de produire de l'ATP (et du  $CO_2$ ), dont l'hydrolyse est susceptible de fournir l'énergie nécessaire au métabolisme cellulaire.

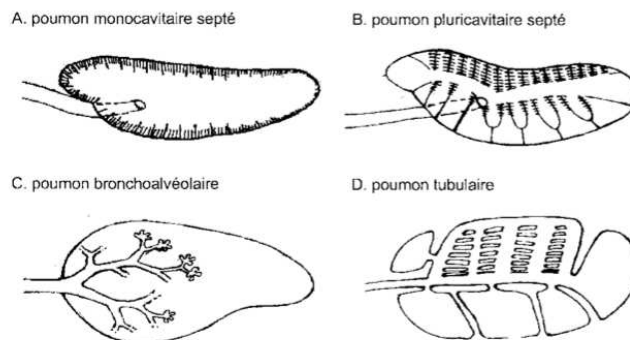
Il semble que les premiers appareils respiratoires aériens soient apparus chez les poissons il y a environ 400 millions d'années, au silurien inférieur [51], en complément de la respiration branchiale déjà présente, et ce des millions d'années avant l'apparition des premiers tétrapodes vivant à l'air libre. L'origine de l'organe à proprement parler est sujette à débat, notamment le fait de savoir dans quelle mesure les premiers appareils respiratoires aériens dérivent de la vessie natatoire des poissons primitifs (théorie qui avait été proposée par Darwin). La vessie natatoire est une poche d'air, elle aussi reliée à l'orifice buccal, qui permettait et permet encore à certains poissons d'ajuster leur masse volumique moyenne en l'emplissant ou la vidant d'air pour ajuster leur profondeur de flottaison (Fig. 3.1). Une hypothèse plus récente propose que la vessie natatoire comme le poumon soient plutôt dérivées d'une forme plus ancienne de branchies présentes chez les poissons [52].

La phylogénie des appareils respiratoires aériens a aussi été largement discutée, notamment grâce à l'étude des poumons des animaux vivant à notre époque et à l'analyse de leurs liens de parenté. Au sein des tétrapodes actuels, on distingue des poumons très différents. Notamment, chez les squamates (reptiles, lézards, ...) on trouve des poumons mono-cavitaires ou multi-cavitaires septés (Fig. 3.2) qui ne présentent pas l'arbores-



**Fig. 3.1** – Vessie natatoire de gardon.

cence propre aux poumons des mammifères, mais qui disposent néanmoins d'une surface d'échange supérieure à celle d'une simple poche. Les amphibiens, dont le métabolisme est assez faible, présentent un poumon sacculaire assez proche de celui qu'on trouve chez les dipneustes, les poissons pulmonés disposant à la fois de branchies et d'un organe complémentaire permettant de respirer à la surface). Chez les oiseaux, l'appareil respiratoire fonctionne de façon très différente. La circulation est unidirectionnelle (contrairement aux autres tétrapodes) grâce au fait que les voies de sortie et d'entrée ne sont pas les mêmes.



**Fig. 3.2** – Schémas des appareils respiratoires de différentes classes de vertébrés. Dans le sens de lecture : Poumons mono et pluri-cavitaires septés (squamates), poumon bronchio-alvéolaire (mammifères), et poumon tubulaire (oiseaux).

L'habitude, notamment dans les manuels, qui tendait à présenter les différentes formes de poumons comme des stades successifs sur une échelle linéaire de complexité croissante (dont l'aboutissement était bien sûr le poumon arborescent des mammifères !) semble largement démentie par la physiologie comparée et la paléontologie, sans compter le fait que la spécificité de l'appareil respiratoire des oiseaux était omise. Dans son article sur l'origine et l'évolution du poumon [51], E. Roux récapitule l'histoire évolutive de l'appareil respiratoire aérien des vertébrés par le schéma présenté figure 3.3.

ÉVOLUTION DU POUMON DES VERTÉBRÉS

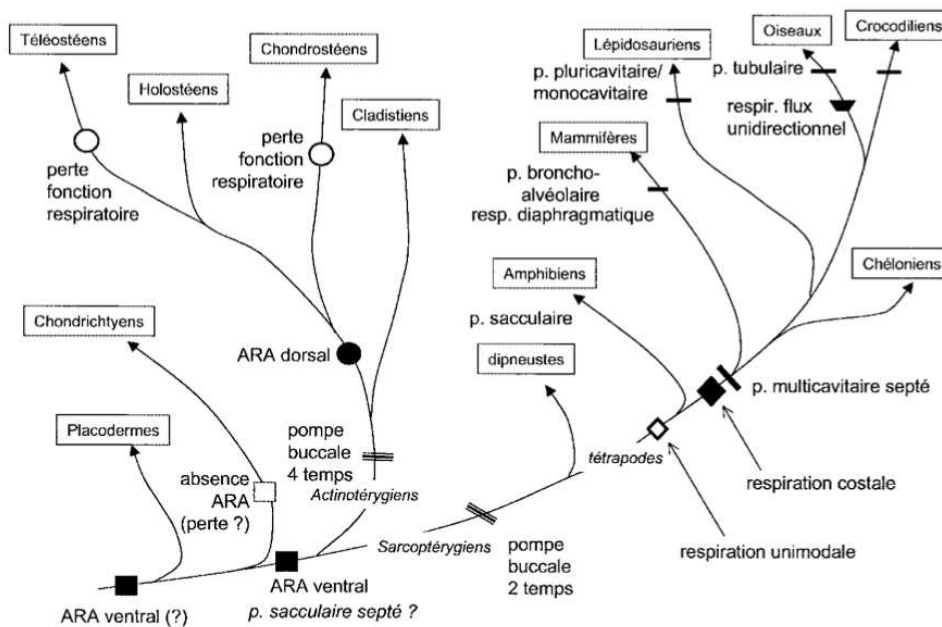
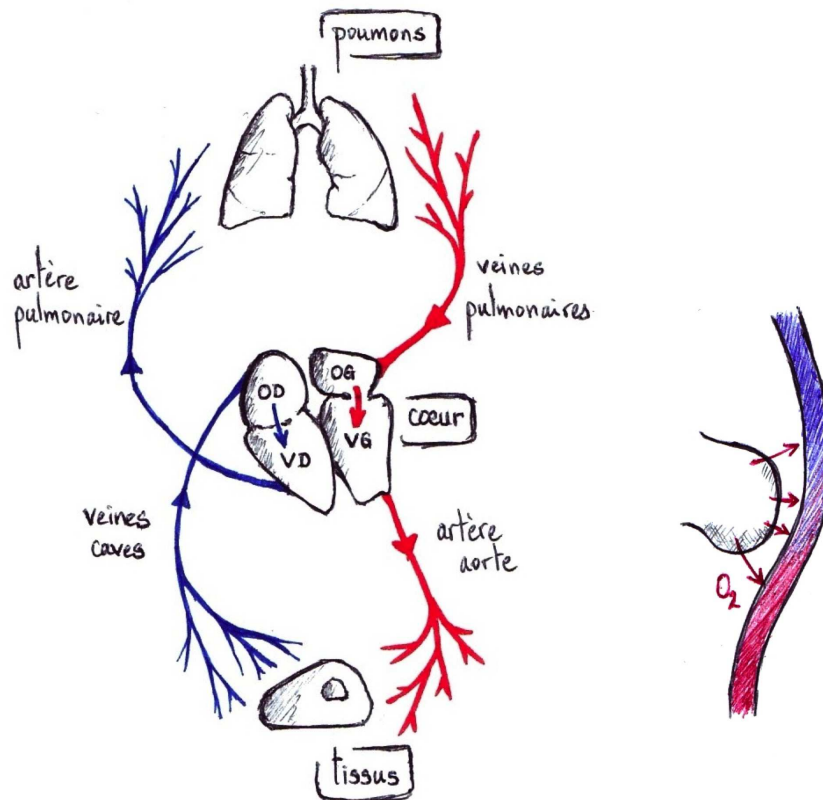


Fig. 3.3 – Schéma récapitulatif de l'évolution du poumon des vertébrés.



### 3.1.2 Le poumon chez les mammifères

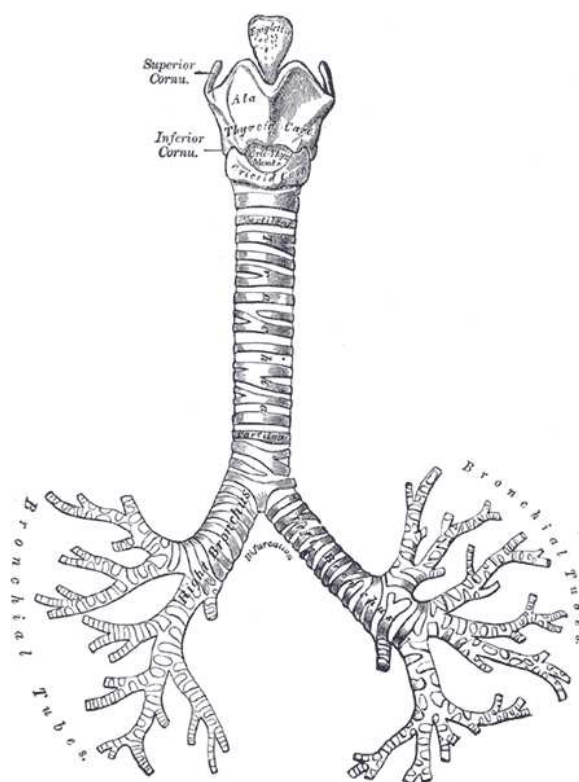
Le poumon des mammifères est un organe arborescent dont le développement a lieu dès les premiers jours ou les premières semaines selon les espèces. Le bourgeon trachéo-bronchique subit pendant le développement des branchements successifs qui finissent par constituer l'arbre bronchique. A l'inspiration, le poumon se gonfle d'air jusqu'aux terminaisons alvéolaires (des petits sacs terminaux à l'extrémité des dernières générations de bronches) et oxygène le sang par simple diffusion. Le sang revient au coeur et est envoyé vers les tissus et les organes, fournissant de l'oxygène aux cellules par diffusion depuis les capillaires. Du sang chargé en  $CO_2$  repart vers le coeur puis est renvoyé aux poumons, et une partie du  $CO_2$  est éjecté à l'expiration tandis que le sang fixe à nouveau de l'oxygène. Un schéma des deux circulations est proposé figure 3.4.



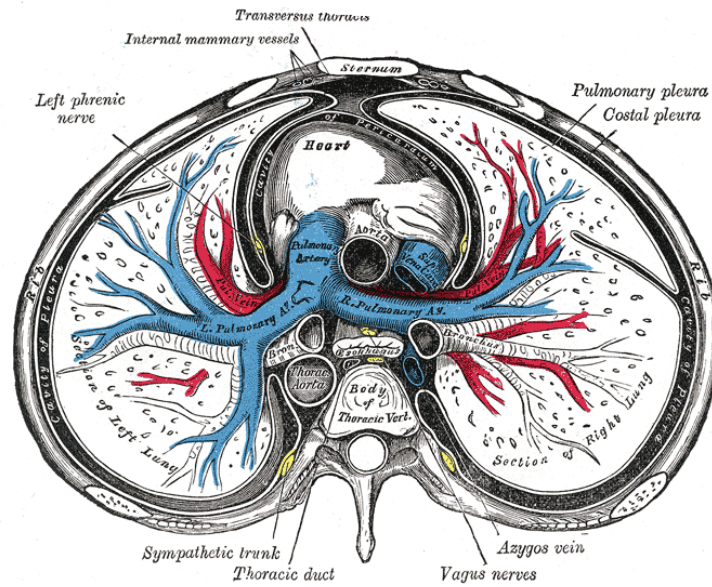
**Fig. 3.4** – Schéma de la circulation sanguine. La boucle coeur-poumon est la circulation pulmonaire ou petite circulation. La boucle coeur-tissus est la grande circulation. A droite, schéma de l'oxygénation par diffusion d'un capillaire sanguin par une terminaison bronchique.



La connaissance de la géométrie de l'arbre bronchique adulte et de son développement a fait des progrès fantastiques au cours du dix-neuvième et du vingtième siècle, tout d'abord lors de l'essor de l'anatomie systématique initiée par Henry Gray et sa fameuse "Anatomy of the Human Body" [53], comme en attestent ses magnifiques illustrations (Figs. 3.5 et 3.6). Plus récemment, dans les années 1960, une étude morphométrique poussée du poumon humain a été entreprise par E. R. Weibel, notamment dans son livre "Morphometry of the human lung" [22].

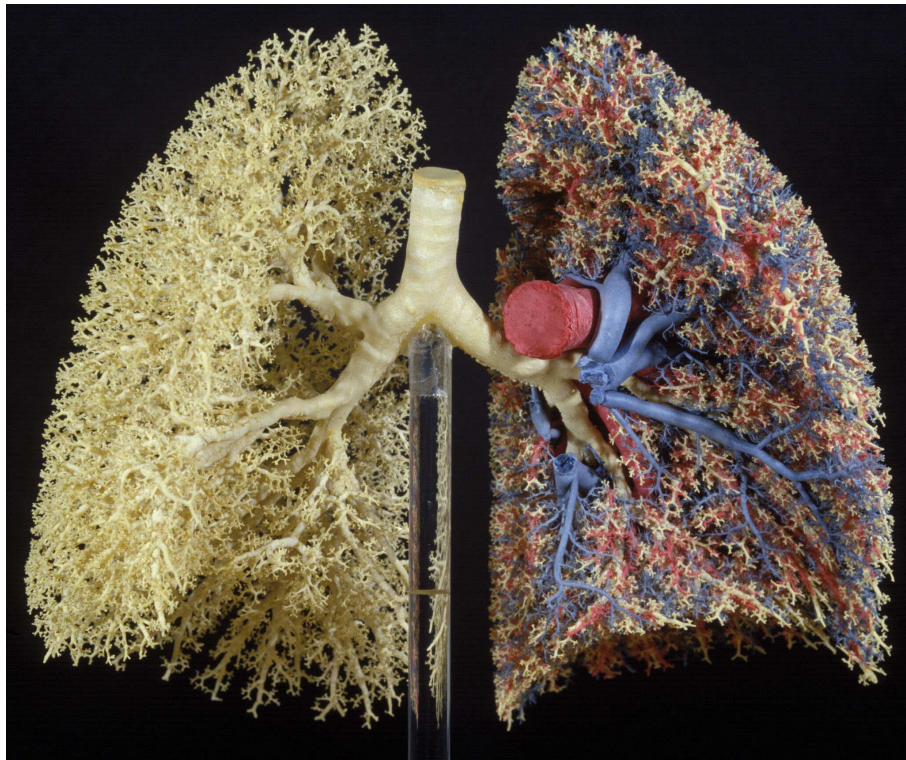


**Fig. 3.5** – Premières générations de l'arbre bronchique, par Henry Gray



**Fig. 3.6** – Schéma de la croissance de l'organe entier et des veines et artères pulmonaires, par Henry Gray.

De façon surprenante et malgré la très importante quantité de données alors fournies par Weibel, notre vision de la morphométrie du poumon humain est encore parfois simpliste. En effet, une description étonnamment répandue est celle d'un poumon presque parfaitement dichotomique, ou chaque génération est constituée de bronches de diamètres et de longueurs identiques, et égales à environ 85% des diamètres et longueurs de la génération précédente, et ce sur 23 générations. C'est des travaux de Weibel que viennent ces chiffres, alors même qu'ils les établissait comme des moyennes sur des mesures très dispersées. Nous reviendrons sur le caractère irrégulier de l'arbre bronchique et sur l'importance de cette irrégularité dans la compréhension des mécanismes de morphogenèse.

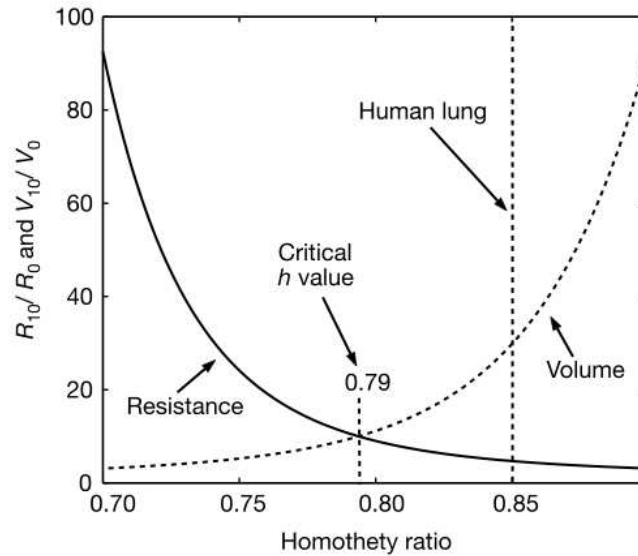


**Fig. 3.7** – Moulage en silicone d'un poumon humain adulte. A droite, on voit aussi les artères pulmonaires en bleu et les veines pulmonaires en rouge. Photographie - E.R. Weibel

### 3.1.3 La forme, solution d'un problème d'optimisation ?

La notion de fonction biologique d'un organe soulève, en particulier dans le cadre de la théorie de l'évolution, la question de son efficacité et de sa forme pour remplir cette fonction. Dans le cas du poumon des mammifères (en particulier du poumon humain), cette approche a suscité d'importants efforts de la part des chercheurs, et notamment des mathématiciens, pour quantifier le caractère optimal (ou non-optimal) de l'arbre bronchique. D'abord, le fait même que le poumon soit arborescent permet de présenter une surface d'échange bien supérieure à celle d'un simple sac de même volume, comme on peut en trouver chez d'autres espèces mentionnées plus haut. En effet, dans le cas d'un poumon humain, il est question d'une surface d'échange d'environ  $100m^2$  pour un volume de seulement quelques litres. Une partie des recherches a aussi caractérisé le caractère optimal de l'arbre en regard de la résistance hydrodynamique à l'écoulement lors du transport de gaz [26]. Il semble alors que le poumon humain et son rapport d'homothétie d'une génération bronchique à la suivante est légèrement sous-optimal, l'écart à l'optimum constituant une marge de sécurité face au danger évolutif représenté par un poumon optimal en usage

usuel, géométriquement trop proche d'un poumon catastrophique ne pouvant répondre efficacement à une demande soudainement accrue en oxygène (Fig. 3.8).



**Fig. 3.8** – La résistance et le volume du poumon humain en fonction du rapport d'homothétie permettent de définir un rapport optimal [26].

La connaissance des propriétés géométriques moyennes du poumon prennent tout leur sens dans ce genre de modélisation, puisqu'il s'agit de caractériser l'écoulement dans un poumon humain "moyen". L'étude d'un arbre moyen dichotomique et homothétique est alors d'une grande utilité. Un biais émerge en revanche si l'on essaye de comprendre les mécanismes de développement tout en considérant la forme idéalisée. En effet, pour comprendre la morphogenèse, il est nécessaire de prendre acte du fait que le poumon n'est ni dichotomique, ni homothétique. Quoiqu'il en soit, la structure complexe et hautement fonctionnelle du poumon soulève la question des mécanismes de formation, d'autant plus que le développement a lieu avant même que l'organe ne soit fonctionnel. C'est la question du développement pulmonaire que nous essaierons de traiter dans ce chapitre et dans les suivants.

## 3.2 Acteurs du développement pulmonaire

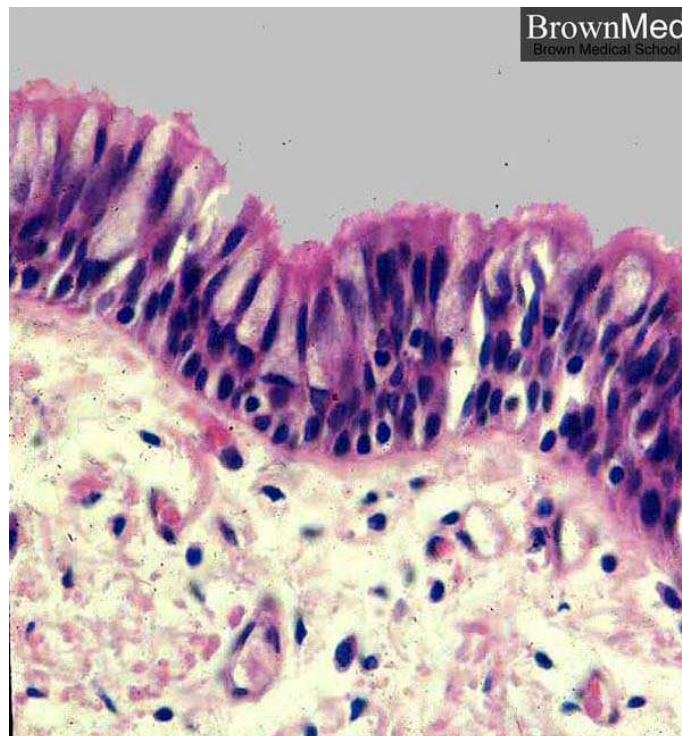
Dans cette partie nous décrirons brièvement la géométrie de la croissance pulmonaire et les acteurs biologiques, tout en essayant d'introduire les notions clés des modèles existants.



### 3.2.1 Lumière, épithélium et mésenchyme

#### L'épithélium bronchique

Les cellules épithéliales sont, d'une manière générale, les cellules en contact avec le milieu extérieur. Il s'agit notamment de la peau, mais par exemple aussi du tissu couvrant les organes internes, comme c'est le cas du poumon (Fig. 3.9). La paroi apicale des cellules épithéliales constitue la surface en contact avec le milieu extérieur, tandis que la paroi basale est tournée vers le "corps". La cavité délimitée par l'intérieur des bronches, est emplies de liquide (principalement du liquide amniotique) pendant le développement. Elle constitue donc paradoxalement le milieu extérieur (côté apical de l'épithélium), et est appelé la lumière ou le lumen. La paroi basale de l'épithélium bronchique est tournée vers le milieu cellulaire entourant l'organe, le mésenchyme. Les cellules épithéliales sont jointes les unes aux autres par les parois latérales, notamment par le biais de protéines trans-membranaires, les E-cadherines. On distingue les épithéliums simples, constitués d'une couche unique de cellules, des épithéliums stratifiés ou pseudo-stratifiés, comme celui des bronches, qui ont plusieurs couches de cellules ou une couche de cellules de tailles disparates et ne joignant pas toutes le milieu intérieur au milieu extérieur.



**Fig. 3.9** – *Epithélium bronchique humain.* Source : [www.brown.edu](http://www.brown.edu)

### **Le mésenchyme pulmonaire**

Le mésenchyme pulmonaire constitue le tissu cellulaire dans lequel pousse le lumen. Il dérive du mésoderme paraxial et forme un réseau tridimensionnel tout autour des bronches naissantes. Ce sont les cellules mésenchymateuses qui produisent les principaux facteurs de croissance pour l'épithélium, et des voies de signalisation complexes s'établissent entre les cellules du mésenchyme et les cellules épithéliales pendant le développement. C'est dans le mésenchyme que se développent les veines et artères pulmonaires, parallèlement au développement des bronches. Les cellules mésenchymateuses se divisent par ailleurs activement pendant la croissance de l'organe. Le mésenchyme est lui-même encapsulé par la plèvre viscérale, qui se différencie elle aussi pendant que les bronches grandissent. Une photographie de coupe de poumon embryonnaire de souris au 13<sup>ème</sup> jour est proposée figure 3.10. On peut y voir la lumière, l'épithélium bronchique, le mésenchyme, et le mésothélium pleural (plèvre viscérale).

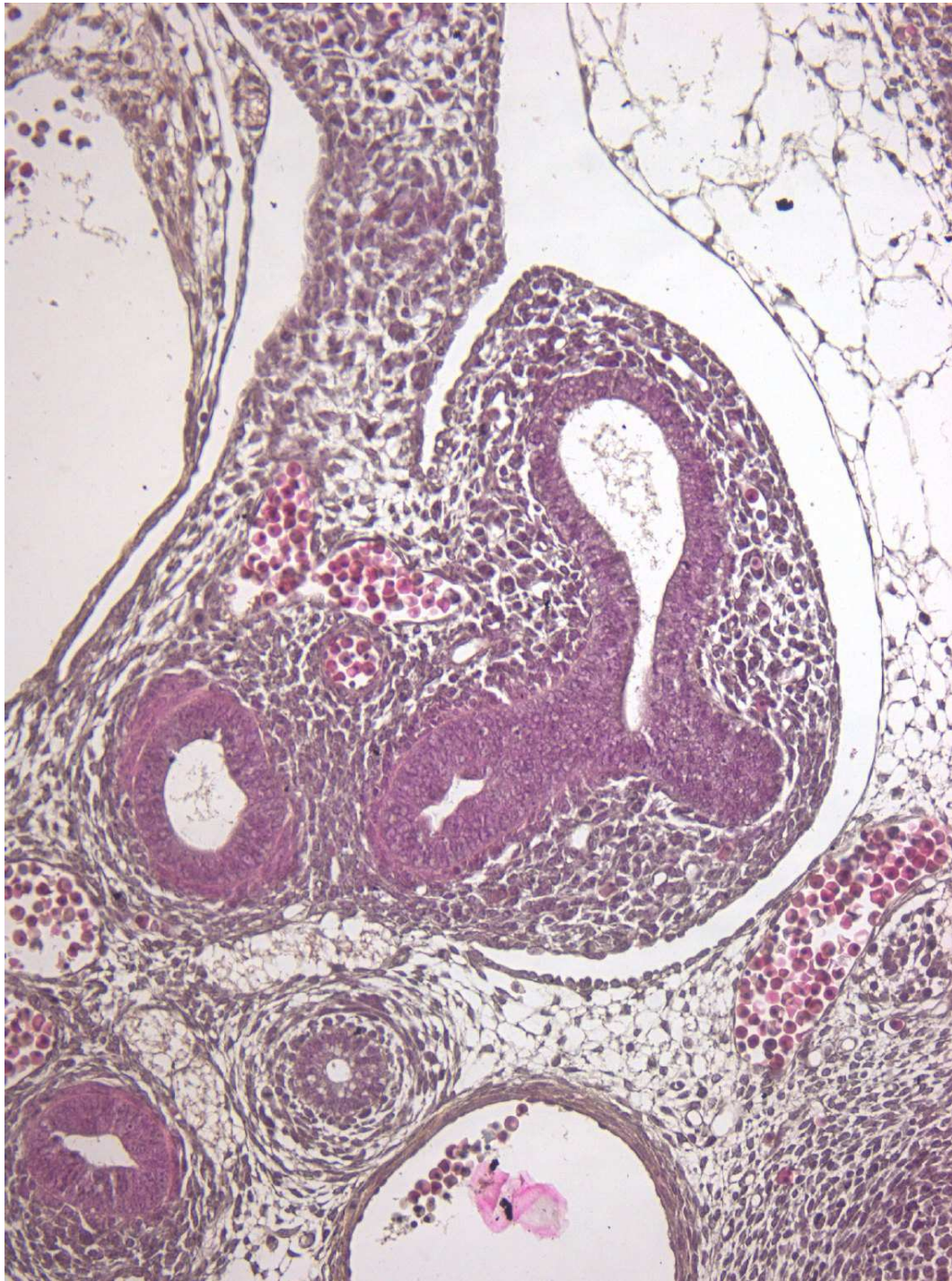
### **Les phases du développement**

Pendant la phase dite embryonnaire (jours 30 à 50 chez l'homme environ, jours 9 à 12 ou 13 chez la souris), le bourgeon trachéo-bronchique se forme au niveau du pharynx. Les premiers branchements, déjà asymétriques, déterminent en premier lieu les deux poumons (gauche et droit), puis les différents lobes, dont le nombre varie d'un animal à l'autre, comme la place occupée par le cœur. Chez l'homme, le poumon gauche forme deux lobes et le droit, trois lobes, tandis que chez la souris, le gauche ne forme qu'un lobe et le gauche, quatre.

Le stade suivant, appelé stade pseudo-glandulaire, désigne le développement de l'arborescence avant la formation des dernières générations et des sacs terminaux, les acini. Le stade caniculaire voit se former les dernières générations et les sacs terminaux. Pendant la phase sacculaire, les acini gonflent jusqu'à emplir quasiment tout l'espace, le mésenchyme ne formant plus qu'un fin réseau, comme des films de savon dans une mousse (Fig. 3.12). Contrairement à ce qui se passe chez la souris, le développement des alvéoles commence chez l'humain avant la naissance.

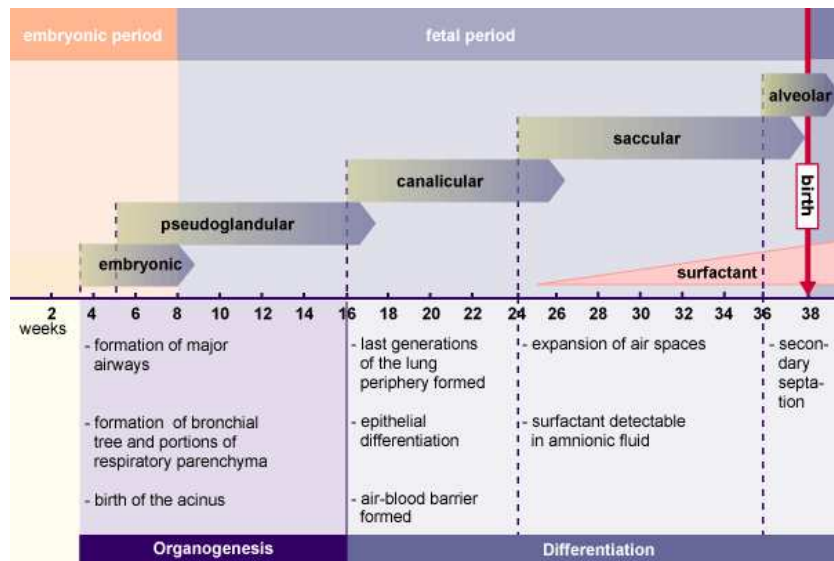
### **Les premiers jours du développement**

Dans ce travail nous nous intéresserons principalement à la formation de l'organe et aux premiers jours du développement, qui voient la succession des premières générations bronchiques. La figure 3.13 schématise les premiers stades du développement embryonnaire du poumon chez les mammifères. On voit bien les branchements successifs que subit

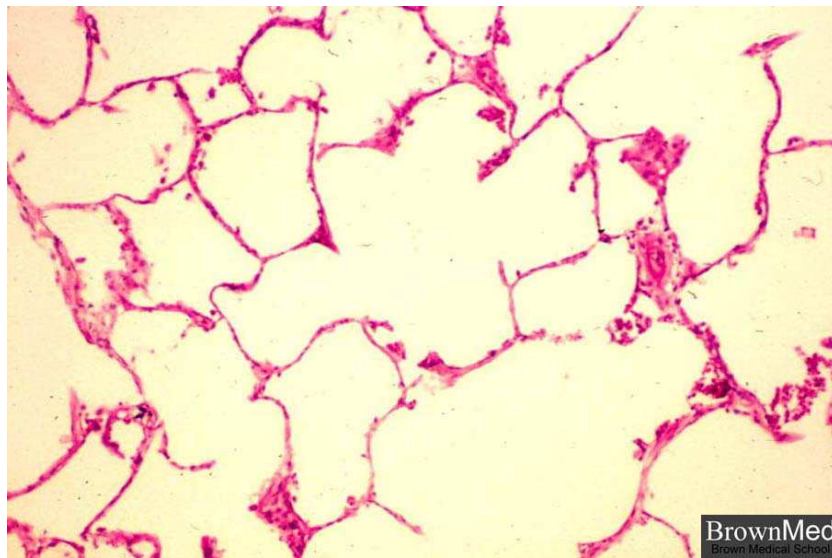


**Fig. 3.10** – Coupe transversale de poumon embryonnaire (E13). On distingue bien les cavités bronchiques délimitées par l'épithélium et poussant dans un milieu cellulaire encapsulé par la plèvre, le mésenchyme pulmonaire.





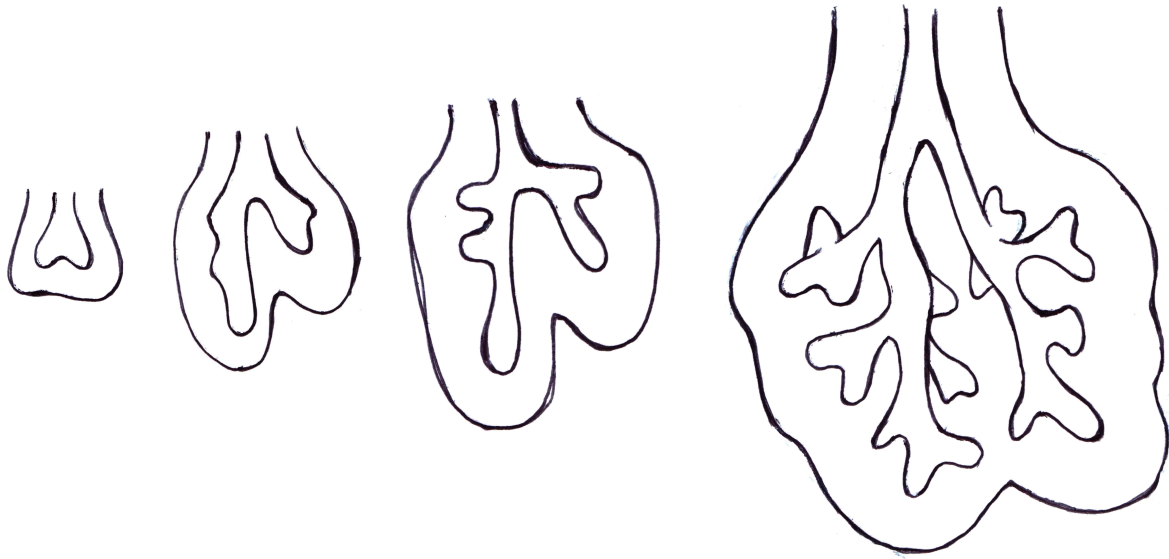
**Fig. 3.11** – *Les phases du développement pulmonaire.* Source : [www.embryology.ch](http://www.embryology.ch) .



**Fig. 3.12** – *Alveoles pulmonaires.* Le mésenchyme est limité à un espace interstitiel très réduit. Source : [www.brown.edu](http://www.brown.edu) .



l'épithélium bronchique, jusqu'à former un début d'arbre pulmonaire.



**Fig. 3.13** – Schéma du développement embryonnaire du poumon chez les mammifères.

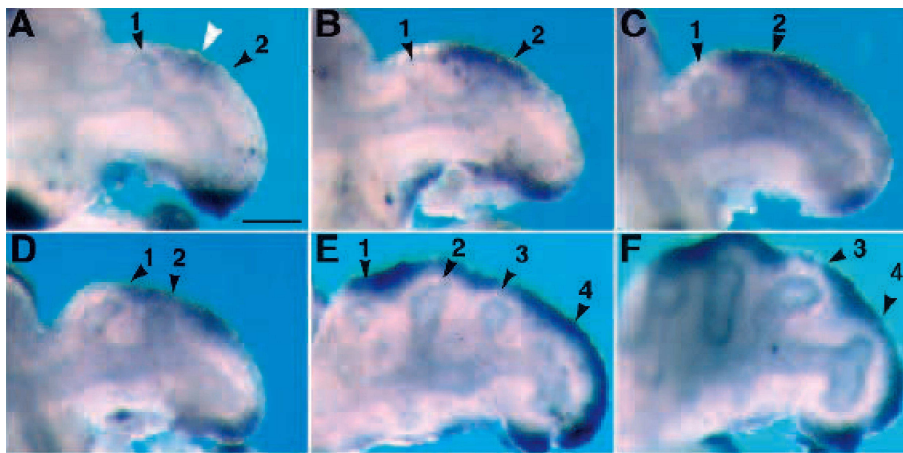
### 3.2.2 Aperçu de la génétique du développement pulmonaire

Comme il en est fait mention plus haut, la biologie du développement a subi une révolution avec l'avènement des techniques de biologie moléculaire, désormais omniprésentes. Notamment, les techniques d'amplification *in vitro* de l'ADN, les PCR, et de marquage des transcrits (hybridation *in situ*) sont utilisées pour avoir une idée à la fois quantitative ou semi-quantitative (PCR) et spatiale (*in situ*) du niveau d'expression d'un gène d'intérêt. Dans cette partie nous verrons, sans faire de catalogue, quels sont les principaux gènes et voies de signalisation impliqués dans la morphogenèse pulmonaire. Selon la terminologie standard, les gènes sont en italique, et les protéines pour lesquelles ils codent, en majuscule.

#### *Fgf10*

*Fgf10* est un gène de la grande famille des fibroblast growth factors, dont les différents membres jouent un rôle crucial durant le développement, aussi bien pour la formation des membres que pour l'organogenèse [54]. En dehors du poumon, *Fgf10* est impliqué dans la formation des glandes salivaires [55], ou lacrimales, du palais [56], entre autres. *Fgf10* est

exprimé par les cellules mésenchymateuses et la protéine FGF10 diffuse jusqu'aux cellules épithéliales, qui la reçoivent via un récepteur trans-membranaire, FGFR2b, activant des voies de signalisation Ras/MapK [57]. L'effet de FGF10 sur l'épithélium est prolifératif et chemotactique [58, 59]. L'étude du motif d'expression de *Fgf10* pendant le développement montre qu'il est exprimé dans le mésenchyme distal, c'est à dire près du bord extérieur du mésenchyme matérialisé par le mésothélium pleural, comme le montre la figure 3.14. Plus précisément, il semble qu'à l'approche d'une bronche, l'expression de *Fgf10* se sépare en deux foyers de part et d'autre de cette bronche, de telle sorte qu'il semble préfigurer du prochain branchement, en direction des deux foyers [58]. D'autre part, sa délétion, ou celle de son récepteur *Fgfr2b* induit une agénésie quasi totale du poumon. La combinaison de ces deux observations ont établi le rôle clef de FGF10 lors du développement pulmonaire [60], et ont montré son rôle "morphogène", c'est à dire régulant la croissance de l'épithélium de façon susceptible de mener à la forme.



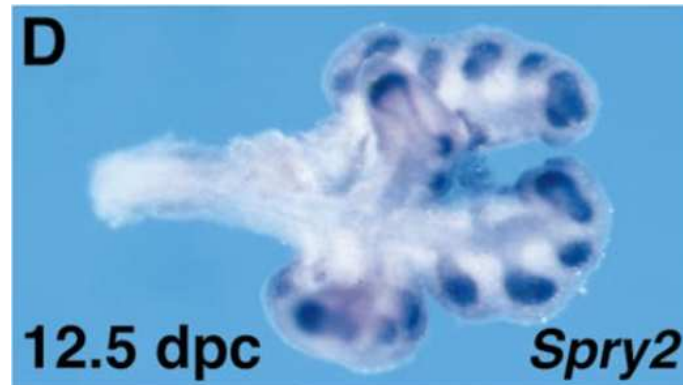
**Fig. 3.14** – *Fgf10* est exprimé dans le mésenchyme distal, comme le montrent les expériences d'hybridation *in situ* de Bellusci et al. [58].

### *Sprouty2*

*Sprouty2* est connu pour inhiber l'action de FGF10. Il est exprimé par les cellules épithéliales et induit par la réception de FGF10, en particulier sur la partie distale des bronches. Son expression est faible au niveau des anciens sites de branchements (creux entre les bronches) [61]. La sous-expression de *Sprouty2* conduit à la formation d'un plus grand nombre de branches et sa sur-expression à des poumons plus petits dus à une réduction de la prolifération cellulaire.

De manière intéressante, on trouve les homologues de *Fgf10*, *Fgfr2b* et *Sprouty2* chez la drosophile (chez laquelle leur découverte était d'ailleurs antérieure). Ils sont respec-

tivement appelés *Branchless*, *Breathless* et *Sprouty*, et jouent un rôle similaire lors du développement de la trachée [62].

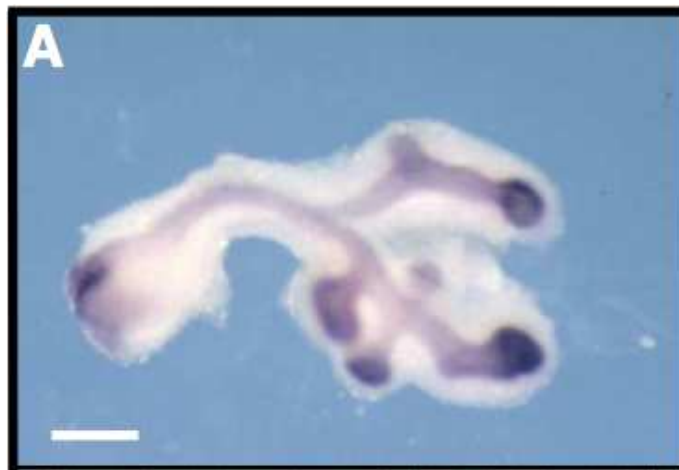


**Fig. 3.15** – *Spry2* est exprimé par les cellules de l'épithélium distal, à l'extrémité des bronches en croissance, comme le montrent les expériences d'hybridation *in situ* de Mailloux et al. [61].

### ***Sonic Hedgehog***

*Sonic Hedgehog* (*Shh*), qui doit son nom aux pointes que sa délétion provoque sur les embryons de drosophiles et au légendaire hérisson créé par SEGA est un autre inhibiteur de *Fgf10*. Comme *Sprouty2*, il est produit par les cellules épithéliales et induit par la réception de *Fgf10* [63], mais contrairement à ce dernier, il agit au niveau transcriptionnel. SHH diffuse vers le mésenchyme et est reçu par les cellules mésenchymateuses grâce au récepteur *Ptc*, inhibant l'expression de *Fgf10* et conduisant à un pattern d'expression de *Fgf10* beaucoup plus diffus dans tout le mésenchyme. Par ailleurs, SHH joue un rôle de facteur de croissance pour les cellules du mésenchyme [64], et sa sur-expression induit un sur-développement du mésenchyme pulmonaire. Lors de la délétion de *Shh*, la trachée ne se sépare pas de l'oesophage (avant même la formation des premières bronches). De récents travaux montrent que l'inhibition de *Fgf10* par *Shh* et *Tgf- $\beta$*  pourraient être à eux seuls responsables du pattern d'expression distal de *Fgf10* dans le mésenchyme [65].

Beaucoup d'autres gènes sont impliqués dans le développement pulmonaire, dont la délétion peut avoir des conséquences plus ou moins désastreuses pour le sujet. Un tableau récapitulatif issu de la littérature [66] est proposé figure 3.17.



**Fig. 3.16** – *Shh* est exprimé par les cellules de l'épithélium distal, comme *Spry2*, comme le montrent les expériences d'hybridation *in situ* de Bellusci et al. [63].

**Table 1. Examples of mutations in mouse giving a reported lung and/or tracheal phenotype**

Gene symbol	Gene name	Expression pattern	Phenotype	Reference
<b>Signaling molecule</b>				
<i>Egfr</i>	Epidermal growth factor receptor	Epithelium and mesenchyme	Impaired branching and deficient alveolization	Miettinen et al. (1997)
<i>Fgf18</i>	Fibroblast growth factor 18	Mesenchyme	Deficient alveolization	Usui et al. (2004)
<i>Fgf9</i>	Fibroblast growth factor 9	Epithelium and pleura	Impaired branching, reduced mesenchyme	Colvin et al. (2001)
<i>Grem1</i>	Gremlin 1	Epithelium and mesenchyme	Deficient alveolization	Michos et al. (2004)
<i>Hip1</i>	Huntingtin-interacting protein 1	Mesenchyme	Impaired branching	Chuang et al. (2003)
<i>Shh</i>	Sonic hedgehog	Epithelium	Impaired branching, tracheoesophageal fistula	Litingtung et al. (1998)
<i>Tgfb3</i>	Transforming growth factor, $\beta$ 3	Epithelium and pleura	Impaired branching	Kaartinen et al. (1995)
<i>Wnt7b</i>	Wingless-related MMTV integration site 7B	Epithelium	Vascular defect, reduced mesenchyme	Shu et al. (2002)
<i>Catnbl1</i>	$\beta$ -Catenin	Epithelium	Impaired branching, proximal/distal specification	Mucenski et al. (2003)
<i>Ltbp4</i>	Latent transforming growth factor $\beta$ binding protein 4	Not reported	Pulmonary emphysema	Sterner-Kock et al. (2002)
<i>Wnt5a</i>	Wingless-related MMTV integration site 5A	Mesenchyme and epithelium	Increased branching, tracheal defect	Li et al. (2002)
<i>Fgf10</i>	Fibroblast growth factor 10	Mesenchyme	Lung agenesis	Sekine et al. (1999)
<i>Fgfr2b</i>	Fibroblast growth factor receptor 2b	Epithelium	Lung agenesis	De Moerlooze et al. (2000)
<i>Fgf8</i>	Fibroblast growth factor 8	Not reported	Right pulmonary isomerism	Fischer et al. (2002)
<i>Acrv2b</i>	Activin receptor IIB	Not reported	Right pulmonary isomerism	Oh and Li (1997)
<i>Nodal</i>	Nodal	Not reported	Right pulmonary isomerism	Lowe et al. (2001)
<i>Lefty1</i>	Left right determination factor 1	Not reported	Left pulmonary isomerism	Meno et al. (1998)
<i>Traf4</i>	Tnf receptor associated factor 4	Not reported	Tracheal defect	Shiels et al. (2000)
<i>Fgfr3/Fgfr4</i>	Fibroblast growth factor receptor 3/4	Epithelium and mesenchyme	Deficient alveolization	Weinstein et al. (1998)
<i>Nog</i>	Noggin	Mesenchyme	Lobation defect	Weaver et al. (2003)
<b>Transcription factor</b>				
<i>Cebpa</i>	CCAAT/enhancer binding protein (C/EBP), $\alpha$	Epithelium	Hyperproliferation of type II cells	Sugahara et al. (2001)
<i>Foxa1/Foxa2</i>	Forkhead box A1/A2	Epithelium	Impaired branching, reduced smooth muscle	Wan et al. (2005)
<i>Foxf1a</i>	Forkhead box F1a	Mesenchyme	Impaired branching, lobation defect	Lim et al. (2002)
<i>Hoxa5</i>	Homeobox A5	Mesenchyme	Impaired branching, tracheal defect	Aubin et al. (1997)
<i>Klf2</i>	Kruppel-like factor 2 (lung)	Not reported	Impaired sacculization	Wani et al. (1999)
<i>Mycn</i>	Neuroblastoma myc-related oncogene 1	Epithelium	Impaired branching	Moens et al. (1992)
<i>Trp63</i>	Transformation-related protein 63	Epithelium	Tracheobronchial defect	Daniely et al. (2004)
<i>Titf1</i>	Thyroid transcription factor 1	Epithelium	Loss of distal lung fate, impaired branching, tracheoesophageal fistula	Kimura et al. (1996)
<i>Nfib</i>	Nuclear factor I/B	Epithelium and mesenchyme	Sacculization defect	Steele-Perkins et al. (2005)
<i>Sox11</i>	SRY-box-containing gene 11	Epithelium	Hypoplastic lung	Sock et al. (2004)
<i>Tcf21</i>	Transcription factor 21 (Pod1)	Mesenchyme	Impaired branching	Quaggin et al. (1999)
<i>Rarb/Rara</i>	Retinoic acid receptor $\alpha/\beta$	Epithelium and mesenchyme	Left lung agenesis and right lung hypoplasia	Mendelsohn et al. (1994)
<i>Pitx2</i>	Paired-like homeodomain transcription factor 2	Mesenchyme	Right pulmonary isomerism	Lin et al. (1999)
<i>Foxj1</i>	Forkhead box J1	Epithelium	Left-right asymmetry, loss of ciliated cells	Brody et al. (2000)
<i>Gata6</i>	GATA-binding protein 6	Epithelium	Impaired sacculization	Yang et al. (2002)
<i>Gli2/Gli3</i>	GLI-Kruppel family member GLI2/GLI3	Mesenchyme	Lung agenesis	Motoyama et al. (1998)
<i>Ascl1</i>	Achaete-scute complex homolog-like 1	Neuroendocrine cells	Loss of neuroendocrine cells	Ito et al. (2000)
<b>Others</b>				
<i>Eln</i>	Elastin	Mesenchyme	Deficient alveolization	Wendel et al. (2000)
<i>Lmnb1</i>	Lamin B1	Epithelium and mesenchyme	Deficient alveolization	Vergnes et al. (2004)
<i>Lama5</i>	Laminin $\alpha$ 5	Epithelium and pleura	Defective lobation	Nguyen et al. (2002)
<i>Pcaf</i>	p300/CBP-associated factor	Epithelium and mesenchyme	Defective proximal and distal epithelial cell differentiation	Shikama et al. (2003)
<i>Adam17</i>	A disintegrin and metallopeptidase domain 17	Epithelium	Impaired epithelial differentiation, impaired branching	Zhao et al. (2001)
<i>Crh</i>	Corticotropin releasing hormone	Epithelium	Defective epithelial and mesenchymal maturation	Peschon et al. (1998)
<i>Pthlh</i>	Parathyroid hormone-like peptide	Epithelium	Deficient alveolization	Muglia et al. (1999)
<i>Itga3</i>	Integrin $\alpha$ 3	Epithelium	Impaired branching	Rubin et al. (2004)
<i>Cutl1</i>	Cut-like 1	Epithelium	Impaired epithelial differentiation	Kreidberg et al. (1996)
				Ellis et al. (2001)

**Fig. 3.17** – Tableau récapitulatif des gènes impliqués dans le développement pulmonaire, et du phénotype associé aux mutations.



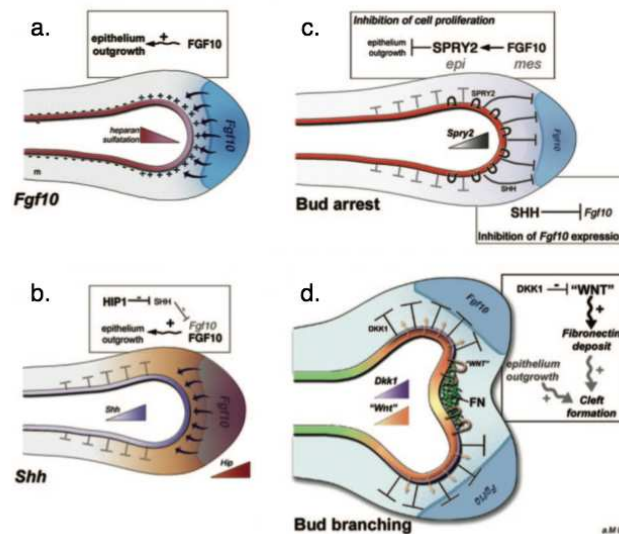
## 3.3 Construction d'un modèle

### 3.3.1 Les modèles de développement

Assez logiquement, les observations mentionnées plus haut ont conduit les généticiens du développement à divers modèles qualitatifs intégrant l'action des gènes mentionnés plus haut et essayant de construire un scénario cohérent pour expliquer le phénomène de branchement, qui constitue en quelque sorte la brique élémentaire de la croissance pulmonaire. La croissance de l'organe y apparaît souvent comme le fruit de l'interaction de voies de signalisations complexes dont les bases viennent d'être évoquées.

#### Le modèle "standard"

Sans bien sûr être réellement consensuel, le modèle présenté par D. Warburton et al. dans une revue sur les mécanismes moléculaires impliqués dans la morphogenèse pulmonaire récapitule assez bien ce que la communauté a pu observer [67]. Un résumé (très) simplifié du modèle en question est présenté figure 3.18.



**Fig. 3.18** – Schéma simplifié du mécanisme proposé par Warburton et al. [67].

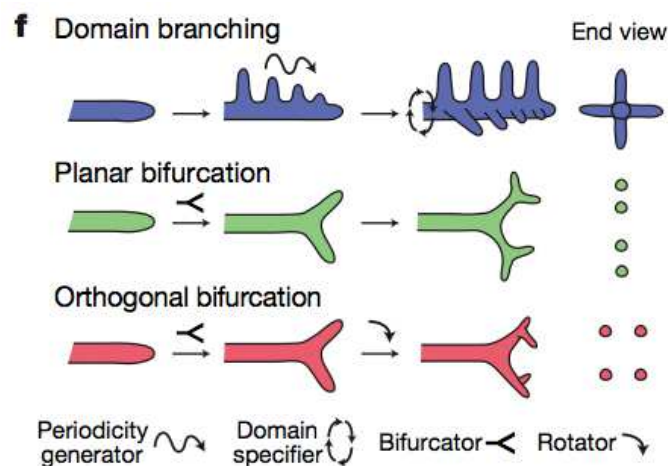
Les deux premières images résument les actions respectives de *Fgf10* et *Shh* sur un bourgeon bronchique. La troisième figure rend compte de l'autorégulation de *Fgf10*, qui induit son propre inhibiteur, provoquant ainsi l'arrêt du bourgeon. La dernière figure traduit assez bien l'incompréhension que soulève le branchement lui même, puisque les

auteurs y proposent un nouveau mécanisme lié à la voie de signalisation *Wnt/DKK* induisant la formation d'un amas de fibronectine qui forcerait le bourgeon à se séparer (théorie "rock in the stream"); mais évoquent malgré tout l'expression en deux foyers de *Fgf10* et son effet chemotactique.

Par ailleurs, on peut se demander si la théorie "rock in the stream" peut réellement rendre compte du branchement, d'une part parce qu'on ne voit pas très bien à quoi serait "attachée" la fibronectine, d'autre part parce qu'un "caillot" de fibronectine, dans un espace à trois dimensions, ne séparerait pas la branche en deux : pour avoir un tel effet, il faudrait une "barre" de fibronectine.

### L'approche "génétique algorithmique"

Face à la quantité de gènes impliqués et à la complexité des boucles de régulation, l'idée de trouver un scénario simple et cohérent à l'échelle de l'organe entier et de réduire au minimum les mécanismes fondamentaux ont conduit à des modèles assez différents et assez nouveaux, comme celui publié dans Nature par Metzger et al. en 2008 [68].



**Fig. 3.19** – Les trois modes de branchements recensés par les auteurs découlent de l'action dans un certain ordre d'opérateurs : le *periodicity generator*, le *domain specifier*, le *bifurcator* et le *rotator*.

Leur modèle repose sur l'existence de trois principaux modes de branchements observés dans le poumon (bifurcation planaire, orthogonale, et side-branching). L'idée est de montrer que l'action de quatre opérateurs hypothétiques (rotator, bifurcator, domain specifier et periodicity generator) dans des ordres différents peuvent mener à ces modes de branchements (Fig. 3.19). Cette hiérarchie permet l'encodage sous forme d'une sous-routine simple, mais exhaustive : chaque branchement est supposé y être encodé comme

le fruit de l'action des opérateurs, dans le temps et dans l'espace. Cette vision suppose un arbre très stéréotypé, où tel branchement est toujours du même mode d'un individu à l'autre. Les auteurs s'attachent à qualifier cette reproductibilité en caractérisant le mode de chaque branchement individuellement sur les premières générations bronchiques de nombreux individus. Ils mesurent malgré tout pour certains branchements des taux "d'erreurs" (par rapport au mode le plus courant) allant jusqu'à plus de 50% (est-il alors réellement légitime de parler d'erreur?), et n'évoquent pas les répercussions de ces "erreurs" sur les générations suivantes. De plus, un trait frappant du poumon est l'évitement mutuel des différentes branches. Dans ce modèle, seul l'encodage exhaustif dans le temps et l'espace évoqué plus haut peut éviter la rencontre de branches. Comment alors expliquer que les "erreurs" ne se soldent pas par des collisions? Le branchement lui même est supposé survenir sous l'action du "bifurcator", mais le mécanisme de branchement à proprement parler n'est pas discuté.

Cette démarche constitue finalement une approche analytique ou même algorithmique de la morphogenèse, sans proposer de mécanismes explicites pour les branchements, encodés comme de simples événements élémentaires. Elle se rapproche d'une démarche assez "numérique" où l'on cherche à trouver un set minimum de règles à appliquer à la branche mère pour former l'arbre, mais où ces règles (brancher, s'allonger, etc...) sont introduites de façon ad-hoc, sans mécanisme responsable, à l'instar des L-systems pour la modélisation de la croissance des plantes.

### Modèles physiques

Le "tip-splitting" spontané, c'est à dire la séparation de branches mères en branches filles, étant présent dans la nature dans des systèmes dépourvus de gènes, comme dans la digitation visqueuse où la cristallisation, une des pistes qui a été explorée est aussi celle des mécanismes physiques de formation d'arborescence. Ainsi, V. Fleury [69], ou S. Lubkin [70], par des simulations qu'elle a elle même qualifiées de trop simplistes et biologiquement irrecevables, ont évoqué l'éventualité d'un mécanisme similaire à celui de l'instabilité de Saffman-Taylor, donnant le rôle de moteur du branchement à la surpression intraluminaire. M. Unbekandt a par la suite montré dans sa thèse [71] le rôle crucial que jouait effectivement la surpression intraluminaire dans le développement du poumon, notamment par des expériences d'occlusion de la trachée, augmentant cette surpression et du même coup le rythme de croissance de l'organe. Il propose alors un modèle à l'échelle du branchement unique où le niveau d'expression de *Fgf10* dans le mésenchyme est régulé par la contrainte mécanique dans le mésenchyme, et qui mène effectivement au tip-splitting.



### 3.3.2 Construction du modèle

#### Ambitions

Notre idée de construire un modèle de morphogenèse pulmonaire est profondément motivée par les importantes lacunes évoquées plus haut. Nous souhaitons donc introduire un modèle simple, à l'échelle de l'organe entier, permettant d'appréhender le mécanisme responsable du branchement et de sa régulation.

La construction d'un modèle doit reposer sur les observations expérimentales de la biologie du développement, en réduisant au minimum les contributions des différents acteurs du développement pour extraire l'essence du mécanisme. Les modèles physiques ou géométriques de morphogenèse reposent sur l'émergence spontanée de formes dans une géométrie donnée avec des règles d'interaction données. Il revient donc au modélisateur d'intégrer la géométrie du problème et les interactions observées ou supposées des différentes parties, et d'une part de voir ce qui peut en émerger, d'autre part de l'expliquer.

Dans le cas de l'organogenèse, l'ambition d'un modèle doit être de rendre compte, au moins qualitativement, des traits frappants de la géométrie de l'organe en croissance, et d'en déterminer les mécanismes de croissance. Ces traits frappants, évoqués plus haut, sont les suivants :

- L'épithélium subit des branchements répétés qui mènent à une structure arborescente.
- Les branches de l'arbre ne se rencontrent jamais. Cette propriété non triviale dans une géométrie si confinée doit être inscrite dans le mécanisme même de morphogenèse.
- L'épithélium distal (le bout des bronches) n'atteint jamais le mésothélium pleural, et reste à distance en apparence constante alors que l'épithélium comme le mésenchyme sont en croissance.
- Les bronches sont en moyenne de plus en plus petites d'une génération à l'autre, avec un rapport d'homothétie moyen d'environ 85%.

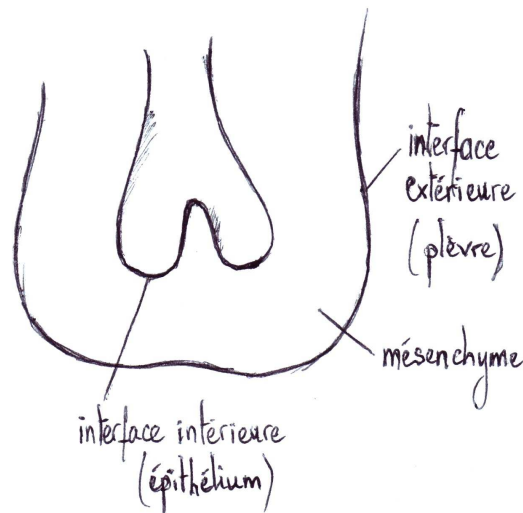
Le géométrie du poumon embryonnaire est qualitativement bien décrite par ces quelques caractéristiques. Malgré leur caractère élémentaire et en apparence incontournable pour décrire l'organe, beaucoup de modèles de développement ne soulèvent pas les questions que posent ces traits frappants. Le danger est alors de présupposer implicitement la forme pour expliquer sa formation, ce qui constitue une aberration théorique.

#### Géométrie du problème

La base de tout modèle de croissance est une géométrie donnée, susceptible d'évoluer sous l'action des paramètres du modèles. La croissance pulmonaire consiste, d'un point

de vue topologique, en un problème de basse dimensionnalité : c'est la croissance d'une surface, l'épithélium, dans un volume, le mésenchyme, qui croît lui même à l'intérieur d'une seconde surface, matérialisée par la plèvre.

Notre géométrie consistera donc en deux interfaces libres (Fig. 3.20). La première interface représente l'épithélium bronchique en croissance, à l'intérieur duquel se trouve le fluide intraluminal. La deuxième interface représente donc la paroi externe du mésenchyme, le mésothélium, qui est aussi une interface libre. Entre ces deux interfaces libres se situe le mésenchyme. Selon les données traitées et les simulations, nous passerons d'un modèle où les surfaces épithéliales et pleurales seront de simples lignes poussant dans un plan (1D dans 2D), à un modèle où elles seront effectivement des surfaces poussant dans un volume (2D dans 3D).



**Fig. 3.20** – Une interface intérieure, l'épithélium, pousse dans le mésenchyme, encapsulé par le mésothélium pleural.

### ***Fgf10* comme moteur de la croissance**

Les observations expérimentales qu'on trouve dans la littérature montrent bien le rôle prolifératif crucial exercé par FGF10, puisque sa délétion provoque une agénésie de l'organe. En partant du motif d'expression de *Fgf10* dans le mésenchyme, nous essaierons en premier lieu de modéliser ce patterning par un champ scalaire (de concentration en FGF10, par exemple) et de confronter les résultats obtenus avec les données de la littérature. Il apparaît aussi que les gènes induits par la réception épithéliale de FGF10 sont exprimés

principalement sur la partie distale des bronches, laissant supposer que c'est le lieu de réception de FGF10 principal. Nous essaierons donc aussi de voir de quelle manière l'expression de *Sprouty2* ou *Shh* peuvent être comprises dans le cadre du motif d'expression de *Fgf10*.

En ce qui concerne la croissance, il apparaît que la prolifération épithéliale est fonction de la quantité de FGF10 reçue. Pour implémenter la croissance dans le modèle et ainsi pouvoir travailler à la question de la morphogenèse, nous travaillerons sur le flux diffusif de FGF10 reçu par l'épithélium.

Avant de passer à l'écriture explicite des champs, il est très important de souligner la différence entre l'expression du gène, qui peut être patternée dans l'embryon, et la concentration de la protéine pour laquelle code le gène, susceptible d'être patternée elle aussi mais de manière a priori différente, et de revenir rapidement sur la notion de gradient. La référence dans la littérature aux "gradients" de morphogènes sont parfois peu clairs sur l'objet du gradient en question. Pour le poumon par exemple, on a vu que *Fgf10* était exprimé de façon localisée dans le mésenchyme distal. Cela constitue un gradient d'expression, dû à un champ d'*expression* inhomogène. La protéine FGF10 est quant à elle synthétisée par les cellules ayant exprimé *Fgf10*, et diffuse dans la matrice extracellulaire du mésenchyme. La concentration en FGF10 est donc aussi inhomogène, ce qui implique un gradient de *concentration*. Ce gradient dépend, tout comme le champ de concentration lui même, des conditions aux limites, entre autres leur lieu de synthèse. Mais il est crucial de ne pas faire l'amalgame entre le champ d'expression de *Fgf10* et le champ de concentration en FGF10, ou entre leur gradient.

# Chapitre 4

## Modèle de morphogenèse pulmonaire

### Sommaire

---

<b>4.1</b>	<b>Modèle statique et comparaison expérimentale</b>	<b>87</b>
4.1.1	Modélisation de la concentration en FGF10	87
4.1.2	Calcul numérique du champ et du flux : Eléments finis	89
4.1.3	Comparaison expérimentale	90
<b>4.2</b>	<b>Modèle dynamique : croissance</b>	<b>96</b>
4.2.1	Principe : front tracking pour deux interfaces	96
4.2.2	Réponse en croissance	98
<b>4.3</b>	<b>Simulations numériques</b>	<b>100</b>
4.3.1	Réponse en croissance proportionnelle aux flux	100
4.3.2	Fonctions non-triviales du flux	112

---

### 4.1 Modèle statique et comparaison expérimentale

Nous avons tenté de définir les éléments clefs nécessaires à l'élaboration d'un modèle simple. Dans un premier temps nous allons établir et tester un champ modèle et évaluer, qualitativement, son intégrité du point de vue de la biologie à un instant donné. Puis, nous essaierons de voir si ce modèle reste robuste si l'on considère la croissance de l'organe.

#### 4.1.1 Modélisation de la concentration en FGF10

L'idée étant de partir d'un champ modèle pour FGF10, il s'agit en premier lieu de déterminer une équation scalaire simple donnant la concentration  $c$  de FGF10 en chaque point de l'espace et à chaque instant. Le champ de concentration en protéine FGF10 résulte de la diffusion dans le mésenchyme de ces protéines depuis leur lieu de synthèse, c'est à dire depuis les cellules du mésenchyme exprimant le gène *Fgf10*. Plusieurs auteurs

(tout d'abord Bellusci et. al.) ont décrit *Fgf10* comme étant exprimé dans le mésenchyme distal, c'est à dire près du bord extérieur, la plèvre. Son expression est très faible dans le reste du mésenchyme, en particulier près des bronches. Plusieurs hypothèses existent pour expliquer cette expression très locale, notamment la diffusion de *Shh* et *Tgf-β* depuis les cellules épithéliales. Nous discuterons plus loin de ces hypothèses et nous concentrerons d'abord sur l'expression distale de *Fgf10*. Une approximation assez forte serait de considérer la concentration en FGF10 comme la solution d'un problème de diffusion depuis l'interface extérieure puisque la protéine diffuse depuis le mésenchyme distal. Cette approximation revient à considérer que seule la bande de cellules "la plus distale" du mésenchyme exprime *Fgf10*, ce qui est sans doute physiologiquement pas tout à fait exact, mais va néanmoins dans le bon sens compte tenu des observations. FGF10 diffuse alors dans le mésenchyme. Passons maintenant à l'écriture mathématique.

D'une part, on sait en général qu'entre deux sites de concentrations différentes, un écoulement (flux de diffusion) tendant à équilibrer les concentrations s'établit, flux d'autant plus important que la différence de concentration est grande. A une dimension par exemple, le flux de diffusion est proportionnel à la variation spatiale de concentration selon l'axe  $Ox$  et on peut alors écrire, en appelant  $D_F$  le coefficient de diffusion :

$$J = -D_F \frac{\partial c}{\partial x} \quad (4.1)$$

D'autre part, la conservation de la matière impose que la variation temporelle de concentration en un point de l'espace soit égale au flux entrant moins le flux sortant. Cette seconde idée se traduit en un point par la loi de conservation suivante, ici toujours à une dimension :

$$\frac{\partial c}{\partial t} = -\frac{\partial J}{\partial x} \quad (4.2)$$

En dérivant l'équation 4.1 par rapport à  $c$ , et en alors identifiant  $\partial J/\partial x$  comme dans l'équation 4.2, on obtient :

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D_F \frac{\partial^2 c}{\partial x^2}, \quad (4.3)$$

ce qui se généralise à trois dimensions par l'équation suivante, l'équation très classique de la diffusion :

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D_F \nabla^2 c. \quad (4.4)$$

Dans notre cas, on a comme conditions aux limites  $c_{max}$  sur l'interface extérieure

(plèvre) et  $c_{min}$  sur l'interface intérieure (bronches), où FGF10 est reçu par les cellules épithéliales. L'opérateur laplacien noté  $\nabla^2$  dans ce travail, mais parfois noté  $\Delta$ , est défini par :

$$\nabla^2 c = \frac{\partial^2 c}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 c}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 c}{\partial z^2}. \quad (4.5)$$

D'une façon générale l'opérateur  $\nabla$  traduit des dérivées spatiale. Ainsi, le gradient du champ,  $\nabla c$ , dont nous parlerons abondamment au cours de ce travail, peut être écrit plus explicitement. Pour rappel, le gradient d'un champ scalaire de l'espace est un champ vectoriel ayant pour composantes la variation spatiale de ce champ dans chacune des directions. Il est non-nul seulement si le champ n'est pas homogène. L'expression mathématique du gradient de la concentration  $c$  en tout point de l'espace est la suivante :

$$\vec{\nabla} c = \frac{\partial c}{\partial x} \vec{e}_x + \frac{\partial c}{\partial y} \vec{e}_y + \frac{\partial c}{\partial z} \vec{e}_z. \quad (4.6)$$

La norme du gradient de concentration s'écrit donc :

$$\|\vec{\nabla} c\| = \sqrt{\left(\frac{\partial c}{\partial x}\right)^2 + \left(\frac{\partial c}{\partial y}\right)^2 + \left(\frac{\partial c}{\partial z}\right)^2}. \quad (4.7)$$

Si l'on considère l'état stationnaire, le champ de concentration est donné à chaque instant par un champ laplacien, c'est à dire vérifiant l'équation de Laplace :

$$\nabla^2 c = 0 \quad (4.8)$$

Se placer dans l'état stationnaire revient à considérer que la croissance de l'organe et donc les changements de géométrie des bords (qui déterminent le champ) sont lents devant la diffusion de FGF10. Cette hypothèse semble raisonnable étant donné que les temps caractéristiques de croissance sont de l'ordre de la journée. Ainsi, la solution la plus simple pour évaluer la concentration locale semble être de calculer dans le mésenchyme un champ scalaire laplacien.

### 4.1.2 Calcul numérique du champ et du flux : Eléments finis

Le calcul du champ laplacien de FGF10 dans n'importe quelle géométrie nécessite une résolution numérique. Celle-ci demande bien sûr la discrétisation du problème. La méthode choisie, appelée méthode des éléments finis, consiste à mailler l'espace, en l'occurrence par triangulation de Delaunay, et à résoudre un système d'équations linéaires incluant les conditions aux limites, chaque équation correspondant à un point du maillage. Un des

intérêts est le fait que la méthode des éléments finis permet de mailler plus finement les régions où les gradients sont forts. Dans notre travail, le maillage et la résolution numérique de l'équation sont effectués grâce à la toolbox d'équations aux dérivées partielles du logiciel Matlab.

Un point intéressant pour comprendre ce qu'est finalement un champ laplacien est l'écriture discrète de celui-ci. En effet, en écrivant les dérivées doubles discrètes d'un champ et en imposant que leur somme est nulle (équation de Laplace), on obtient que le champ en n'importe quel point de l'espace est égal à la moyenne des valeurs du champ des points voisins. Ainsi, sur un maillage carré, on a :

$$\nabla^2 c = 0 \Leftrightarrow c(x_i, y_j) = \frac{1}{4} [c(x_{i+1}, y) + c(x_{i-1}, y) + c(x, y_{j+1}) + c(x, y_{j-1})] \quad (4.9)$$

Non seulement l'écriture discrète a le mérite d'être assez parlante puisqu'on comprend l'essence du champ laplacien qui est de fait un lissage d'un bord à l'autre où les valeurs du champ sont imposées par les conditions aux limites. Elle permet donc aussi de voir très intuitivement que c'est ces conditions aux limites qui permettent de déterminer le champ partout. De même, on comprend bien alors pourquoi la résolution doit passer par un système de  $N$  équations linéaires où  $N$  est le nombre de points du maillage, système qui couple la valeur du champ en n'importe quel point aux conditions aux bords. Pour calculer le gradient, on calcule simplement la norme de la dérivée numérique du champ.

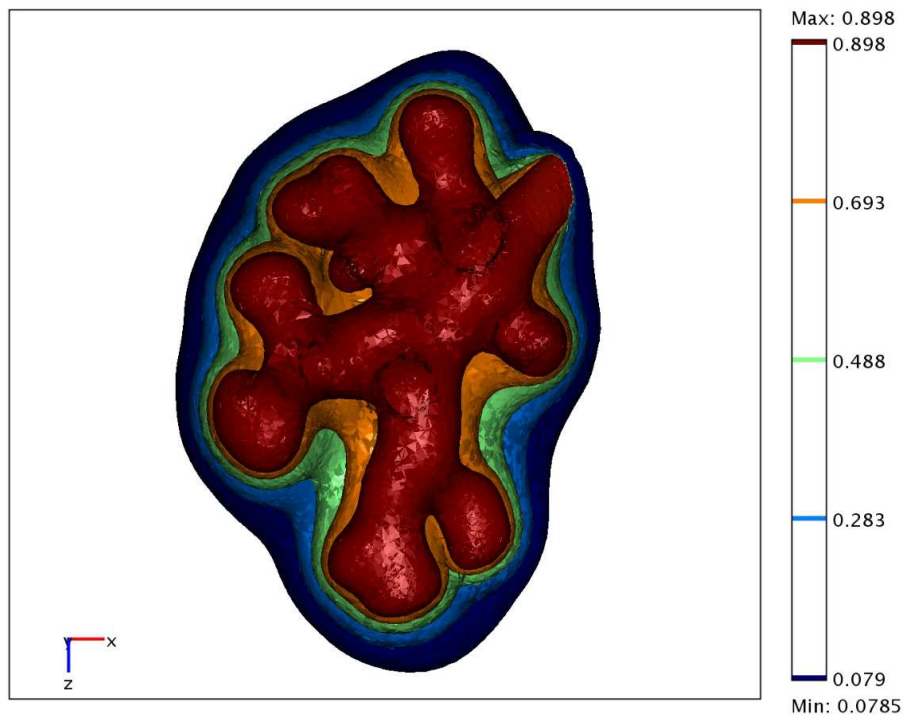
### 4.1.3 Comparaison expérimentale

#### Concentration de FGF10

Un résultat intéressant étant de comparer directement ce qu'on peut trouver in vivo avec cette modélisation, nous avons choisi de travailler directement sur des poumons mammifères (collaboration avec Pierre Blanc, du laboratoire Génétique, Reproduction et Développement). Le modèle expérimental est la souris, et nous avons travaillé sur des reconstructions en trois dimensions du lobe cranial droit de poumons embryonnaires. Le poumon est extrait de l'embryon à un stade variable du développement (9 à 13 jours) et la reconstitution 3D est obtenue à partir de photographies de coupes parallèles de l'embryon, qui permettent de reconstruire les deux surfaces, épithéliale (interne) et peurale (externe), à l'aide de logiciels appropriés de traitement d'images.

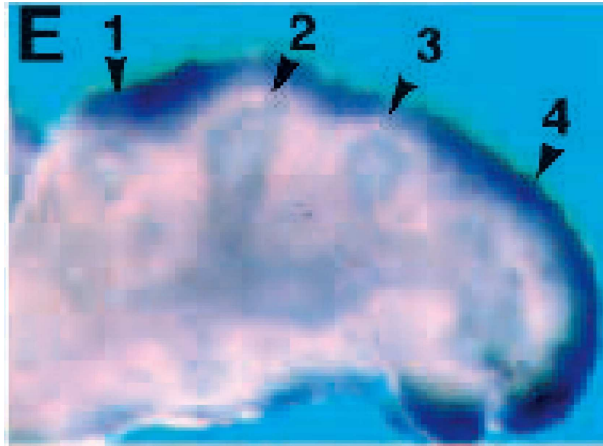
Dans cette géométrie obtenue expérimentalement, qui correspond donc de fait à un stade de développement de l'embryon, nous pouvons calculer numériquement le champ modèle de concentration. La figure 4.1 montre le champ modèle calculé au 12ème jour.





**Fig. 4.1** – Calcul d'un champ laplacien dans l'épaisseur du mésenchyme, dans le lobe supérieur droit d'un poumon de souris au 12ème jour, reconstitué numériquement en trois dimensions à partir de photographies de coupes parallèles.

S'il n'existe pas dans la littérature de marquage de la protéine FGF10 dans le mésenchyme pulmonaire, on trouve néanmoins des images de l'expression de *Fgf10*, comme évoqué plus haut. Ainsi, les champs obtenus dans les reconstructions sont supposées être une version diffusée du champ d'expression représenté figure 4.2, obtenu par hybridation in situ par Bellusci et al [58].



**Fig. 4.2** – Expression de *Fgf10* obtenu par hybridation in situ [58].

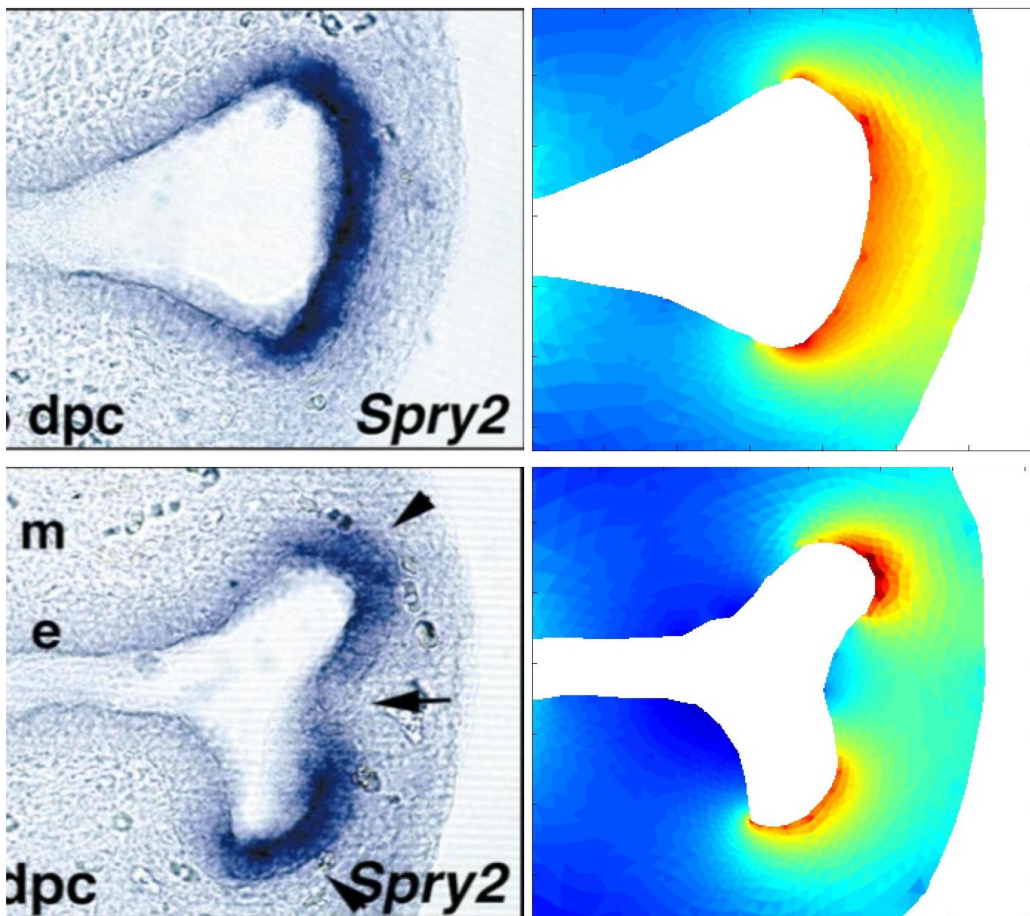
Même si l'accord qualitatif semble raisonnable, ce qui n'est finalement pas si surprenant puisque le champ laplacien était supposé constituer une approximation de la diffusion de FGF10, il est difficile de conclure sans pouvoir comparer au patterning de la protéine. Un résultat bien plus révélateur serait d'évaluer non pas la concentration mais le flux de FGF10, en particulier le flux sur l'épithélium, sur lequel doit reposer le modèle de croissance envisagé plus haut.

### Flux de FGF10 et expression de *Spry2*

Dans un second temps, nous souhaitons donc calculer le flux de FGF10 dans le mésenchyme et sur l'épithélium. Cette fois, une comparaison directe est possible. En effet, il est établi que l'expression de *Sprouty2* ou *Shh*, entre autres gènes, résultent de la réception de FGF10 par les cellules épithéliales. De plus, il est possible, et des images sont disponibles dans la littérature, de marquer les transcrits par hybridation in situ, ce qui permet, comme pour *Fgf10* de connaître les sites d'expression du gène. Ainsi on a, indirectement, un marqueur du flux de FGF10 sur les cellules épithéliales.

Les images de l'expression de *Sprouty2* sur l'épithélium obtenues par Mailleux et al. présentées dans le chapitre précédent montrent bien que *Sprouty2* est exprimé principalement sur la partie distale des bronches, et pas dans les creux entre les bronches.

Si l'on regarde de plus près, à l'échelle d'une bronche unique en train (ou non) de se diviser en deux, cette impression est confirmée. En effet au niveau du site de branchement (creux entre les deux branches filles), on constate que *Spry2* n'est pas exprimé. La figure 4.3 représente, à gauche, l'expression de *Sprouty2* à l'échelle d'une branche, et à droite, le flux modèle de FGF10 calculé dans la même géométrie. Il est très intéressant de comparer ces deux images, puisque l'expression de *Sprouty2* est induite par la réception de FGF10 sur l'épithélium bronchique. Le flux de diffusion modèle est simplement calculé à partir du champ de concentration modèle. Comme on l'a dit plus haut, ce flux est simplement proportionnel au gradient de concentration en un point.



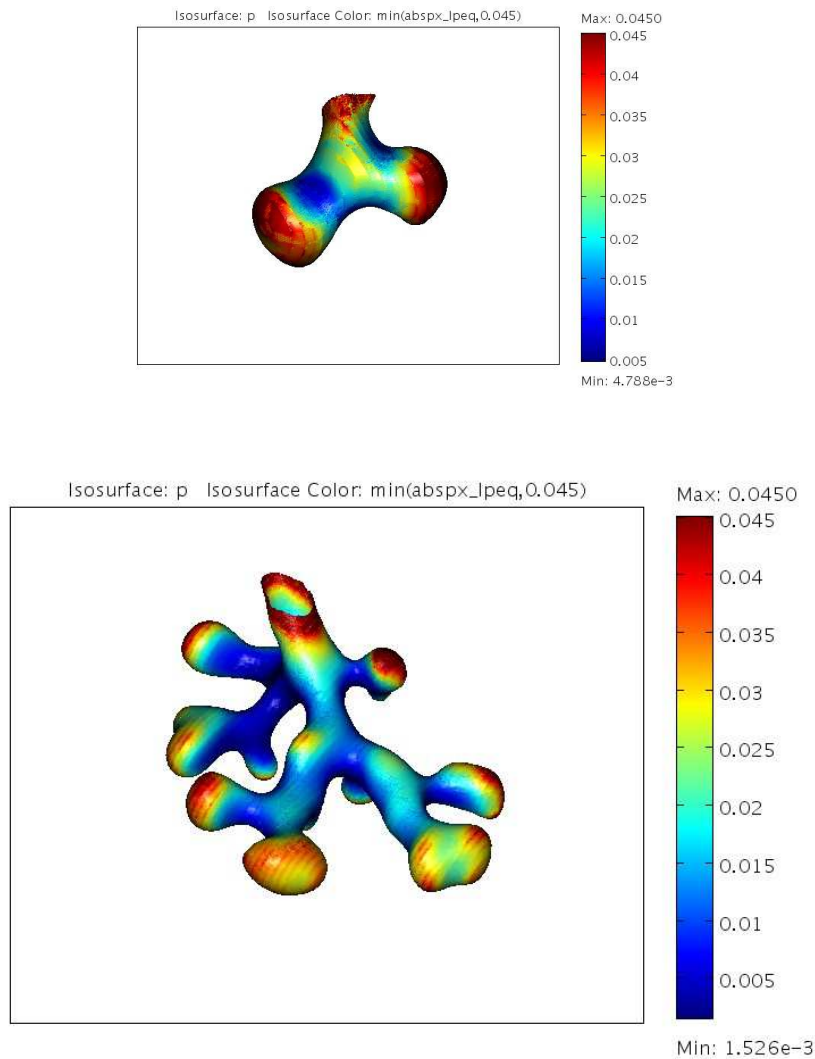
**Fig. 4.3** – A gauche : expressions de *Sprouty2* sur l'épithélium obtenues par Mailloux et al. par hybridation *in situ* [61], pour une bronche non-branchée et pour une bronche venant de subir un branchement. A droite : flux modèles dans les mêmes géométries. Le modèle rend très bien compte de l'expression de *Spry2*, y compris de la séparation de l'expression en deux foyers au moment de la bifurcation, puisque le flux de FGF10 arrive aussi en foyers.

Parallèlement, dans nos reconstructions de poumons embryonnaires, il est possible, après avoir calculé le champ modèle de FGF10, de calculer son flux de diffusion. Les images obtenues montrent qu'il n'y pas de différence qualitative entre deux dimensions et trois dimensions. Comme dans les images d'hybridation *in situ* de *Sprouty2*, la réception de FGF10 est très prédominante sur la partie distale des bronches, et très faibles dans les creux, anciens sites de branchements.

Il est alors très clair que la forme branchée de l'épithélium entraîne un écrantage de la réception de FGF10 par le bout des bronches en croissance, ce qui explique *a posteriori* l'expression localisée de *Sprouty2*, et constitue un résultat très intéressant en soi : la géométrie des bords et la diffusion de FGF10 suffisent à expliquer l'expression non-triviale de *Sprouty2* ou *Shh*, gènes clefs du développement, sur l'épithélium distal. S'il n'est pas exprimé dans les creux, ou dans les sites de branchement, c'est parce que le flux de FGF10 est écranté, y compris par des branches en à peine formées (Fig. 4.4 en bas).

De plus, cette comparaison valide très bien l'approche du modèle basée sur le champ laplacien, puisque les résultats donnés par le modèle rendent très bien compte des observations de la biologie moléculaire pour les gènes concernés. L'hypothèse modèle de diffusion depuis le mésenchyme distal capture très bien le comportement de FGF10.

Enfin, l'écrantage du flux de FGF10 par les bronches s'explique bien *a posteriori* dans les géométries reconstruites qui sont déjà arborescentes, mais il serait très intéressant de partir d'une géométrie initiale non-branchée pour comprendre si ce mécanisme peut expliquer en amont les branchements de l'épithélium, et s'ils peuvent être entretenus par ce mécanisme d'écrantage. C'est ce que nous nous attacherons à faire dans la suite de ce travail.



**Fig. 4.4** – Flux modèle de FGF10 sur l'épithélium. Les géométries sont issues de coupes transversales du lobe supérieur droit. En haut : reconstitution au onzième jour. A droite : reconstitution au deuxième jour. La zone rouge à l'entrée du lobe est un artefact numérique dû à la coupe. Comme dans les images précédentes, le flux se concentre au bout des branches, et on peut même voir la séparation en foyers sur les bourgeons en train de s'étaler, signe précurseur du branchement (bronche en bas à droite par exemple). Le flux modèle de FGF10 correspond très bien au motif d'expression de *Spry2* que l'on peut trouver dans la littérature (voir fig. 3.15).

## 4.2 Modèle dynamique : croissance

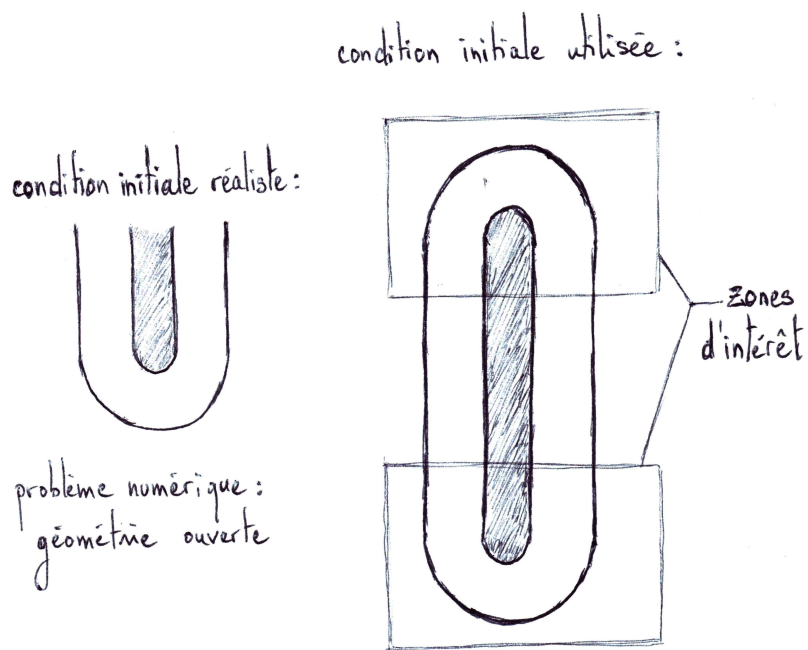
Comme la modélisation par un champ laplacien semble assez réaliste du point de vue du flux de FGF10 arrivant à l'épithélium, elle semble être une bonne base pour construire un modèle de morphogenèse où les interfaces sont libres et peuvent croître sous l'effet du flux.

### 4.2.1 Principe : front tracking pour deux interfaces

Pour implémenter numériquement un problème de croissance dans un champ vérifiant une équation aux dérivées partielles, il existe plusieurs méthodes plus ou moins raffinées. Nous avons choisi de travailler en calculant le champ par éléments finis, comme expliqué plus haut, et en deux dimensions ce qui allège très considérablement les temps de calcul. Nous discuterons plus loin du passage à trois dimensions. Le principe est de partir d'une condition initiale entièrement définie par les deux interfaces, intérieures et extérieures, qui consistent, numériquement, en deux polygones (fermés) emboîtés l'un dans l'autre. La géométrie initiale se doit notamment de faire écho à la géométrie initiale de l'organe présomptif, c'est-à-dire la trachée encore non-branchée poussant dans le mésenchyme pulmonaire. Pour des raisons numériques liées au calcul par éléments finis, il est nécessaire de travailler avec des polygones fermés, alors que la trachée est ouverte en haut (branchée sur l'oesophage). Pour palier à ce problème, la condition initiale consiste en un tube fermé aux deux bouts dans un deuxième tube fermé aux deux bouts, mais dont les extrémités en question sont assez éloignées, ce qui permet de regarder chacune d'entre elles comme un bourgeon trachéal indépendant (Fig. 4.5).

La concentration vaut toujours  $c_{max} = 1$  (en unités arbitraire) au niveau du mésothélium, et  $c_{min} = 0$  sur l'épithélium. Au temps  $t_0 = 0$ , on calcule le champ laplacien sur le maillage triangulaire, puis on calcule le gradient de ce champ, directement proportionnel au flux diffusif, et enfin on identifie le gradient de concentration en chaque point des deux interfaces. On calcule un déplacement pour chaque point individuel, en fonction du flux qu'il reçoit, et on obtient une nouvelle géométrie qui tient compte de la croissance. On effectue alors la même opération, chaque itération correspondant à un pas de temps numérique.

Quand deux points consécutifs d'une interface deviennent trop éloignés, il est nécessaire d'ajouter des points avant de calculer à nouveau, pour éviter l'apparition de pointes à grande échelle. La distance seuil au dessus de laquelle on ajoute des points n'est pas anodine, puisqu'il est évident qu'on "ne verra rien" en dessous de cette distance, à savoir que les détails de la dynamique de l'interface sous la distance seuil n'est pas cap-



**Fig. 4.5** – A gauche : condition initiale réaliste. A droite, condition initiale numérique. On ferme symétriquement la géométrie en haut. En conséquence, on peut regarder les deux extrémités comme un bourgeon trachéal modèle.



turée par la simulation numérique. Physiquement, il s'agit donc d'un lissage de l'interface en dessous d'une certaine échelle, qui peut par exemple traduire la tension de surface, qui a pour effet le lissage d'une interface en dessous de la distance capillaire.

La simulation s'arrête lorsque :

- la structure en croissance a atteint les bords définis au préalable pour le calcul,
- l'épithélium atteint le mésothélium,
- l'une des interfaces fait un "noeud" à cause du bruit numérique, ne définissant alors plus un polygone. Malgré l'ajout à chaque pas de temps d'une fonction qui cherche et supprime localement les noeuds, il arrive que la simulation soit écourtée pour cette raison.

Cette technique de simulation numérique de croissance où l'on suit une interface explicite (un polygone) est parfois appelée front tracking. Ici, au lieu de suivre une surface en croissance comme pour les simulations d'instabilités hydrodynamiques ou de croissances cristallines, on suit deux interfaces en mouvement : l'épithélium et le mésothélium.

## 4.2.2 Réponse en croissance

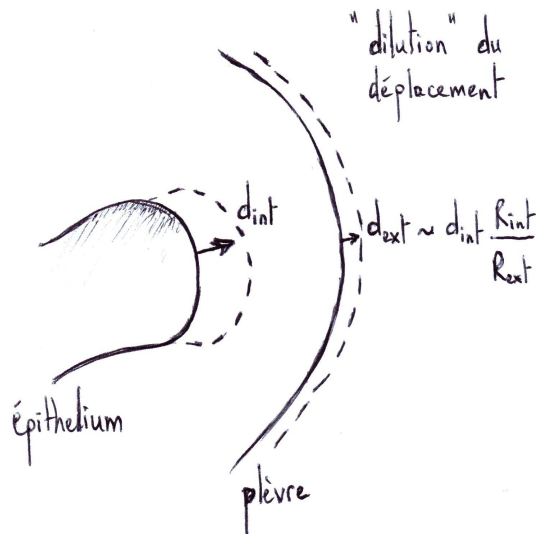
Une grande partie de la subtilité de cette modélisation réside dans la croissance attribuée à chaque point de l'épithélium en fonction du flux reçu. Formellement, le déplacement (normal) de l'interface intérieure entre deux pas de temps espacés de  $dt$  s'écrit :

$$d_{int} = f(J) dt = f_{int}(\nabla c) dt \quad (4.10)$$

Tout le jeu consiste à imaginer comment les différents acteurs du développement pulmonaire peuvent influencer sur la forme de cette fonction, et quelle en est la conséquence sur la géométrie de l'organe. A priori, la réponse en croissance à la réception de FGF10 est supposée contenir la physique et la biologie du système, et on peut y intégrer à la fois des éléments génétiques (régulation), chimiques (propriétés de la réception) ou mécaniques (propriétés mécaniques de l'épithélium et du mésenchyme).

Ce formalisme de réponses en croissance s'applique très logiquement à la croissance de l'épithélium bronchique, mais l'écriture de la croissance du mésothélium dans le modèle est plus délicate. Une des très rares, voire la seule, tentative de modélisation de la croissance pulmonaire de ce genre et à l'échelle de l'organe entier [70] a pris pour parti de fixer de force l'interface extérieure à une certaine distance des parties distales de l'interface intérieure. Cette solution n'est pas satisfaisante puisqu'elle présuppose un trait frappant non trivial de la morphogenèse, à savoir l'établissement de cette distance caractéristique et le fait que les bronches n'atteignent jamais le mésothélium, trait dont on souhaite

justement comprendre l'origine.



**Fig. 4.6** – Le déplacement de l'interface extérieure dû au gonflement de l'organe en croissance est logiquement réduit d'un facteur de l'ordre du rapport des courbures.

D'un point de vue rigoureux, si l'on considère localement un morceau de l'interface extérieure, elle devrait subir un déplacement fonction du déplacement de l'interface intérieure, et dilué par le rapport des courbures des deux interfaces (Fig. 4.6), auquel s'ajoute un déplacement dû à la croissance propre du mésenchyme pulmonaire, qui se divise lui aussi. Le déplacement local de l'interface extérieure s'écrirait alors :

$$d_{ext} \sim \frac{R_{int}}{R_{ext}} d_{int} + g dt, \quad (4.11)$$

où  $g$  correspond à la croissance du mésenchyme et à son action sur le déplacement, donc dépend aussi de la géométrie locale des interfaces et des rayons de courbure, et où  $d_{int}$  correspond au déplacement local de l'épithélium à l'endroit considéré. Si l'on considère le premier terme,  $\frac{R_{int}}{R_{ext}} d_{int}$ , il s'agit du produit du rapport des courbures des deux interfaces et de  $f_{int}$ , fonction du gradient sur l'interface intérieure. Il semble raisonnable de simplifier et de l'écrire directement comme une fonction du gradient sur l'interface extérieure, puisque ce gradient est lui même dilué par le rapport des courbures. Le calcul d'un champ laplacien entre deux cercles montre que cette approximation est rigoureusement exacte si  $f_{int}$  est linéaire. De la même façon, le déplacement dû à la croissance du mésenchyme dépend de la géométrie locale, donc il n'est pas abusif de l'écrire comme une fonction du gradient,

qui finalement contient et exprime la géométrie du problème.

Dans notre modèle, grâce aux considérations géométriques ci-dessus, l'interface extérieure se déplace donc comme une fonction du gradient sur l'interface extérieure, fonction différente de  $f_{int}$  puisqu'elle est sensée contenir non seulement le déplacement dû à la croissance épithéliale mais aussi le déplacement dû à la croissance du mésenchyme. On utilisera donc finalement très simplement :

$$\begin{cases} d_{int} = f_{int}(\nabla c) dt \\ d_{ext} = f_{ext}(\nabla c) dt \end{cases} \quad (4.12)$$

Pour que le modèle reste consistant,  $f_{ext}$  est supposée être supérieure à  $f_{int}$ , puisqu'elle contient la croissance du mésenchyme pulmonaire.

### 4.3 Simulations numériques

On a vu dans une première partie comment la géométrie des deux contours suffisait à expliquer l'expression non triviale de gènes clefs du développement, à partir d'un modèle simple de diffusion où les conditions aux limites jouent un rôle très prépondérant. Dans cette partie nous allons voir comment l'expression et la diffusion de *Fgf10*, fonctions de la géométrie, peuvent en retour réguler cette géométrie.

#### 4.3.1 Réponse en croissance proportionnelle aux flux

Dans la partie précédente nous avons introduit la croissance normale des interfaces comme une fonction du flux à travers les fonctions de réponse en croissance. Elles sont supposées contenir toute la physique et la biologie de la réception de FGF10 et de la prolifération épithéliale, ce qui rend impossible l'écriture complète des fonctions en question. Néanmoins, on peut imaginer diverses contributions à la croissance et à sa régulation. Dans un premier temps, nous considérerons le problème à son ordre le plus simple, c'est à dire en prenant des fonctions linéaires. La proportionnalité présuppose notamment qu'il n'existe pas de seuil de flux reçu nécessaire à démarrer la croissance, et qu'il n'existe pas de limite à la croissance, un flux infini entraînant une croissance infinie. Bien que ces hypothèses soient sans doute erronées, l'étude du cas linéaire est important pour sa simplicité et reflète quand même un point important : la prolifération augmente avec le flux.

### Mise en évidence du régime arborescent

Toutes les simulations numériques ont la même géométrie initiale décrite au paragraphe précédent. Plus précisément, elle consiste en deux tubes l'un dans l'autre, de longueur 10 en unités arbitraires, et fermés aux deux bouts par des demi-cercles de rayon 0.2 et 1. La différence de concentration entre les deux interfaces est normalisée à 1. Les images de simulation présentées cadrent une des deux zones d'intérêt décrites figure 4.5.

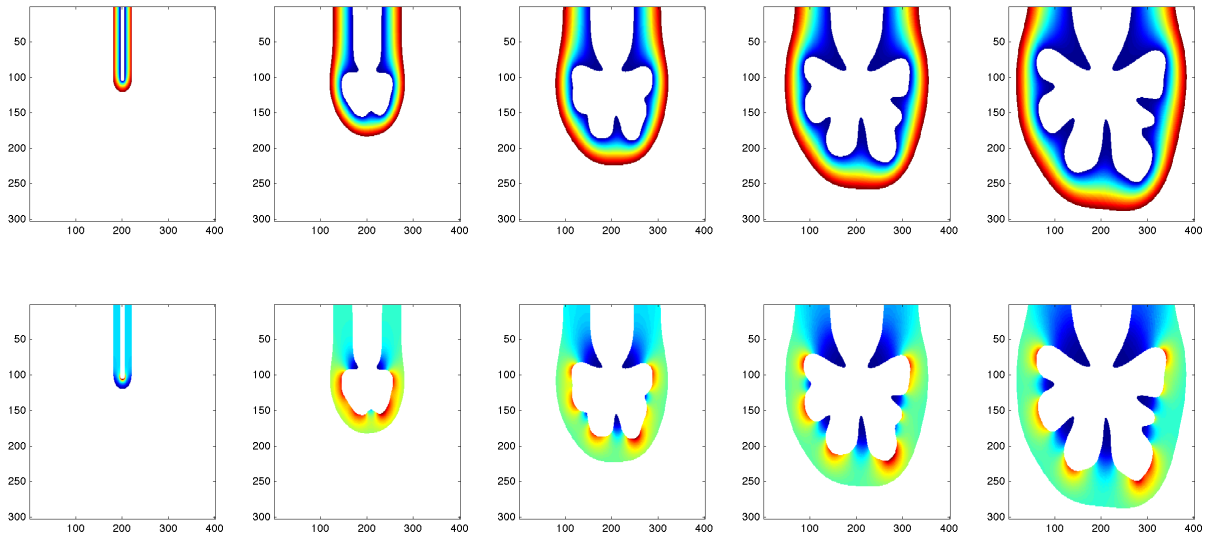
Le déplacement à chaque pas de temps est proportionnel au gradient, de telle sorte qu'on peut simplement écrire :

$$\begin{cases} f_{int} = a_{int} \nabla c \\ f_{ext} = a_{ext} \nabla c \end{cases} \quad (4.13)$$

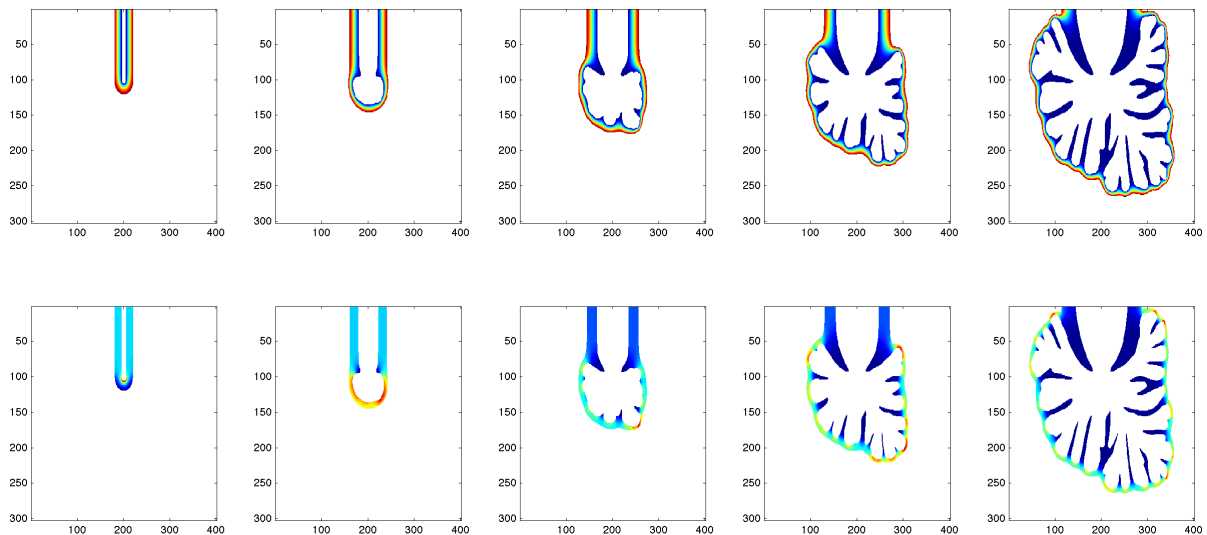
Dans un premier temps nous ne considérerons que le cas où  $f_{ext}$  est supérieure à  $f_{int}$ , c'est à dire où  $a_{ext} > a_{int}$ , pour les raisons évoquées plus haut, liées à la croissance du mésenchyme pulmonaire. Les figures 4.7 et 4.8 représentent l'évolution des deux interfaces pour différentes valeurs de  $a_{int}/a_{ext}$ . En haut, le champ représenté est la concentration en FGF10 dans le mésenchyme, en bas, le gradient de concentration et donc le flux. La condition initiale est, comme nous l'avons discuté, un tube à bout semi-circulaire, dans un deuxième tube à bout semi-circulaire. Il est important de noter l'importance de la courbure sur le gradient. A l'instant initial, la distance au mésothélium est constante le long de l'épithélium, et pourtant le flux se concentre spontanément sur le bout du primordium. Cet effet géométrique crucial est dû à la courbure des interfaces et sera discuté en détail au chapitre suivant.

Avant toute approche plus quantitative, il faut noter l'apparition spontanée dans les simulations d'instabilités à la surface de l'épithélium, ce qui constitue en soi un résultat très intéressant. Bien sûr, il s'agit d'un résultat qualitatif puisque les fonctions de réponse en croissance sont excessivement simplistes, mais qui montre néanmoins de façon très générale que la géométrie du problème et en particulier le patterning de *Fgf10* dans le mésenchyme, déterminé par cette géométrie, suffisent à produire un organe branché. Cela montre aussi l'importance cruciale de la géométrie des bords sur la régulation, puisque le système à un instant donné est entièrement défini par sa géométrie, et pas par son histoire. Dans la suite de cette partie nous essaierons de caractériser plus précisément les géométries obtenues.

On peut s'interroger sur le mécanisme de branchement. Les similitudes formelles avec d'autres instabilités en champ laplacien rendent le caractère arborescent compréhensible, puisqu'elles ont été très largement étudiées et sont maintenant bien comprises. Le



**Fig. 4.7** – Résultat d’une simulation pour  $a_{int}/a_{ext} = 0.5$ . La condition initiale, à gauche, est un tube à bout semi-circulaire. On voit l’évolution de la croissance de gauche à droite, à intervalles de temps réguliers. En haut, le code couleur représente l’intensité du champ de concentration en FGF10 dans le mésenchyme. En bas, le code couleur représente le gradient de ce champ de concentration, et donc le flux de FGF10 dans le mésenchyme. Comme on voit, le flux est concentré sur l’épithélium distal.



**Fig. 4.8** – Résultat d’une simulation pour  $a_{int}/a_{ext} = 0.8$ . L’épithélium est plus branché est la partie distale plus proche du mésothélium.

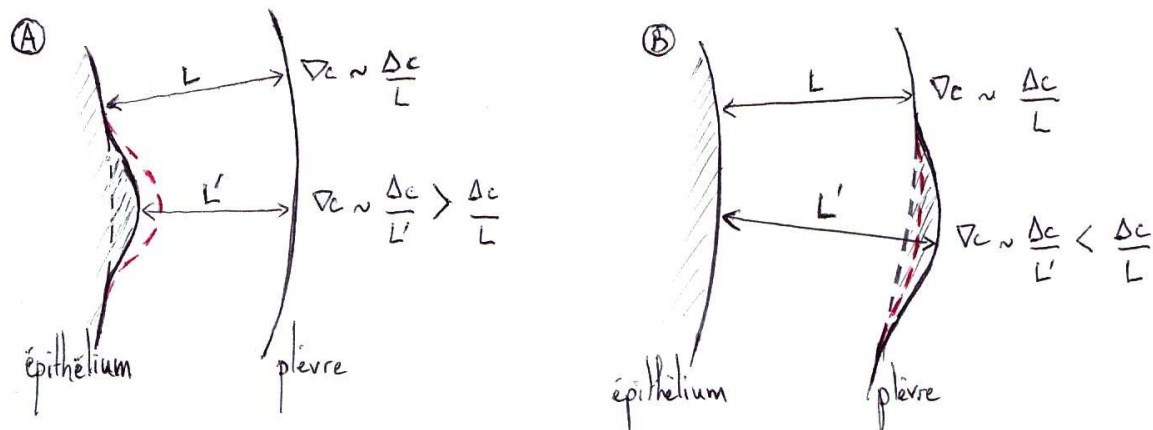
mécanisme élémentaire de déstabilisation est ici similaire : la moindre perturbation sur l'épithélium augmente sa courbure et diminue localement la distance à la paroi extérieure du mésenchyme, deux faits qui contribuent à un accroissement du gradient, et donc ici du flux de FGF10, qui entraîne à son tour un accroissement de la perturbation, accroissement qui dépend de sa taille. Dans ce cadre on comprend bien pourquoi le flux est spontanément concentré vers la partie distale des branches formées.

Un deuxième succès consiste dans l'auto-évitement spontané des branches formées. Le fait que les bronches ne se rencontrent jamais tient aussi à la géométrie de la croissance laplacienne. La condition au bord sur l'épithélium impose une concentration nulle, ce qui implique que plus deux branches de l'épithélium se rapprochent, plus le gradient de concentration (et donc le flux de FGF) entre ces deux branches diminue, et plus la croissance est faible, jusqu'à être nulle. Ce mécanisme intrinsèque au mode de croissance rend impossible toute auto-pénétration de l'organe, comme c'est effectivement le cas dans un poumon.

En revanche la présence d'un bord extérieur libre, le mésothélium, constitue une différence importante avec les instabilités laplaciennes habituelles, et soulève beaucoup de questions quant au comportement de cette deuxième interface et de son interaction avec l'épithélium. Pour commencer, un raisonnement simple, similaire à celui que l'on vient d'exposer pour l'épithélium, permet de comprendre pourquoi la paroi externe du mésenchyme est stable, à l'inverse de l'épithélium. Une bosse sur l'interface extérieure abaisse le gradient local, qui pousse donc moins vite et donc tend à lisser la bosse. A l'inverse un creux augmente le gradient local, ce qui tend à le faire pousser plus vite et donc à faire disparaître le creux (Fig. 4.9).

La présence d'un bord extérieur libre soulève aussi la question de la distance entre les bronches et ce bord extérieur, question centrale puisque l'établissement d'une certaine distance entre l'épithélium distal et le mésothélium constitue un des traits frappants de la géométrie du poumon embryonnaire. Dans les simulations, les branches ne semblent pas non plus atteindre le bord extérieur. Nous nous pencherons en détail sur l'établissement de cette distance.

Enfin, on voit bien que la modification des paramètres de la simulation, sans modifier les principaux caractères de la croissance, modifie les détails de cette forme. Une partie du travail sera donc d'établir comment certains paramètres changent certaines propriétés géométriques émergentes.



**Fig. 4.9** – *Stabilité des deux bords. A. Le gradient et donc le flux de FGF10 est augmenté sur une perturbation de l'épithélium, et puisque la réponse en croissance est une fonction croissante du flux, les perturbations sont favorisées et se développent avec le temps (ligne rouge). B. Le gradient est diminué sur la perturbation du mésothélium, et cette fois la perturbation est réduite avec le temps (ligne rouge).*

**Cas pathologique :  $f_{ext} < f_{int}$**

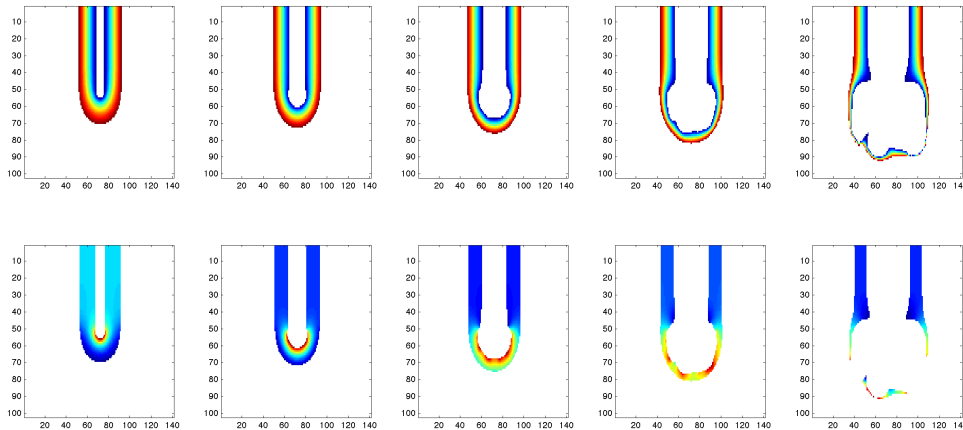
Dans le cas, qui n'est pas réaliste dans le cadre du formalisme que nous avons établi pour la croissance pulmonaire, où on a  $f_{ext} < f_{int}$ , on constate que la distance entre le bout des bronches en formation et la paroi extérieure diminue jusqu'à ce qu'un doigt atteigne effectivement l'interface (Fig. 4.10), et ce d'autant plus rapidement que  $f_{int}$  est supérieure à  $f_{ext}$ . La simulation s'arrête alors puisque les deux bords sont en contact.

Le fait qu'à partir de  $f_{int} = f_{ext}$ , les bronches atteignent l'interface extérieure, pose la question de la distance d'arrêt qui apparaît spontanément, c'est à dire la distance d'équilibre entre le bout des bronches et l'interface extérieure, et de sa dépendance dans les différents paramètres.

**Mesures locales dans les simulations**

Nous allons être amenés à mesurer l'évolution de certaines grandeurs au cours du temps dans les expériences numériques. Comme on vient de le voir par exemple, il sera intéressant de mesurer directement au bout d'une branche la distance au bord extérieur. Cependant il faut bien s'assurer que lors des mesures on suit bien un point situé sur la partie distale d'une branche. Si l'on choisit au hasard un point pour suivre son évolution, il y a peu de chances pour qu'il devienne effectivement le bout d'une branche. Une façon





**Fig. 4.10** – Résultat d’une simulation pour  $a_{int}/a_{ext} = 1.2$ . Très rapidement, l’épithélium atteint la plèvre.

de pallier à ce problème est de choisir *a posteriori* un point de l’épithélium distal en fin de simulation, et de remonter son histoire, autrement dit son chemin depuis la condition initiale, et de mesurer à chaque pas de temps la distance au mésothélium. C’est de cette façon que nous avons procédé.

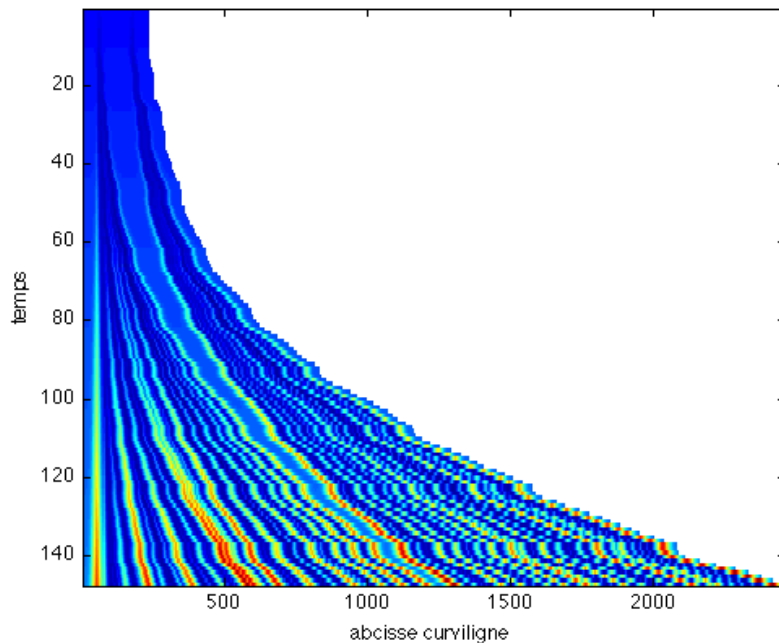
Un point important est qu’un tel point, dans son histoire, a toujours été au bout d’une bronche, et ce en dépit des branchement successifs. En effet, une fois dans un creux, un point de l’épithélium n’en sortira plus, ne recevant plus le flux de FGF10 nécessaire, c’est la raison même de la naissance de l’arborescence. Choisir un point de l’épithélium distal en fin de simulation revient donc à choisir précisément un point ayant toujours été à l’extrémité d’un bourgeon.

Pour mesurer la distance du point choisi au mésothélium à chaque pas de temps, on compare la distance séparant notre point de tous les points du mésothélium. La distance minimum correspond au point du mésothélium le plus proche, et c’est cette distance qu’on relève.

On sera aussi amenés à mesurer le rayon de courbure locale en un point. Pour ce faire, on mesure l’angle le long de l’interface, puis on dérive cette angle le long de l’abscisse curviligne et on obtient simplement la courbure, et le rayon de courbure simplement donné par  $R_{courb} = 1/Courb$ .

### Distance épithélium distal / mésothélium

La présence de la deuxième interface introduit un aspect de la croissance pulmonaire évoqué en introduction : l'établissement d'une distance d'équilibre entre les bronches et la paroi extérieure, aspect crucial puisqu'il s'agit d'une propriété non triviale de la géométrie des bronches, malgré tout très peu évoquée dans la littérature. Or cette distance apparaît effectivement dans notre modèle de croissance, puisque les bronches n'atteignent jamais la plèvre, sauf si  $a_{int} > a_{ext}$ . La figure 4.11 est un diagramme spatio-temporel de la distance au mésothélium (code couleur) le long de l'abscisse curviligne (abscisse) au cours de la simulation ( $t = 0$  en haut, temps en ordonnée).



**Fig. 4.11** – Diagramme spatio-temporel de la distance (code couleur) au mésothélium le long de l'épithélium (abscisse). A  $t = 0$  (en haut), la distance est constante. Ensuite on observe un accroissement périodique de la distance le long du périmètre, qui traduit les branchements, les zones épithéliales entre les creux des branches étant plus éloignées du mésothélium.

Cette représentation constitue tout d'abord une jolie manière de voir les branchements : les creux entre les bronches s'éloignent de la plèvre, tandis que le bout des bronches restent proches. Elle montre aussi que le bout des bronches reste à une distance du mésothélium qui semble à première vue fixe. L'existence d'une telle distance implique que le bout d'une branche et le mésothélium qui lui fait face poussent à peu

près à la même vitesse, ce qui implique que les courbures locales respectives, qui ont une importante influence sur le gradient, s'adaptent spontanément pour que les gradients respectifs permettent une croissance égale. En d'autres termes, le système tend localement (au bout d'un doigt) vers une géométrie dans laquelle :

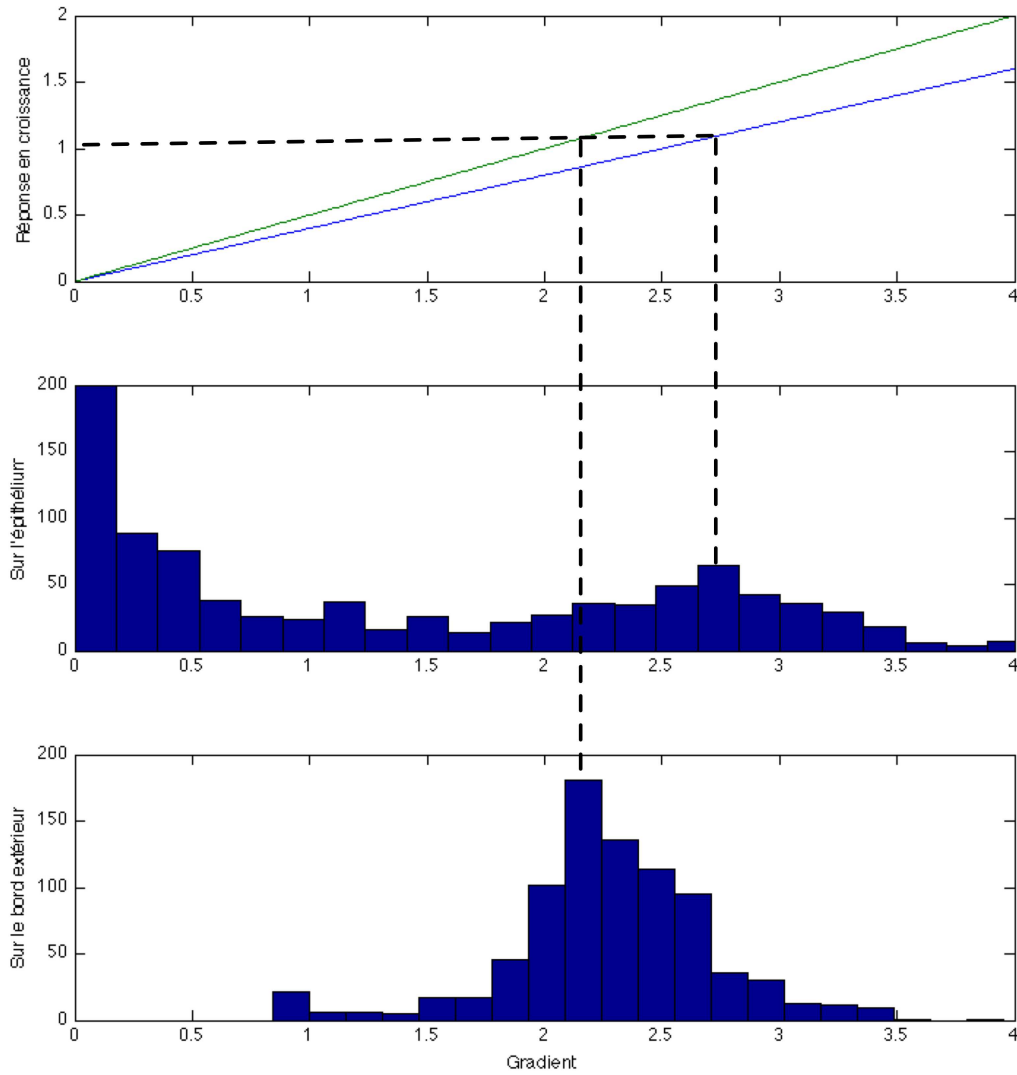
$$f_{int}(\nabla c(int)) \sim f_{ext}(\nabla c(ext)), \quad (4.14)$$

Pour calculer la croissance, on a évalué le gradient en chaque point des deux interfaces. Une mesure simple que l'on peut faire pour vérifier l'idée que les deux interfaces poussent à peu près à la même vitesse est une statistique des valeurs du gradient sur les deux interfaces, représenté sous forme d'histogramme. Pour l'épithélium, on observe principalement deux pics correspondant aux creux entre les doigts (gradient quasi-nul), et aux bouts des doigts. Sur le mésothélium le gradient est relativement homogène avec un pic principal. En comparant à un instant donné la réponse en croissance associée au gradient moyen au bout des doigts (pic correspondant aux bouts des doigts) à la réponse en croissance au gradient moyen sur le mésothélium, on peut vérifier l'hypothèse de l'équation 4.14. Un résultat typique est présenté figure 4.12, pour  $a_{int}/a_{ext} = 0.8$ .

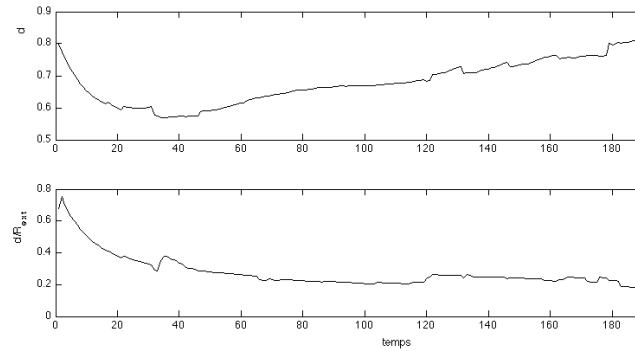
Mais si l'on regarde d'un peu plus près et qu'on mesure la distance  $d$  du bout d'un doigt jusqu'au mésothélium au cours du temps, on s'aperçoit qu'en début d'expérience elle relaxe rapidement vers une distance d'équilibre, puis qu'elle augmente lentement (Fig. 4.13). On est alors tenté d'attribuer cette dérive de la distance au fait que l'organe entier pousse lentement, ce qui augmente globalement le rayon externe, et donc dilue les gradients. Une façon simple de vérifier cette hypothèse est de tracer cette même distance mais normalisée par le rayon de courbure extérieur,  $R_{ext}$ . On appellera cette grandeur  $\tilde{d}$ . Cette fois on observe effectivement bien une convergence vers une valeur  $\tilde{d}_c$  (Fig. 4.13). On préférera donc travailler sur  $\tilde{d}$  pour étudier la distance au mésothélium dans la suite de ce travail.

Cette grandeur  $\tilde{d}_c$  peut être mesurée et varie avec la pente des fonctions de réponse en croissance. Notamment, il est apparu que quand  $a_{int}$  se rapproche de  $a_{ext}$ , la distance moyenne de l'épithélium distal au mésothélium diminue. En particulier, on a vu qu'à partir de  $a_{int} = a_{ext}$ , l'interface intérieure pousse même jusqu'à atteindre l'interface extérieure. La figure 4.14 représente  $\tilde{d}_c$  en fonction de  $a_{int}/a_{ext}$ . On peut voir qu'elle tend effectivement vers 0 quand ce rapport tend vers 1. Pour  $a_{int} > a_{ext}$ ,  $\tilde{d}_c = 0$ .

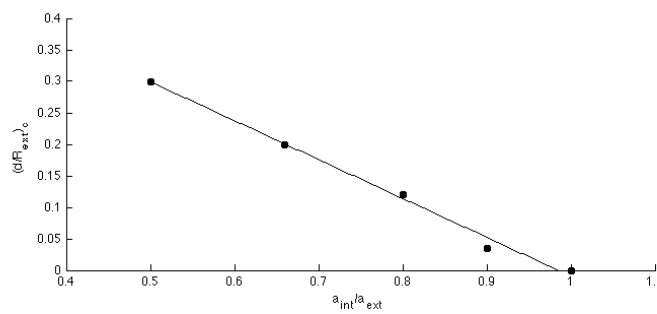
Le fait que la distance au mésothélium diminue quand  $a_{int}$  se rapproche de  $a_{ext}$  se comprend assez bien qualitativement : on a vu que les deux interfaces (le bout d'un doigt et le mésothélium) poussent à peu près à la même vitesse pour conserver la distance. Il faut donc, pour que  $f_{int}(\nabla c(int))$  soit de l'ordre de  $f_{ext}(\nabla c(ext))$ , une distance d'autant plus faible que les deux fonctions sont proches. On se penchera plus en détails sur ces



**Fig. 4.12** – Valeurs du gradient en chaque point de l'épithélium (au milieu), et du mésothélium (en bas). On reporte les pics sur la réponse en croissance en fonction du gradient (en haut : réponse en croissance du mésothélium en vert, réponse en croissance de l'épithélium en bleu). Le bout des doigts (pics de forts gradients sur l'épithélium) pousse bien à la même vitesse que l'ensemble du mésothélium. L'équation 4.14 décrit donc assez bien le bout des branches.



**Fig. 4.13** – Mesure de  $d$  et  $\tilde{d}$  au bout d'une branche, pour  $a_{int}/a_{ext} = 2/3$ . La distance au mésothélium semble dériver tandis que l'organe grandit, alors que la distance normalisée converge.

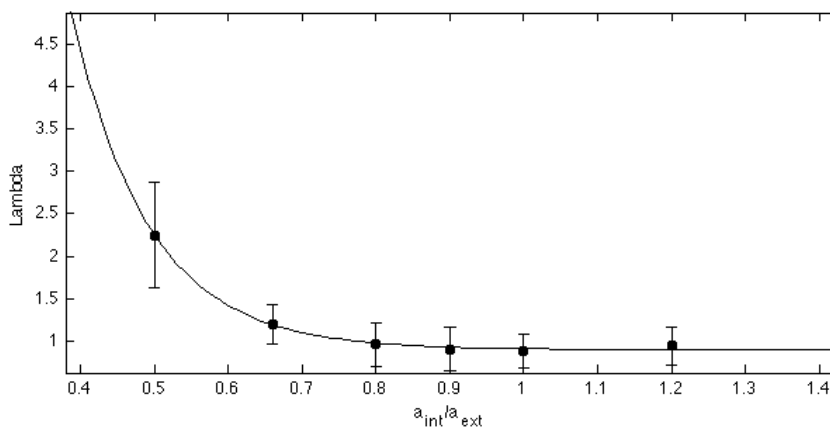


**Fig. 4.14** – Valeur de  $\tilde{d}_c$  mesurée sur plusieurs branches, en fonction du rapport  $a_{int}/a_{ext}$ .  $\tilde{d}_c$  tend vers 0 quand  $a_{int}$  tend vers  $a_{ext}$ .

questions dans le chapitre suivant.

### Largeur des branches

De la même façon, la largeur typique des doigts, notée  $\lambda$ , que forme l'épithélium instable est modifiée quand  $a_{int}$  tend vers  $a_{ext}$ . En effet on peut mesurer la largeur moyenne des doigts à leur base en fonction, par exemple, du paramètre  $a_{int}/a_{ext}$ . Contrairement à ce que l'on connaît de l'instabilité de Saffman-Taylor, les mesures montrent ici que la taille des doigts diminue avec pente de la courbe  $f_{int}(\nabla c)$ , comme le montre la figure 4.15.



**Fig. 4.15** – Largeur moyenne des branches ( $\lambda$ ) en unités arbitraires, en fonction du rapport  $a_{int}/a_{ext}$ . Les barres d'erreur donnent la déviation standard sur un ensemble de branches.

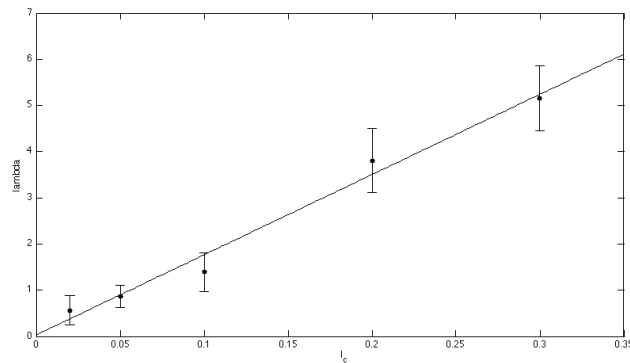
Si la taille diminue avec le rapport  $a_{int}/a_{ext}$ , elle semble tendre vers une valeur limite minimum, probablement donnée par une tension de surface effective numérique, conséquence du principe de la simulation, où la résolution ne va pas en deçà d'une certaine longueur.

### Tension de surface effective

Dans l'instabilité de Saffman-Taylor, la tension de surface joue un rôle clef dans la sélection en taille des doigts. En effet la longueur d'onde la plus instable dépend directement de la tension de surface ([23]). Ici, on n'a pas introduit explicitement de tension de surface (bien qu'elle existe néanmoins). Pourtant, un autre paramètre numérique joue un rôle similaire de lissage : la distance entre les points de l'interface, c'est à dire la distance au delà de laquelle on rajoute un point entre deux points de l'interface, notée  $l_c$ .

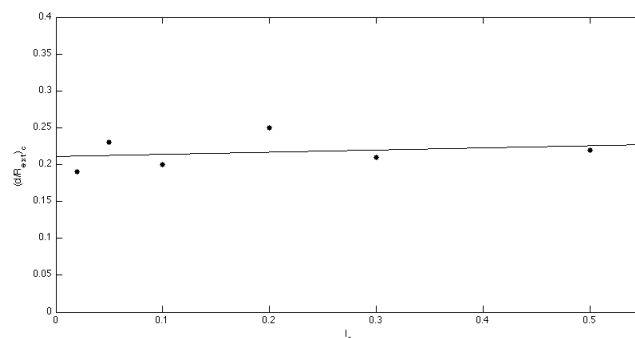
Cette procédure de rajout de point seulement au dessus d'une certaine échelle consiste finalement en un cut-off implicite : on ne verra rien sous la taille ainsi définie.

On peut s'assurer que cette longueur critique introduite numériquement joue bien indirectement le rôle de longueur capillaire, en mesurant la largeur moyenne des doigts formés, tous les autres paramètres par ailleurs identiques, en faisant varier uniquement  $l_c$ . La figure 4.16 représente la taille des doigts en fonction de  $l_c$ . On constate effectivement qu'il existe une relation linéaire entre ces deux distances, ce qui montre bien que  $l_c$  joue indirectement le rôle de la tension capillaire.



**Fig. 4.16** – Largeur moyenne des branches ( $\lambda$ ) en fonction de  $l_c$ , pour  $a_{int}/a_{ext} = 2/3$ . Un fit linéaire rend bien compte de la variation observée.  $l_c$  joue bien un rôle de longueur capillaire.

En revanche il est important de constater que  $\tilde{d}_c$  ne semble pas dépendre de  $l_c$ , comme le montre la figure 4.17, et compte tenu du fait que la figure 4.14 montrait des variations de 0 à 0.3.



**Fig. 4.17** – Variation de  $\tilde{d}_c$  en fonction de  $l_c$ , pour  $a_{int}/a_{ext} = 2/3$ . Pour rendre une comparaison possible, l'échelle de l'ordonnée est la même que celle de la figure 4.14.



Dans tout ce travail,  $l_c$  est fixée à une valeur constante, et impose à la distance entre les points de l'interface la valeur 0.1 en unités arbitraires décrites au début du chapitre.

### 4.3.2 Fonctions non-triviales du flux

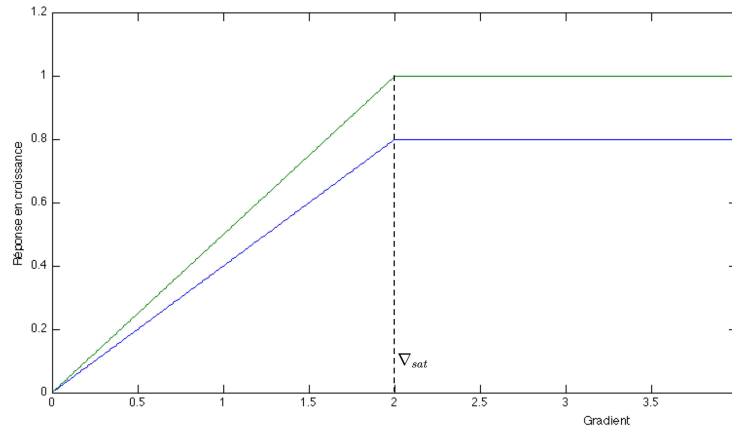
#### Saturation de la croissance

On a vu que dans le cas d'une réponse en croissance linéaire, on observait le branchement spontané de l'épithélium, avec des branches qui s'évitent entre elles et dont la partie distale ne rejoint jamais le mésothélium, comme dans le poumon. Cependant, comme nous l'avons expliqué plus haut, une croissance linéaire avec le flux de FGF10 reçu est une approximation importante, et il serait intéressant de voir dans quelle mesure des non-linéarités dans la réponse en croissance modifient le modèle, et surtout si les traits frappants qu'on a vu émerger sont toujours présents, ce qui montrerait une certaine robustesse des patterns formés.

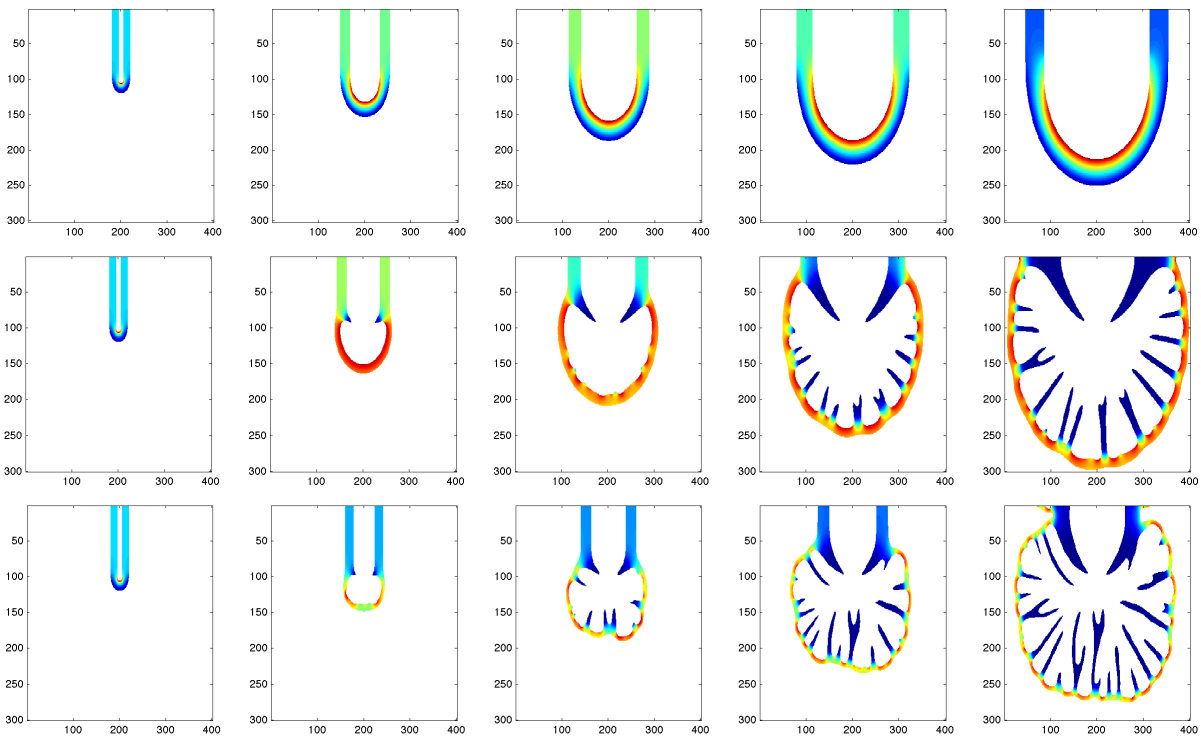
Une piste est donc de chercher quelles non-linéarités sont pertinentes à introduire dans le modèle. On sait par exemple que la réception de FGF10 induit l'expression de *Sprouty2*, qui limite la prolifération induite par FGF10. Une façon de modéliser ce feedback est d'introduire une saturation de la réponse en croissance : si le flux de FGF10 est trop important, la prolifération est limitée. Dans cette partie nous traiterons donc de l'effet d'une telle saturation sur la géométrie obtenue. En partant du cas linéaire, avec  $a_{int}/a_{ext} = 0.8$ , on impose qu'au delà d'un certain flux, donc au dessus d'une valeur donnée du gradient, notée  $\nabla_{sat}$ , le déplacement n'augmente plus. La forme de la réponse en croissance est représentée figure 4.18.

Le premier résultat, central, est que l'on ne perd pas l'émergence des traits frappants décrits dans la partie précédente en introduisant cette saturation de la réponse en croissance, comme le montre la figure 4.19 qui récapitule la croissance pour trois valeurs différentes de  $\nabla_{sat}$ .

Il semble en revanche que les propriétés géométriques de la structure formée soit modifiée avec la valeur du seuil. En premier lieu, la largeur moyenne des branches formées augmente lorsque  $\nabla_{sat}$  diminue (Fig. 4.20). Cette constatation s'explique assez simplement : plus  $\nabla_{sat}$  est petit, plus la plage de flux pour laquelle la réponse en croissance n'est pas favorisée par un flux important est grande (réponse en croissance constante). Or l'instabilité repose justement sur le fait que la croissance de branches est favorisée par le fort flux reçu. Il paraît donc logique que l'épithélium soit moins instable, et donc la taille caractéristique des branches soit plus élevée. Quand  $\nabla_{sat}$  augmente, la largeur moyenne des branches formées tend simplement vers sa valeur dans le cas non saturé, établie au

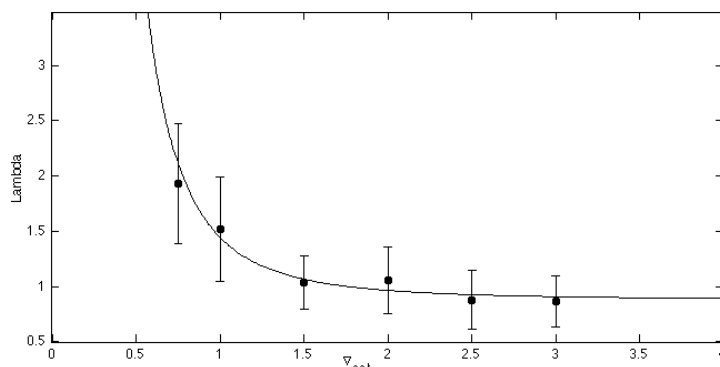


**Fig. 4.18** – Forme de la réponse en croissance lorsqu'on introduit une saturation brutale. Au delà de  $\nabla_{sat}$ , la réponse en croissance est constante.



**Fig. 4.19** – Résultat des simulations pour trois valeurs différentes de  $\nabla_{sat}$  : en haut,  $\nabla_{sat} = 0.5$ , au milieu,  $\nabla_{sat} = 1.5$ , et en bas,  $\nabla_{sat} = 3$ . Le code couleur représente le gradient du champ de concentration en FGF10. Plus  $\nabla_{sat}$  est grand, plus on se rapproche du cas linéaire simple.

paragraphe précédent (Fig. 4.15).

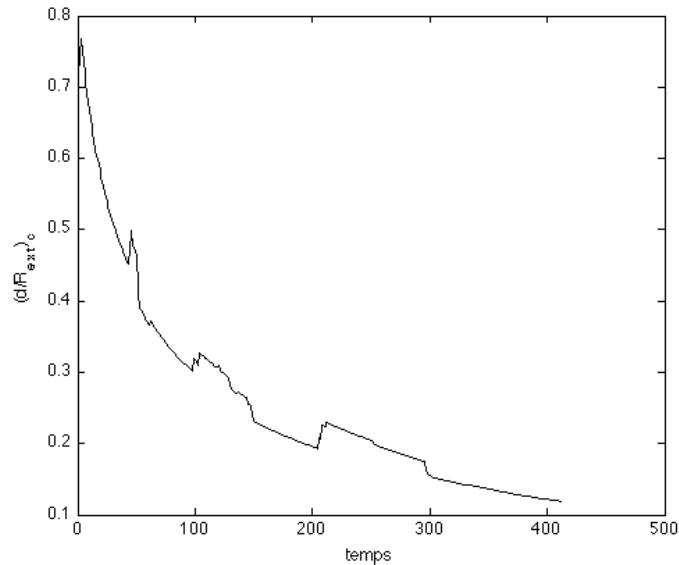


**Fig. 4.20** – Largeur moyenne des branches en fonction de la valeur du seuil. En dessous de 0.75, on ne voit pas de branches se former, la réponse en croissance étant constante sur toute la gamme de gradients pertinents.

En second lieu, on s’aperçoit que la saturation de la réponse en croissance a aussi une influence sur la convergence de  $\tilde{d}$ . En effet, on constate qu’en fin de simulation la valeur de  $\tilde{d}$  n’est pas la même d’une simulation à l’autre. Cependant, et contrairement au cas linéaire, comme représenté figure 4.13, il semble qu’ici en fin de simulation,  $\tilde{d}$  n’a pas encore convergé et continue à diminuer (Fig. 4.21). Nous étudierons plus en détail l’influence de  $\nabla_{sat}$  sur le temps nécessaire à la convergence dans le prochain chapitre, dans le cadre d’un calcul analytique.

Enfin, il semble que, toujours pour conserver à peu près la distance entre l’épithélium distal et le mésothélium, le système adapte spontanément sa géométrie pour que le gradient sur le mésothélium ne dépasse pas une valeur qui empêcherait l’épithélium de pousser à la même vitesse (à cause du seuil). Cette idée est confirmée par la distribution de gradients le long de l’épithélium et du mésothélium représentée figure 4.22. Sans saturation, le pic de valeur du gradient sur l’épithélium valait 2.7. Si  $\nabla_{sat}$  est inférieur à cette valeur, le pic est décalé.

Pour conclure cette partie sur l’introduction d’une saturation, il semble aussi que celle-ci produise un mésothélium beaucoup plus régulier, c’est à dire que la saturation empêche la croissance de doigts plus rapides que leurs voisins, contrairement au cas linéaire, ce qui se comprend finalement bien, puisque la réponse en croissance est limitée de façon homogène. La figure 4.23 compare l’état final avec et sans saturation. Un autre indicateur parlant est le fait que la distribution des gradients sur le mésothélium soit très piquée autour d’une certaine valeur, bien plus que dans le cas linéaire. Cela implique une vitesse très homogène et donc une croissance plus régulière.



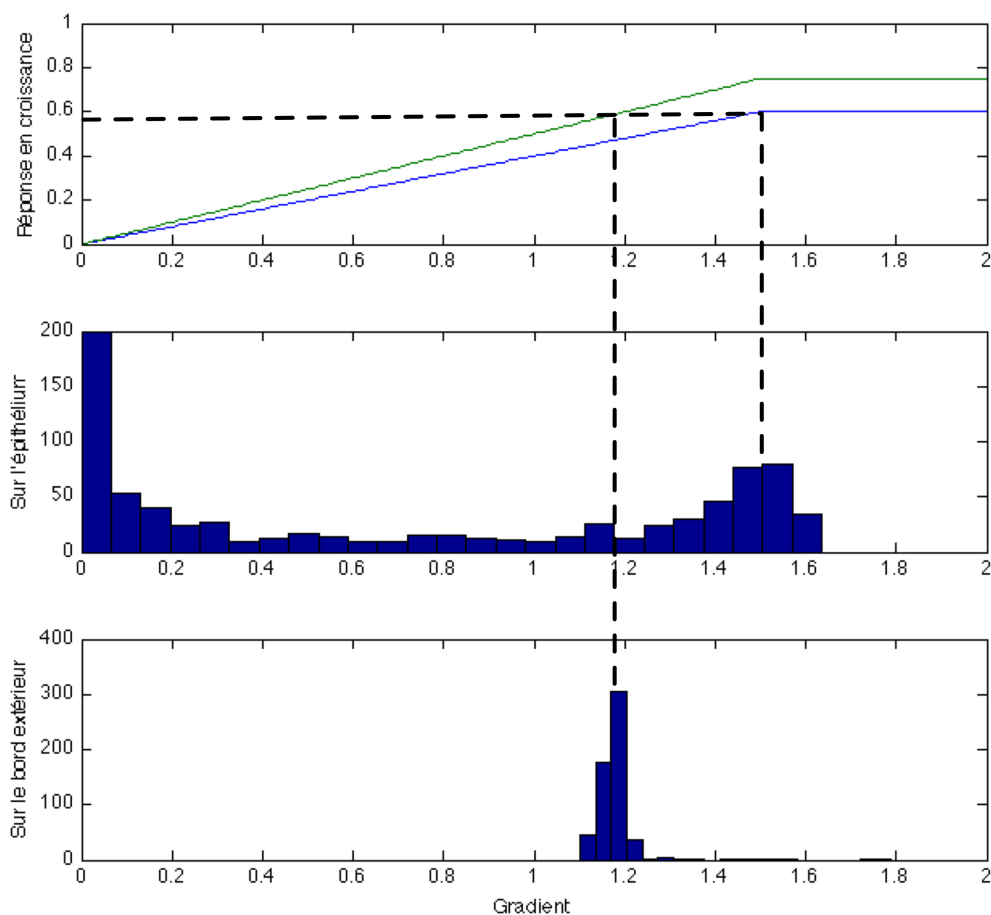
**Fig. 4.21** – Evolution de  $\tilde{d}$  pour  $\nabla_{sat} = 1$ . Après un temps plus long que dans la même expérience sans saturation,  $\tilde{d}$  n'a pas encore convergé et continue à décroître.

### Seuillage de la croissance

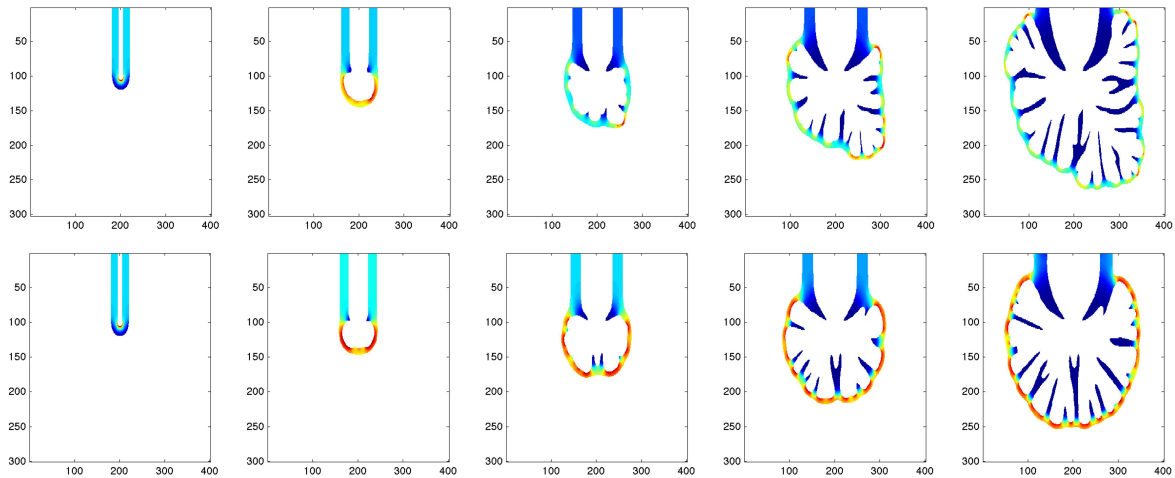
Dans la recherche de contributions non-linéaires simples à la réponse en croissance, une idée simple et biologiquement plausible est l'existence d'un seuil dans la réponse en croissance, c'est à dire que pour un flux trop faible de FGF10, on observe pas de croissance induite. Plusieurs mécanismes peuvent contribuer à un tel seuil : Il peut avoir une origine chimique, comme la réception d'une quantité minimum de FGF10 pour activer les voies de signalisation intra-cellulaires conduisant à la croissance, ou physiologique, comme la différenciation en cellules musculaires dans zones de faibles croissance, c'est à dire sur la partie latérale des branches.

La croissance très tubulaire du poumon montre justement que la prolifération est vraiment concentrée au bout des branches, dont la croissance se fait principalement en longueur. Un seuil dans la réponse en croissance impliquerait sûrement une diminution de la croissance latérale des bronches, où le flux est beaucoup plus faible et la croissance plus lente. Nous voulons donc tester l'influence de l'introduction d'un tel seuil sur la croissance, et savoir si cela peut effectivement constituer un moyen simple de produire des branches tubulaires. On impose donc qu'en dessous d'un gradient minimum, noté  $\nabla_{seuil}$ , la croissance est nulle (Fig. 4.24, haut).

Un premier résultat, qualitatif, montre que le seuil implique que la croissance est



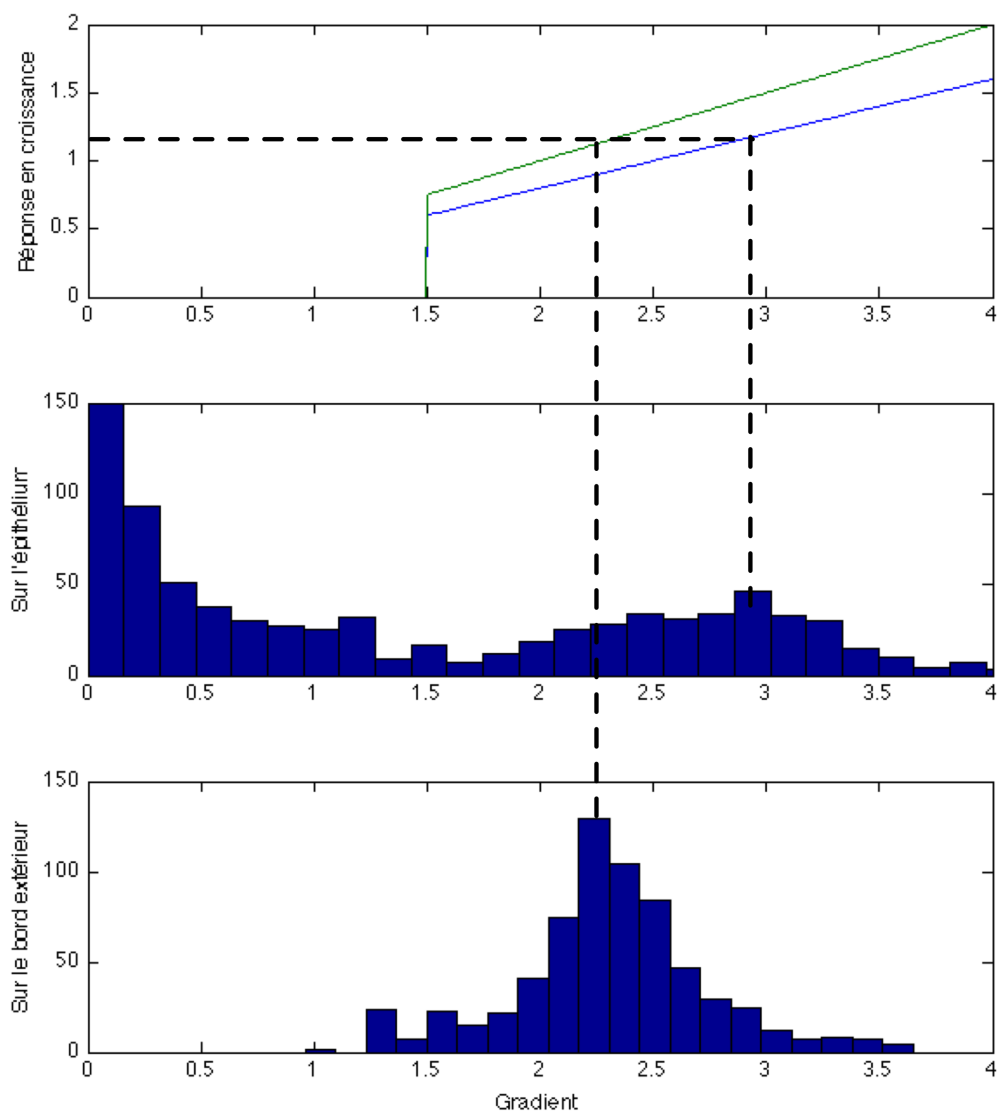
**Fig. 4.22** – Valeurs du gradient en chaque point de l'épithélium (au milieu), et du mésothélium (en bas). On reporte les pics sur la réponse en croissance en fonction du gradient (en haut : mésothélium en vert, épithélium en bleu). On voit que l'équation 4.14 décrit toujours bien le bout des branches. Le pic de gradient sur l'épithélium se concentre au niveau du seuil.



**Fig. 4.23** – *En haut, cas linéaire. En bas, cas saturé avec  $\nabla_{sat} = 2.5$ . Comme dans toute cette partie, on a pris soin de prendre le même rapport  $a_{int}/a_{ext}$ . La saturation régularise la forme du mésothélium. Les couleurs montrent par ailleurs que le gradient est beaucoup plus homogène dans le cas saturé.*

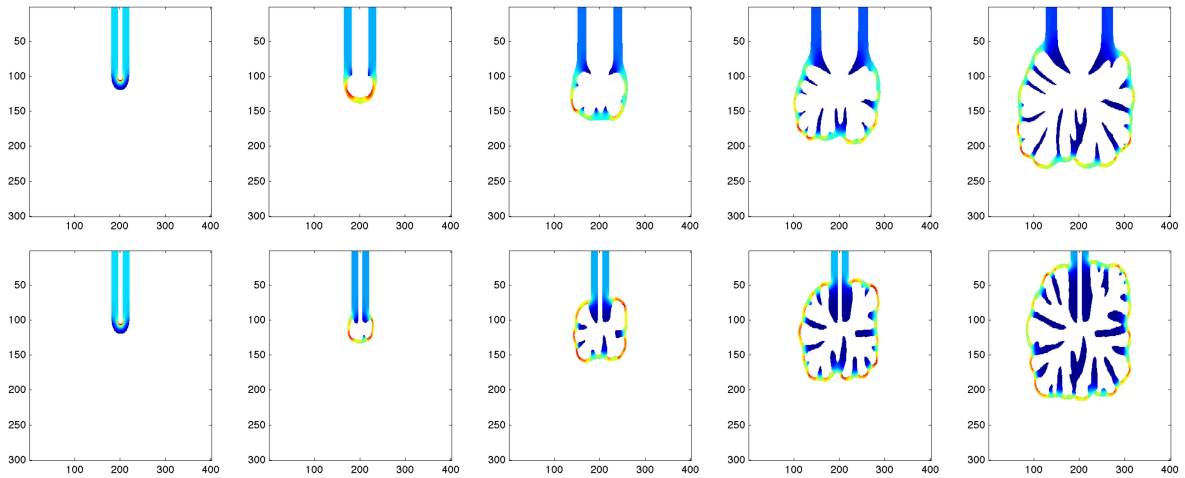
comme prévu moins latérale que dans le cas linéaire. La figure 4.25 montre en effet le résultat d'une simulation pour  $\nabla_{seuil} = 2$  (en haut), à comparer au résultat d'une simulation sans seuil (en bas). Une mesure complémentaire de la largeur des branches formées confirme que la non-croissance des zones recevant un faible flux de FGF10 entraîne la naissance de branches plus fines, et ce d'autant plus que le seuil est élevé (Fig. 4.26). En revanche, l'histogramme des gradients (Fig. 4.24) montre que le seuil n'affecte pas le comportement local au bout des branches, qui influe sur les valeurs du gradient. Finalement, l'interprétation simple de ce résultat est que dans le cas de l'ajout d'un seuil, les bords d'une branche s'arrêtent de croître très rapidement parce qu'il passent sous le seuil. Dans le cas linéaire ils continuent un petit peu à pousser et s'élargissent, même lentement.

De même que dans le cas saturé, les mesures de convergence de  $\tilde{d}$  sont plus délicates que dans le cas linéaire, puisqu'il semble que l'état stationnaire ne soit pas atteint dans la plupart des expériences. Cet aspect de la morphologie de l'arbre sera traité plus en détail dans le chapitre suivant. D'autre part la présence d'une violente discontinuité dans la réponse en croissance (discontinuité de premier ordre) rend les simulations numériques assez instables, et les mesures de distance et surtout de courbure assez bruitées. C'est une des raisons pour lesquelles nous essaierons dans la partie suivante de conserver cette idée de seuil (et de saturation) mais en introduisant des réponses en croissance continues, comme des sigmoïdes ou des gaussiennes.

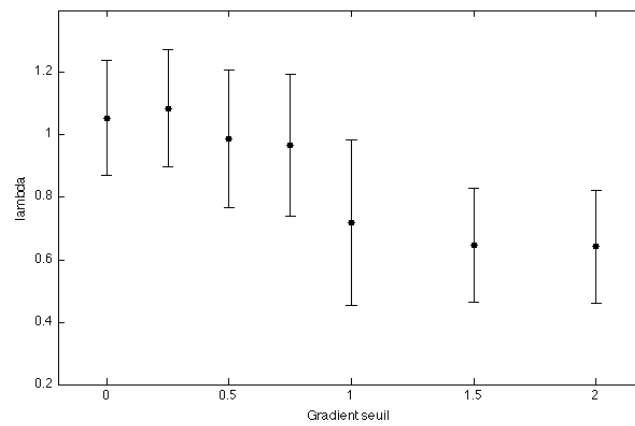


**Fig. 4.24** – En haut, forme de la réponse en croissance pour  $\nabla_{seuil} = 1.5$ . Au milieu et en bas, histogramme des valeurs du gradient sur l'épithélium et le mésothélium. On n'observe peu de différences qualitatives avec le cas linéaire.





**Fig. 4.25** – En bas, résultat de la simulation sans seuil, en haut, résultat d’une simulation pour  $\nabla_{\text{seuil}} = 2$ . Le code couleur représente toujours le gradient du champ de concentration dans le mésenchyme. Les branches formées semblent plus fines dans le cas seuillé.



**Fig. 4.26** – Largeur moyenne des branches formées. Plus le seuil est haut, plus les branches sont fines. Quant  $\nabla_{\text{seuil}}$  tend vers 0,  $\lambda$  tend logiquement vers sa valeur sans seuil.

### Autres réponses en croissance

Nous avons construit un modèle très général qui permet d'intégrer divers ingrédients plus ou moins finement grâce à la modification de la réponse en croissance. Nous avons vu que les divers caractères géométriques émergeaient de façon très robuste des simulations numériques. La force de ce modèle est de montrer la robustesse de l'arbre et la flexibilité de ses propriétés statistiques moyennes. Il est cependant important de noter que la morphologie des arbres obtenus est assez éloignée de celle du poumon, plus tubulaire et plus régulier. Cela n'a rien de surprenant puisque le modèle est créé comme un patron sur lequel seule l'intégration de paramètres plus fins permettra d'obtenir une forme plus proche de celle du poumon.

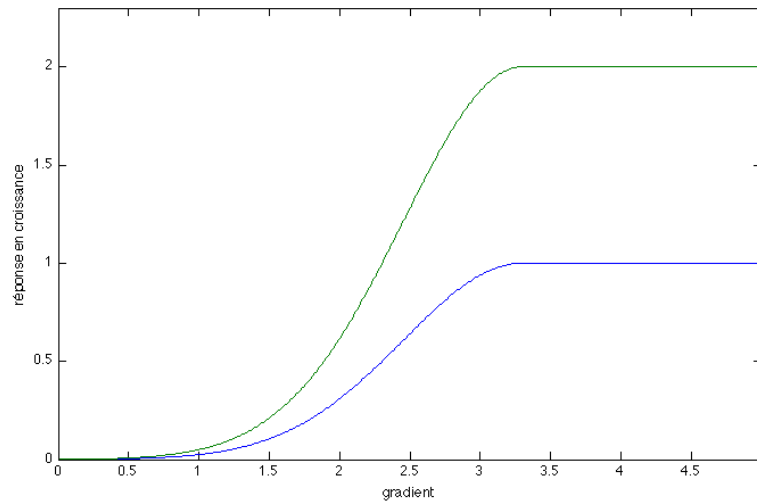
Une fois donc le formalisme modèle posé et discuté à travers ces modifications élémentaires (introduction d'un seuil et d'une saturation), une voie d'amélioration consiste à jouer sur la forme de la réponse en croissance en introduisant des fonctions moins triviales du flux, restant néanmoins cohérentes. Comme on peut l'imaginer, toute une zoologie de formes branchées peuvent être ainsi obtenues, dont les propriétés moyennes dépendent, comme on l'a vu, des détails de la réponse en croissance. On ne s'étendra donc pas outre mesure sur cette partie, si ce n'est pour montrer que dans le cadre de notre modèle, l'ajustement de la réponse en croissance permet un "tuning" de l'organe de la géométrie, ce qui a des conséquences évolutives intéressantes qui seront évoquées dans la discussion.

Nous nous pencherons donc principalement sur des versions "lissées" plus réalistes des seuils et saturations brutales introduites dans les parties précédentes. La solution la plus simple consiste à utiliser des fonctions sigmoïdes. Pour des raisons de chronologie de la thèse nous avons surtout utilisé des "demies" fonctions gaussiennes (en remplaçant la décroissance par une saturation à la valeur maximale). On obtient ainsi une fonction qui augmente lentement puis de plus en plus rapidement, puis continue à augmenter moins rapidement jusqu'à atteindre un plateau. Finalement une telle réponse en croissance sigmoïde est assez intuitive puisqu'il s'agit d'une marche (croissance "off" en dessous d'un certain flux, et "on" au dessus, mais lissé sur une certaine largeur  $\sigma$ ). On l'écrit de la manière suivante :

$$\begin{cases} f_{int}(\nabla c) = a_{int} \tanh(\nabla c/\gamma) \exp[-(\nabla c/\sigma_{int} - \nabla_0)^2] \\ f_{ext}(\nabla c) = a_{ext} \tanh(\nabla c/\gamma) \exp[-(\nabla c/\sigma_{ext} - \nabla_0)^2] \end{cases} \quad (4.15)$$

Pour  $\nabla c > \sigma \nabla_0$ ,  $f = a$ . Le préfacteur  $\tanh(\nabla c/\gamma)$  assure simplement que  $f(0) = 0$ ,  $\gamma$  étant fixé à 0.3.  $\nabla_0$  est fixé à 2.75. La réponse en croissance est représentée figure 4.27. Comme dans le cas d'une réponse à seuil, on peut jouer sur les différents paramètres pour

modifier la forme obtenue.



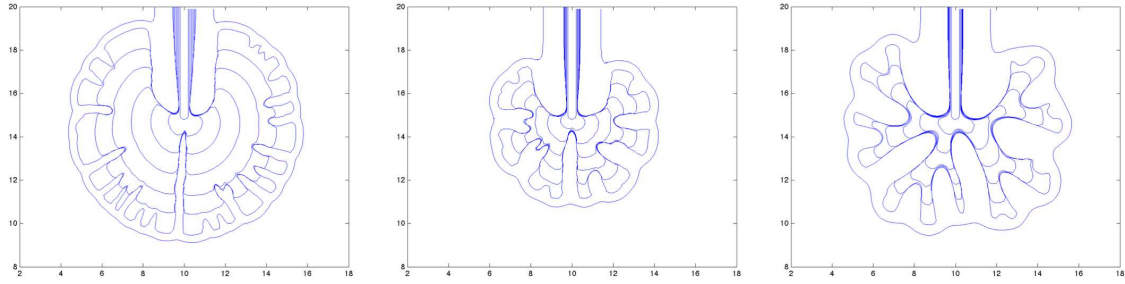
**Fig. 4.27** – Forme de la réponse en croissance pour  $a_{int}/a_{ext} = 1/2$ ,  $\nabla_0 = 2.75$  et  $\sigma_{int} = \sigma_{ext} = \sigma = 1.2$ .

Dans un premier temps, on peut, comme dans le cas linéaire, jouer sur le rapport des amplitudes,  $a_{int}/a_{ext}$ . De même que dans le cas linéaire, le rapport semble avoir une incidence sur le confinement des branches, qui sont plus serrées et plus proches du mésothélium quand  $a_{int}$  tend vers  $a_{ext}$ , à  $\sigma_{int} = \sigma_{ext} = \sigma = 1.1$  (Fig. 4.28).

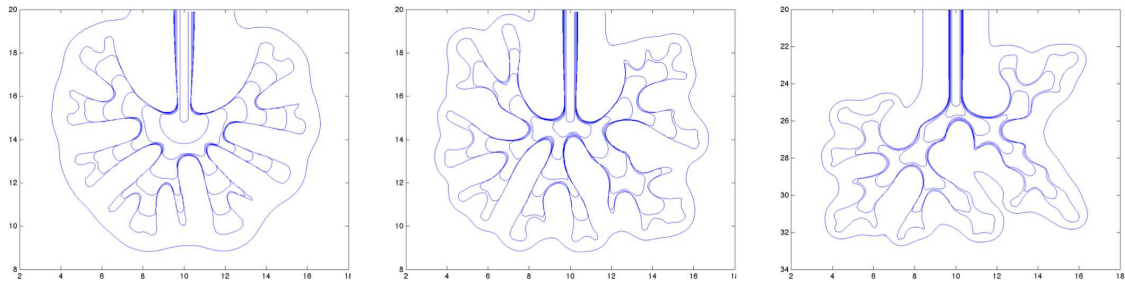
Dans un second temps, si l'on prend  $\sigma_{int} = \sigma_{ext} = \sigma$ , et qu'on joue sur la valeur de  $\sigma$ , on décale la marche. Tous les autres paramètres restant inchangés, avec  $a_{int}/a_{ext} = 1/4$ , on voit cette fois une importante variation sur le comportement du mésothélium, pouvant presque mener à un régime pour lequel celui-ci peut se déstabiliser, formant des lobes autour de groupes de doigts, ce qui pourrait montrer que même la lobation dont nous avons peu parlé a un sens dans le cadre de notre modèle (Fig. 4.29).

On peut ainsi jouer à l'infini sur les paramètres, mais la forme possède invariablement les traits frappants du poumon, alors que ses propriétés moyennes changent. Ainsi, on peut par exemple voir se former des branches très longilignes (à l'inverse des branches propres au cas linéaire), ou dans certains cas très semblables à celles du poumon, à cause de l'espace entre les branches et des branchements assez réguliers et dichotomiques (Fig. 4.30).

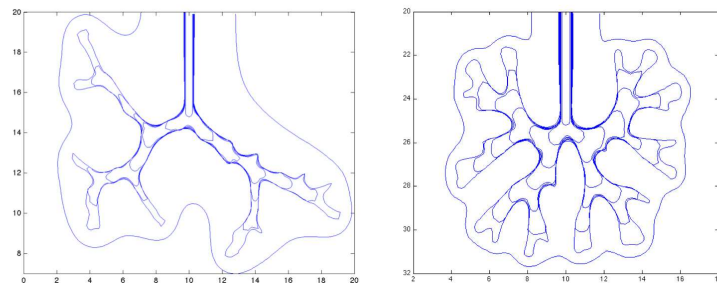
Les simulations ont permis, en intégrant un à un les ingrédients les plus simples de la croissance pulmonaire, de comprendre ce qui était nécessaire à l'apparition des traits frappants. Notamment, elles ont permis d'observer la croissance dynamique d'arbres jusqu'à cinq ou six générations de branches. On a aussi pu comprendre comment la croissance du



**Fig. 4.28** – Résultats de trois simulations. Seul le rapport  $a_{int}/a_{ext}$  varie, de gauche à droite :  $a_{int}/a_{ext} = 0.875$ ,  $a_{int}/a_{ext} = 0.5$ ,  $a_{int}/a_{ext} = 0.25$ . Les différents tracés représentent l'épithélium à des temps antérieurs. Le mésothélium n'est représenté que pour le temps final, par souci de clarté.



**Fig. 4.29** – Résultats de trois simulations. Seul  $\sigma$  varie, de gauche à droite :  $\sigma = 0.7$ ,  $\sigma = 1.2$ ,  $\sigma = 1.5$ .



**Fig. 4.30** – Résultats de deux simulations. A gauche,  $\sigma_{int} = 1$ ,  $\sigma_{ext} = 0.6$ , et  $a_{int}/a_{ext} = 1/3$ . A droite,  $\sigma_{ext} = \sigma_{int} = 1.1$  et  $a_{int}/a_{ext} = 1/4$ .

poumon, basée sur le même mécanisme chez tous les mammifères, peut donner lieu à des organes qualitativement semblables, mais différents dans les détails quantitatifs.

Dans le chapitre suivant nous essaierons de comprendre plus quantitativement l'établissement du régime "pseudo-stationnaire", c'est à dire la convergence de  $\tilde{d}_c$ , par un calcul modélisant le comportement local du bout d'une branche. Cela répondra à des questions d'ordre plus théorique, puisque cette interaction entre les deux bords en champ laplacien est une vraie nouveauté du point de vue de la physique des instabilités. Les mécanismes d'instabilité étant assez bien compris, il est important de s'intéresser au comportement de la distance épithélium/plèvre.



# Chapitre 5

## Etude analytique et dynamique locale

### Sommaire

---

<b>5.1</b>	<b>Calcul local</b>	<b>125</b>
5.1.1	Principe du calcul	126
5.1.2	Calcul du gradient	128
5.1.3	Intégration de la croissance	129
<b>5.2</b>	<b>Comparaison aux simulations</b>	<b>130</b>
5.2.1	Réponse en croissance linéaire	131
5.2.2	Réponse en croissance saturée	134
5.2.3	Réponse en croissance à seuil	136
5.2.4	Fonction sigmoïdale	137

---

### 5.1 Calcul local

Nous avons vu dans le chapitre précédent que la modélisation de la croissance sous l'action d'un flux de diffusion de FGF10 était très robuste vis à vis des connaissances établies par la biologie du développement. D'autre part, nous avons pu voir qu'elle rendait bien compte de la croissance arborescente de l'organe, puisque les simulations montrent qu'il est relativement aisé, sur un patron arborescent robuste, de changer les détails de la géométrie de l'organe. En changeant la forme de la réponse en croissance, réponse qui sous-tend la physique des tissus et les réactions bio-chimiques des cellules à certains stimuli, nous avons ainsi modifié la géométrie moyenne.

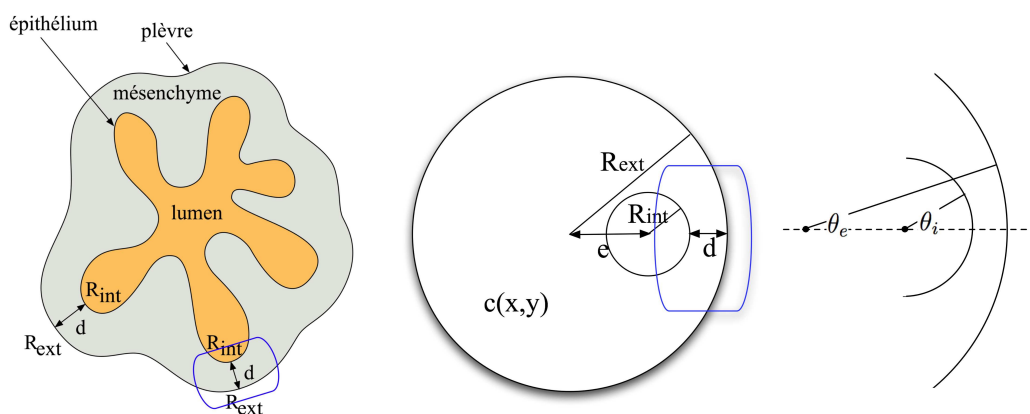
Néanmoins des questions d'ordre physico/géométrique sont soulevées par nos résultats, notamment en ce qui concerne l'apparition des distances caractéristiques, comme la taille des bronches, mais surtout de la distance d'équilibre entre les bronches et la paroi externe



du mésenchyme, distance fondamentalement nouvelle du point de vue théorique. Dans la partie précédente nous avons évoqué à plusieurs reprises le fait que le système semblait spontanément adapter sa géométrie pour que l'épithélium distal ne rejoigne pas le mésothélium. Dans cette partie, on cherche donc à décrire la dynamique locale du bout d'une bronche pour comprendre de quelle façon cette auto-régulation s'établit.

### 5.1.1 Principe du calcul

Le but de ce calcul est de comprendre l'effet des courbures sur le gradient du champ de concentration et sur son évolution, qui détermine l'évolution du système, et donc de comprendre l'effet de la géométrie locale sur la dynamique. Plus formellement, on souhaite décrire le comportement local d'une bronche de courbure  $R_{int}$  faisant face à la paroi externe du mésenchyme, de courbure locale  $R_{ext}$ , l'épithélium et la paroi externe étant séparés d'une distance  $d$  par le mésenchyme pulmonaire (Fig. 5.1). L'idée est d'abord de calculer entre les deux interfaces un champ  $c(x, y)$  de concentration en FGF10, satisfaisant l'équation de Laplace,  $\nabla^2 c = 0$ .



**Fig. 5.1** – Géométrie du problème. En bleu : zone d'intérêt, correspondant à la pointe d'une bronche. À droite,  $\theta_i$  et  $\theta_e$  représentent respectivement les angles liés au centre des cercles intérieur et extérieur.

Pour ce faire, on souhaite calculer l'expression du champ laplacien entre deux cercles (la pointe de la bronche et la paroi extérieure). Ensuite, on veut calculer le gradient de ce champ sur chaque interface et écrire, comme dans le modèle numérique, la croissance de l'interface comme une fonction du gradient  $\nabla c$ , pour avoir une idée de la dynamique locale des interfaces à l'endroit considéré. Par exemple, pour obtenir  $\dot{d}(R_{int}, R_{ext}, d)$  où  $d$  est la distance séparant les deux interfaces, et où  $R_{int}$  et  $R_{ext}$  les rayons des cercles intérieur

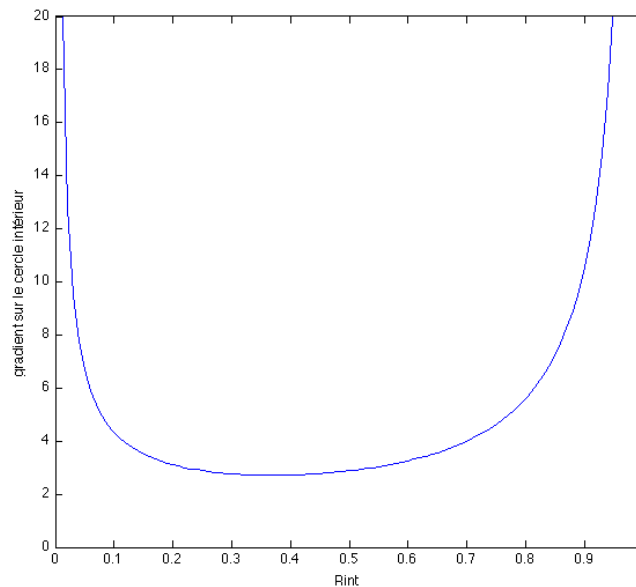
et extérieur. L'équation de Laplace se résout facilement lorsque l'excentricité  $e$  est nulle, c'est à dire si les deux cercles sont concentriques. La solution s'écrit  $c(r) = A \ln(r) + B$ . En imposant les conditions aux limites, à savoir que  $c$  est nulle au niveau de l'épithélium (cercle intérieur) et vaut  $\delta c$  sur la paroi extérieure, on obtient :

$$c(r) = \frac{\delta c}{\ln(R_{ext}/R_{int})} \ln(r/R_{int}) \quad (5.1)$$

Le gradient de concentration s'écrit alors :

$$\nabla c(r) = \frac{\delta c}{\ln(R_{ext}/R_{int})} \frac{1}{r} \quad (5.2)$$

L'expression du gradient donné par l'équation 5.2 montre bien l'importance des rayons de courbure sur le gradient, et donc dans notre modèle sur le flux de diffusion arrivant à l'épithélium. En effet, si l'on fixe par exemple  $\delta c = 1$  et  $R_{ext} = 1$ , et qu'on trace la valeur du gradient en fonction de  $R_{int}$ , on voit que pour les petites valeurs de  $R_{int}$ , bien que les deux bords soient plus éloignés, le gradient est plus fort, effet géométrique dû à la forte courbure de l'épithélium (Fig. 5.2).



**Fig. 5.2** – Valeur du gradient sur le cercle intérieur en fonction de  $R_{int}$ , pour  $\delta c = R_{ext} = 1$ . Quand  $R_{int}$  décroît, le gradient est d'abord plus faible puisque la distance augmente. Quand  $R_{int}$  devient trop petit, le gradient réaugmente, la forte courbure l'emportant sur la distance.

Pour pouvoir traiter du cas général dans lequel les deux arcs de cercles ne sont pas

concentriques, il faut pouvoir calculer le champ entre deux cercles non-concentriques. Pour ça on fait intervenir une transformation conforme (voir annexe) faisant passer de la géométrie décentrée à la géométrie centrée, ce qui permet d'exporter la solution centrée vers le cas général. Si l'on appelle  $e$  l'excentricité, on a :

$$c(x, y) = \delta c \left( 1 + \alpha \ln \left( R_{ext}^2 \frac{(x-b)^2 + y^2}{(R_{ext}^2 - bx)^2 + (by)^2} \right) \right), \quad (5.3)$$

avec

$$b = \frac{1}{2e} \left( (R_{ext}^2 - R_{int}^2 + e^2) \pm \sqrt{(R_{ext}^2 - R_{int}^2 + e^2)^2 - (2eR_{ext})^2} \right), \quad (5.4)$$

et

$$\alpha = \left( \ln \left( \frac{b(R_{ext}^2 - eb)}{R_{ext}^2(b-e)} \right) \right)^{-1} \quad (5.5)$$

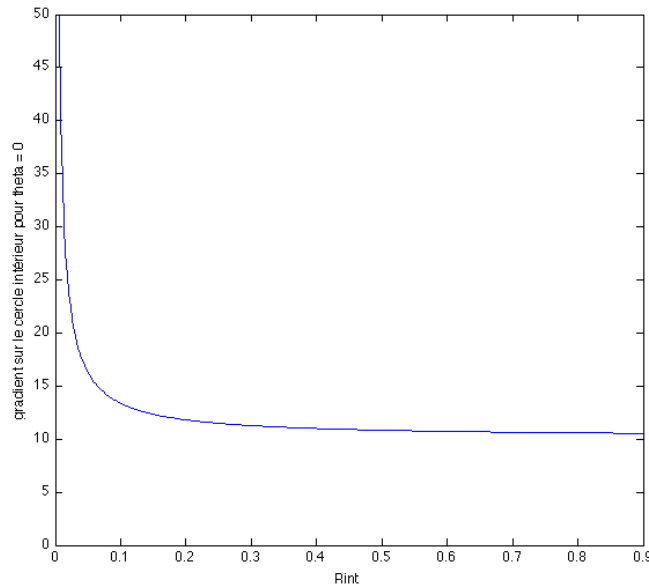
### 5.1.2 Calcul du gradient

L'expression générale du champ est donnée par l'équation 5.3. Pour comprendre ce qui se passe dans notre modèle de croissance, on doit s'intéresser au gradient de concentration au niveau des deux interfaces, puisque le flux de FGF10 est directement proportionnel à  $\nabla c$ . Après calcul (voir annexe), on peut montrer que le gradient s'écrit :

$$\nabla c = \frac{2\alpha\delta c(R_{ext}^2 - b^2)}{\sqrt{[(R_{ext}^2 - bx)^2 + (by)^2][(x-b)^2 + y^2]}} \quad (5.6)$$

Un résultat intéressant est qu'on peut maintenant avoir l'influence de la courbure seule sur le flux. En effet, on peut fixer  $R_{ext}$  et  $d$  et faire varier  $R_{int}$ . La figure 5.3 représente la variation du gradient pour  $\theta = 0$  (au bout du "doigt") pour  $R_{ext}$  et  $d$  donnés.

Pour une distance donnée entre deux morceaux d'interfaces, on voit bien l'influence fondamentale de la courbure sur le flux reçu. Cette grande sensibilité du gradient à la courbure explique bien la grande sensibilité de l'expression de *sprouty2* à la courbure de l'épithélium observée sur les observations in situ de la littérature, puisque la courbure de l'épithélium change dramatiquement le gradient de concentration et donc le flux reçu. Pour les grandes valeurs de  $R_{int}$ , on tend bien vers le cas plan où le gradient vaut  $\delta c/d$  (avec ici,  $\delta c/d = 10$ ).



**Fig. 5.3** – Valeur du gradient en fonction de  $R_{int}$ , pour  $\delta c = R_{ext} = 1$  et  $d = 0.1$ .

### 5.1.3 Intégration de la croissance

On a écrit le gradient de concentration, qui donne le flux de FGF10, partout entre l'épithélium et le mésothélium. On veut maintenant introduire la croissance des deux interfaces pour avoir une idée de la dynamique locale des rayons de courbure et de la distance entre les interfaces. Comme dans le modèle numérique, on introduit la réponse en croissance comme des fonctions du gradient local :

$$\begin{cases} u_i(\theta_i) = f_i(\nabla c_i) \\ u_e(\theta_e) = f_e(\nabla c_e) \end{cases} \quad (5.7)$$

Les fonctions  $f_i$  et  $f_e$ , comme dans le modèle numérique, peuvent contenir les contributions aussi bien physiques que biologiques du milieu environnant et les propriétés des tissus considérés. On ne fera aucune supposition *a priori* sur la forme de ces fonctions. Pour écrire le gradient le long des interfaces, on développe autour du bout d'une branche. On procède donc à un développement limité du gradient autour de  $\theta = 0$ . On peut alors écrire le gradient le long des interfaces (voir en annexe pour le calcul des coefficients  $\alpha$  et  $\beta$ ) :

$$\begin{cases} \nabla c_i(\theta_i) = \alpha_i - \beta_i \theta_i^2 \\ \nabla c_e(\theta_e) = \alpha_e - \beta_e \theta_e^2 \end{cases} \quad (5.8)$$

On peut alors simplement développer les fonctions du gradient et obtenir un système (voir les détails en annexe) décrivant l'évolution des courbures et de la distance entre les deux interfaces au bout d'une branche :

$$\begin{cases} \dot{R}_{int} = f_i(\alpha_i) - 2\beta_i f'_i(\alpha_i) \\ \dot{R}_{ext} = f_e(\alpha_e) - 2\beta_e f'_e(\alpha_e) \\ \dot{d} = f_e(\alpha_e) - f_i(\alpha_i) \end{cases} \quad (5.9)$$

Le point sur une grandeur traduit une dérivée temporelle. Les rayons de courbures varient au premier ordre comme la vitesse de croissance (terme  $f(\alpha)$ ). Si les deux cercles étaient concentriques il n'y aurait que ce premier terme, le second correspondant à la correction due à l'excentricité. La variation de distance est simplement la différence de vitesse entre les deux interfaces. Ce système ne peut pas être intégré simplement de façon analytique, mais peut s'intégrer numériquement pour être confronté aux simulations.

## 5.2 Comparaison aux simulations

Le calcul local du gradient entre et sur deux interfaces courbes grâce à un prolongement en cercles de rayons égaux aux courbures des interfaces nous a permis de comprendre l'importance des courbures sur le flux de diffusion. Il nous a aussi permis d'écrire un système décrivant l'évolution des courbures et de la distance entre les deux interfaces dans le cadre de notre modèle de croissance. Dans cette partie nous allons voir ce que cette écriture peut nous permettre de comprendre sur le système pulmonaire, et en particulier sur la grandeur  $\tilde{d}_c$  évoquée au chapitre précédent.

Le système 5.9 donne des équations d'évolution pour le bout d'une bronche. Il est possible de résoudre numériquement ces équations, en prenant comme conditions initiales celles des simulations numériques. De plus, les équations obtenues permettent d'utiliser n'importe quelle fonction de réponse en croissance. On peut donc vraiment comparer directement l'évolution d'une simulation à l'évolution prédite par le calcul, dans n'importe quel cas.

### 5.2.1 Réponse en croissance linéaire

#### Comparaison directe

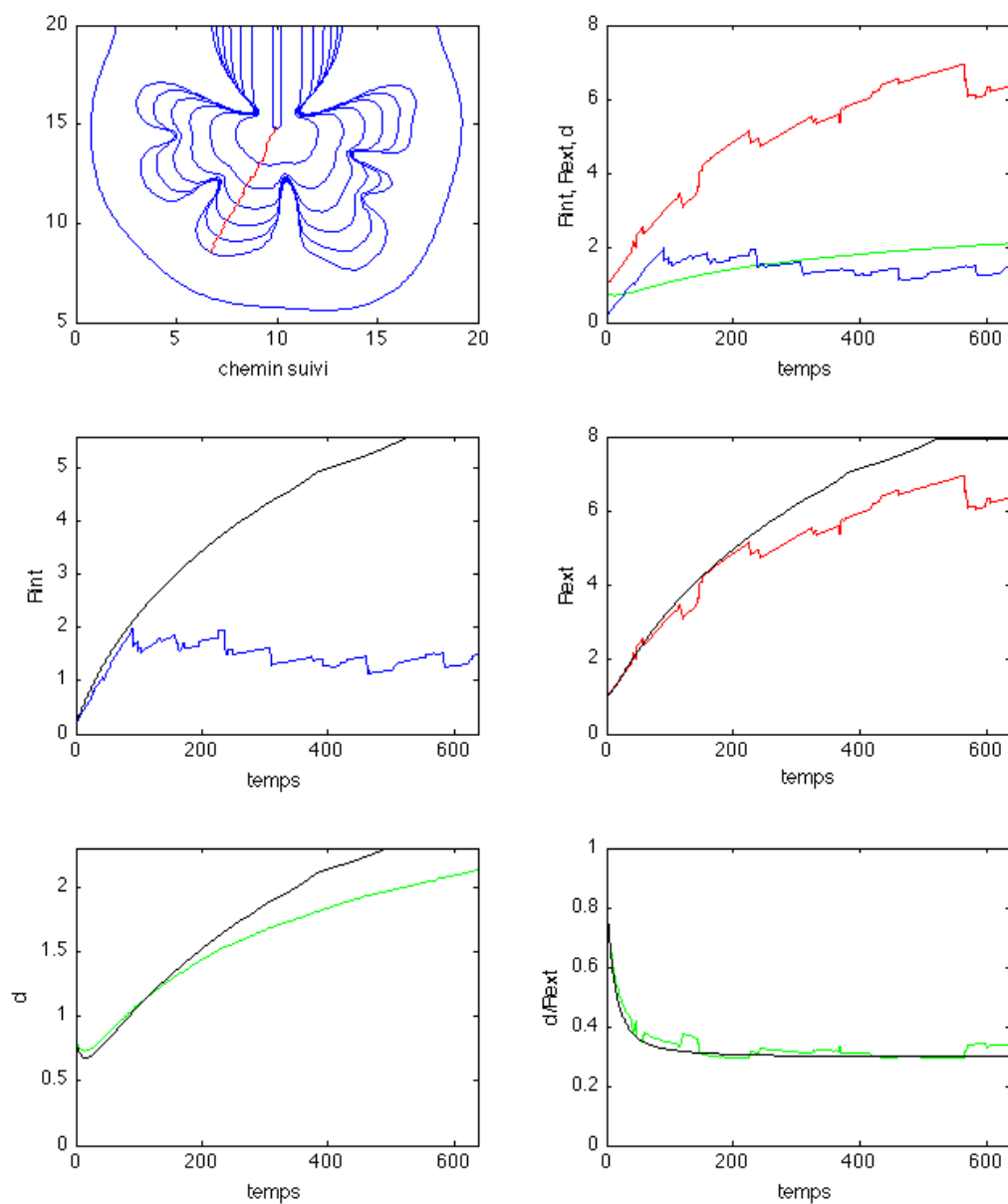
On peut commencer par résoudre ce système dans le cas d'une réponse en croissance simplement linéaire, cas que nous avons approfondi dans les expériences numériques. En particulier, les mesures de  $\tilde{d}_c$  ont montré que la distance de convergence rapportée au rayon de courbure extérieur dépendait du rapport des pentes des réponses en croissance, chose qu'on peut tester dans le cadre de ce calcul.

Les figures 5.4 et 5.5 représentent des comparaisons entre notre calcul local et les mesures effectuées sur les simulations numériques, respectivement pour  $a_{int}/a_{ext} = 1/2$  et  $a_{int}/a_{ext} = 2/3$ . On peut y voir la trajectoire du point suivi, les mesures des rayon de courbure associés et de la distance au mésothélium au cours du temps (en haut). On a ensuite représenté pour chacune des grandeurs la prédiction établie par notre calcul local comparée à la mesure. Les mesures sont effectuées, comme expliqué au chapitre précédent, en choisissant un point de l'épithélium distal *en fin de simulation* et en remontant son histoire. On a ainsi un point ayant toujours été au bout d'une branche, ce qui est précisément ce que notre calcul cherche à décrire.

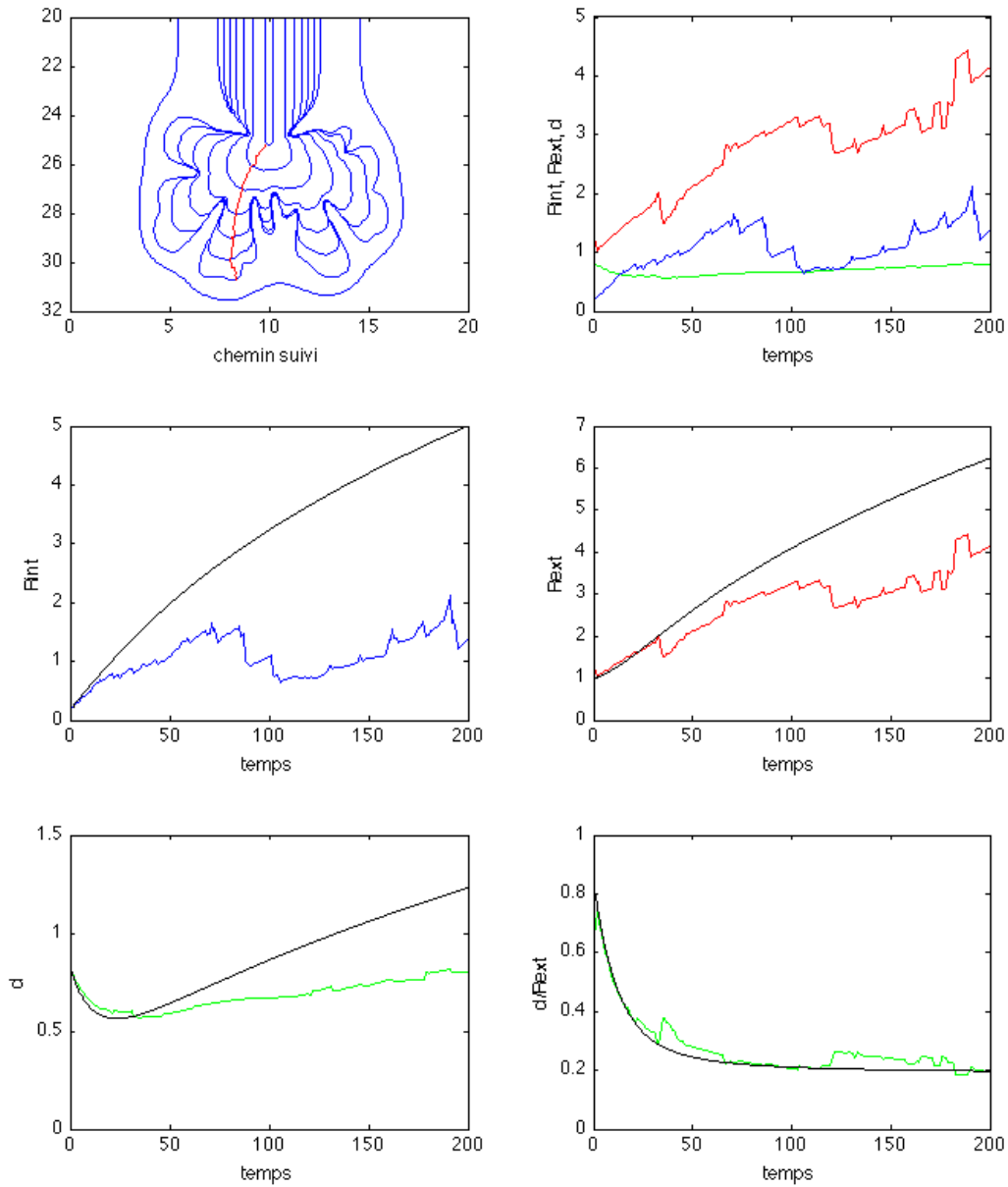
On s'aperçoit en premier lieu pour les trois grandeurs  $R_{int}$ ,  $R_{ext}$  et  $d$ , la prédiction donne le bon comportement, assez quantitativement, jusqu'aux premiers branchements de l'épithélium. Après cela la prédiction n'est plus bonne. Cela se comprend assez naturellement puisque le calcul considère uniquement un point de l'épithélium est n'est de ce fait pas susceptible de rendre compte de l'instabilité de croissance observée ni de l'effet des doigts voisins qui tendent à diminuer le gradient et aplatir le front. En revanche, le dernier graphique montre qu'il prédit très bien, et ce malgré les branchements, la convergence de la grandeur  $\tilde{d}_c = d/R_{ext}$  en suivant la courbe expérimentale avec une bonne précision. On peut s'interroger sur la capacité de ce calcul local à prédire la convergence alors qu'il perd sa validité suite aux branchements pour les autres grandeurs. Une explication logique est que ce calcul prédit la croissance d'un état de base non perturbé, et que la grandeur  $\tilde{d}_c$  ne dépend pas de l'arborescence, qui est la conséquence de l'instabilité qui se développe sur l'état de base prédit par le calcul.

#### Variation de $\tilde{d}_c$

La comparaison n'est présentée que dans deux cas mais le bon accord trouvé entre le calcul local et les mesures numériques est très robuste sur les différentes expériences numériques. En résolvant le système pour de nombreuses valeurs différentes de  $a_{int}/a_{ext}$ , on obtient une courbe théorique qui prédit la valeur  $\tilde{d}_c$  en fonction de ce rapport. Par ailleurs



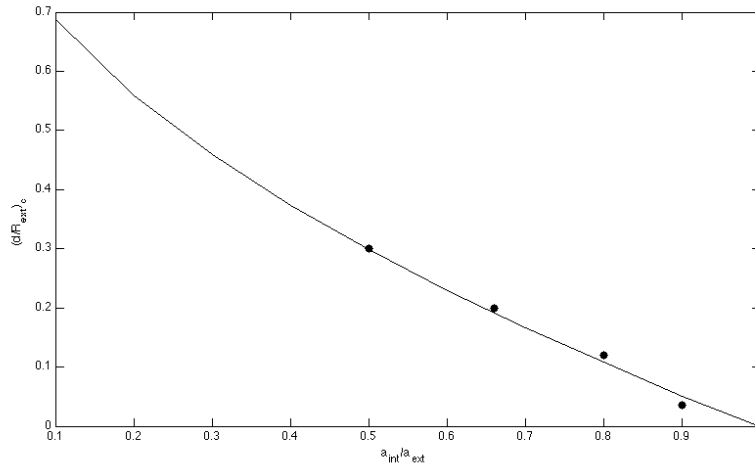
**Fig. 5.4** – Comparaison entre le comportement local du bout d’une branche dans une expérience numérique ( $a_{int}/a_{ext} = 1/2$ ) et notre calcul local. La convergence de  $\tilde{d}$  est très bien prédite par la théorie.



**Fig. 5.5** – Comparaison entre le comportement local du bout d’une branche dans une expérience numérique ( $a_{int}/a_{ext} = 2/3$ ) et notre calcul local. La convergence de  $\tilde{d}$  est très bien prédite par la théorie.



on peut mesurer dans les expériences numériques cette même grandeur pour différentes valeurs du rapport  $a_{int}/a_{ext}$  (Fig. 5.6). Comme on le voit, notre calcul prédit très bien la variation de  $\tilde{d}_c$  en fonction de  $a_{int}/a_{ext}$ . En particulier, il rend bien compte du fait que l'épithélium atteint le mésothélium à partir de  $a_{int} = a_{ext}$ .



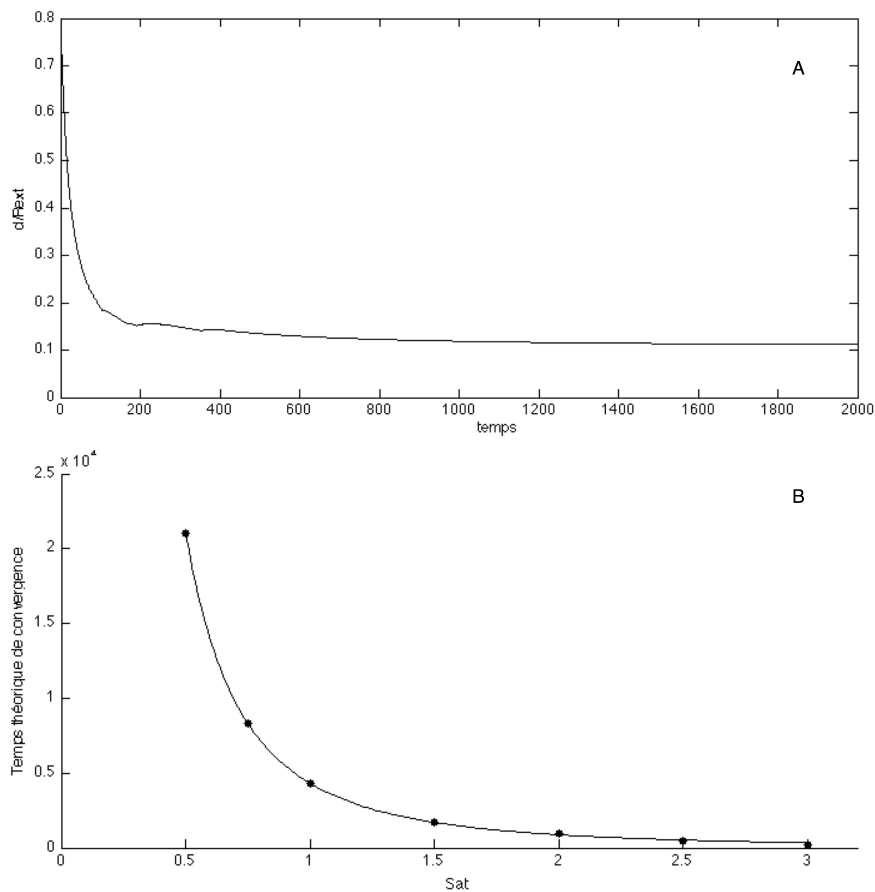
**Fig. 5.6** – Les points représentent les mesures de  $\tilde{d}_c$  pour différentes valeurs de  $a_{int}/a_{ext}$ . La courbe correspond à la prédiction théorique, obtenue en résolvant le système pour de nombreuses valeurs du rapport  $a_{int}/a_{ext}$ . On observe un très bon accord entre les expériences numériques et notre calcul.

On a finalement un scénario assez complet pour comprendre le système en regardant spécifiquement le bout d'une bronche. L'instabilité impose une évolution en dents de scie au rayon de courbure de l'épithélium distal. Le rayon de courbure du mésothélium ressent légèrement ces variations mais continue de croître avec la taille du système. La distance entre le bout des bronches et le mésothélium dérive lentement, mais une fois rescalée par le rayon de courbure du mésothélium, on a bien une grandeur qui converge. On peut imaginer qu'un rescaling par la taille du système aurait eu en gros le même effet sur la convergence de  $\tilde{d}$ .

## 5.2.2 Réponse en croissance saturée

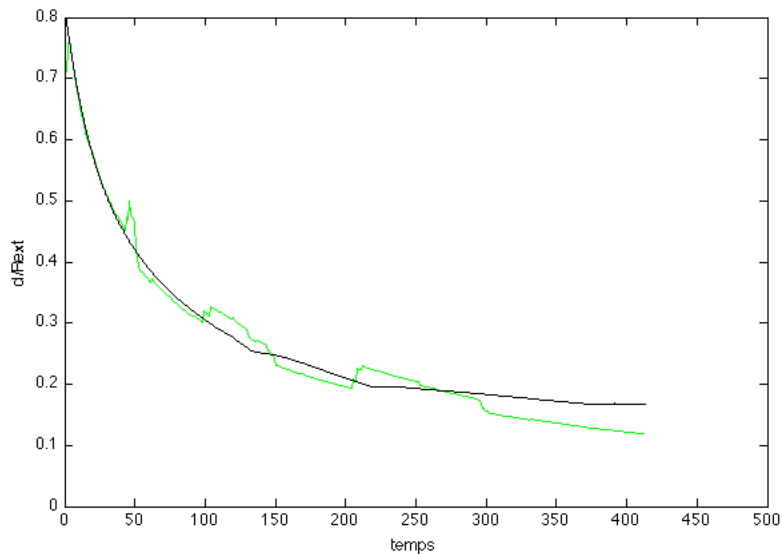
On peut, de la même façon, procéder à l'étude de l'évolution de  $R_{int}$ ,  $R_{ext}$  et  $d$  dans le cas où on a introduit une saturation de la réponse en croissance. On a par ailleurs évoqué au chapitre précédent que dans ce cas, l'introduction de  $\nabla_{sat}$  semblait modifier le temps nécessaire à la convergence de  $\tilde{d}$ . Nous allons maintenant pouvoir tenter de comprendre cela dans le cadre notre calcul local.

Tout d'abord on peut s'attacher à voir si le calcul prédit effectivement bien la convergence de  $\tilde{d}$  dans ce cas, puisqu'on n'a pas pu l'observer dans les simulations numériques. La figure 5.7 (A) montre, pour  $\nabla_{sat} = 1.5$  à titre d'exemple, que  $\tilde{d}$  converge bien et vers la même valeur que sans saturation. En répétant l'opération pour d'autres valeurs de  $\nabla_{sat}$ , on constate que la saturation ne modifie que le temps que le système met à converger, et pas la valeur de convergence. On définit arbitrairement le temps de convergence comme le temps nécessaire à  $\tilde{d}$  pour avoir fait 99% du chemin le séparant de sa valeur d'équilibre, en partant de la même condition initiale. La figure 5.7 (B) représente ce temps de convergence (en équivalents de pas de temps des simulations numériques) en fonction de  $\nabla_{sat}$ . Il est en effet supérieur au temps de simulation des expériences numériques.



**Fig. 5.7** – A. Prédiction par notre calcul local de la convergence de  $\tilde{d}$  pour  $\nabla_{sat} = 1.5$ , en équivalents de pas de temps numériques. B. Temps de convergence prédit par notre calcul local en fonction de  $\nabla_{sat}$ , fitté par une loi de puissance. Quand  $\nabla_{sat} > 3$ , la convergence est assez rapide pour être observée numériquement, ce qui explique que dans le cas linéaire, on observait bien la convergence.

Il semble bien alors que la non-convergence dans les expériences numériques était due à un temps de simulation trop court. On peut s'en assurer de façon définitive en calculant pour chaque expérience numérique la prédiction théorique sur  $\tilde{d}$  jusqu'au temps de la fin de simulation, et en s'assurant que la prédiction suit bien l'expérience. La comparaison directe de la prédiction théorique et des mesures sur simulation montrent bien que l'accord n'est pas perdu, mais simplement que le système n'a pas encore atteint d'équilibre.



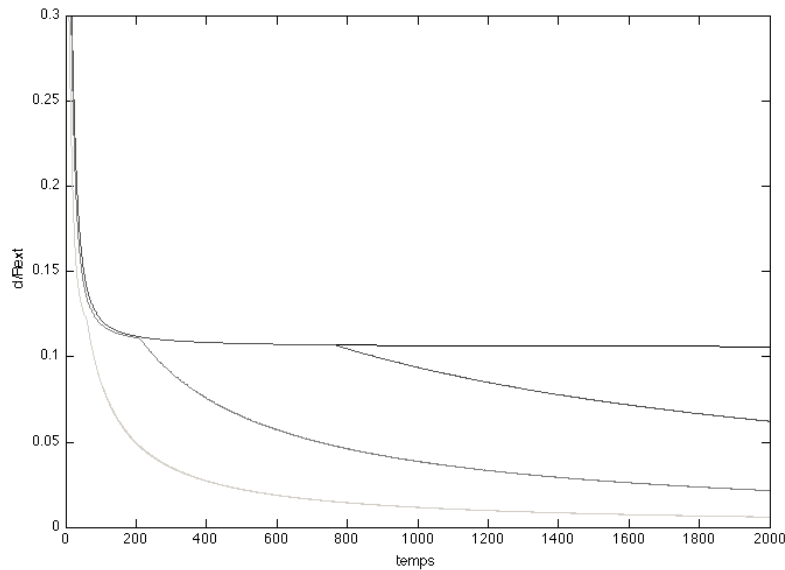
**Fig. 5.8** – Mesure de  $\tilde{d}$  pour  $\nabla_{sat} = 1$ , comme dans la figure 4.21, comparée avec la prédiction donnée par notre calcul local (en noir).

On a maintenant la confirmation que  $\nabla_{sat}$  modifie le temps de convergence vers  $\tilde{d}_c$ . Ce résultat n'est finalement pas surprenant puisqu'on a vu que le gradient au bout des branches se plaçait spontanément juste au niveau de  $\nabla_{sat}$ , comme le montrait la figure 4.22 au chapitre précédent, ce qui implique une croissance d'autant plus lente et un temps de convergence d'autant plus long que le  $\nabla_{sat}$  est bas.

### 5.2.3 Réponse en croissance à seuil

Comme dans le cas précédent, l'introduction d'un seuil à la réponse en croissance semble modifier le temps de convergence, et rend délicat l'étude de la valeur de convergence de  $\tilde{d}$ . En effet, la discontinuité de premier ordre dans la réponse en croissance (saut de la vitesse de croissance à  $\nabla_{seuil}$ ) semble engendrer un décrochage de  $\tilde{d}$ , qui paraît d'abord converger comme sans seuil, puis décroche à grand temps et relaxe vers 0 (Fig. 5.9).

Comme les simulations ne vont pas assez loin pour observer un éventuel décrochage,



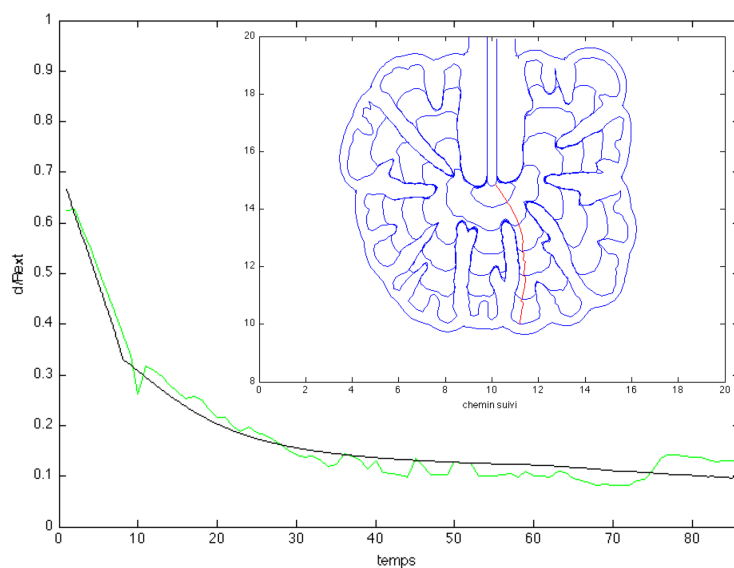
**Fig. 5.9** – Prédiction par le calcul local de l'évolution de  $\tilde{d}$  dans le cas d'une réponse en croissance à seuil. De haut en bas :  $\nabla_{seuil} = 0$ ,  $\nabla_{seuil} = 0.5$ ,  $\nabla_{seuil} = 1$ ,  $\nabla_{seuil} = 2$ . Le décrochage vers 0 survient d'autant plus rapidement que le seuil est haut.

on doit se contenter de l'étude à temps court. Dans ce cas il est toujours possible, sans aller jusqu'à la convergence, de comparer la prédiction du calcul local avec les simulations numériques. Les résultats de cette comparaison sont présentés figure 5.10 pour  $\nabla_{seuil} = 2$ , et comme on le voit le bon accord n'est pas perdu, la théorie suivant même des variations non-triviales de  $\tilde{d}$ .

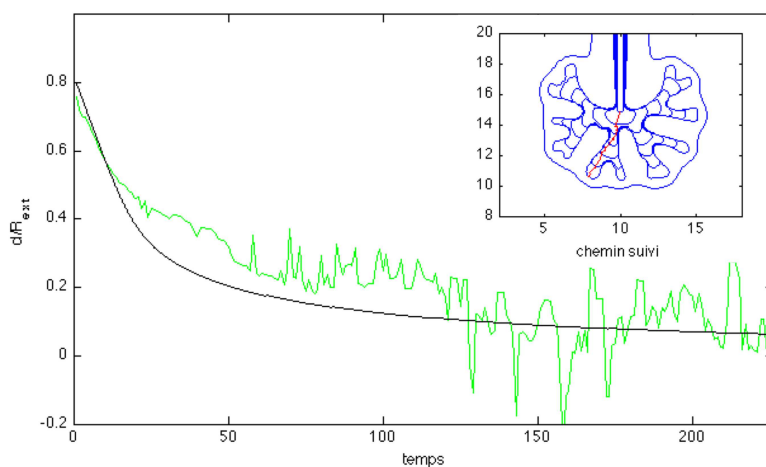
Dans la suite des expériences numériques, on a transformé ce seuil brutal en quelque chose de continu, comme par exemple des fonctions sigmoïdales qui sont d'ailleurs plus réalistes. La vertu de l'introduction d'un seuil brutal a surtout été de montrer que celui-ci diminuait la croissance latérale des branches par rapport à leur élongation, ce qui semble être un bon candidat à la formation de branches assez tubulaires comme on les observe dans le poumon.

#### 5.2.4 Fonction sigmoïdale

Sans entrer dans le détail, on peut vérifier que le calcul ne perd pas sa validité lorsqu'on sort des réponses en croissance linéaires. Un exemple représentatif est donné figure 5.11, qui montre que le comportement local est toujours bien décrit par le calcul, et qu'il y a bien relaxation de  $\tilde{d}$  vers une valeur d'équilibre.



**Fig. 5.10** – Mesure de  $\tilde{d}$  pour  $\nabla_{seuil} = 2$ , comparée avec la prédiction du calcul local (en noir). Encart : chemin du point suivi.



**Fig. 5.11** – Mesure de  $\tilde{d}$  pour une fonction de type sigmoïdal, avec  $\sigma = 1.1$ ,  $a_{int}/a_{ext} = 0.25$ , comparée avec la prédiction du calcul local (en noir). Encart : chemin du point suivi.

# Chapitre 6

## Nouvelle expérience et discussion des résultats

### Sommaire

---

<b>6.1</b>	<b>Nouvelle expérience de morphogenèse</b>	<b>139</b>
6.1.1	Motivations et principe	139
6.1.2	Résultats préliminaires	140
<b>6.2</b>	<b>Discussion sur la morphogenèse pulmonaire</b>	<b>144</b>
6.2.1	A propos des gènes évoqués	144
6.2.2	Questions en suspens	146
6.2.3	Les limites du modèle	148
6.2.4	Portée des résultats	149

---

## 6.1 Nouvelle expérience de morphogenèse

### 6.1.1 Motivations et principe

Le premier chapitre de ce travail de thèse traitait d'une expérience de morphogenèse physico-chimique. L'idée était de reproduire grossièrement la géométrie de la croissance pulmonaire par un processus d'injection. L'expérience a dévoilé une instabilité de croissance originale, mais s'est révélée décevante du point de vue de la croissance pulmonaire. A la lumière de l'étude menée dans les chapitres suivants, on comprend bien que la naïveté de cette première expérience ne permettait pas d'espérer une analogie, les ingrédients nécessaires à la morphogenèse n'étant pas réunis.

Cependant, nous avons à présent construit un scénario global détaillant les mécanismes et les acteurs responsables des traits frappants. La meilleure compréhension de l'auto-organisation à l'oeuvre dans la morphogenèse pulmonaire semble rendre envisageable la construction d'une expérience réunissant à la fois les acteurs et la géométrie, au

moins qualitativement, et ce par des moyens purement physiques. Dans cette partie, nous présenterons donc les résultats préliminaires d'une nouvelle expérience de morphogenèse, basée cette fois sur les idées développées dans les chapitres précédents. Nous remercions vivement Paul Boniface, qui a réalisé le montage et effectué les expériences pendant son stage de Master 2.

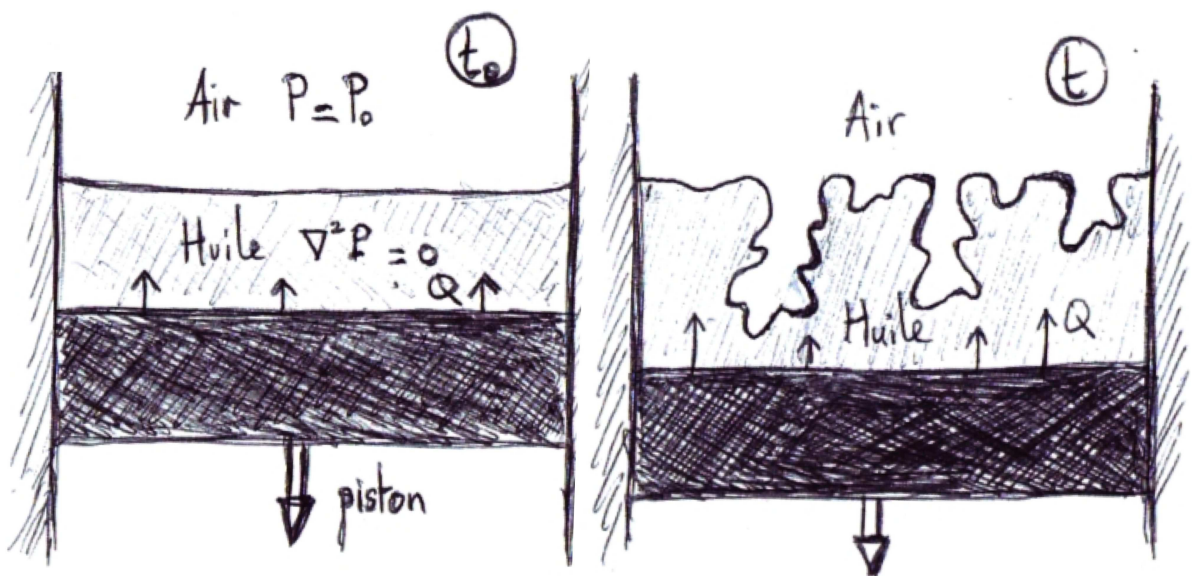
Dans les chapitres précédents, nous avons montré que les branchements répétés de l'épithélium étaient le fruit d'une instabilité due à l'établissement d'un gradient de concentration de FGF10, lui-même dû à la diffusion depuis le mésenchyme distal. Formellement, la croissance en fonction du gradient d'un champ laplacien, comme dans la digitation visqueuse, est l'ingrédient responsable du branchement. Par ailleurs, nous avons vu que l'interaction avec la plèvre, elle-même en mouvement et dont la géométrie détermine le champ laplacien, régulaient spontanément la croissance en imposant une distance caractéristique.

Notre expérience repose sur l'analogie formelle avec l'instabilité de digitation visqueuse (ou instabilité de Saffman-Taylor), dans laquelle le champ de pression est laplacien et l'interface entre les deux liquides croît proportionnellement au gradient de pression. A la différence d'une expérience classique, nous utilisons pour avoir un bord extérieur mobile un piston pour créer la dépression, comme le représente la figure 6.1.

Le piston (une feuille de mylar de  $0.4mm$  d'épaisseur) est placé entre deux plaques de plexiglas entre lesquelles est aussi piégée une bande d'huile. En tirant sur le piston, on crée une dépression et l'huile suit le piston. L'interface air/huile se déstabilise et des doigts d'air (blancs sur les images) poussent dans l'huile (jaune) en direction du piston (rouge). L'originalité réside principalement en deux points. D'une part, le milieu est confiné mais par un bord mouvant, le piston, comme dans la croissance pulmonaire où la croissance est confinée par le mésothélium. D'autre part, de l'huile est aussi piégée au niveau du piston et est directement injectée (débit  $Q$  sur le schéma) dans la bande d'huile tout le long de l'interface huile/piston quand on tire sur ce dernier. En d'autres termes, le volume de la bande d'huile augmente pendant que les doigts d'air poussent en direction du piston. On tient là une analogie expérimentale très intéressante avec la croissance du mésenchyme pulmonaire, qui dans notre modèle correspondait à l'écart entre les deux fonctions de réponse en croissance, et dont on a vu qu'il établissait la distance bronches/mésothélium, comme le montrait la figure  $\tilde{d}_c(a_{int}/a_{ext})$ .

### 6.1.2 Résultats préliminaires

On peut distinguer deux régimes principaux. Si la bande d'huile initiale est large, l'interface se déstabilise et, comme dans le cas classique, certains doigts écrantent les autres en concentrant le gradient de pression. On observe alors finalement un ou deux



**Fig. 6.1** – Schéma du dispositif expérimental, vu de dessus. On tire le piston, et la dépression met en mouvement l'huile et l'air. L'interface huile/air se déstabilise. Pendant le mouvement du piston, de l'huile piégée entre les plaques au niveau du piston rejoint la bande d'huile en mouvement.



doigts qui poussent plus vite et qui atteignent rapidement le piston (Fig. 6.2). Par ailleurs l'injection d'huile par le piston constitue une variation de volume très faible de la bande d'huile et ne joue pas de rôle.



**Fig. 6.2** – Images tirées d'une expérience avec une large bande d'huile initiale. Les doigts d'air sont proches les uns des autres, comparés à la distance au piston, et certains poussent plus vite que d'autres, limitant la croissance des voisins. Cet écrantage est typique de la digitation visqueuse classique.

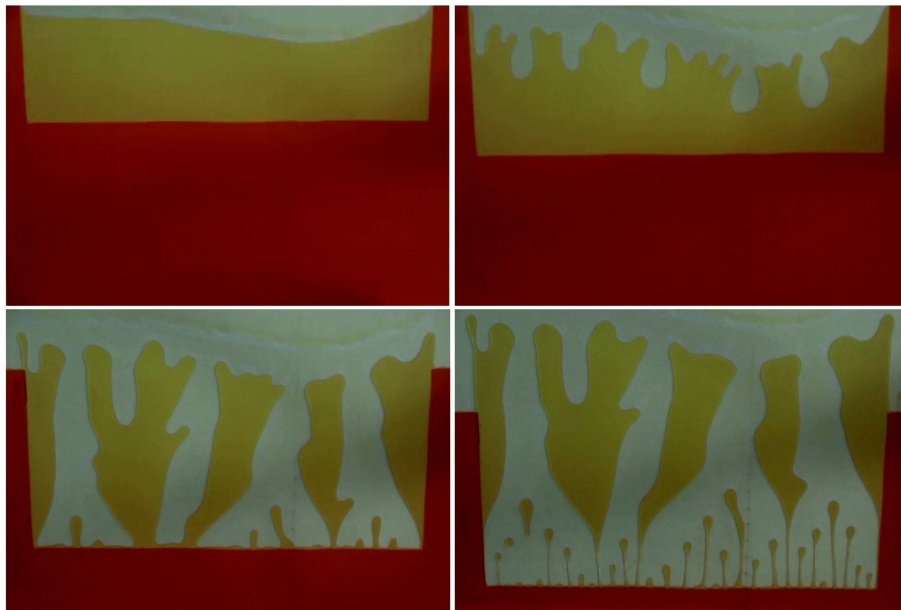
A l'inverse, si la bande d'huile initiale est très mince ou inexistante, l'injection d'huile fait naître immédiatement une bande d'huile dont l'interface avec l'air est toujours instable. Cette fois les doigts d'air poussent donc dans une bande d'huile très mince et la distance initiale des doigts au piston est petite devant la distance entre les doigts eux même. Cette distance est donnée par la longueur d'onde la plus instable de l'instabilité de Saffman-Taylor. Les doigts ne s'écrantent pas les uns les autres puisque le gradient de pression autour d'un doigt est déterminé par la présence du piston très proche, et très peu altéré par les doigts voisins qui sont plus éloignés. On voit donc des doigts d'air très réguliers pousser au fur et à mesure qu'on tire le piston et que l'huile est injectée. Ce régime est très intéressant puisqu'on voit comment la présence d'un bord extérieur régule la croissance des doigts.

Il est alors très intéressant de s'intéresser au régime intermédiaire. Si la bande d'huile initiale est de largeur moyenne, les doigts commencent à pousser vers le piston mais arrivent près du piston avant qu'il y ait vraiment eu d'écrantage. La bande d'huile restant alors entre les doigts et le piston est alors suffisamment mince et l'injection d'huile reprend de l'importance, tous les doigts poussant régulièrement face au piston et branchant régulièrement.

Ces expériences sont encore assez simplistes et à un stade préliminaire. Il serait notamment très intéressant de contrôler l'injection d'huile en provenance du piston, par exemple pour atteindre des débits plus grands et pouvoir observer l'influence de l'injection sur la distance d'équilibre. On peut imaginer augmenter le débit en ajustant la



**Fig. 6.3** – Images tirées d’une expérience avec une mince bande d’huile initiale. La proximité du piston empêche l’écrantage et tous les doigts poussent à la même vitesse. L’injection d’huile par le piston empêche les doigts de transpercer la couche d’huile.



**Fig. 6.4** – Images tirées d’une expérience avec une bande d’huile de taille intermédiaire. Au début de l’expérience les doigts d’air se développent mais la proximité du piston empêche l’écrantage. La croissance est alors régulée par la proximité du piston et on passe dans un régime similaire à l’expérience précédente.

hauteur entre les plaques, par exemple. Néanmoins les expériences ont montré que grâce à la compréhension du mécanisme de croissance pulmonaire prodiguée par la construction de notre modèle, nous avons pu, par analogie, proposer un système physique exploitant les mêmes mécanismes et reproduisant la croissance arborescente régulée par un bord extérieur.

Comme dans le poumon, les doigts sont régulés par la proximité du bord extérieur qui empêche l'écrantage. Dans le poumon il s'agit de l'écrantage du flux (gradient de concentration), alors que dans cette expérience il s'agit d'écrantage du gradient de pression. Comme dans le poumon, les doigts sont empêchés de rejoindre le bord extérieur par la croissance du milieu. Dans le poumon il s'agit de la croissance du mésenchyme, et dans cette expérience il s'agit du flux d'huile injecté au fur et à mesure de la croissance, qui empêche les doigts d'air de percer la couche d'huile, ce qui se passe dans une expérience classique de digitation visqueuse quand les doigts atteignent le bord du système expérimental.

Pour finir, cette approche expérimentale conclut de manière satisfaisante les objectifs que nous nous étions fixés, puisqu'en reprenant les ingrédients révélés par le modèle que nous avons développé, nous avons pu construire un système physique basé sur le même mécanisme.

## 6.2 Discussion sur la morphogenèse pulmonaire

### 6.2.1 A propos des gènes évoqués

Pour commencer cette discussion d'ensemble de nos résultats, il semble pertinent de revenir sur les observations expérimentales de la biologie moléculaire, et de la cohérence de nos résultats dans ce cadre.

Pour commencer, la littérature rapporte que la délétion de *Fgf10* conduit à l'agénésie du poumon. Cette propriété se trouve à la base de notre modèle puisque la croissance repose sur la réception de FGF10. Enlever FGF dans le modèle revient à supprimer la croissance. Comme l'a montré le troisième chapitre, l'expression par l'épithélium distal des gènes induits par la réception de FGF10 est elle aussi très bien expliquée par le modèle puisque le flux diffusif de FGF10 se concentre spontanément sur l'épithélium distal. De plus nous avons montré que les légers foyers d'expression de *Fgf10* de part et d'autre d'une bronche en croissance n'étaient pas à l'origine du branchement, puisque dans le modèle l'expression de *Fgf10* est "uniformément distale", ce qui suffit à instaurer un flux de diffusion qui favorise le branchement par écrantage. Ce résultat n'est pas fondamentalement

surprenant puisque la croissance est directement influencée par le gradient de FGF10 et non pas par le gradient d'expression de *Fgf10*.

La délétion de *Shh* provoque une localisation plus diffuse de *Fgf10*, puisque l'expression de ce dernier n'est plus réprimée par les bronches en croissance et n'est donc pas cantonnée au mésenchyme distal. Une production homogène de FGF10 entraîne une concentration homogène, et donc des flux diffusifs très diminués. Le fait que la croissance soit diminuée et le branchement très anormal est donc aussi logique du point de vue de notre modèle, dans lequel un champ plus homogène mènerait aussi à une croissance plus lente et des branchements anormaux.

La littérature rapporte aussi que *Shh* joue le rôle de facteur de croissance pour le mésenchyme. Cela rend légitime l'écriture de la croissance du mésothélium dans notre modèle. En effet, nous l'avons écrit comme la croissance de l'épithélium, moyennant un préfacteur multiplicatif. Or, les cellules du mésenchyme dans une zone donnée reçoivent d'autant plus de SHH que l'épithélium croît dans cette zone. En d'autres termes, le mésenchyme recevra SHH à proportion de la croissance épithéliale locale, ce qui correspond bien à notre hypothèse.

De façon plus générale, comme le montre le tableau récapitulatif du chapitre 3, la délétion d'un grand nombre de gènes, sans provoquer de drame géométrique comme la disparition d'un trait frappant, peut provoquer des branchements anormaux, autrement modifie les propriétés géométriques moyennes de l'organe. Notre modèle rend très bien compte de cette sensibilité, puisqu'on a vu que les traits frappants étaient très robustes, mais que les détails de la réponse en croissance, sur lesquels la délétion de tel ou tel gène a justement une influence, provoque justement l'altération des propriétés géométriques moyennes. Un bon exemple que l'on peut donner est le récent travail expérimental de Makarenkova et al [72]. Celui-ci montre précisément, sur des explants épithéliaux cultivés dans du Matrigel, que la modification artificielle de l'affinité de binding de FGF10 avec FGF-R modifie la croissance de ces explants, plus précisément leur caractéristiques géométriques moyennes (largeur des branches, etc.). Cela correspond parfaitement à notre scénario, puisqu'il s'agit exactement dans notre modèle d'une modification de la réponse en croissance. De même cette modification de la réponse en croissance altère la forme du champ d'expression et donc du gradient de concentration, puisque l'inhibition de l'expression de *Fgf10* à proximité de l'épithélium distal est justement induit par la réception de FGF10, qui a été altérée.

## 6.2.2 Questions en suspens

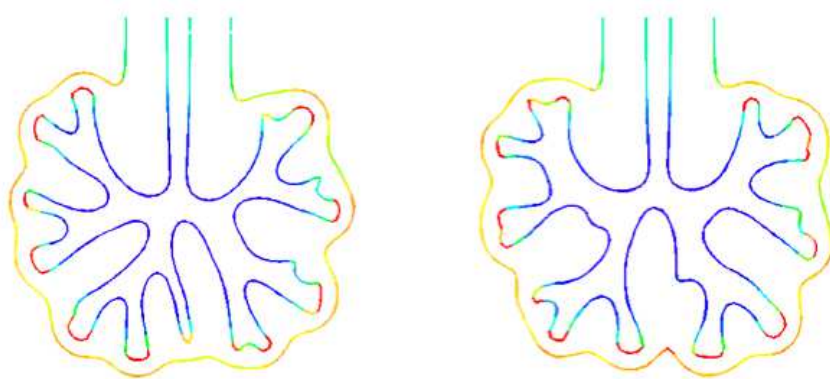
Quelques questions restent encore en suspens à propos de la géométrie de l'organe. Une des propriétés de l'arbre bronchique est une légère asymétrie moyenne des branchements, c'est à dire qu'en moyenne, une branche mère donne naissance à deux branches filles de tailles différentes. Dans un mécanisme d'instabilité comme celui que nous avons décrit, l'asymétrie des branchements est quelque chose de spontané. En revanche, la littérature des instabilités de croissance ne fait pas état de mesures de cette asymétrie moyenne en fonction des paramètres de l'expérience. Il est probable que, comme pour les autres caractéristiques de l'arbre formé, l'asymétrie moyenne des branchements soit malléable, mais des mesures sur les simulations seraient nécessaires pour s'en assurer.

Une autre caractéristique de la géométrie du poumon, que nous n'avons pas évoqué parce qu'elle est moins frappante et moins documentée, est le fait que la croissance des bronches n'a lieu que dans la partie distale de l'organe, près du bord extérieur. Il semble en effet que le bout des bronches en croissance soit toujours proche du bord extérieur, comme le montrent par exemple les *in situ* de *Sprouty2*. Non seulement la croissance est concentrée au bout des bronches, mais le bout des bronches fait toujours face au bord extérieur. Il semble ne pas y avoir de croissance bronchique dans la partie proximale du poumon. Cela semble aussi vrai pour d'autres organes arborescents, comme le rein. Notre modèle rend très bien compte de cette observation, puisque dans nos simulations la croissance se fait uniquement près du bord extérieur, ce qui s'explique très bien par l'écrantage du flux de FGF10 par les bronches parties distales. Comme on l'a en effet vu, le flux de FGF10 entre les bronches est quasi-nul. On observe aussi ce phénomène dans l'expérience de digitation visqueuse, où la croissance des doigts d'air n'a lieu que près du piston une fois le régime d'injection atteint.

Une autre propriété de l'organe est le rapport d'homothétie moyen qui semble s'établir entre les générations. Rappelons néanmoins que ce rapport est loin d'être parfaitement respecté, puisque Weibel stipule [22] que des branches de la quatrième génération peuvent avoir un diamètre de la taille de branches de la onzième génération. Néanmoins, les branches sont en moyenne de plus en plus petite, ce qu'on n'observe pas dans notre modèle. Une piste pour expliquer cette lacune réside dans le fait que nous n'avons introduit dans le modèle que la croissance différentielle due à FGF10, mais pas la croissance globale de l'organe. Si l'on imagine en plus une croissance globale, les nouvelles branches naissant toujours à la même taille moyenne  $\lambda$  fixée par la réponse en croissance, les plus anciennes auront grossi depuis leur naissance et ce d'autant plus qu'elles sont vieilles. Cela pourrait expliquer une hiérarchie de la taille des bronches. Naissant toujours à la même taille, les plus grosses seraient simplement les plus anciennes, qui ont le plus grossi par

rapport à leur taille d'origine moyenne,  $\lambda$ .

Un autre aspect que nous n'avons pas discuté est la stéréotypie de l'organe d'un individu à l'autre. Cette stéréotypie est relative puisqu'elle paraît être limitée aux premiers branchements, mais il semble au premier abord que rien dans notre modèle ne puisse l'expliquer. On peut éventuellement l'attribuer à un schéma génétique similaire chez tous les individus, avant que l'instabilité spontanée de la croissance ne prenne le dessus. Mais une hypothèse tout aussi plausible est le fait que l'organe embryonnaire est confiné dans une géométrie bien spécifique, c'est à dire entouré ici du coeur, ici de tel ou tel organe, etc. Cette stéréotypie de la géométrie des conditions aux bords imposée par les organes voisins est tout à fait susceptible de rendre compte de la stéréotypie des premiers branchements, puisqu'un creux dans le bord extérieur dû par exemple au coeur forcera une distance plus petite ou une courbure plus grande, ce qui aura pour effet d'augmenter le gradient et de forcer l'apparition systématique d'une branche. Ce raisonnement étendu à tout le primordium pourrait suffire à expliquer la stéréotypie observée. En revanche, les générations suivantes sont de moins en moins stéréotypées, puisque l'organe dans son entier est fruit d'une instabilité, par définition extrêmement sensible aux conditions aux bords et aux conditions initiales. Nos simulations en sont un bon exemple puisque numériquement nous résolvons deux croissances par simulation (deux arbres symétriquement opposée pour que la géométrie soit close). Si l'on compare la croissance de deux arbres ainsi formés (avec les mêmes paramètres), on constate que le bruit numérique suffit à rendre les arbres légèrement différents (Fig. 6.5).



**Fig. 6.5** – Les deux résultats de la même simulation. On note de légères différences dues au bruit numérique.

La différenciation le long des bronches en cellules musculaires soulève aussi des questions intéressantes. On aurait pu penser au premier abord que cette différenciation pro-

voquait un arrêt de la croissance, comme on l'avait imaginé dans l'expérience d'injection du premier chapitre. Mais notre modèle montre que la croissance s'arrête spontanément entre les branches et sur les côtés de celles-ci, *a fortiori* si la réponse en croissance a un seuil ou un démarrage lent. Aussi, on peut se demander si ce n'est pas plutôt l'arrêt de la croissance, et la non-réception de FGF10 qui induit la différenciation, qui ne surviendrait alors qu'après. Il semble alors que la différenciation, contrairement à notre hypothèse du premier chapitre, n'a pas de rôle morphogène. Une possibilité est néanmoins qu'elle soit responsable d'un seuil dans la réponse en croissance, la réception d'une trop faible quantité de FGF10 entraînant la différenciation, empêchant alors la croissance pour des faibles flux de FGF.

### 6.2.3 Les limites du modèle

Dans cette partie nous souhaitons soulever quelques unes des limites de notre modèle, ainsi que les améliorations éventuelles qui pourraient y être apportées.

Pour commencer, le modèle est principalement basé sur le couple FGF10/SHH, et nous avons ajouté qualitativement une saturation de la réponse en croissance pouvant correspondre à l'action de *Sprouty2*. Comme nous l'avons fait pour ce dernier, on peut imaginer étudier l'influence de tel ou tel acteur en modifiant de façon pertinente la réponse en croissance. En effet, d'autres protéines provoquent la croissance, inhibent l'expression de *Fgf10*, etc. Une possibilité envisageable est de construire expérimentalement une réponse en croissance. En imageant *in vivo* le flux de FGF, de façon directe par immunohistochimie sur FGF10 ou indirecte par *in situ* de *Sprouty2*, et en mesurant la croissance, on pourrait associer à un flux un déplacement, et ainsi construire point par point une réponse en croissance expérimentale. On peut aussi imaginer construire la réponse en croissance de mutants, pour tester l'influence des délétions directement sur la réponse en croissance.

A propos de l'écriture du modèle, il pourrait être intéressant d'écrire de manière plus rigoureuse la croissance du bord extérieur, par exemple en additionnant réellement deux termes, l'un dû à la croissance épithéliale, l'autre à la croissance mésenchymateuse. Pour cela, il faudrait pouvoir calculer un champ de croissance dans le mésenchyme, ce qui peut se faire par exemple en calculant un champ de diffusion de SHH, puisque celui-ci provoque la prolifération du mésenchyme, et calculer un déplacement en chaque point du mésenchyme, et pas seulement pour les deux interfaces.

Le modèle étant purement géométrique, nous ne résolvons pas la mécanique des tissus cellulaires en croissance. Pour commencer, la croissance de l'épithélium est tangentielle, or nous avons écrit une croissance normale. De fait, la croissance tangentielle entraîne une croissance normale mais la manière dont cette croissance tangentielle est transformée



en croissance normale dépend de la mécanique de l'épithélium et de la rhéologie du milieu. Pour faire les choses rigoureusement il faudrait donc résoudre la mécanique dans le mésenchyme en introduisant une loi de rhéologie. Cela rejoint le point précédent, puisque cela mènerait à calculer un déplacement en chaque point et non pas seulement aux interfaces.

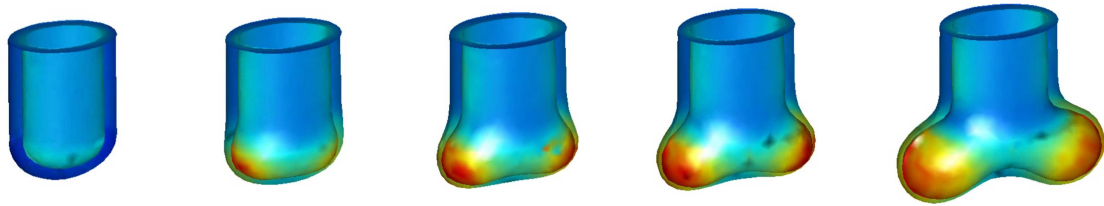
A propos de la mécanique, plusieurs indices montrent que la forme finale est le résultat d'interactions complexes à des niveaux physiques différents. Nous avons considéré le premier ordre, basé sur la géométrie et la diffusion, sans contrainte mécanique. Nous venons de soulever la question de la mécanique qu'il faudrait résoudre pour écrire avec rigueur la croissance en chaque point. Nous avons aussi évoqué le rôle de la pression. En fait, ce rôle semble être majeur, puisque l'augmentation de la surpression dans le lumen par occlusion de la trachée change aussi les propriétés de l'arbre [71]. On peut quand même souligner que la pression, qui est la trace du tenseur des contraintes, vérifie elle aussi au premier ordre (pour les fluides simples) l'équation de Laplace, ce qui rend son rôle assez proche de notre calcul où le champ laplacien est diffusif. Pour finir, la forme dans toute sa complexité est le résultat de l'action convoluée de la croissance associée à FGF10, mais aussi de la mécanique et de la rhéologie du tissu, de la surpression, etc, qui ne sont pas nécessairement de simples pré-facteurs à notre croissance modèle, mais peuvent éventuellement modifier qualitativement la géométrie de l'arbre.

Un dernier point très important est que notre modélisation est en deux dimensions, alors qu'un poumon pousse bien sûr en trois dimensions. La modélisation statique en trois dimensions de l'expression des gènes effectuée au chapitre 3 a montré un bon accord qualitatif, ce qui semble indiquer qu'il n'y a pas de changement de régime entre deux et trois dimensions. Néanmoins, pouvoir faire les mêmes simulations de croissance à trois dimensions pourrait être très intéressant et permettre d'assurer que notre travail pour deux dimensions garde son sens à trois dimensions. Des simulations numériques sont en cours d'élaboration et les premiers résultats montrent que les mécanismes impliqués sont les mêmes. Notamment, on retrouve l'émergence des principales caractéristiques géométriques du poumon (Fig. 6.6).

#### 6.2.4 Portée des résultats

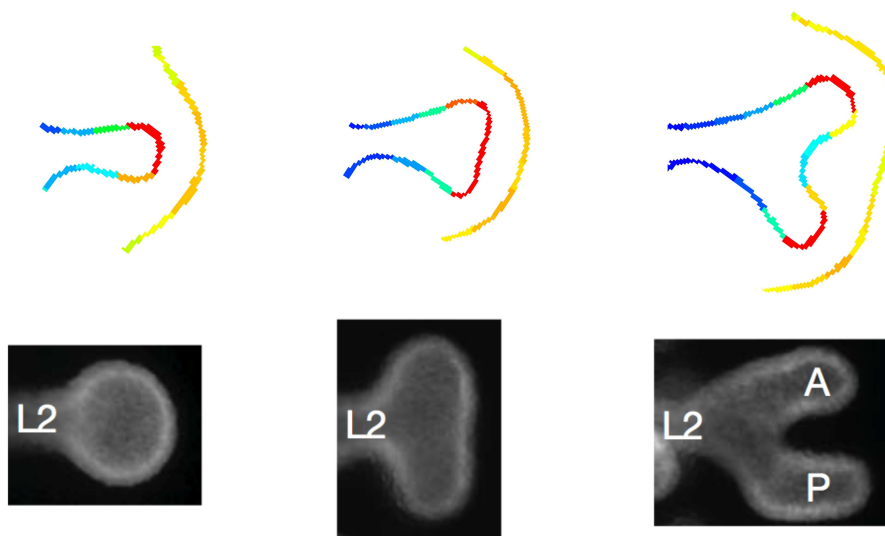
Nous avons développé un scénario complet de la morphogenèse embryonnaire du poumon chez les mammifères. Notre modèle était basé sur des observations expérimentales de la biologie du développement. La première chose que nous avons testé était sa cohérence face aux observations expérimentales, ce qui nous a permis d'expliquer de façon simple et intuitive l'expression de *Sprouty2* ou *Sonic Hedgehog* à partir de l'expression dans





**Fig. 6.6** – Images extraites d’une simulation basée sur le même modèle, mais à trois dimensions.

le mésenchyme distal de *Fgf10*. Nous avons ensuite construit un modèle de croissance basé sur cette expression, et nous avons vu l’émergence spontanée des traits frappants du poumon embryonnaire (Fig. 6.7). Nous avons ensuite fait un calcul local pour décrire le comportement du bout d’une branche, et nous avons pu introduire les outils théoriques permettant d’expliquer la distance caractéristique observée entre le bout des bronches et la plèvre. Enfin une expérience de digitation visqueuse reprenant les ingrédients du modèle a montré l’émergence des traits frappants du poumon dans un système purement physique.



**Fig. 6.7** – En haut, un branchement issu d’une simulation numérique. Comme dans l’expérience (en bas, tiré de [68], on observe bien un étalement du bourgeon avant la séparation en deux branches filles.

La modification des propriétés de la réponse en croissance a mené à des changements des propriétés géométriques moyennes de l’arbre formé, sans empêcher l’apparition très robuste des traits frappants. Cette observation montre le caractère très universel du modèle :

la réponse en croissance diffère certainement d'une espèce à l'autre, mais le modèle est potentiellement capable de reproduire n'importe quelle réponse en croissance et peut s'avérer généralement valide. Par ailleurs cette plasticité des propriétés géométriques moyennes est très intéressante d'un point de vue évolutif : on comprend aisément l'évolution de l'organe par sélection naturelle, par le biais de modifications fortuites de ce que nous avons appelé la réponse en croissance. D'autre part, si l'altération des propriétés statistiques de l'arbre ne constitue pas une catastrophe géométrique au sens qu'il n'y a pas disparition des traits frappants, il est important de noter qu'elle peut engendrer une catastrophe biologique puisque l'organe et les tissus à oxygéner ont co-évolué relativement à une certaine géométrie moyenne. Comme écrit Weibel : "Le bon fonctionnement du poumon dépend de multiples facteurs structuraux qui doivent tous être bien ajustés les uns aux autres. Leur proportion doit être juste." [73]. Néanmoins, la sensibilité dramatique du vivant aux détails structurels ne doit pas occulter la robustesse du mécanisme global.

Un point crucial de notre modèle est d'avoir montré le rôle central de la géométrie des bords. Comme on a vu, les champs d'expression et donc les flux diffusifs sont uniquement fonction de la géométrie des bords. Pour prédire le niveau d'expression de *Fgf10* pour une cellule donnée du mésenchyme, où la quantité de FGF10 reçue pour une cellule épithéliale, tout ce qu'on a besoin de connaître est la géométrie des bords, et les coordonnées de la cellule. Or, ce sont justement ces flux qui engendrent la croissance des bords, ce qui en retour modifie les champs et les flux, etc. Cette boucle constitue finalement une sorte d'auto-régulation de la géométrie de la croissance par la géométrie elle-même. Cette auto-régulation géométrique est un concept théorique puissant et lui aussi universel, qui permet d'envisager le développement sous un nouvel angle, celui d'une forme auto-régulée.

Une partie conséquente de la littérature sur la morphogenèse fait état de l'effet de la délétion de telle ou telle protéine sur le phénotype, menant à des résultats du type "X ou Y contrôle la morphogenèse arborescente". Une telle terminologie peut être dangereuse au sens où elle est susceptible d'occulter le mécanisme profond responsable du patterning. Il semblerait peut être plus adéquat de parler d'influence plutôt que de contrôle : il est en effet crucial de distinguer les détails du mécanisme morphogène. Dans le cadre de notre modèle, on comprend bien que la délétion d'une protéine peut avoir impact sur la réponse en croissance et comme on l'a vu sur les détails de la forme, sans pour autant être un élément responsable de l'émergence de traits frappants.

Le gap géométrique entre un organe non-branché, à l'instar des premiers appareils respiratoires aériens, et un organe arborescent comme le poumon des mammifères, paraît colossal et surtout constitue une évolution importante du point de vue fonctionnel. Malgré tout, notre travail a montré que ce saut géométrique relève de modifications minimales du

point de vue purement matériel. La transition de la poche uni-cavitaire à un organe arborisé semble ne pas être un continuum, et il semble y avoir un changement brutal de régime à partir du moment où la production du facteur de croissance est cantonnée au mésenchyme distal.

Nos résultats montrant que l'expression distale du facteur de croissance suffit à créer l'arborescence prennent tout leur sens à un moment se développe une certaine recherche de généralité dans les mécanismes de morphogenèse. En témoigne par exemple une récente revue sur les mécanismes moléculaires communs à la formation de différents organes arborescents [74]. Il sort de cette étude que la formation de tous ces organes repose sur la combinaison de deux chemins de signalisation, l'un supposé induire le branchement, l'autre supposé l'inhiber, à l'instar du couple FGF/SHH. Cette recherche de généralité est très souhaitable, et met le doigt sur l'importance du couple, et de l'inhibition du facteur de croissance près de l'épithélium, qui est l'élément crucial. En revanche nous remettons en cause les interprétations, par exemple le fait que FGF promeuve le branchement, ou que SHH l'inhibe.

En effet, notre travail propose un cadre théorique général pour la naissance des organes arborisés, grâce auquel nous avons pu montrer que le branchement n'est pas promu par un gène, mais où il est le fruit de la géométrie dans laquelle ce gène fait croître. Notre travail semble ainsi montrer, dans le cas du poumon du moins, qu'aucun gène ne porte l'information du branchement, qu'aucun gène ne porte l'information de la non-pénétration, qu'aucun gène ne porte l'information du rapport d'homothétie, etc. Plus généralement, dire que le gène ne porte pas l'information de la forme ne veut bien sûr pas dire qu'en le supprimant, la forme sera la même. Le point clef est que c'est la géométrie dans laquelle ce gène et la protéine agissent qui est responsable de la croissance inhomogène et donc morphogène, et qui détermine l'évolution même de la géométrie, et donc la forme.

# Chapitre 7

## Conclusion et perspectives

Dans ce travail de thèse nous souhaitons avant tout nous intéresser aux mécanismes de morphogénèse. En introduction, nous avons évoqué le fait qu'on pouvait envisager, et de façon très générale, la forme au sens géométrique comme un état vers lequel un système converge dans le cadre de règles d'interactions des différentes parties du système.

Cette considération nous a permis de disposer d'un cadre épistémologique pertinent pour étudier l'émergence de formes dans des systèmes différents. Plus précisément, il s'agissait de comprendre quelles parties et quelles interactions du système étaient nécessaires pour observer l'émergence des traits frappants de la forme finale. Cette démarche finalement très simple et très universelle rend aussi possible, de façon subsidiaire, de déterminer quels éléments d'un système sont entre guillemets de second ordre. Par second ordre, nous entendons qu'ils jouent certainement un rôle dans la forme finale, mais ne sont pas responsables de l'apparition des traits frappants que l'on cherche à comprendre.

Une image un petit peu simpliste serait l'étude *a posteriori* de la morphogénèse d'une sculpture. Si l'on regarde une sculpture en tant que spectateur, et que l'on souhaite comprendre *a posteriori* comment cette forme est née à partir de terre, d'eau et d'un sculpteur, il faut distinguer la physique et la chimie des liaisons de l'action du sculpteur. La physique et la chimie des liaisons, bien que nécessaires à la réalisation même de l'oeuvre, ne participent pas à son émergence, et sont donc de second ordre. Pour aller plus loin, les détails de la main du sculpteur auraient une influence de troisième ordre. Au contraire, l'action du sculpteur est le vrai mécanisme morphogène, responsable des traits frappants de l'oeuvre dont on souhaite comprendre l'origine. Néanmoins les éléments de second ordre auront quand même une influence importante sur la forme finale.

En commençant sur une tentative trop naïve de reproduction purement physique de certains traits de la croissance pulmonaire, nous avons été amenés à étudier la croissance de précipité à la Leduc. Nous avons ainsi vu comment, dans une certaine gamme de paramètres, l'interface précipitée entre deux liquides pouvait spontanément croître en tubes poussant par leur milieu, ce qui constituait un "trait frappant" de la morpholo-

gie de l'interface précipitée tout à fait non-trivial. Nous avons vu que la section de ces tubes ne dépendait pas des paramètres de l'expérience mais des détails géométriques et mécaniques locaux du précipité au niveau de la rupture, mais que sa vitesse de croissance était déterminée par le taux de réaction entre le silicate de sodium et le sulfate de fer. Cette dernière mesure nous a finalement permis d'établir le mécanisme morphogène responsable du trait frappant : lors de la rupture du précipité, la silice se dépose également de part et d'autre de la rupture, ce qui a pour conséquence de faire pousser un tube de part et d'autre de celle-ci, d'autant plus vite que la réaction est forte.

Dans le cas de la croissance du poumon, nous avons pu montrer que les traits frappants de la géométrie de l'organe dont nous souhaitions établir l'origine étaient le fait de la synthèse localisée de *FGF10* dans le mésenchyme distal, qui permettait sa diffusion dans une topologie (un épithélium *dans* le mésenchyme) imposant un flux plus important sur les parties de l'épithélium plus courbées ou plus proches. Nous avons vu en détail comment cet état des choses impliquait le branchement de l'épithélium, la non-pénétration des bronches, et l'établissement d'une distance caractéristique entre la partie distale des bronches et la paroi extérieure. Dans une expérience purement physique basée sur les conclusions de notre étude, nous avons pu observer l'émergence des même caractéristiques géométriques. Enfin l'approche que nous avons eu nous a aussi permis de comprendre dans quelle mesure les éléments de second ordre jouaient un rôle : nous avons vu comment en modifiant certains de ces paramètres par le biais des fonctions de croissance, les traits frappants étaient conservés mais leur propriétés statistiques modifiées, comme la taille des bronches ou la distance au mésothélium.

Cette approche donne un cadre théorique fort pour envisager la forme d'un point de vue évolutif, puisqu'on voit qu'un mécanisme très simple peut donner naissance à un patron morphologique très robuste, mais dont les propriétés statistiques sont modifiées si les détails des règles d'interaction changent ; comme dans notre travail, par exemple en introduisant un seuil ou une régulation négative. Or ces propriétés statistiques sont très précisément ce qui permet, à partir du patron, de caractériser les contributeurs à l'efficacité fonctionnelle d'un organe, comme le montrent de nombreux travaux notamment sur le poumon [22, 26], par exemple la résistance hydrodynamique ou tout simplement le rapport surface-volume. On comprend alors simplement comment le détail des règles d'interaction et par conséquent les propriétés statistiques sont *a posteriori* ajustées par la sélection naturelle, augmentant dans un environnement donné l'efficacité fonctionnelle de la forme, c'est à dire réduisant l'énergie nécessaire à assumer la même fonction, ou de façon analogue en remplissant mieux sa fonction pour une même énergie dépensée.

---

Nous avons déjà évoqué les perspectives de ce travail en conclusions des différentes parties, et aussi évoqué les limites techniques des modèles que nous avons développés, et les améliorations envisageables. Pour conclure ce manuscrit, on peut s'interroger sur les perspectives plus fondamentales d'un travail de ce genre, à l'interface entre la physique, la géométrie et la biologie de développement, dans le contexte actuel.

Une première chose serait de réussir à mieux faire le pont entre le mécanisme, les propriétés statistiques et l'efficacité fonctionnelle. En d'autres termes, une fois comprise l'apparition de traits frappants, pouvoir prédire leur morphologie en intégrant plus de détails à la modélisation. L'apport serait important puisqu'il permettrait notamment un passage de quelque chose de fondamental mais d'assez qualitatif à quelque chose de plus quantitatif. Or, comme le discute le mathématicien René Thom dans son livre "Prédire n'est pas expliquer" [75], c'est seulement dans un cadre théorique permettant la compréhension qualitative poussée du système que l'on souhaite observer, qu'une étude quantitative peut permettre un apport fondamental.

Une seconde chose serait de généraliser cette approche à d'autres organes, à d'autres systèmes vivants. Un des enjeux actuels de la biologie du développement pourrait être d'envisager le vivant comme un système auto-organisé, dans lequel les gènes jouent un rôle central, mais comme des constituants élémentaires agissant selon un certain protocole avec la matière composant l'organisme, pas comme un livre dans lequel on peut lire le destin d'une cellule ou la formation d'un organe, ou d'un individu. Si l'étude de l'action spécifique des gènes permet de comprendre beaucoup, le récent séquençage du génome de nombreux êtres vivants, dont l'homme, a montré que le code génétique n'était pas un manuel dans lequel on pouvait trouver toutes les réponses aux questions que le vivant posait.

Pour finir en revenant sur le statut du gène dans le développement, ce travail et bien d'autres semblent montrer qu'il pourrait être pertinent de considérer le gène et son expression comme des objets et événements ayant une action spécifique sur les objets biologiques étudiés, mais néanmoins soumis comme tout objet physique à des contraintes spatiales et temporelles liées à la géométrie du développement embryonnaire. Cette thèse en est finalement un exemple puisque les résultats présentés proviennent de considérations géométriques et de diffusion élémentaires couplées à des résultats expérimentaux de la littérature établissant l'action spécifique de tel ou tel gène. Il est en effet possible que l'aspect spatio-temporel des interactions, sans doute central, soit trop souvent mis de côté dans l'étude des voies de signalisation impliquées dans le développement. Les règles d'interaction entre différents éléments d'un système, celles là même que nous avons essayé de placer au centre des mécanismes morphogènes, sous-tendent une portée d'interaction,

des temps d'interaction, en bref un contexte spatio-temporel qui pourrait être déterminant pour la forme émergente.

# Annexes





# Annexe A

## Calcul local au bout d'une bronche

### Sommaire

---

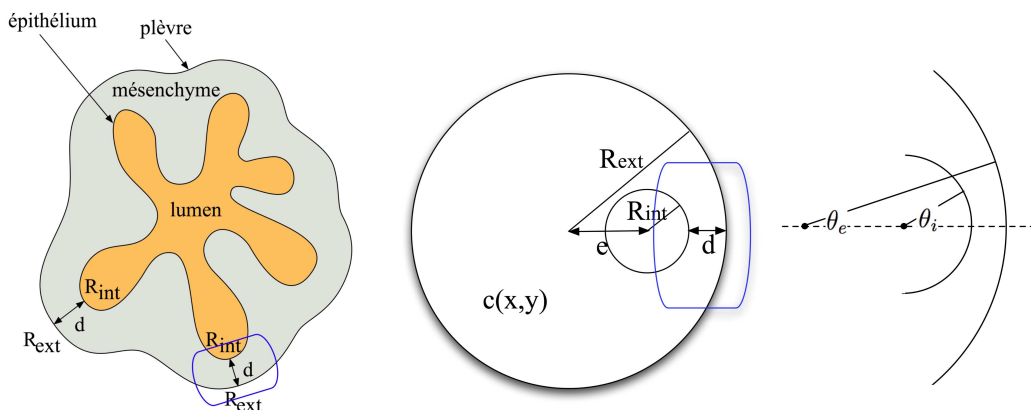
<b>A.1 Principe du calcul</b> . . . . .	<b>159</b>
<b>A.2 Transformation conforme</b> . . . . .	<b>161</b>
A.2.1 Principe . . . . .	161
A.2.2 Détermination de $\ u(z)\ $ , $b$ , et $R$ , et solution complète . . . . .	162
<b>A.3 Calcul du gradient et réécriture du problème</b> . . . . .	<b>163</b>
A.3.1 Gradient du champ . . . . .	163
A.3.2 Réécriture . . . . .	164
<b>A.4 Intégration de la croissance</b> . . . . .	<b>165</b>
A.4.1 Préliminaires . . . . .	165
A.4.2 Croissance . . . . .	168

---

### A.1 Principe du calcul

Le but du calcul est de décrire le comportement local d'une bronche de courbure  $R_{int}$  faisant face à la paroi externe du mésenchyme, de courbure locale  $R_{ext}$ . L'épithélium et la paroi externe sont séparés d'une distance  $d$  par le mésenchyme pulmonaire (Fig. A.1). L'idée est d'abord de calculer entre les deux interfaces un champ  $c(x, y)$  de concentration en FGF10, satisfaisant l'équation de Laplace,  $\nabla^2 c = 0$ .

Pour ce faire, on souhaite calculer l'expression du champ laplacien entre deux cercles (la pointe de la bronche et la paroi extérieure). Ensuite, on souhaite calculer le gradient de ce champ sur chaque interface et écrire, comme dans le modèle numérique, la croissance de l'interface comme une fonction du gradient  $\nabla c$ , pour avoir une idée de la dynamique locale des interfaces à l'endroit considéré. Par exemple, pour obtenir  $\dot{d}(R_{int}, R_{ext}, d)$  où  $d$  est la distance séparant les deux interfaces, et où  $R_{int}$  et  $R_{ext}$  les rayons des cercles intérieur et extérieur. L'équation de Laplace se résout facilement lorsque l'excentricité  $e$  est nulle, c'est à dire si les deux cercles sont concentriques. Dans ce cas, l'équation est :



**Fig. A.1** – Géométrie du problème. En bleu : zone d'intérêt, correspondant à la pointe d'une bronche. À droite,  $\theta_i$  et  $\theta_e$  représentent respectivement les angles liés au centre des cercles intérieur et extérieur.

$$\frac{\partial^2 c}{\partial r^2} + \frac{1}{r} \frac{\partial c}{\partial r} = 0, \quad (\text{A.1})$$

et la solution s'écrit  $c(r) = A \ln(r) + B$ . En imposant les conditions aux limites, à savoir que  $c$  est nulle au niveau de l'épithélium (cercle intérieur) et vaut  $\delta c$  sur la paroi extérieure, on obtient :

$$c(r) = \frac{\delta c}{\ln(R_{ext}/R_{int})} \ln(r/R_{int}) \quad (\text{A.2})$$

Le gradient de concentration s'écrit alors :

$$\nabla c(r) = \frac{\delta c}{\ln(R_{ext}/R_{int})} \frac{1}{r} \quad (\text{A.3})$$

Pour traiter d'une situation plus générale dans laquelle les deux arcs de cercles ne sont pas concentriques, il faut pouvoir calculer le champ entre deux cercles non-concentriques. Pour ça on fait intervenir une transformation conforme faisant passer de la géométrie décentrée à la géométrie centrée, comme le montre la figure A.2, ce qui permettra d'exporter la solution centrée dans la nouvelle géométrie.

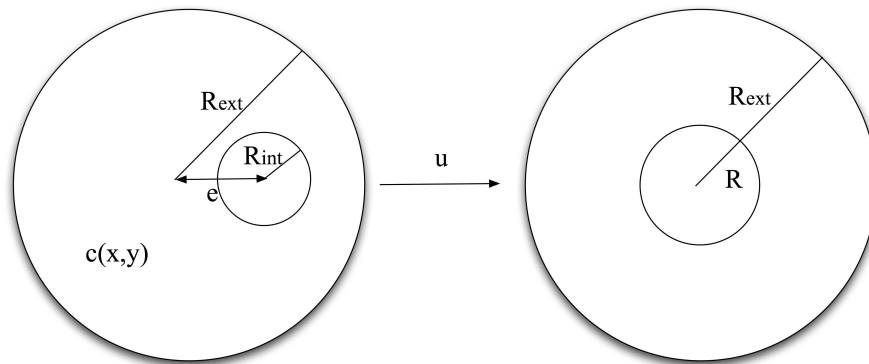


Fig. A.2 – Transformation conforme

## A.2 Transformation conforme

### A.2.1 Principe

Les transformations conformes sont des transformations d'un domaine du plan dans le plan qui conservent les angles. Le principe est d'associer à chaque point du plan (coordonnées  $(x, y)$ ) le complexe  $z = x + iy$ , auquel on fait correspondre le point transformé  $z' = u(z)$ . La transformation est conforme si la fonction  $u$  est analytique. On utilise souvent ces transformations pour résoudre analytiquement des équations aux dérivées partielles dans des géométries dans lesquelles on ne sait pas résoudre directement. On calcule alors la solution  $s(z)$  dans une géométrie simple, on cherche une transformation conforme  $u(z)$  faisant correspondre les bords de la géométrie recherchée aux bords de la géométrie simple, et on exporte la solution  $s(z)$  dans la géométrie recherchée, solution qui s'écrit  $s_2(z) = s(u(z))$ . Dans notre cas, nous avons résolu notre problème laplacien entre deux cercles concentriques (Eq. A.2), et nous cherchons à le résoudre entre deux cercles non-concentriques. Une transformation conforme permettant de passer de deux cercles non-concentriques à deux cercles concentriques (et son inverse) peut s'écrire sous la forme :

$$u(z) = \frac{z - b}{1 - bz}, \quad (\text{A.4})$$

avec  $z = x + iy$ . Cette transformation (Eq. A.4) laisse inchangé le cercle de rayon 1. Or, dans notre cas, on veut laisser inchangé le cercle de rayon  $R_{ext}$  et envoyer le cercle décentré (d'excentricité  $e$ ) de rayon  $R_{int}$  sur le cercle centré de rayon  $R$ . On adoptera donc la transformation suivante :

$$u(z) = \frac{R_{ext}^2(z - b)}{R_{ext}^2 - bz} \quad (\text{A.5})$$

Celle ci envoie bien le cercle de rayon  $R_{ext}$  sur lui même. Restent à déterminer le rayon  $R$  et le paramètre  $b$  tels que le cercle décentré d'excentricité  $e$  et de rayon  $R_{int}$  soit envoyé sur le cercle centré de rayon  $R$ . La solution centrée étant donnée par l'équation A.2, on aura la solution exacte entre deux cercles non-concentriques :

$$c(r) = \frac{\delta c}{\ln(R_{ext}/R)} \ln(\|u(z)\|/R) \quad (\text{A.6})$$

### A.2.2 Détermination de $\|u(z)\|$ , $b$ , et $R$ , et solution complète

On a :

$$u(z) = \frac{R_{ext}^2(z - b)}{R_{ext}^2 - bz} = \frac{R_{ext}^2(x - b + iy)}{R_{ext}^2 - bx - iby} \quad (\text{A.7})$$

Après simplifications adéquates, le module de  $u(z)$  peut s'écrire :

$$\|u(z)\|^2 = R_{ext}^4 \frac{(x - b)^2 + y^2}{(R_{ext}^2 - bx)^2 + (by)^2} \quad (\text{A.8})$$

On considère maintenant le cercle de rayon  $R$  défini par  $\|u(z)\|^2 = R^2$ . Si la transformation  $u$  agit comme on l'attend, cette équation doit pouvoir se réécrire sous la forme :

$$(x - x_c)^2 + y^2 = \rho^2 \quad (\text{A.9})$$

En identifiant alors  $\rho$  à  $R_{int}$  et  $x_c$  à  $e$ , on obtiendra les équations permettant d'établir les expressions de  $b$  et  $R$  en fonction de  $R_{ext}$ ,  $R_{int}$  et  $e$ . On a pour l'instant :

$$R^2 = R_{ext}^4 \frac{(x - b)^2 + y^2}{(R_{ext}^2 - bx)^2 + (by)^2}, \quad (\text{A.10})$$

ce qui peut se réécrire, après quelques opérations adéquates :

$$\left(x - \frac{bR_{ext}^2(R_{ext}^2 - R^2)}{R_{ext}^4 - R^2b^2}\right)^2 + y^2 = \left(\frac{RR_{ext}^2(R_{ext}^2 - b^2)}{R_{ext}^4 - R^2b^2}\right)^2 \quad (\text{A.11})$$

Il s'agit bien l'équation d'un cercle. En identifiant comme expliqué plus haut, c'est à dire en écrivant :

$$e = \frac{bR_{ext}^2(R_{ext}^2 - R^2)}{R_{ext}^4 - R^2b^2} \quad \text{et} \quad R_{int} = \frac{RR_{ext}^2(R_{ext}^2 - b^2)}{R_{ext}^4 - R^2b^2}, \quad (\text{A.12})$$

on obtient le système suivant, qui permet d'obtenir  $R$  et  $b$  en fonction de  $e$ ,  $R_{int}$  et  $R_{ext}$  :

$$\begin{cases} eR_{ext}^4 - eb^2R^2 + bR_{ext}^2R^2 - bR_{ext}^4 = 0 \\ R_{int}R_{ext}^4 - R_{int}b^2R^2 - RR_{ext}^4 + b^2RR_{ext}^2 = 0, \end{cases} \quad (\text{A.13})$$

qui mène aisément à :

$$\begin{aligned} b &= \frac{1}{2e} \left( (R_{ext}^2 - R_{int}^2 + e^2) \pm \sqrt{(R_{ext}^2 - R_{int}^2 + e^2)^2 - (2eR_{ext})^2} \right), \\ R &= \sqrt{\frac{R_{ext}^4(b - e)}{b(R_{ext}^2 - eb)}} \end{aligned} \quad (\text{A.14})$$

Tous les éléments sont réunis pour écrire la solution complète du champ laplacien entre deux cercles non concentriques. En utilisant les résultats obtenus pour  $b$ ,  $R$ , et  $\|u(x, y)\|$ , et en remplaçant dans l'équation A.6, on arrive, moyennant un peu de réécriture, à l'expression suivante :

$$c(x, y) = \delta c \left( 1 + \alpha \ln \left( R_{ext}^2 \frac{(x - b)^2 + y^2}{(R_{ext}^2 - bx)^2 + (by)^2} \right) \right), \quad (\text{A.15})$$

avec

$$b = \frac{1}{2e} \left( (R_{ext}^2 - R_{int}^2 + e^2) \pm \sqrt{(R_{ext}^2 - R_{int}^2 + e^2)^2 - (2eR_{ext})^2} \right), \quad (\text{A.16})$$

et

$$\alpha = \left( \ln \left( \frac{b(R_{ext}^2 - eb)}{R_{ext}^2(b - e)} \right) \right)^{-1} \quad (\text{A.17})$$

## A.3 Calcul du gradient et réécriture du problème

### A.3.1 Gradient du champ

On a montré que le champ laplacien entre deux cercles non-concentriques pouvait être calculé exactement moyennant une transformation conforme et quelques efforts d'écriture. Son expression est donnée par l'équation A.15. Pour comprendre ce qui se passe dans notre modèle de croissance, on doit s'intéresser au gradient de concentration au niveau des deux interfaces, puisque le flux de FGF10 est directement proportionnel à  $\nabla c$ . Pour y avoir accès

il faut commencer par calculer le gradient du champ en chaque point  $(x, y)$  entre les deux cercles. Celui-ci s'écrit :

$$\|\nabla c\| = \nabla c = \sqrt{\left(\frac{\partial c(x, y)}{\partial x}\right)^2 + \left(\frac{\partial c(x, y)}{\partial y}\right)^2} \quad (\text{A.18})$$

Après avoir calculé  $\partial c/\partial x$  et  $\partial c/\partial y$ , on peut montrer que l'expression du gradient peut se simplifier jusqu'à obtenir :

$$\nabla c = \frac{2\alpha\delta c(R_{ext}^2 - b^2)}{\sqrt{[(R_{ext}^2 - bx)^2 + (by)^2][(x - b)^2 + y^2]}} \quad (\text{A.19})$$

### A.3.2 Réécriture

On a maintenant l'expression exacte du gradient du champ en chaque point entre les deux cercles. Ce qui nous intéresse, c'est d'écrire le gradient le long des deux interfaces, en particulier au bout de la bronche (cercle intérieur) et sur la paroi externe lui faisant face (cerce extérieur). Il serait donc astucieux, pour chacun des deux cercles, d'écrire le gradient en coordonnées polaires, respectivement dans les repères  $(r_e, \theta_e)$  et  $(r_i, \theta_i)$ , centrés sur le centre des cercles extérieur et intérieur respectivement. Il serait ainsi possible d'écrire le gradient sur l'épithélium en fonction de  $\theta_i$  seulement, et le gradient sur la paroi extérieure en fonction de  $\theta_e$  seulement.

Dans le repère  $(r_i, \theta_i)$  lié au centre du cercle intérieur,  $\nabla c$  s'écrit :

$$\nabla c(r_i, \theta_i) = \frac{2\alpha\delta c(R_{ext}^2 - b^2)}{\sqrt{[(R_{ext}^2 - b(r_i \cos \theta_i + e))^2 + (br_i \sin \theta_i)^2][(r_i \cos \theta_i - b + e)^2 + r_i^2 \sin^2 \theta_i]}} \quad (\text{A.20})$$

et donc, sur l'interface elle-même, c'est à dire pour  $r_i = R_{int}$ , on a :

$$\nabla c_i(\theta_i) = \nabla c(r_i = R_{int}, \theta_i) \quad (\text{A.21})$$

De même, dans le repère  $(R_{ext}, \theta_e)$  lié au centre du cercle extérieur,  $\nabla c$  peut s'écrire :

$$\nabla c(r_e, \theta_e) = \frac{2\alpha\delta c(R_{ext}^2 - b^2)}{\sqrt{[r_e^2 + b^2 - 2br_e \cos \theta_e][R_{ext}^2(R_{ext}^2 + b^2 - 2br_e \cos \theta_e) - b^2(R_{ext}^2 - r_e^2)]}} \quad (\text{A.22})$$

et donc, sur l'interface elle-même, c'est à dire pour  $R_{ext} = R_{ext}$ , on a :

$$\nabla c_e(\theta_e) = \nabla c(r_e = R_{ext}, \theta_e) \quad (\text{A.23})$$

On s'intéresse au comportement local des interfaces près du bout des bronches, c'est à dire pour  $\theta_i$  et  $\theta_e$  petits. Il est donc justifié d'écrire ces deux gradients comme des développements limités autour de  $\theta = 0$  pour la suite du calcul. On obtient alors, avec  $\alpha_i$ ,  $\alpha_e$ ,  $\beta_i$ , et  $\beta_e$  tous positifs :

$$\begin{cases} \nabla c_i(\theta_i) = \alpha_i - \beta_i \theta_i^2 \\ \nabla c_e(\theta_e) = \alpha_e - \beta_e \theta_e^2, \end{cases} \quad (\text{A.24})$$

avec :

$$\alpha_i = \frac{2\alpha\delta c(R_{ext}^2 - b^2)}{(R_{int} - b + e)(R_{ext}^2 - bR_{int} - be)}, \quad (\text{A.25})$$

$$\beta_i = \alpha_i \frac{R_{int}(b - e)(R_{ext}^2 - bR_{int} - be)^2 + bR_{int}(R_{int} - b + e)^2(R_{ext}^2 - be)}{2(R_{int} - b + e)^2(R_{ext}^2 - bR_{int} - be)^2}, \quad (\text{A.26})$$

$$\alpha_e = \frac{2\alpha\delta c(R_{ext} + b)}{R_{ext}(R_{ext} - b)}, \quad (\text{A.27})$$

$$\beta_e = \alpha_e \frac{bR_{ext}}{(R_{ext} - b)^2} \quad (\text{A.28})$$

## A.4 Intégration de la croissance

### A.4.1 Préliminaires

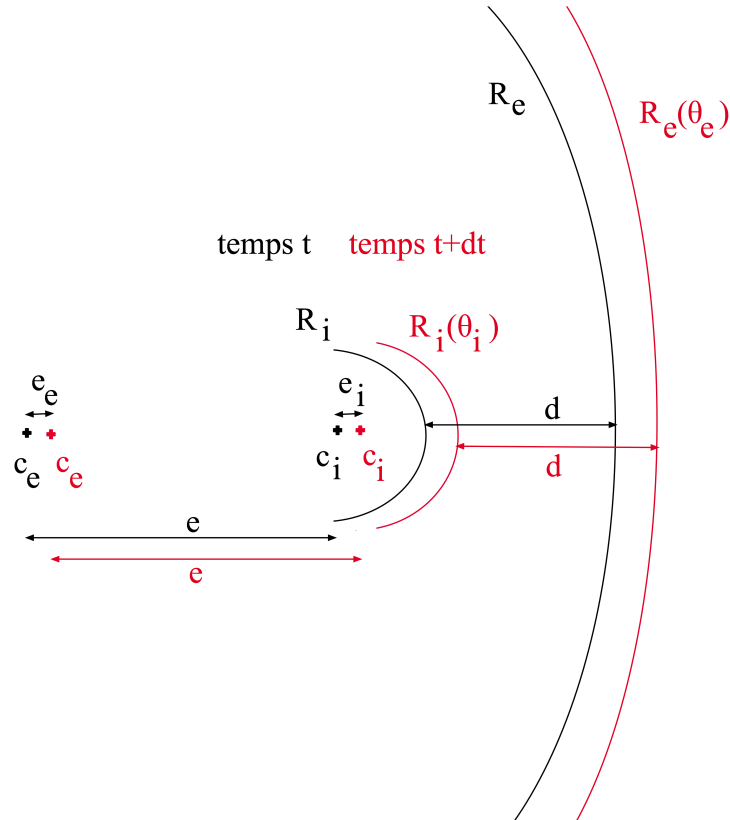
On a écrit le gradient de concentration, qui donne le flux de FGF10, le long des interfaces autour du bout d'une bronche. On veut maintenant introduire la croissance des deux interfaces pour avoir une idée de la dynamique locale des rayons de courbure et de la distance entre les interfaces. Comme dans le modèle numérique, on introduit la réponse en croissance comme des fonctions du gradient local :

$$\begin{cases} u_i(\theta_i) = f_i(\nabla c_i) \\ u_e(\theta_e) = f_e(\nabla c_e) \end{cases} \quad (\text{A.29})$$

Les fonctions  $f_{int}$  et  $f_{ext}$ , comme dans le modèle numérique, peuvent contenir les contributions aussi bien physiques que biologiques du milieu environnant et les propriétés



des tissus considérés. On ne fera aucune supposition *a priori* sur la forme de ces fonctions.



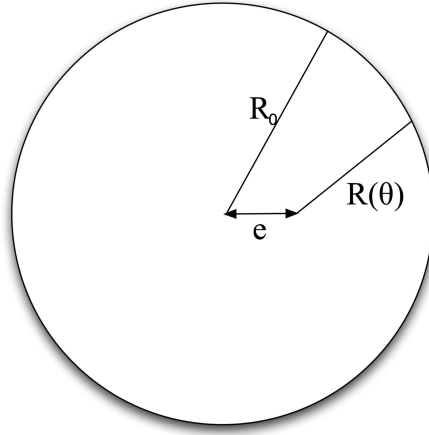
**Fig. A.3** – Situation à l'instant  $t$  (en noir) et  $t + dt$  (en rouge).  $c_e$  et  $c_i$  représentent les centres des cercles extérieur et intérieur,  $e_e$  et  $e_i$  leur déplacement respectif entre  $t$  et  $t + dt$ .

On veut pouvoir écrire localement comment varie dans le temps les rayons de courbures et la distance entre interfaces au bout d'un doigt. Si à l'instant  $t$ , la courbure épithéliale vaut  $R_{int}$ , la courbure de la paroi externe vaut  $R_{ext}$ , et la distance entre les deux vaut  $d$ , et si l'on connaît les fonctions de réponse en croissance des interfaces, on doit pouvoir prédire l'évolution des trois grandeurs  $R_{int}$ ,  $R_{ext}$ , et  $d$ . Cependant, comme la croissance dépend de  $\theta$ , après un instant on aura les deux interfaces décrites par  $R_{int}(\theta_i)$  et  $R_{ext}(\theta_e)$  dans le repère lié aux centres des deux cercles initiaux. En faisant un développement limité autour de  $\theta = 0$ , on aura :

$$\begin{cases} R_{int}(t + dt, \theta_i) = a_i + b_i \theta_i^2 \\ R_{ext}(t + dt, \theta_e) = a_e + b_e \theta_e^2 \end{cases} \quad (\text{A.30})$$

Dans le repère lié à un point d'excentricité  $e$  (Fig. A.4), on peut montrer que le "rayon"  $R(\theta)$  d'un cercle s'écrit :

$$R(\theta) = \sqrt{R_0^2 - e^2 \sin^2(\theta)} + e \cos(\theta) \quad (\text{A.31})$$



**Fig. A.4** – Dans le repère lié à un point d'excentricité  $e$ , le cercle est décrit par  $R(\theta)$ .

Si on considère notre problème, représenté sur la figure A.3, on a alors au temps  $t + dt$  :

$$\begin{cases} R_{int}(\theta_i) = \sqrt{R_{int}^2 - e_i^2 \sin^2(\theta_i)} + e_i \cos(\theta_i) \\ R_{ext}(\theta_e) = \sqrt{R_{ext}^2 - e_e^2 \sin^2(\theta_e)} + e_e \cos(\theta_e) \end{cases} \quad (\text{A.32})$$

Un développement autour de  $\theta = 0$  donne :

$$\begin{cases} R_{int}(\theta_i) = (R_{int} + e_i) - \frac{e_i}{2R_{int}} (R_{int} + e_i) \theta_i^2 \\ R_{ext}(\theta_e) = (R_{ext} + e_e) - \frac{e_e}{2R_{ext}} (R_{ext} + e_e) \theta_e^2 \end{cases} \quad (\text{A.33})$$

En écrivant la croissance, on obtiendra les  $a_e$ ,  $a_i$ ,  $b_e$  et  $b_i$ , et on pourra identifier comme suit :

$$\begin{cases} a_i = R_{int}(t + dt) + e_i \\ b_i = -\frac{e_i}{2R_{int}(t + dt)} (R_{int}(t + dt) + e_i), \end{cases} \quad (\text{A.34})$$

ce qui donne :

$$\begin{cases} R_{int}(t + dt) = \frac{a_i^2}{a_i - 2b_i} \\ e_i = -\frac{2a_i b_i}{a_i - 2b_i} \end{cases} \quad (\text{A.35})$$

De même, pour  $R_{ext}$  et  $e_e$  :

$$\begin{cases} R_{ext}(t + dt) = \frac{a_e^2}{a_e - 2b_e} \\ e_e = -\frac{2a_e b_e}{a_e - 2b_e} \end{cases} \quad (\text{A.36})$$

## A.4.2 Croissance

A l'instant  $t + dt$ , on a :

$$\begin{cases} R_{int}(t + dt, \theta_i) = R_{int}(t) + f_i(\nabla c_i) dt \\ R_{ext}(t + dt, \theta_e) = R_{ext}(t) + f_e(\nabla c_e) dt \end{cases} \quad (\text{A.37})$$

Or on a écrit les gradients sous la forme :

$$\begin{cases} \nabla c_i(\theta_i) = \alpha_i - \beta_i \theta_i^2 \\ \nabla c_e(\theta_e) = \alpha_e - \beta_e \theta_e^2 \end{cases} \quad (\text{A.38})$$

En développant les  $f_i$  et  $f_e$  autour des  $\alpha_i$  et  $\alpha_e$ , on obtient :

$$\begin{cases} R_{int}(t + dt, \theta_i) = R_{int}(t) + f_i(\alpha_i) dt - \beta_i f'(\alpha_i) dt \theta_i^2 \\ R_{ext}(t + dt, \theta_e) = R_{ext}(t) + f_e(\alpha_e) dt - \beta_e f'(\alpha_e) dt \theta_e^2 \end{cases} \quad (\text{A.39})$$

En identifiant comme prévu, on peut donc écrire :

$$\begin{cases} a_i = R_{int}(t) + f_i(\alpha_i) dt \\ b_i = -\beta_i f'(\alpha_i) dt, \end{cases} \quad (\text{A.40})$$

et

$$\begin{cases} a_e = R_{ext}(t) + f_e(\alpha_e) dt \\ b_e = -\beta_e f'(\alpha_e) dt \end{cases} \quad (\text{A.41})$$

Et on peut donc avoir les "vrais" rayons à  $t + dt$  grâce aux équations A.35 et A.36, qui mènent au résultat suivant :

$$\begin{cases} R_{int}(t + dt) = R_{int}(t) + (f_i(\alpha_i) - 2\beta_i f'_i(\alpha_i)) dt \\ R_{ext}(t + dt) = R_{ext}(t) + (f_e(\alpha_e) - 2\beta_e f'_e(\alpha_e)) dt, \end{cases} \quad (\text{A.42})$$

et enfin :

$$\begin{cases} \dot{R}_{int} = f_i(\alpha_i) - 2\beta_i f'_i(\alpha_i) \\ \dot{R}_{ext} = f_e(\alpha_e) - 2\beta_e f'_e(\alpha_e), \end{cases} \quad (\text{A.43})$$

avec le point qui traduit une dérivée temporelle ( $\dot{A} = \frac{dA}{dt}$ ). La variation de distance entre les deux interfaces,  $\dot{d}$ , pour  $\theta = 0$ , s'écrit simplement :

$$\dot{d} = f_e(\alpha_e) - f_i(\alpha_i) \quad (\text{A.44})$$

On a donc maintenant un système dynamique complet reliant l'évolution de nos trois paramètres dans le temps :

$$\begin{cases} \dot{R}_{int} = f_i(\alpha_i) - 2\beta_i f'_i(\alpha_i) \\ \dot{R}_{ext} = f_e(\alpha_e) - 2\beta_e f'_e(\alpha_e) \\ \dot{d} = f_e(\alpha_e) - f_i(\alpha_i) \end{cases} \quad (\text{A.45})$$

Pour rappel, les  $\alpha$  et  $\beta$  sont les premiers termes des développements limités autour de  $\theta = 0$  des gradients sur chaque interface, et sont des fonctions non triviales de  $R_{int}$ ,  $R_{ext}$ , et  $d$ .



# Annexe B

## Morphogenèse dans une goutte de bicarbonate de soude

### B.1 Expériences

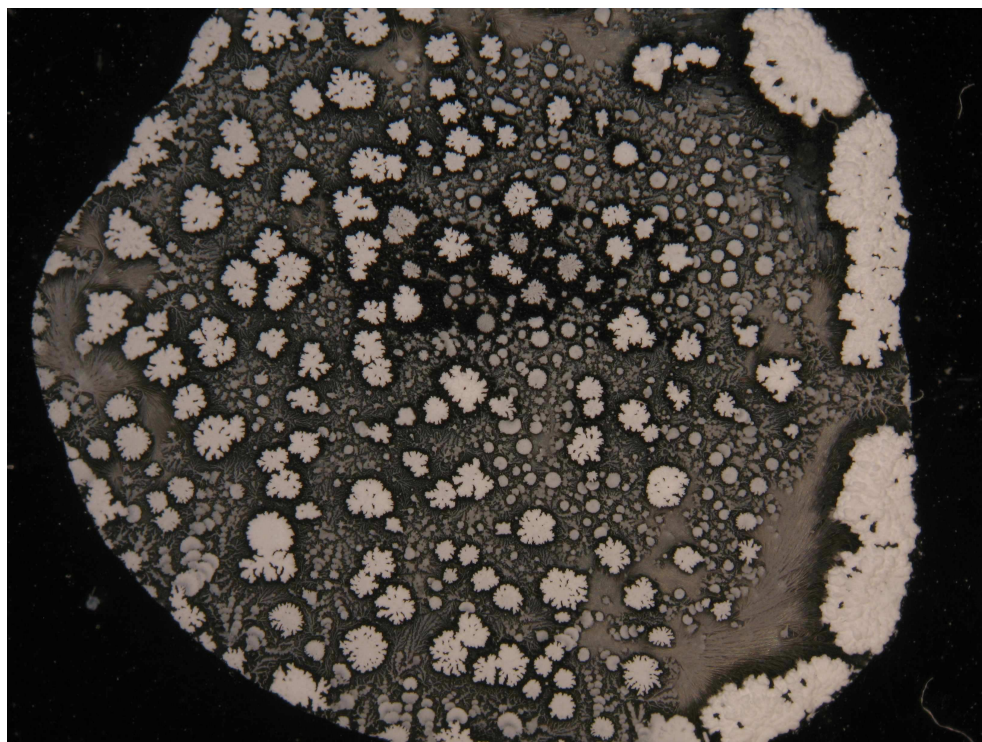
Dans cette partie nous allons présenter des pré-expériences de cristallisation. Il s'agit en fait de regarder les motifs naissant suite au séchage d'une goutte de bicarbonate de sodium, celui-là même supposé posséder des vertus aussi variées que calmer les maux d'estomac, blanchir les dents, calmer l'eczéma ou nettoyer les dreadlocks.

Pour l'expérience, on prépare une solution saturée de bicarbonate de sodium, puis on la dilue deux fois. A l'aide d'une seringue, on dépose une goutte d'environ un centimètre de diamètre de la solution obtenue sur une lame de verre, puis on laisse la solution s'évaporer. Comme seule l'eau s'évapore, la concentration en bicarbonate de sodium augmente, et à un moment donné celui-ci se retrouve en excès, et cristallise. On observe donc les motifs de cristallisation du bicarbonate de sodium. Les conditions d'expérience sont peu contrôlées au sens où l'humidité et la température, qui jouent certainement un rôle prépondérant, ne sont pas contrôlées. Le temps d'évaporation avant que la cristallisation ait lieu est assez variable, de une à quelques heures. En revanche, la cristallisation à proprement parler se fait très rapidement, en une ou deux minutes.

### B.2 Photos et questions

Les photos qui suivent, prises au microscope en fin d'expérience, sont les seuls "résultats" présentés dans cette partie, puisqu'aucune analyse des données n'a été entreprise. Elles révèlent la croissance de motifs très diversifiés. La nucléation de la cristallisation a souvent lieu au bord ; une explication paraissant raisonnable pourrait être le fait que la lame de verre n'est pas tout à fait horizontale, ce qui fait que la goutte est plus fine d'un côté, facilitant localement l'évaporation. Cependant la nucléation prend parfois

place simultanément en plusieurs points de la goutte, peut être sur des aspérités ou des impuretés présentes sur la lame de verre.



**Fig. B.1**

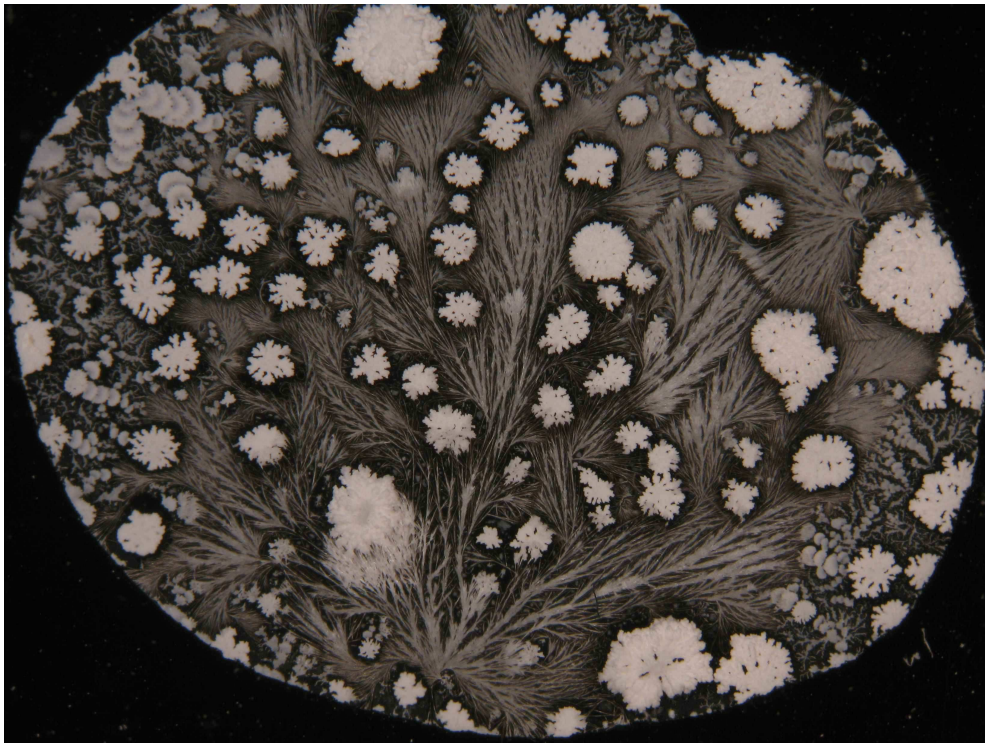
Le fait que, pour des préparations similaires de l'expérience, les motifs soient différents d'une goutte à l'autre, révèle l'importance probable de l'humidité et de la température. Les trois premières images montrent les résultats de trois expériences, choisies pour illustrer la présence de différents régimes. La figure B.1 montre un régime de nucléation dans toute la goutte d'étoiles arborescentes, et pour laquelle la cristallisation a commencé à droite. La figure B.2 montre un régime intermédiaire où les "étoiles" sont présentes mais accompagnées de fougères. Sur la figure B.3, c'est un régime de fougères qui domine largement, même si quelques étoiles se sont formées sur les bords de la goutte.

Les figures B.4 à B.7 sont des gros plans sur des régions où coexistent les deux régimes, et aussi des régimes spatialement "transitoires" évoquant des chapelets d'éventails (B.4, B.6).

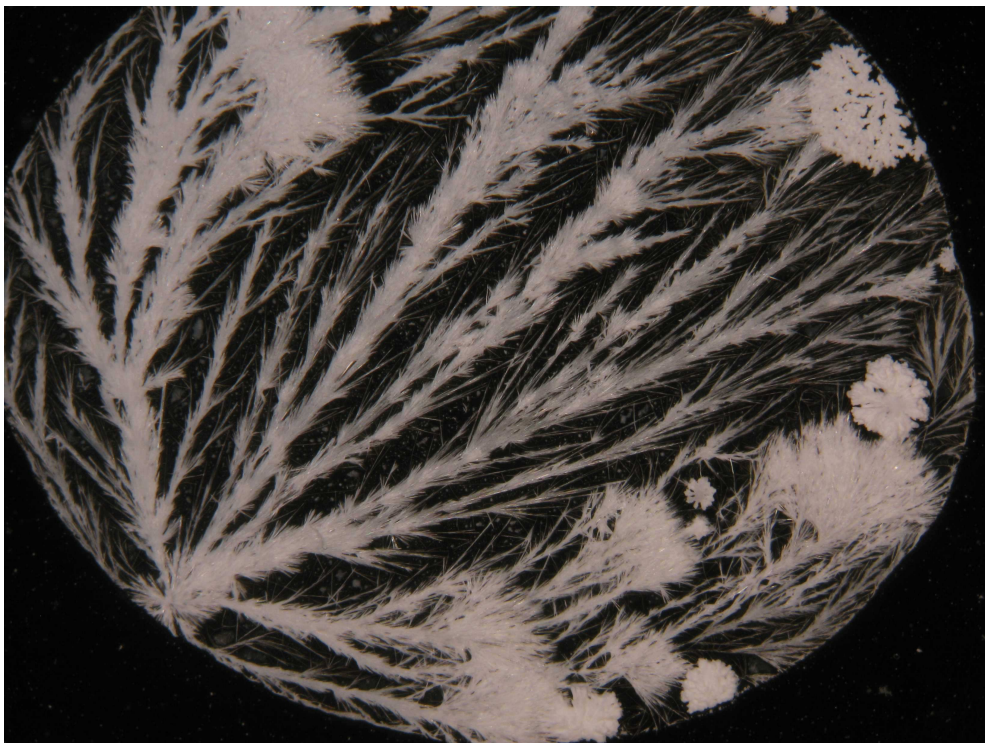
La figure B.8 est un gros plan sur le régime en étoiles, qui ressemble à des cas connus de cristallisation arborescente, tandis que les figures B.9 et B.10 présentent des détails du régime de fougères.

Il est difficile de tirer des conclusions de ces résultats, si ce n'est que les différents régimes donnent envie d'en savoir plus. On pourrait imaginer pour commencer faire des





**Fig. B.2**



**Fig. B.3**



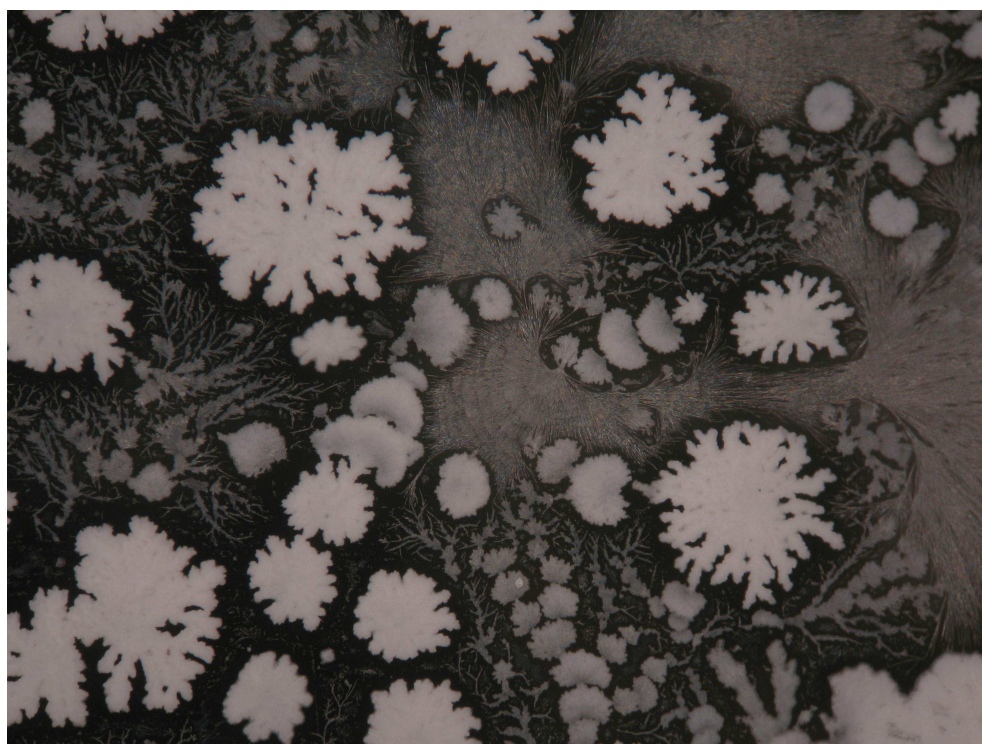


Fig. B.4

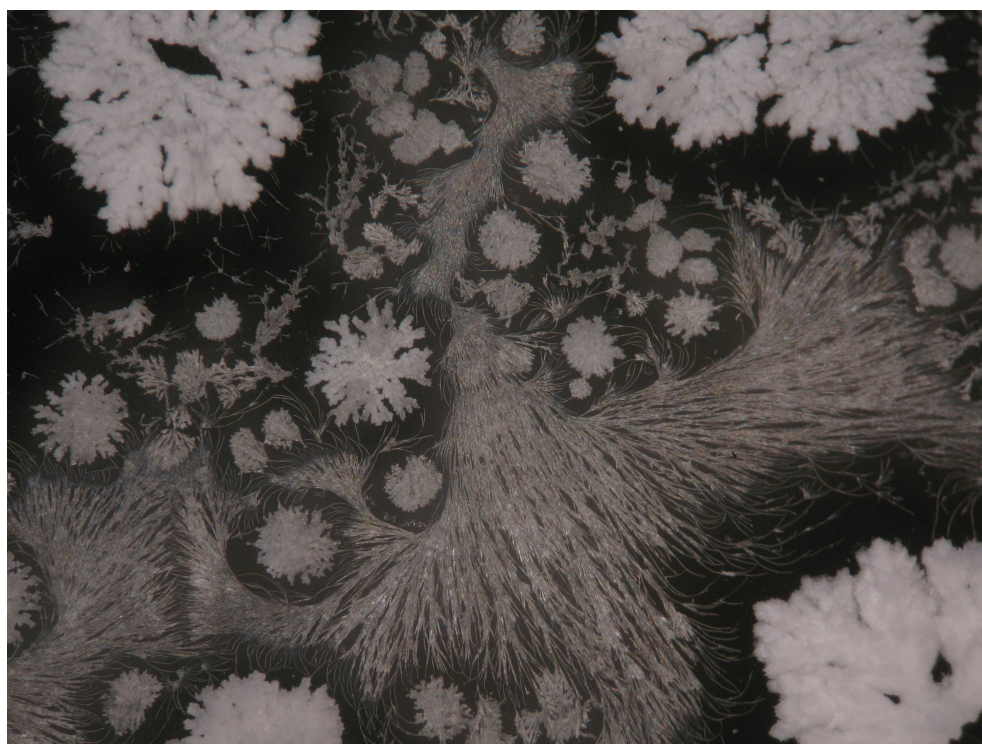
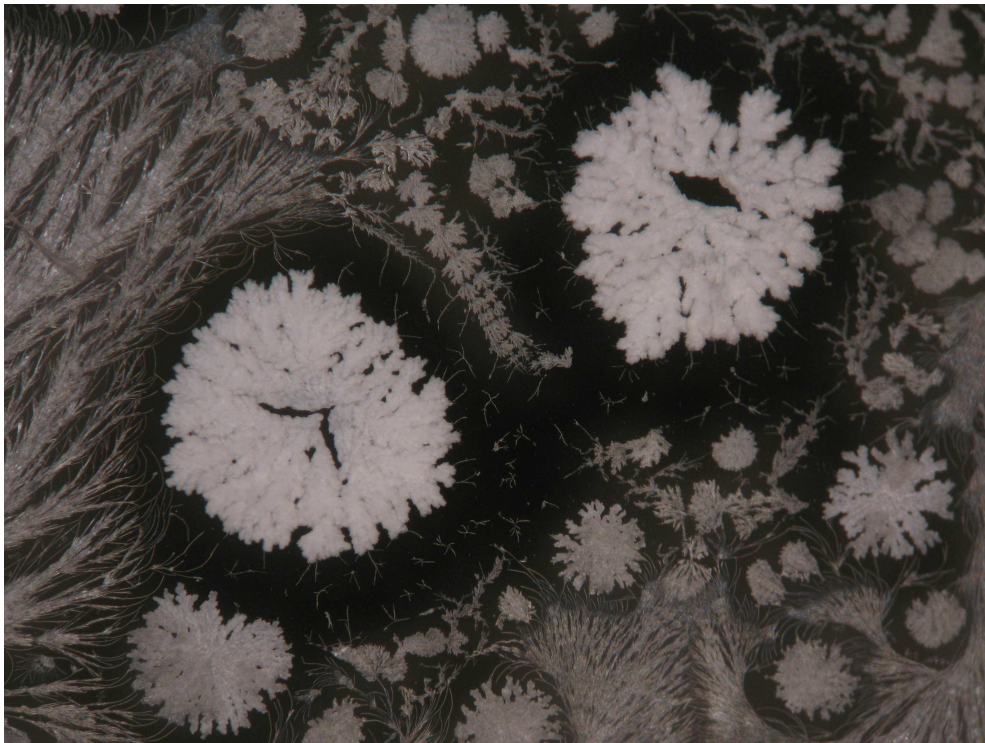
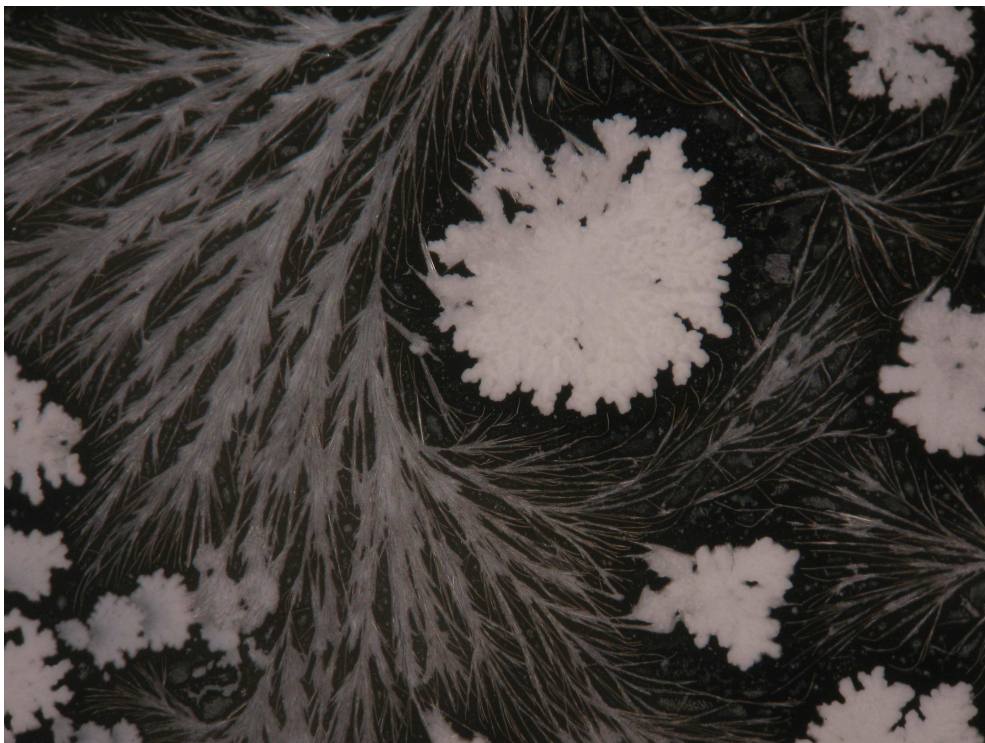


Fig. B.5

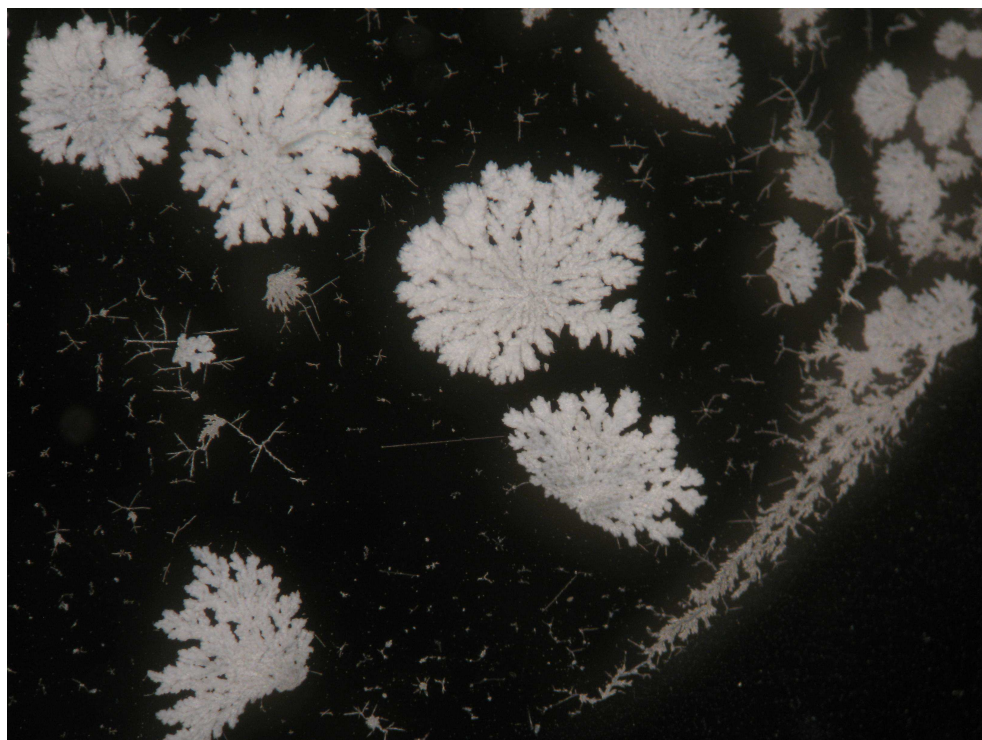




**Fig. B.6**



**Fig. B.7**



**Fig. B.8**

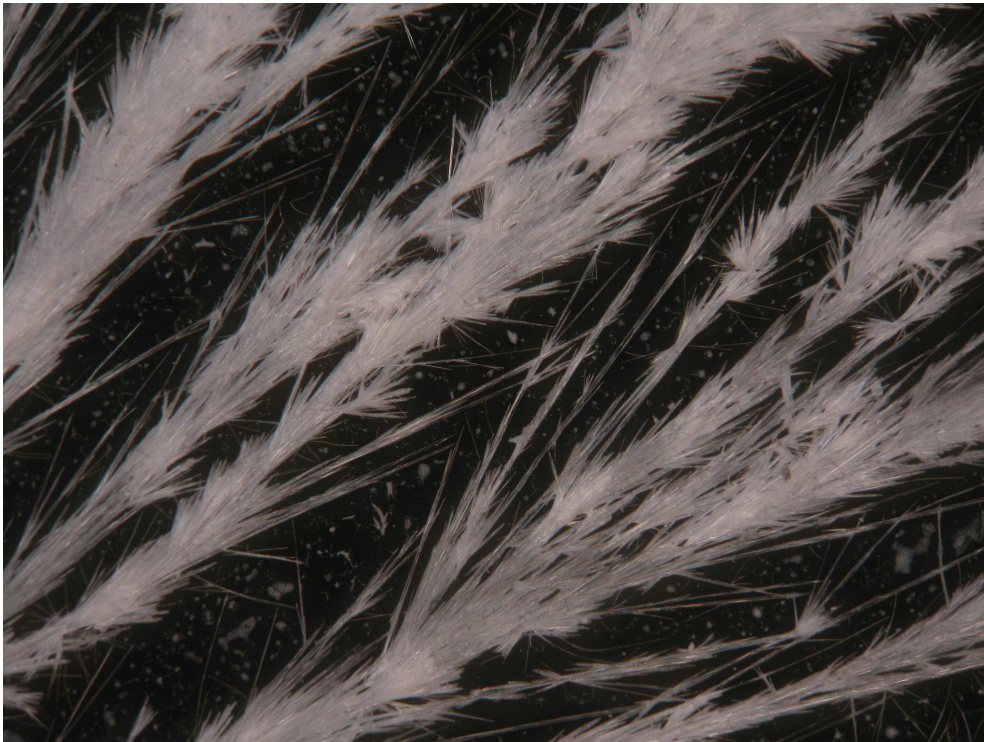
expériences où l'humidité et la température sont contrôlées, pour comprendre dans quelle conditions tel ou tel régime est favorisé, et aussi faire des films de la cristallisation.

La petite difficulté expérimentale si l'on veut filmer à la caméra rapide par exemple est d'attraper le bon moment puisque la cristallisation ne prend que très peu de temps sur un temps total assez long. Les films que nous avons réalisés en prenant une photo toutes les quelques secondes sont insuffisants pour voir en détail la dynamique de morphogenèse. De plus, l'éclairage du microscope chauffant la goutte, on observe en fait des régimes de croissance encore différents. Il serait intéressant de filmer à une cadence beaucoup plus élevée le moment précis de cristallisation sans altérer l'évaporation de la goutte.





**Fig. B.9**



**Fig. B.10**



# Annexe C

## Blown-air-effect et pénétration dans un milieu granulaire

### Sommaire

---

<b>C.1 Introduction</b>	<b>179</b>
C.1.1 Genèse de l'expérience	179
C.1.2 Milieux granulaires et pénétration	181
C.1.3 Dispositif expérimental	182
<b>C.2 Résultats</b>	<b>184</b>
C.2.1 Profondeur d'arrêt	184
C.2.2 Dynamique de pénétration	186
<b>C.3 Discussion</b>	<b>188</b>
C.3.1 A propos des forces en jeu	188
C.3.2 Conclusion et perspectives	191

---

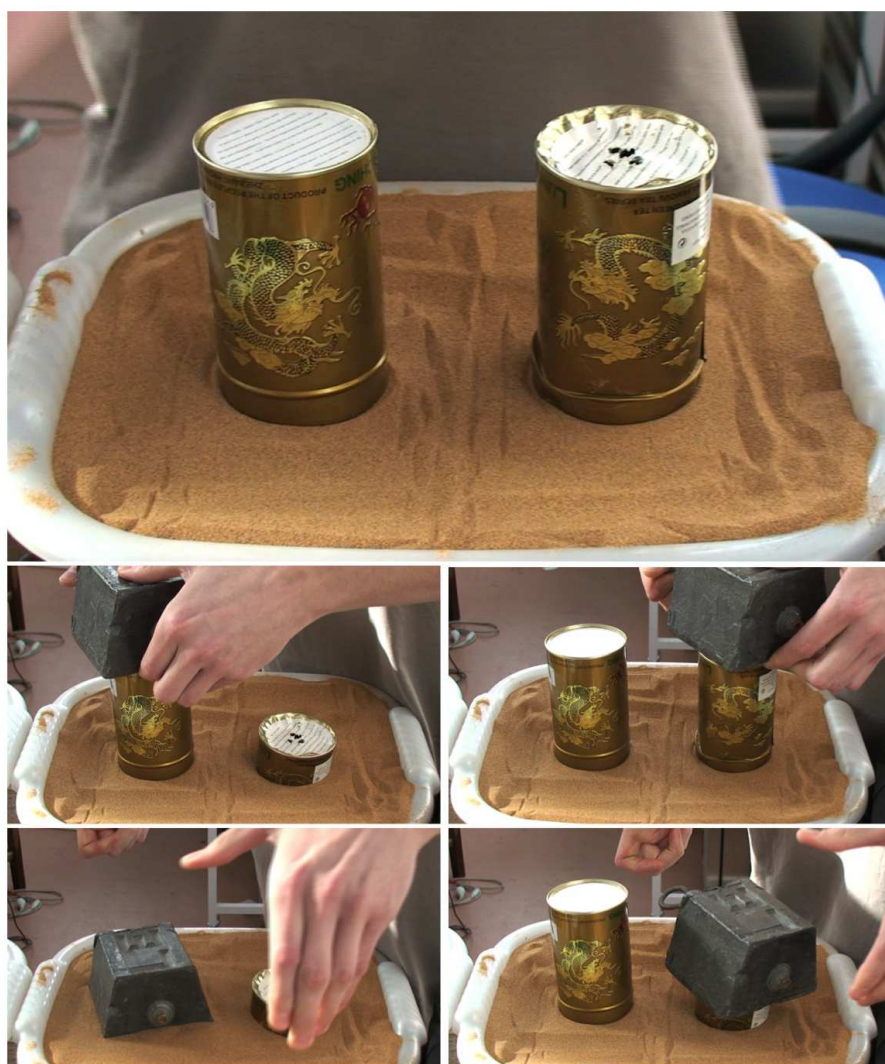
### C.1 Introduction

Ce chapitre rendant compte des résultats d'une expérience n'ayant pas du tout trait à la morphogenèse, il est traité en annexe. Il s'agit d'une expérience de pénétration en milieu granulaire, dans laquelle on caractérise à la fois la physique de l'enfoncement et l'effet du piégeage d'air dans l'objet qui s'enfonce.

#### C.1.1 Genèse de l'expérience

Il est difficile de rester trois ans dans le laboratoire de Stéphane et Sylvain sans jouer un peu avec le sable, dont chaque placard est rempli à des degrés divers, et dont chaque table est plus ou moins couverte. C'est dans un tel moment, plus précisément en enfonçant des

boîtes de thé dans des bassines de sable, qu'avec Erwan Reffet (que je remercie d'ailleurs!), nous avons trouvé un effet surprenant qui a plus tard donné lieu aux expériences décrites dans ce chapitre. En essayant d'enfoncer une boîte cylindrique dans du sable sec, la partie ouverte vers le bas (comme un verre retourné), l'effort à fournir semble étonnamment faible, malgré l'air piégé dans la boîte, duquel on pourrait attendre qu'il oppose une certaine résistance. Si on perce le fond de la boîte, c'est à dire si l'air n'est pas piégé dans la boîte pendant qu'elle s'enfonce, l'effort à fournir semble plus grand. La figure C.1 montre les étapes clés d'une pré-expérience illustrant cet effet.



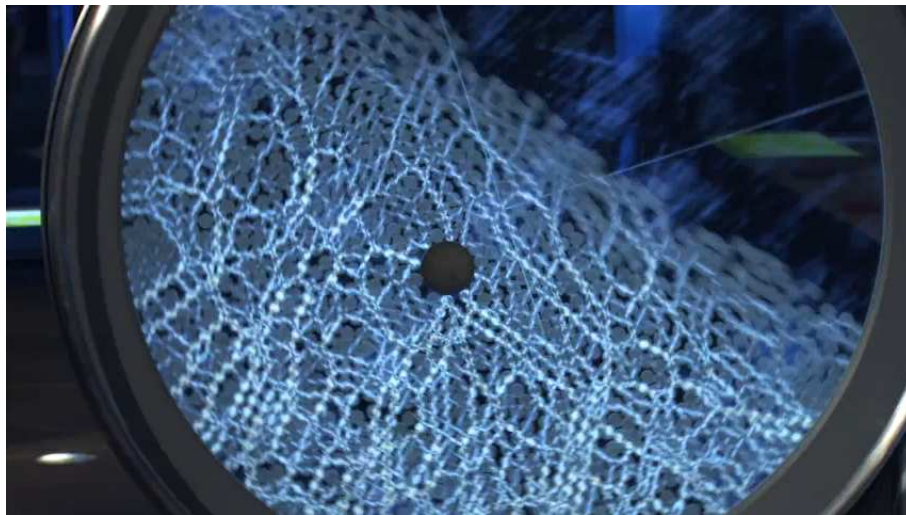
**Fig. C.1** – *En haut : la condition initiale, avec deux boîtes, l'une percée, l'autre non. Colonne de gauche : lorsqu'on lâche un poids sur la boîte non percée, elle s'enfonce complètement. Colonne de droite : le même poids ne parvient pas à enfoncer la boîte percée.*



L'explication réside dans le fait que le sable piégé s'échappe par le sable, le long des parois du cylindre, et le fluidise, ce qui facilite l'enfoncement. Les expériences faites par la suite illustrent plus en détail cet effet baptisé "blown-air-effect". Je remercie beaucoup Mehdi Ould-Hamouda et Donald Duveau qui ont réalisé une grande partie de ces expériences lors d'un stage qu'ils ont fait au laboratoire; Sylvain avec qui nous avons travaillé sur l'analyse des résultats et la rédaction de l'article; et Simon qui a encore une fois prouvé son talent pour avoir des bonnes idées.

### C.1.2 Milieux granulaires et pénétration

Comprendre le comportement physique du sable est, depuis les années 40 où Bagnold travaillait sur les dunes du Sahara, un des enjeux de la physique des systèmes complexes. En effet, il est toujours difficile de qualifier le sable, qui n'a ni un comportement vraiment liquide ni un comportement vraiment solide [76]. Cela pose des difficultés assez systématiques dans les expériences en milieu granulaire. La pénétration d'un objet dans le sable en est un exemple typique. Beaucoup de travaux ont mis en évidence ce qu'on appelle le jamming lorsque du sable est sous contrainte [77] : un réseau de grains se dessine, qui supporte la plus grande partie du stress appliqué au système (Fig. C.2). Ce genre de systèmes dépend très fortement de la fraction volumique, et implique un grand nombre de grains "coordonnés".

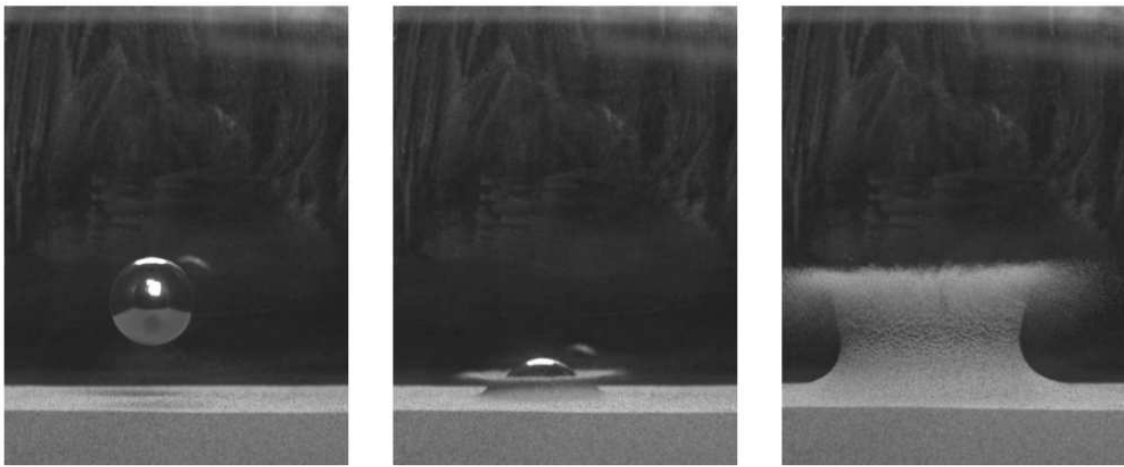


**Fig. C.2** – *Chaînes de forces dans un réservoir de sable en rotation.*

L'étude de la pénétration à proprement parler s'est faite principalement sur deux fronts. D'une part, l'étude d'impacts d'objets variés sur un lit de sable, ayant souvent comme arrière plan l'étude des cratères et des projections engendrés par des chocs avec



des objets venant de l'espace [78, 79]. Une des idées est souvent de comprendre jusqu'où peut s'enfoncer un objet impactant, et il apparaît que sa propre taille constitue l'ordre de grandeur de cette limite. D'autre part, il s'agit d'étudier les forces en jeu lors de la pénétration à proprement parler [80, 81], pour laquelle les expériences consistent souvent à appliquer une force continûment sur l'objet qui s'enfonce et voir quand il s'arrête, ou alors à mesurer la force qu'il faut pour continuer à enfoncer. Quelques travaux assez marginaux s'attachent à décrire la pénétration de tiges pour mieux comprendre la locomotion des crabes [82] ou des robots marcheurs [83].



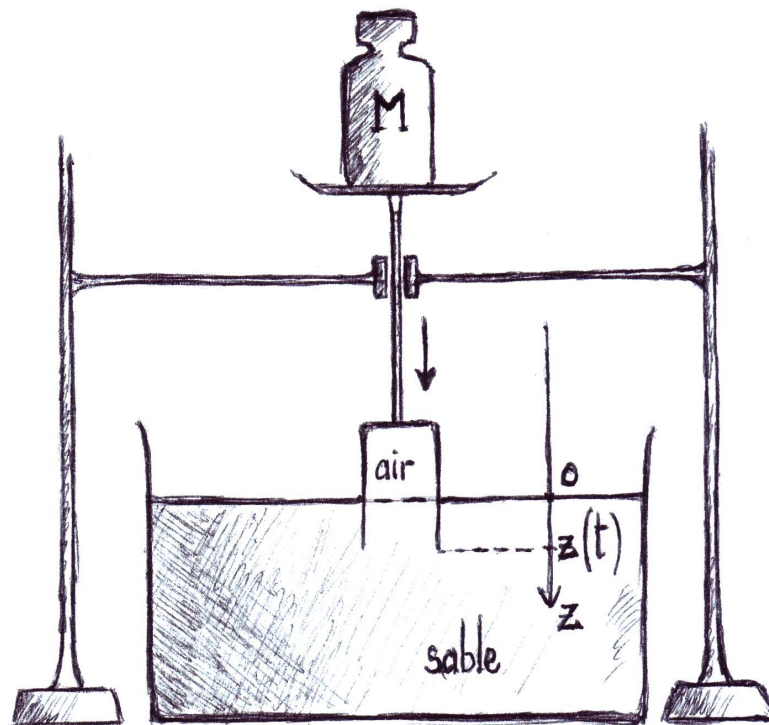
**Fig. C.3** – *Impact, et projection d'une couronne de sable autour de la bille impactante [78].*

Dans cette partie on se propose de décrire la pénétration de cylindres creux et accessoirement de tiges, et d'analyser plus particulièrement l'effet "blown-air" décrit plus haut.

### C.1.3 Dispositif expérimental

Nous utilisons comme objets pénétrant dans le sable des cylindres creux ouverts en bas (comme un verre retourné donc). Comme nous voulons comprendre l'effet de la présence d'air piégé dans le cylindre, toutes les expériences sont effectuées d'une part avec un cylindre fermé en haut (dans lequel l'air est piégé) et d'autre part avec un cylindre ouvert en haut (pour lequel l'air peut s'échapper par le trou lors de l'enfoncement). Le sable utilisé est du sable de chantier tamisé, de diamètre compris en 100 et 500 $\mu m$ , et de masse volumique  $\rho = 2550 kg/m^3$ . Les cylindres, à part le fait qu'ils sont ouverts ou fermés en haut, sont identiques, de hauteur  $h = 120 mm$ , de rayon  $R = 36.3 mm$ , et d'épaisseur  $e = 2.1 mm$ . Quelques expériences de pénétration sont aussi réalisées avec une tige en

acier, de diamètre  $11.9\text{mm}$ . Le récipient contenant le sable est assez grand pour éviter les effets de bord, sa hauteur est plus de deux fois celle des cylindres, et sa largeur plus de dix fois le rayon des cylindres. Beaucoup de travaux ayant montré le rôle crucial de la fraction volumique, toutes les expériences sont réalisées dans deux cas : un où l'empilement est "lâche" (de fraction volumique  $\varphi = 0.58$ ) et un où l'empilement est dense ( $\varphi = 0.61$ ).



**Fig. C.4** – *Dispositif expérimental : un poids est lâché à  $t = 0$ , sans vitesse, sur un cylindre posé sur le lit de sable.*

Pour préparer l'empilement lâche, on place une grille métallique d'espacement  $3\text{mm}$  sous le sable, et on la tire grâce à des fils métalliques jusqu'en dehors du sable. Les grains sont donc "pluisés" d'une hauteur très faible. Pour préparer l'empilement dense, on procède d'abord exactement de la même manière que pour l'empilement lâche, puis le bas du bac qui contient le sable est frappé violemment (relâché de quelques centimètres de haut) sur la table à cinq reprises. Au début de l'expérience on pose le cylindre sur le lit de sable, et on place un poids de masse  $m$ , retenu et en contact avec le cylindre. Il faut noter que  $m$  inclut aussi la masse propre de l'objet, cylindre ou tige. A  $t = 0$ , on libère la masse. Une caméra rapide réglée à 250 images par seconde permet de mesurer  $z(t)$

après que le poids a été relâché, et on relève bien sûr la profondeur finale  $z_{stop}$  et le temps d'arrêt  $t_{stop}$ . Quelques expériences "quasi-statiques" sont aussi effectuées en augmentant la charge très lentement. Dans ce cas, on augmente la masse de quelques grammes par seconde en ajoutant du sable à la charge.

## C.2 Résultats

Pour décrire de manière simple la pénétration d'un objet dans le sable, on l'écrit comme la compétition entre l'inertie et une force s'opposant à la pénétration,  $F$ .

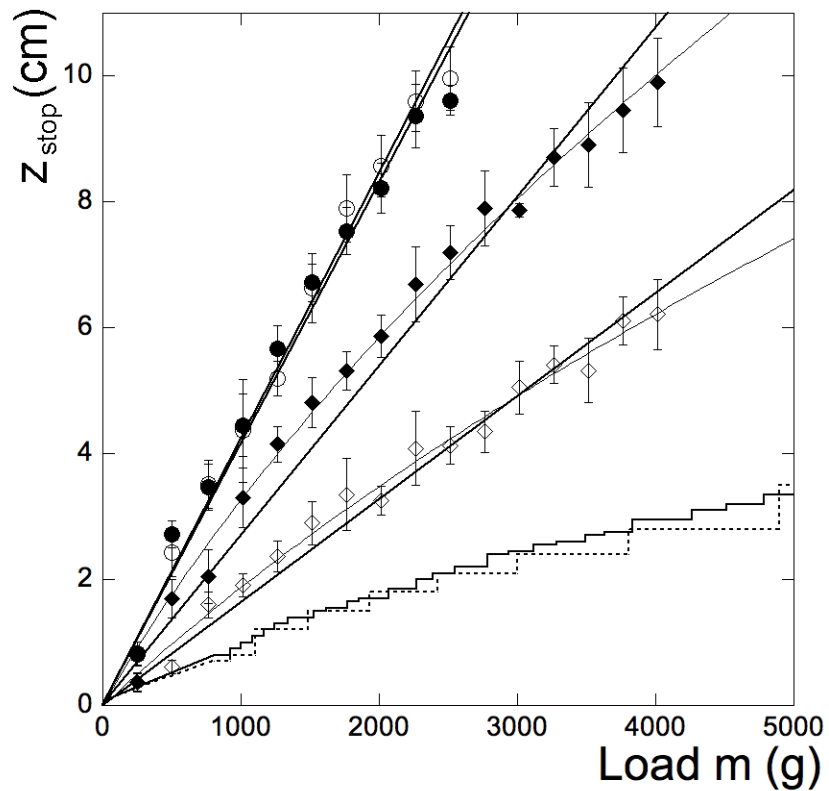
$$m\ddot{z} = mg - F(z, \dot{z}, \dots) \quad (\text{C.1})$$

La description de  $F$  a été la source de plusieurs articles et de nombreuses recherches. Nous nous proposons ici de déterminer le scaling de  $F$  et de trouver comment elle varie selon que le sable est lâche ou dense, et surtout selon que l'effet "blown-air" a lieu ou non, c'est à dire selon qu'on utilise le cylindre fermé en haut ou le cylindre ouvert en haut.

### C.2.1 Profondeur d'arrêt

Les premières mesures représentent  $z_{stop}$  en fonction de la charge  $m$  dans les quatre cas : (lâche/dense)\*(ouvert/fermé). Les résultats sont présentés figure C.5

Les premiers résultats expérimentaux montrent que la profondeur d'arrêt  $z_{stop}$  augmente en première approximation linéairement (fits épais) avec  $m$ . Cela correspond à ce que l'on peut trouver dans une partie de la littérature [84, 79] pour des vitesses initiales nulles, comme c'est le cas ici. On voit aussi que la pénétration est beaucoup plus facile dans le sable lâche, comme on pouvait s'y attendre. La nouveauté réside dans le fait que, dans le cas du sable dense, la pénétration est très différente selon qu'on utilise le cylindre ouvert ou le cylindre fermé. Effectivement, dans le cas du cylindre fermé pour lequel l'air est piégé, la profondeur d'arrêt  $z_{stop}$  est environ deux fois plus grande que pour le cylindre ouvert, duquel l'air s'échappe. Dans le cas du cylindre fermé on constate aussi un jet de sable autour du cylindre, indiquant que l'air piégé à l'intérieur s'échappe entre les grains. Pour le cylindre ouvert, il n'y a pas d'air sous pression, et pas d'éjection de sable. Enfin, les expériences quasi-statiques dans la préparation dense montrent d'une part qu'il n'y a pas d'effet de l'éjection de l'air quand la pénétration est trop lente, les résultats étant similaires dans le cas ouvert et dans le cas fermé, et d'autre part que la pénétration est plus difficile que dans le cas dynamique. La pénétration ayant lieu dans ce cas par à-coups, on peut penser que le stick-slip réorganise les grains au fur et à mesure, ce qui



**Fig. C.5** – Profondeur d'arrêt en fonction de la charge, dans différents cas. Chaque point est une moyenne sur au moins cinq expériences, les barres d'erreur indiquent l'écart type des résultats. Les ronds se rapportent au sable lâche et les losanges au sable tassé. Les symboles noirs représentent les cylindres non percés, et les symboles blancs les cylindres percés. Les courbes en escaliers représentent les résultats des expériences quasi-statiques.

rend l'enfoncement plus difficile.

En ce qui concerne la force  $F$ , ce premier résultat a des conséquences immédiates. En effet, si on écrit le travail de  $F$  entre  $z = 0$  et  $z = z_{stop}$ , on a :

$$\int_0^{z_{stop}} F(z)dz = mgz_{stop}, \quad (\text{C.2})$$

et comme  $m \propto z_{stop}$ , on obtient :

$$\int_0^{z_{stop}} F(z)dz \propto z_{stop}^2, \quad (\text{C.3})$$

et donc on arrive à :

$$F(z) \propto z \quad (\text{C.4})$$

On a donc en première approximation la  $F$  qui augmente linéairement avec la profondeur.

## C.2.2 Dynamique de pénétration

Non seulement la première expérience montre que l'effet de l'air est important, surtout dans le cas d'une préparation de sable dense, mais elle permet aussi de dériver l'équation du mouvement de l'objet pénétrant. On a à présent :

$$m\ddot{z} = mg - \kappa z, \quad (\text{C.5})$$

c'est à dire une équation différentielle très simple d'oscillateur harmonique, qui se résout très facilement avec des fonctions oscillantes. En prenant comme condition initiale  $z(t = 0) = 0$  et  $\dot{z}(t = 0) = 0$ , on obtient :

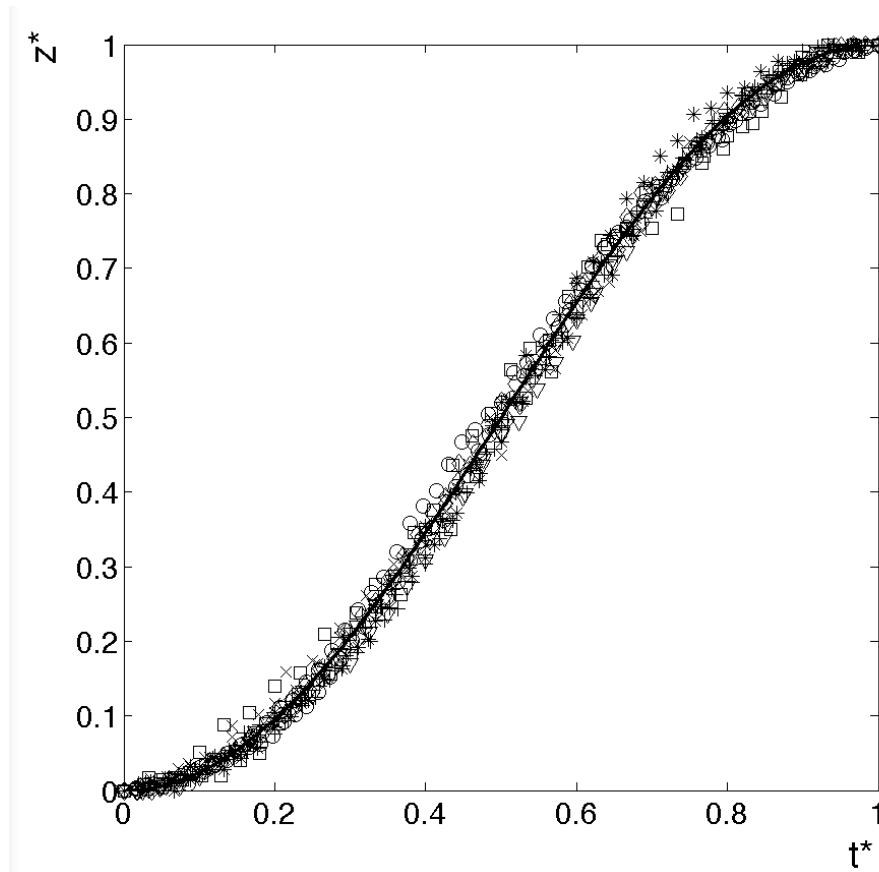
$$z(t) = \frac{g}{\kappa} z_{stop} (1 - \cos(\sqrt{\kappa}t)) \quad (\text{C.6})$$

Après une demi période, on a  $z = z_{stop}$  et  $t = t_{stop}$  (l'objet ne pouvant pas remonter on limite la solution à une demi oscillation), avec  $z_{stop} = 2g/\kappa$  et  $t_{stop} = \pi/\sqrt{\kappa}$ . On peut donc réécrire la solution comme :

$$z^*(t^*) = \frac{1}{2}(1 - \cos(\pi t^*)), \quad (\text{C.7})$$

où  $z^* = z/z_{stop}$  et  $t^* = t/t_{stop}$ . Cette prédiction sur la dynamique de pénétration rescalée est confrontée à des résultats expérimentaux sur la C.6. Cette figure représente  $z^*(t^*)$  pour de nombreuses expériences : pour chacune des préparations (dense ou lâche),

pour les cylindres ouverts ou fermés, et pour trois masses différentes ( $m = 766g$ ,  $m = 1966g$  et  $m = 2766g$ ), soit douze expériences. Viennent encore s'ajouter trois expériences pour la pénétration de la tige d'acier dans la préparation dense, pour  $m = 766g$ ,  $m = 1766g$ , et  $m = 2766g$ . On peut voir que les quinze expériences collapent avec un très bon accord sur la courbe maîtresse prédite par l'équation du mouvement. Il est à noter que ce sont les valeurs mesurées de  $z_{stop}$  et  $t_{stop}$  qui ont été utilisées pour le rescaling.



**Fig. C.6** – Profondeur en fonction du temps pour des expériences avec des cylindres percés ou non, et pour différents poids, ainsi que pour une tige de métal pour différents poids. Les deux grandeurs sont rescalées par  $z_{stop}$  et  $t_{stop}$ . Toutes les dynamiques sont très bien décrites par la courbe maîtresse donnée par le calcul présenté au dessus.

Il est étonnant de remarquer que la dynamique de pénétration ne change pas du tout d'une expérience à l'autre, y compris dans le cas où l'éjection d'air facilite l'enfoncement ou dans le cas d'une géométrie différente. Cela montre que les mécanismes sous-jacents et les forces impliquées ne subissent pas de modification qualitative lorsqu'il y a éjection d'air.

## C.3 Discussion

### C.3.1 A propos des forces en jeu

L'excellent accord entre la prédiction et les expériences montre que la dynamique générale de pénétration est bien décrite par une équation d'oscillateur harmonique, sans dépendances supplémentaires en puissances de  $z$  ou de  $\dot{z}$ , qui mèneraient à une accélération et une décélération asymétriques (contrairement au cosinus, où elles sont symétriques). L'expérience montre donc qu'en bonne approximation la force s'opposant à la pénétration est proportionnelle à la profondeur. Reste à interpréter l'origine physique d'une telle force. Notre idée est que cette proportionnalité montre que la force  $F$  est principalement la force nécessaire pour déplacer les grains et enfoncez un peu plus la surface définie par le bas de l'objet. Pour les cylindres cette surface correspond à "l'anneau" de surface  $S = 2\pi Re$ . Pour la tige elle serait simplement  $S = \pi R^2$ . La force s'écrit donc  $F_b = \sigma PS$ , où  $\sigma$  est un "coefficient de pénétration" sans dimension relatif à l'enfoncement du bas de l'objet.  $P = \rho\varphi gz$  est la pression hydrostatique dans le milieu granulaire, ce qui entraîne la dépendance linéaire de  $F_b$  en  $z$ .

Même si  $F_b$  seule rend assez bien compte des résultats expérimentaux, il est évident que d'autres forces contribuent à  $F$ , notamment on peut écrire  $F_s$ , force de friction exercée par le sable sur les parois du cylindre. Cette force s'écrit en intégrant la pression le long des parois du cylindre qui s'enfonce, et donne un terme quadratique :  $F_s = \pi R\rho\varphi g\mu z^2$ , où  $\mu$  est un coefficient de friction sans dimension relatif au contact du sable sur l'aluminium des parois. Ce terme quadratique rend très bien compte de la légère non linéarité de  $z_{stop}(m)$  (Fig. C.5), et améliore la qualité des fits (fits fins). En revanche un calcul numérique rapide montre que le terme quadratique n'a pas une grande influence sur la dynamique rescalée (Fig. C.7).

En utilisant les deux termes  $F_b$  et  $F_s$  pour fitter les données expérimentales, nous sommes capables d'extraire les valeurs de  $\sigma$  et  $\mu$  des courbes  $z_{stop}(m)$ . En effet, l'équation devient :

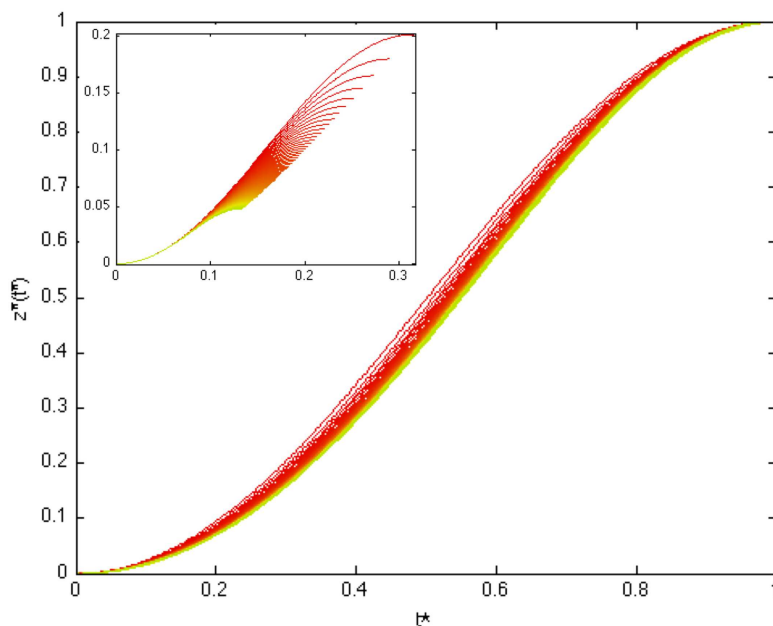
$$m\ddot{z} = mg - F_b - F_s = mg - \kappa z - \kappa_2 z^2, \quad (\text{C.8})$$

avec  $\kappa = 2\sigma\rho\varphi g\pi Re$  et  $\kappa_2 = \pi R\rho\varphi g\mu$ . En multipliant par  $\dot{z}$ , on obtient :

$$m\dot{z}\ddot{z} = mg\dot{z} - \kappa z\dot{z} - \kappa_2 z^2\dot{z} \quad (\text{C.9})$$

En intégrant, la constante d'intégration étant nulle ( $\dot{z}(t=0) = z(t=0) = 0$ ), on arrive à :





**Fig. C.7** – Dynamique rescalée pour  $\kappa = 100$ ,  $\kappa_2$  variant de 0 (rouge) à 10000 (jaune) selon les courbes. L'encart représente la dynamique non rescalée.

$$\frac{1}{2}m\dot{z}^2 = mgz - \kappa\frac{z^2}{2} - \kappa_2\frac{z^3}{3} \quad (\text{C.10})$$

Or pour  $z = z_{stop}$ , on a  $\dot{z} = 0$ , d'où :

$$mg = \kappa\frac{z_{stop}}{2} - \kappa_2\frac{z_{stop}^2}{3}, \quad (\text{C.11})$$

et donc :

$$mg = \kappa\frac{z_{stop}}{2} - \kappa_2\frac{z_{stop}^2}{3} \quad (\text{C.12})$$

$z_{stop}$  est donc un polynôme de degré 2 en  $m$ , et s'écrit finalement :

$$z_{stop}(m) = \frac{-\sigma\pi R\epsilon\rho\phi + \sqrt{(\sigma\pi R\epsilon\rho\phi)^2 + \frac{4}{3}\mu\pi R\rho\phi m}}{\frac{2}{3}\mu\pi R\rho\phi} \quad (\text{C.13})$$

On a bien  $z_{stop}(m)$  avec comme paramètres  $\sigma$  et  $\mu$ . Le tableau suivant représente les valeurs de  $\sigma$  et  $\mu$  extraites en fittant les données avec l'équation A.13, dans les différents cas : (ouvert/fermé)\*(lâche/dense).

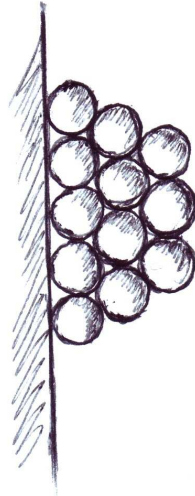
	top-opened	top-closed
loose	$\sigma = 60 \mu = 0.3$	$\sigma = 54 \mu = 0,6$
dense	$\sigma = 130 \mu = 2.2$	$\sigma = 70 \mu = 1,2$

Plusieurs informations intéressantes peuvent être tirées de ces valeurs de  $\sigma$  et  $\mu$ . D'abord, on constate que  $\mu \ll \sigma$ , comme on pouvait s'y attendre. La force  $F_b$  est bien la force principale s'opposant à la pénétration, bien que dans le cas de pénétration plus profonde  $F_s$  puisse devenir plus forte. Les coefficients de friction  $\mu$  sont proches de l'unité, valeur "standard" pour une interface de ce genre. En revanche les coefficients de pénétration  $\sigma$  sont bien plus élevés. D'autre part, nous avons trouvé que l'éjection d'air facilitait l'enfoncement, surtout dans le sable dense. Les valeurs trouvées ici confirment cet état des choses : dans le cas de la préparation dense, elles sont très significativement plus basses pour le cylindre fermé que pour le cylindre ouvert. Dans le cas de la préparation lâche, il n'y a pas de différence significative.

L'explication de la facilitation de l'enfoncement du à l'éjection d'air doit pouvoir se traduire par une modification de la force  $F$  s'opposant au mouvement. Cependant, les résultats précédents ont montré que ni la dynamique, ni les scalings de  $F$  ne dépendaient de la présence d'air piégé dans la boîte, ce qui montre que tout le changement doit être contenu dans les préfacteurs. Comme il y a plus d'espace libre entre des grains et les parois du cylindre qu'entre des grains et d'autres grains C.8, l'explication réside pour nous dans le fait que l'air éjecté le long des parois du cylindre, d'abord la paroi interne puis la paroi externe, bref là où la résistance hydrodynamique est moindre, et de ce fait fluidise le sable autour de l'objet pénétrant, y compris au bas du cylindre où s'exerce la principale résistance à la pénétration.

La fluidisation du sable mène à une fraction volumique effective,  $\varphi_{eff}$ , qui est inférieure à la fraction volumique de la préparation,  $\varphi$ . La littérature montre [80] que la réponse du milieu à la pénétration change dramatiquement avec la fraction volumique, en particulier autour d'un point de transition proche de 0.59. Ceci explique que l'effet "blown-air" soit beaucoup plus important pour la préparation dense, pour laquelle une petite variation de  $\varphi$  peut entraîner de fortes variations de  $\sigma$ , alors que pour la préparation lâche,  $\sigma$  est bien moins sensible aux variations de  $\varphi$ . Cette modification effective de  $\sigma$  (et  $\mu$ ) peuvent fortement modifier  $F$  et faciliter la pénétration, sans pour autant changer la dynamique globale. Un schéma est proposé figure C.9.

Nous avons constaté que la pénétration est plus difficile dans le cas quasi-statique, et que l'air n'y jouait aucun rôle, ce qui montre que cet effet n'a lieu que pour une pénétration dynamique. Par ailleurs, le mouvement en stick-slip rend bien compte de l'enfoncement rendu plus difficile : à chaque pas, il réorganise les grains, augmentant localement la

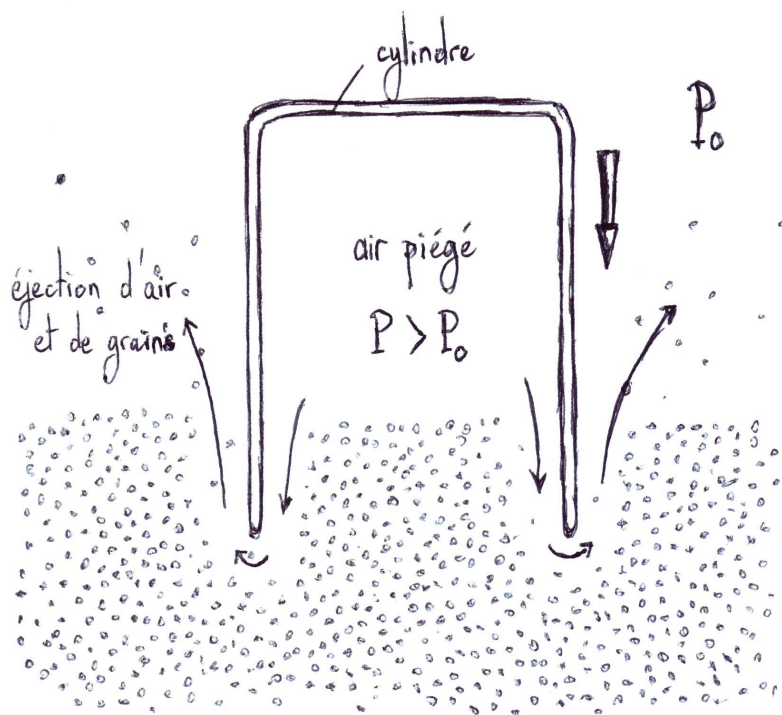


**Fig. C.8** – Schéma simplifié de grains le long d'une paroi. On comprend très bien intuitivement que le contact avec le bord plan force un espace plus grand que l'espace moyen entre les grains.

fraction volumique pour le pas suivant. Un point qu'il est donc nécessaire de souligner est l'absence de terme dynamique dans la force  $F$ . Les expériences quasi-statiques montrent bien que l'effet blown-air n'a pas lieu dans le cas d'une pénétration lente. Le système a donc, de manière indiscutable, besoin de vitesse pour éjecter de l'air ; cependant le modèle n'a pas besoin de terme en  $\dot{z}$  pour rendre compte de la dynamique, ce qui semble paradoxal. Nous en concluons que c'est le passage de  $\varphi$  à  $\varphi_{eff}$  qui contient toute la dépendance en  $\dot{z}$ . La description quantitative du passage de  $\varphi$  à  $\varphi_{eff}$  nécessiterait très certainement une étude supplémentaire.

### C.3.2 Conclusion et perspectives

Les résultats expérimentaux sont très bien décrits par modèle très simple et général de pénétration d'un objet chargé dans un milieu granulaire. Nous avons montré qu'à cette échelle la principale force limitant la pénétration est proportionnelle à la profondeur, ce qu'on peut trouver ici et là dans la littérature [84, 79]. Nous avons interprété cette force comme celle nécessaire à enfoncer le bas de l'objet, à déplacer les grains sur le chemin, et montré qu'elle était plus forte que la friction sur les parois de l'objet, qui scale comme le carré de la profondeur. D'autres expériences ont aussi montré que ce modèle était pertinent pour d'autres géométries, par exemple des simples tiges d'acier, mais l'utilisation de cylindres ouverts ou fermés en haut nous ont permis de mettre en



**Fig. C.9** – Schéma du mécanisme à l'origine du blown-air-effect. Le sable mis sous pression est éjecté le long des parois, abaissant localement la fraction volumique de  $\varphi$  à  $\varphi_{eff}$ . Tout se passe alors comme si l'expérience était faite à la fraction volumique  $\varphi_{eff}$ .

évidence le rôle du piégeage d'air dans l'objet, qui, s'il est expulsé à travers les grains, fluidise le sable et facilite la pénétration. Cet effet "blown-air" est à la fois d'un point de vue pratique, puisqu'il semble intéressant, par exemple d'un point de vue de l'industrie du bâtiment, d'enfoncer des objets plus facilement dans le sable, et soulève d'intéressantes questions fondamentales.

Comme expliqué plus haut, la description quantitative du passage de  $\varphi$  à  $\varphi_{eff}$  nécessiterait très certainement une étude supplémentaire. On peut par exemple imaginer un dispositif permettant, en ouvrant très légèrement le haut du cylindre (par exemple en perçant un tout petit trou de diamètre variable) et en mesurant le flux d'air qui s'en échappe, remonter au flux d'air passant dans les grains, puisqu'on connaît le volume restant dans le cylindre en train de s'enfoncer. On pourrait alors avoir une bonne idée de la variation effective de  $\sigma$  en fonction du flux d'air. Il serait aussi intéressant de voir comment la taille des grains affecte l'hydrodynamique de l'éjection et donc la fluidisation.

De la même manière, on peut imaginer d'injecter de l'air dans le système, par exemple de poser une certaine masse sur un cylindre clos, d'attendre qu'il soit à la profondeur d'équilibre, et d'injecter de l'air dans le cylindre. A partir d'un certain seuil de pression qu'il serait intéressant de déterminer, il est probable que le cylindre s'enfoncerait à nouveau grâce à la fluidisation du sable et à la charge.



**Fig. C.10** – *A gauche : image prise à la caméra rapide lors de l'enfoncement brutal d'un verre de cuisine dans du sable. A droite : image prise lors de l'extraction lente d'un verre de cuisine préalablement enfoncé dans le sable.*

Les expériences quasi-statiques soulèvent une autre question : les paliers de pénétration observés ne sont pas les mêmes dans le cas du cylindre ouvert et du cylindre fermé. Plus

précisément, les paliers décrivent la même progression mais les ils sont beaucoup plus rapprochés dans le cas du cylindre fermé. Nous n'avons aucun indice sur l'origine de la taille des paliers. Ce problème pourrait faire l'objet d'une étude plus poussée.

Un autre aspect intéressant de l'éjection d'air réside dans le fait qu'elle semble se faire sous formes de bulles, qu'on voit remonter à la surface le long des parois extérieures de l'objet lorsque celui ci s'enfonce. Il ne s'agit pas en réalité d'un "film" de sable fluidisé autour des parois, mais de bulles remontant le long de celles-ci, comme le montre l'image de gauche de la figure C.10.

Il serait intéressant de pouvoir caractériser ces bulles, de connaître les acteurs de la sélection en taille (la dispersion en taille semble réduite), etc. De même, si on enfonce un verre dans le sable et qu'on tire doucement, la dépression dans le verre faire remonter des bulles d'air à la surface, ce qui fait "bouillonner" le sable dans le verre retourné, comme on le voit sur l'image de droite de la figure C.10.

Pour finir donc, nous avons répondu à quelques questions soulevées par ce problème physique d'apparence simple, et soulevé encore bien d'autres questions auxquelles il serait intéressant de répondre, et qui appellent la mise en place de nouvelles expériences.

# Annexe D

## Articles

Ocean Ridge Like Growth in Silica Tubes

*Europhysics Letters, 2010*

Penetration and Blown-Air-Effect in Granular Media

*Physical Review Letters, 2011*





# Ocean-ridge-like growth in silica tubes

R. CLÉMENT<sup>(a)</sup> and S. DOUADY

*Laboratoire Matière et Systèmes Complexes (MSC), UMR 7057 CNRS, Université Paris Diderot - Paris, France, EU*

received 2 December 2009; accepted in final form 12 February 2010

published online 11 March 2010

PACS 47.20.Hw – Morphological instability; phase changes

PACS 47.54.-r – Pattern selection; pattern formation

**Abstract** – Complex shapes can occur through successions of instabilities, like in the growth of chemical gardens, where a semi-permeable membrane precipitates at the interface between a sodium silicate solution and a metal salt. Instead of letting the osmotic pressure during the metal salt dissolution lead the dynamics of the growth, we inject a ferric sulfate solution into a sodium silicate solution, both of controlled concentration, controlling also the other hydrodynamical parameters. Although qualitatively distinct regimes can be obtained, we focus here on a previously unobserved regime where the reactive interface grows in tubular fingering patterns with ocean-ridge-like dynamics: the tubes grow evenly on both sides of a central fracture where the silica deposits continuously. Our experiments show that the whole dynamics is intrinsically related to the precipitation occurring at the interface: the tubes elongation rate remains constant even when the injection rate is varying, but strongly depends on the limiting concentration in injected solution, thus on the reaction rate.

Copyright © EPLA, 2010

An important part of investigation in nonlinear science is the understanding of complex pattern formation and self-organized structures. In addition to numerous experimental and theoretical results about well-known two-dimensional fingering instabilities at the interface between two liquids [1–3], later studies were carried out about reaction/precipitation systems where the interface between two solutions or gels undergoes a phase transition. A theoretical background was proposed for systems where chemical reactions occur during the fingering growth [4,5], and recent works presented experimental investigation of two-dimensional viscous fingering patterns in the case of a reactive micellar interface [6] where fingering is linked to rheological changes, or in the case of a simple chemical precipitation shown to induce changes in the standard viscous fingering patterns [7]. All these works restricted themselves to two dimensions, although such systems, in three dimensions, could enlighten our knowledge of natural and self-organised structures created by interfacial precipitation [8–10]. Very little is known concerning three-dimensional patterns achieved when a media invades another, at the exception of a few studies concerning dissolution [11] or aggregation (DLA) systems.

A particular case of three-dimensional reactive growth are the so-called chemical gardens. These self-organised

plant-like structures grow by osmosis when metal salts are dropped in a solution of sodium silicate (or waterglass). They have been an intermittent source of atypical discoveries since Leduc first observed them, as he was convinced that they were part of the mechanisms involved in the origin of life [12]. They were used as demonstration and amusing experiments, due to their admirable diversity of shapes and colors. Several later studies described qualitatively and quantitatively the chemistry and physics of the osmotic pump involved in the growth [13,14]. Other works presented chemical gardens as an example of interfacial “reactive” morphogenesis and as a reaction-precipitation system [15,16]. The injection of a solution of metal salt directly in a bath of sodium silicate has for instance been used [17,18] in order to study a variety of their physical growth regimes with a better experimental control, the injected volume of solution controlling directly the growth of the precipitated membrane. In order to understand the specificities of reaction/precipitation growing systems, our approach is the use of chemical gardens ferric sulfate precipitates. We investigate the possibility of real three-dimensional fingering patterns in precipitating systems, with a high injection rate experiment. We will focus in particular on a new regime of tubular fingering.

The experimental set-up consists in the injection of a solution ( $c = 30$  g/L to 120 g/L) of ferric sulfate:  $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ , although similar patterns are obtained with

<sup>(a)</sup>E-mail: raphael.clement@univ-paris-diderot.fr

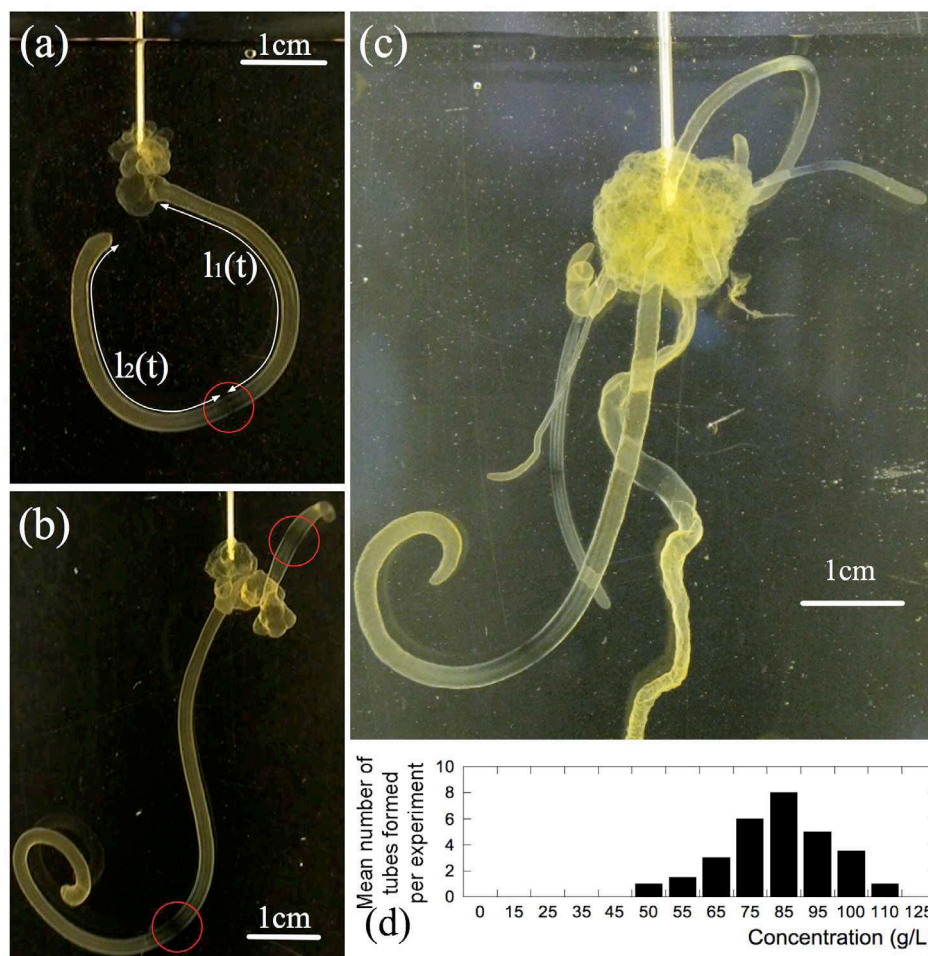


Fig. 1: (Colour on-line) Typical tube patterns. (a)  $c = 65$  g/L,  $Q_{inj} = 7$  mL/min, (b)  $c = 65$  g/L,  $Q_{inj} = 8$  mL/min: typical growing tubes after a few seconds of injection. The red circles show the fracture zone where the tubes grow. (c)  $c = 65$  g/L,  $Q_{inj} = 8$  mL/min: growth pattern obtained after about 40 s of injection. Note the coexistence of the budding regime (near the point of injection) and the tube regime. (d) Mean number of tubes formed per 1 mn experiment, for  $Q_{inj} = 8$  mL/min.

other salts). The ferric sulfate is diluted in previously boiled water and commercial liquid cane sugar (Canadou) in such ratio that the density of the injected solution equals the density of the bath. The bath is a commercial aqueous solution of Sodium Silicate ( $d = 1.33$ ), twice diluted in water before the experiment. Both solutions are stirred beforehand and thus homogeneous. The injection is performed downward and at constant injection rate ( $Q_{inj} = 2$  to  $8$  mL/min) with a programmable syringe pump, and through a metallic needle ( $d = 0.9$  mm: no influence on the needle diameter is observed), and begins at the very moment the needle is immersed in the bath. Our parameters are thus the concentration of the injected solution (the silicate being at saturating concentration) and the injection rate. The sodium silicate is contained in various plexiglas rectangular receptacles (5 to 10 cm wide, 1 to 4 cm deep, 10 cm high). The iron/silica precipitate is yellow, and the bath is limpid. Experiments are performed at room temperature ( $\sim 22^\circ\text{C}$ ). Images and films are acquired through a digital video camera recorder placed far enough ( $\sim 30$  cm) to minimise parallax

effects, and connected afterwards to a computer for data analysis.

This simple experimental set-up is designed to enlighten the influence of interfacial phase transition alone in liquid growth instabilities and to bring to light (qualitatively and quantitatively) possible original dynamics involved in such a system. The range of concentrations used is typical of silicate gardens, but chosen injection rates are far above the injection rates found in literature for injection experiments. This will allow growth rates far above those with osmotic pressure and, as we will see, new regimes of growth. As the two liquids are tuned to have the same density, buoyancy effects are negligible.

As soon as the ferric sulfate is injected, a solid precipitate forms at the contact between the two solutions, preventing any mixing or diffusion [14]. First analysis of the experiments allows, for the range of concentrations and injection rates used, to distinguish mainly two qualitatively different regimes of growth. For low concentrations and injection rates (typically under  $Q_{inj} = 4$  mL/min), the reactive interface grows in successive “bubbles”, as seen in

fig. 1(c) close to the needle. The pressure caused by the continuous injection breaks the precipitated interface, and the solution of ferric sulfate is thus released in the bath, and precipitates again at its interface, then breaks and releases the salt, etc. This regime is qualitatively similar to mechanisms involved in chemical garden growth under osmotic pressure, and has been previously described in the case of hydrodynamic injection as “budding” [17].

On the contrary, for higher injection rates (at least 4 mL/min) and for a certain range of salt concentration (fig. 1(d)), we were able to observe a previously unobserved and atypical tubular fingering. The “budding” regime still exists, but some of the ruptures can induce the formation of growing tubes (figs. 1(a)–(c)). The elongation rate  $u$  of a given tube remains close to a constant (the length increases linearly in time). The dynamics of these tubes presents an interesting specificity: in previously observed tubes, the growth appeared to be at the tip, and driven by a bubble [18], or by successively breaking at the tip (and thus similar to budding) [16,17]. Here, instead of growing through their tip, figs. 1(a) and (b) show that the growing zone of the tube, which is darker because the precipitate is fresh and thin, remains at the half-length of the tube. It means that the tube grows evenly on both sides of a fracture (red circles). This is demonstrated by the measurement of the length above ( $l_1(t)$ ) and the length underneath ( $l_2(t)$ ) the growing zone; they remain almost equal through time. Moreover, even their fluctuations around the constant elongation rate, although small and not stereotyped from a tube to another, seem symmetrical during growth (figs. 2(a), (b)).

If the tube elongation rate is rather constant, the diameter of the tube can vary, and only decrease for constant injection rate. Note that the section (and thus the incoming flow) of a given tube can also remain constant (fig. 1), and that its eventual decrease is not controlled by the experimenter but occurs spontaneously, for instance when a second tube begins to grow somewhere else, decreasing the flux in the first tube. Figure 2(c) shows the significant decrease of a tube section at the fracture zone  $S_f(t)$  as a function of time, while the elongation rate remains constant. The diameter is first constant and then suddenly starts to decrease.

By mass conservation, the decrease in section of a tube is related to a decrease of the incoming flux *in the tube*. Now, assuming that a given tube with elongation rate  $u$  is growing on both sides of its central fracture, and that the flow in the tube is a Poiseuille flow, the increase of volume during  $dt$  at time  $t$  reads

$$Q(t)dt = \frac{3}{4}uS_f(t) dt,$$

where  $Q(t)$  is the incoming flux *in the tube* (not the total injected rate  $Q_{inj}$ ), and  $u$  the elongation rate of the tube, here equal to the mean value of the velocity of the Poiseuille flow at the fracture zone. The sudden reduction of diameter can be the consequence of a sudden reduction

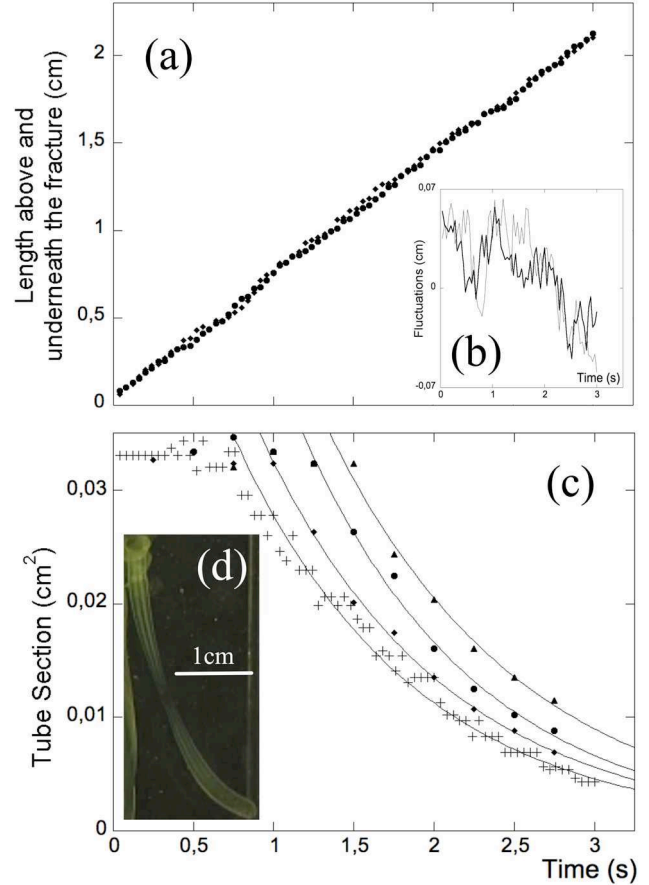


Fig. 2: (Colour on-line) Measurements for a typical tube ( $c = 55$  g/L,  $Q_{inj} = 6$  mL/min). (a) Evolution of the lengths  $l_1(t)$  (diamonds) and  $l_2(t)$  (circles). (b) Fluctuations of  $l_1(t)$  (thin line) and  $l_2(t)$  (thick line) around the linear regression. (c) Evolution of the tube section at different distances from the fracture zone (crosses:  $l = 0$ ; diamonds:  $l = ut/2$ ; circles:  $l = ut$ ; triangles:  $l = 3ut/2$ ). The narrowing (fit lines) occurs first at the fracture point and propagates along the tube at velocity  $\sim u/2$ . (d) Narrowing tube. The precision of length measurements is  $\pm 0.2$  mm.

of flux that changes the resulting section. Moreover, as the tube continues to extend from the fracture point, the section always remains symmetric on both sides of the growth zone, and each new section moves away from the fracture at speed  $u/2$ .

This is checked in fig. 2(c) showing the section of a narrowing tube at different distances of the fracture point in function of time (measured as the square of the diameter). Each curve is fitted with an exponential decay for visual purpose, although it is unclear if the decay is really an exponential. As expected, the narrowing moves away from the growth zone at velocity  $\sim 0.72$  cm/s. It is obtained measuring (for various distances to the fracture zone) the time at which the section has been reduced by a factor two. This velocity is very close to half the global elongation rate  $u/2 = 0.68$  cm/s. This result shows that the morphology of a tube zone is settled as soon as the



precipitation has started, and can be summed up in the following expression (with  $2l/u < t$ ):

$$S(l, t) = S(0, 2l/u) = S_f(2l/u). \quad (1)$$

The main question raised by this mechanism of tube growth is the origin of the selected section  $S$  and elongation rate  $u$ . First, measurements show that the initial section of a tube is neither linked to the concentration nor the injection rate. With a constant injection rate, the pressure inside the structure defined by the solid precipitate increases considerably before it is released by a fracture. The selected section is thus probably a consequence of the initial fracture section, set by the initial excess of pressure, geometry and local mechanical strength of the bud, all prone to significant variations. Second, the variation of tube radius while the elongation rate  $u$  remains constant (fig. 2), shows that the incoming flux  $Q(t)$  has no influence on the elongation rate. So the only relevant parameter for the selection of the elongation rate is the chemical characteristics of the limiting injected solution, namely the concentration  $c$  of metallic salt. Indeed, fig. 3 displays the elongation rate of several tubes as a function of concentration, for various injection rates. Although fluctuations prevent a precise determination of the growth law, the elongation rate  $u$  seems to increase roughly linearly with the concentration in ferric sulfate  $c$ . Moreover, we did not observe any correlation between  $u$  and neither the initial section of the tube nor the total injection rate  $Q_{inj}$  (fig. 3(b)). These results show that the whole dynamics of tube growth is governed by the precipitation kinetics itself.

Other experiments show that these experimental results on three-dimensional fingering with interfacial phase transition are robust, as the tube growth occurs independently of which fluid is injected in the other, or the nature of the metallic salt used: the same fingers were observed with cobalt chloride, manganese sulfate, ...). The new mechanism involved, the growth on both sides of a fracture, recalls the growth of the oceanic crust around a rift. But the fact that the tubes elongation rate is not selected by the injection rate  $Q_{inj}$ , *i.e.* the underlying hydrodynamics (although it needs injection of solution of course), is a significant difference. On the contrary, the fact that it is controlled by the concentration in ferric sulfate of the injected solution, shows that the growth is governed by the kinetics of the precipitation reaction. To explain this chemical kinetic selection of the elongation rate, our interpretation is that when the membrane is broken, the incoming fresh metallic salt induces a silica deposit on both sides of the fracture, where there is already precipitated material (fig. 4). The initial fracture is maintained at the half-length of the tube because the silica deposits continuously and equally on both sides of the fracture from the very moment the membrane breaks up. In other words, the precipitation is favored by the presence of a previous precipitate. For a certain range of concentration, we

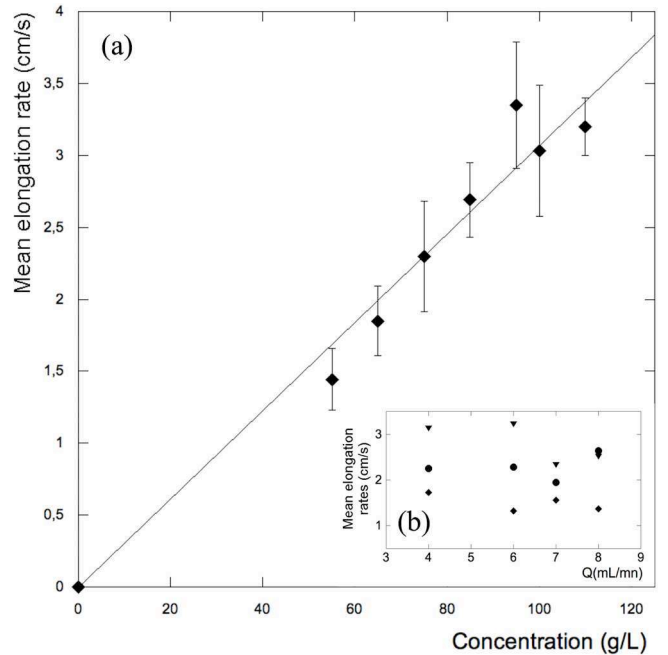


Fig. 3: (a) Mean elongation rate *vs.* concentration in ferric sulfate, obtained for various injection rates. Each point is the mean value of mean elongation rates of several tubes (six to twelve). Error bars show the standard deviation of the mean elongation rates for a given concentration. (b) Mean elongation rate *vs.* injection rate  $Q_{inj}$  for  $c = 55$  g/L (diamonds),  $c = 85$  g/L (triangles), and for all concentrations (circles).

observe this favored precipitation. For too low concentrations, the precipitate becomes too soft, so that no spatially well-defined fracture is formed where the silica can deposit to allow tubular growth, and the whole surface inflates. For too high concentrations, the precipitate very quickly closes the fracture and only buds can be formed. Formation of tubes also need a sufficient initial flow: else, the precipitate will solidify too quickly to allow tubular growth, and we will only observe the budding regime. This mechanism accounts for the linear relation between  $u$  and  $c$ : as the sodium silicate is in excess, the reaction rate (and thus the elongation rate) is proportional to the concentration of the limiting reagent, here the ferric sulfate. One striking particularity of this tube growth regime is that the precipitation reaction is able to mechanically push the previous precipitate on both sides, having thus a direct mechanical action.

To further investigate the physical consequences of this chemical kinetics, we can write the Poiseuille law inside the first half of the growing tube:

$$Q(t) = \frac{\pi}{128\eta} \frac{\Delta p(t)}{\int_0^{L(t)} S^{-2}(l, t) dl}, \quad (2)$$

where  $L(t)$  is the half-length of the tube,  $S_f(t) = S(L(t), t)$  the tube section at the fracture point, and  $\eta$  the viscosity of the ferric sulfate solution. Adding to eq. (2) that

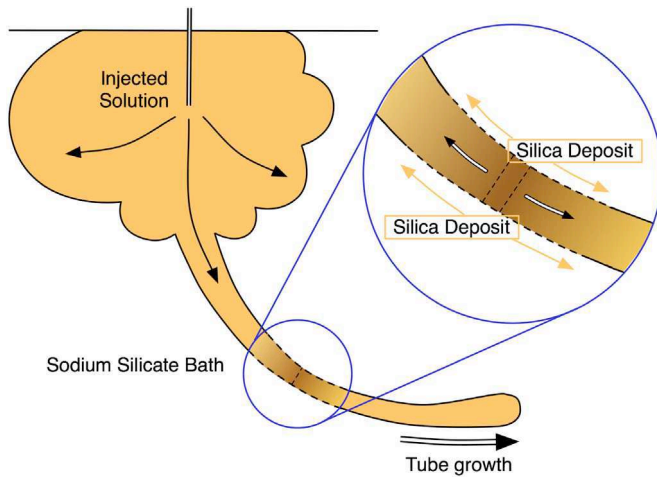


Fig. 4: (Colour on-line) Scheme of the growth mechanism. The silica deposits at the fracture point, where unprecipitated ferric sulfate arrives. The tube thus grows evenly on both sides of the fracture, recording symmetrically the possible change in incoming flux by varying its local radius.

$Q(t) = \frac{3}{4}uS_f(t)$ , that the injection rate is conserved along the first half of the tube (and zero after the fracture), that  $L(t) = ut/2$ , and using the result of eq. (1), we obtain:

$$\Delta p(t) = \frac{48\eta u^2}{\pi} S_f(t) \int_0^t S_f^{-2}(\tau) d\tau. \quad (3)$$

Equation (3) shows that  $\Delta p(t)$  increases at least linearly with time in the case of  $S_f(t) = S_0$ . Moreover, when the tube narrows, as observed in some experiments,  $\Delta p(t)$  can increase even faster. However, the limited injection can only provide a limited pressure, especially when the tube is growing (and the volume increasing). On the contrary, the increase of  $\Delta p(t)$  is imposed by the constant elongation rate provided by the silica deposit controlled by the concentrations. Thus this chemical kinetics can induce a huge pressure difference, meaning a low pressure at the middle of the tube. In other words, this chemical growth can directly act as a fluid pump, creating itself a lower pressure at the fracture zone that drags the fluid up to the growing zone. This is consistent with the result that  $Q(t)$  has no influence on the elongation rate, once the growth has begun. Together with the reduction of incoming flux in a tube, this pressure effect could also explain the sudden reduction of diameter, when the pumping becomes limited by viscosity in this long narrow tube.

In conclusion, our results show that the phase transition at the liquid interface significantly changes the dynamics of growth and the patterns that can be obtained. These mechanism of tubular growth has, to our knowledge, never been observed before. The particular fact that it grows symmetrically on both sides of a fracture is directly similar to oceanic ridges where the lava solidifies

symmetrically on both sides of the rift valley (as revealed by paleomagnetism [19]). However, here the growth is not controlled by the internal (solution or lava) flow, but directly by the kinetics of the chemical reaction. This is a reaction-rate-driven fingering growth. The chemical reaction can even act as a pump, once initiated by hydrodynamics and fracture, and this might be an original way to study the kinetics of these reactions, or be used to create patterns with self-induced pumps.

\*\*\*

Authors thank Prof. R.-E. EASTES for his great help concerning the silicate gardens and for providing a colorful variety of salts, and the CNRS interdisciplinary program “Interface Physique, Biologie et Chimie: soutien à la prise de risque” for funding this project.

## REFERENCES

- [1] SAFFMAN P. G. and TAYLOR G. I., *Proc. R. Soc. London, Ser. A*, **245** (1985) 312.
- [2] TAYLOR GEOFFRAY, *Proc. R. Soc. London*, **201** (1950) 192.
- [3] HOMSY G. M., *Annu. Rev. Fluid Mech.*, **19** (1987) 271.
- [4] DE WIT A. and HOMSY G. M., *Phys. Fluids*, **11** (1999) 949.
- [5] DE WIT A., *Phys. Rev. Lett.*, **87** (2000) 054502.
- [6] PODGORSKI T., SOSTARECZ M., ZORMAN S. and BELMONTE A., *Phys. Rev. E*, **76** (2007) 016202.
- [7] NAGATSU YUICHIRO, BAE SI-KYUN, KATO YOSHIHITO and TADA YUTAKA, *Phys. Rev. E*, **77** (2008) 067302.
- [8] STONE D. A. and GOLDSTEIN R. E., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **101** (2004) 11537.
- [9] REYNOLDS T. B. and FINK G. R., *Science*, **291** (2001) 878.
- [10] GRIFFITHS R. W., *Annu. Rev. Fluid Mech.*, **32** (2000) 477.
- [11] DOUBLE D. D., HELLAWELL A. and PERRY S. J., *Proc. R. Soc. London*, **359** (1978) 435.
- [12] LEDUC S., *The Mechanism of Life* (Rebman, London) 1911.
- [13] CARTWRIGHT J. H. E., GARCIA-RUIZ J. M., NOVELLA M. L. and OTALORA F., *J. Colloid Interface Sci.*, **256** (2002) 351.
- [14] COATMAN R. D., THOMAS N. L. and DOUBLE D. D., *J. Mater. Sci.*, **15** (1980) 2017.
- [15] JONES D. E. H. and WALTER U., *J. Colloid Interface Sci.*, **203** (1998) 286.
- [16] THOUVENEL-ROMANS S. and STEINBOCK O., *J. Am. Chem. Soc.*, **125** (2003) 4338.
- [17] THOUVENEL-ROMANS S., VAN SAARLOOS W. and STEINBOCK O., *Europhys. Lett.*, **67** (2004) 42.
- [18] THOUVENEL-ROMANS S., PAGANO J. J. and STEINBOCK O., *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **7** (2005) 2610.
- [19] TARLING D. H., *Principles and Applications of Paleomagnetism* (Chapman and Hall, London) 1973.



# Penetration and Blown Air Effect in Granular Media

Raphaël Clément, Sylvain Courrech du Pont\*, Mehdi Ould-Hamouda, Donald Duveau, and Stéphane Douady  
*Laboratoire Matière et Systèmes Complexes, UMR 7057 CNRS - Université Paris Diderot*

Sand is known to oppose an increasing resistance to penetration with depth. This is different from what happens in liquids since granular media, usually non-thermal systems, oppose solid friction to the motion. We report another striking and “counter-intuitive” difference between the penetration dynamics observed in sand and in liquids. When pushing a top-closed shell (*e.g.* an upside down glass) into a liquid, the trapped air increases the buoyancy and opposes to penetration. It is more difficult to push vertically into liquids a top capped cylinder than an opened one. In contrast, the penetration is considerably eased in dense sand when cylinders are top capped. In this discrete and bi-phasic medium, the trapped air escapes from the shell, fluidizes the sand and eases the motion.

Sand is known to show a variety of uncommon physical features that do not fit the behaviour of liquid or solid state. A good example of the inherent difficulties encountered when trying to describe collective grains behaviour is the penetration of an intruding object into a granular medium. Crucial works have shown that grains “jam”, *i.e.* assemble to form grain networks that support most of the stress applied to the system [1]. Such systems involve large coordination numbers and the medium response dramatically depends on the volume fraction. Recently, several studies have focused on the drag force encountered by an object moving in granular medium. Some studies specifically address problems of penetration [2–9], mostly to describe how projectiles impact and sink into sand [7, 10–14]. On the fringe of these studies, we consider here the penetration of a cylindrical shell into sand and report what we call the “blown air effect”. The air, initially trapped inside the shell, escapes from the shell when it is pushed into the sand, by flowing through the granular medium. This air flow dilates the medium and considerably eases the penetration of the shell. This effect is another example that the interstitial gas may play a role in dense granular media and qualitatively control the observed phenomena. Such an air active role has been reported before in heap formation and convection [15, 16] or size segregation [17, 18] when vibrating a dense granular medium or, more recently, in ball impact dynamics in dilute systems, which controls the formation of a granular jet [13, 14, 19].

Our experimental set-up is displayed on figure 1. A top-opened (OS) or top-closed (CS) cylindrical shell is pushed vertically into a sand bed by a constant load  $m$ , which includes the mass of the intruder. Initially in contact with the sand surface when the load is released, the intruder sinks and stops at the final depth  $z_s$ . The granular medium is made of sieved building sand grains of diameter  $d$  ranging from  $100 \mu\text{m}$  to  $500 \mu\text{m}$  and volumic mass  $\rho = 2550 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$ . We perform all

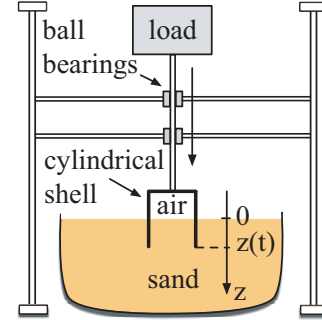


FIG. 1: Experimental set-up: a loaded OS or CS is hold on top of a sand bed. It is instantly released.

measurements either in a loose or in a dense sand. Loose beds of grains are obtained by placing a grid (with spacings of 3 mm) at the bottom of the container and pulling it through the sand from the bottom to the top. Grains are thus “rained” from a very small height and the volume fraction is approximately  $\phi = 0.58$ . Dense beds are obtained, from loose beds, by hitting the container five times on the experiment table. The volume fraction is then approximately  $\phi = 0.61$ . Cylindrical shells are made of aluminum and the rim has a rounded shape. They have a radius  $R = 36.2 \text{ mm}$ , a thickness  $e = 2.1 \text{ mm}$  and a height  $h = 120 \text{ mm}$ . The size of the sand container ( $35 \times 50 \text{ cm}$ ) as well as the filling height (30 cm) are large enough compared to intruder sizes or penetration depth  $z_s$  to prevent boundary (wall and bottom) effects [4, 9]. In addition to constant load experiments with cylindrical shells, we pushed into sand a vertical steel rod (with a flat bottom) of diameter 12 mm, and carried out quasi-static experiments with the cylindrical shells. In the quasi-static experiment, the load is increased by a few grams per second by slowly adding sand to the load. Some of the penetration dynamics are recorded using a high-speed camera at a rate of 250 frames per second.

Figure 2 shows the final penetration depth  $z_s$  in function of the load mass  $m$  for OS and CS in loose or dense sand. One can see that for a given load, the final depth, if similar for CS and OS in loose sand, is much bigger for

\*sylvain.courrech@univ-paris-diderot.fr

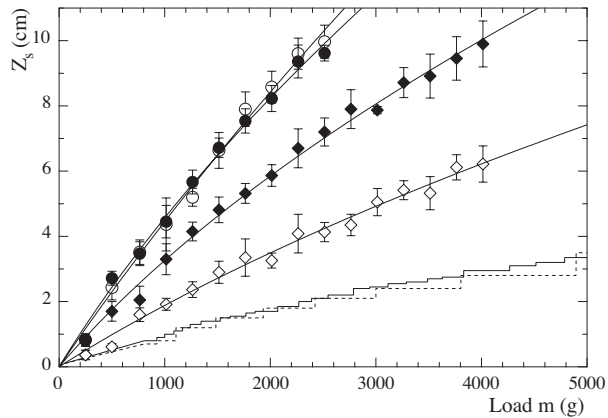


FIG. 2: Penetration depth  $z_s$  in function of the load mass  $m$  in the four cases: loose/OS ( $\circ$ ), loose/CS ( $\bullet$ ), dense/OS ( $\diamond$ ), dense/CS (black  $\diamond$ ). Values are averaged on six to ten realizations; error bars show the standard deviation. Data are fitted with equation (2). Step plots display quasi-static experiments in dense sand for the OS (dotted line) and the CS (full line).

CS than for OS in dense sand. This shows a large effect due to the trapped air inside the shell for high sand densities. In order to quantitatively measure and discuss this effect, we now describe the penetration of an object into sand and write it as the simple balance between inertia and a resistance force  $F$ :  $m\ddot{z} = mg - F(z, \dot{z}, \dots)$ .

The description of the resistance force is the subject of extensive research [2–9, 12]. In most experimental studies, “punctual” objects such as spheres are moved at constant (slow) speed through a granular medium and the resistance force is measured. It is found to be independent of the driving speed and increases, to a first approximation, linearly with depth [2, 6, 7, 12]. Many studies focused on the discrepancy to this linear relationship. They report a resistance force increasing with depth as a power law with an exponent (slightly bigger than one), which depends on many factors such as the direction of motion, the nature of the granular medium or the motion history [3, 5, 6, 9]. However, we stick to the “first order” description of the resistance force and simply write it as a solid friction:

$$F(z) = \sigma S \rho \phi g z + 0.5 \mu P \rho \phi g z^2 = \alpha z + \beta z^2, \quad (1)$$

where the first term accounts for the resistance at the bottom of the intruder, which encounters a hydrostatic pressure  $\rho \phi g z$  and opposes a surface area  $S$  to penetration ( $S = 2\pi R e$  for cylindrical shells) and the second term is the friction at the walls, which have a contour length  $P$  at a given height ( $P = 4\pi R$  for cylindrical shells). Both forces are proportional to the normal forces through a coefficient  $\sigma$  for the bottom force and  $\mu$  for the side force. Writing that the sum of the work of the weight and the one of the resistance force from  $z = 0$  to

$z = z_s$  is null, one finds directly:

$$z_s = \frac{-\alpha/2 + \sqrt{\alpha^2/4 + 4mg\beta/3}}{2\beta/3}. \quad (2)$$

Data sets of figure 2 are well fitted by this expression allowing to extract values of friction coefficient  $\mu$  and penetration coefficient  $\sigma$  (the two fitting parameters) reported on the following table.

	OS	CS	rod
loose	$\sigma = 60 \pm 4$ $\mu = 0.3 \pm 0.15$	$\sigma = 54 \pm 4$ $\mu = 0.6 \pm 0.2$	
dense	$\sigma = 130 \pm 9$ $\mu = 2.2 \pm 0.6$	$\sigma = 70 \pm 5$ $\mu = 1.2 \pm 0.2$	$\sigma = 530 \pm 60$ $\mu = 10 \pm 9$

One sees that  $\mu$  is of order 1 as expected for a friction coefficient but that  $\sigma$  is much bigger by a factor 50-100. Indeed, although written as a Coulombic friction force, the bottom resistance force is the force needed to move grains apart to push in the intruder, which explains the big values of the coefficient  $\sigma$ . If similar for loose sand,  $\sigma$  and  $\mu$  are significantly smaller (by a factor 2) for the CS than for the OS when the granular medium is dense. This is accountable to the blown air effect. When the CS is pushed into the sand, the pressure of the air trapped inside the shell increases. The pressure gradient between the inner cell and the exterior, which drives an air flow, fluidizes the sand along the sides and, more importantly, at the bottom of the object where the pressure gradient does a U-turn (fig. 3). With more free space between the surface of the intruder and grains than between grains, the air must preferentially flow along the inner then the outer surface of the shell, where the hydrodynamical resistance is smaller. In dense sand, the fluidization leads to a smaller local effective volume fraction which significantly reduces  $\sigma$  and  $\mu$  values. It is worth noting that in dense sand, with the benefit of the blown air effect,  $\sigma$  decreases almost to the values in loose sand. This observation, together with the fact that the observed blown air effect does not ease much penetration into loose sand, may be another signature that the granular medium undergoes a sharp phase transition of order parameter  $\sigma$  for a control parameter  $\phi$  value of about 0.6 [20]. The resistance force in loose sand would be less sensitive to a small variation of the volume fraction and would dramatically increase with the granular volume fraction above the critical  $\phi$  value.

Note that  $\sigma$  and  $\mu$  contain most of the physics and are *a priori* functions of the dimensionless numbers of the problem like the granular volume fraction or the aspect ratio and shape of the intruder. This aspect ratio dependency is striking when comparing the much bigger  $\sigma$  value for the rod to the one of the OS. Whereas the rod opposes a plain disk to penetration ( $S/P^2 = 1/(4\pi)$ ), the cylindrical shells only oppose a ring ( $S/P^2 = e/(4\pi R)$ ).



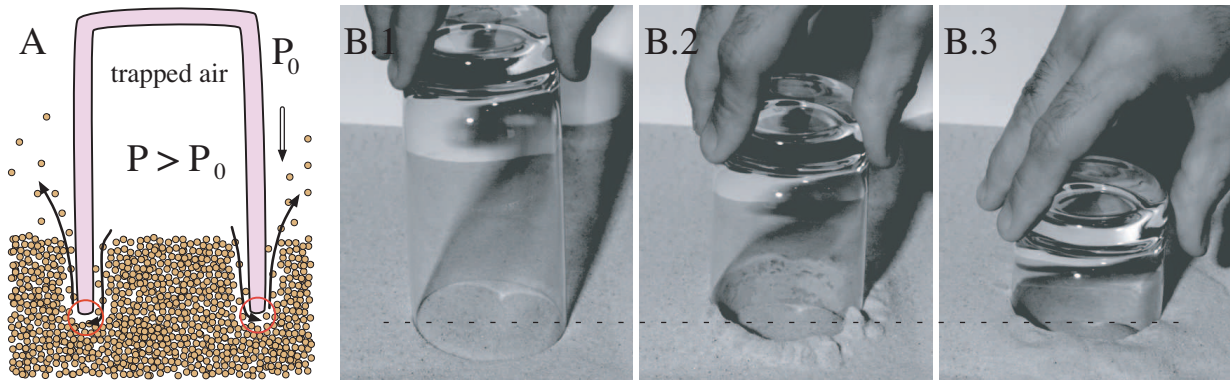


FIG. 3: A. Scheme of the blown air effect. An air flow fluidizes sand along side surfaces and at the bottom (red circles) of the shell. Volume fraction, penetration and friction coefficients are locally reduced, which eases the penetration. B. Snapshots of a glass pushed into a dense sand bed. A movie is available online [21]. The dashed line shows the initial level of the sand free surface. B.1 shows the initial position. When the glass is pushed into the sand, the level of sand in the glass first decreases a bit as the pressure of the trapped air inside the glass increases. Then, the blown air effect is observed. One sees rising air bubbles at the walls, which eject some sand (B.2). Note the string of bubbles, grain ejection is different from the one when an object impacts a granular bed [10, 11, 22]. Picture B.3 shows the final position of the glass. The level of sand inside the glass has slightly decreased, whereas it has slightly increased at the outer wall. This is not observed for OS (no blown air effect).

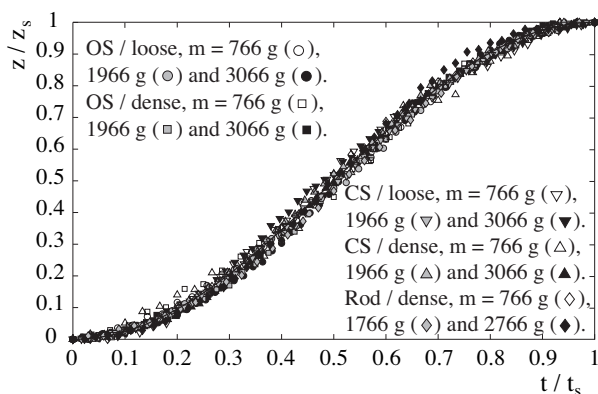


FIG. 4: Rescaled penetration depth  $z/z_s$  in function of rescaled time  $t/t_s$ . Data include all possible cases with the cylindrical shells, each for three loads (12 experiments) and the steel rod in dense sand (for 3 loads). Symbols are detailed on the figure. All data are well described by a sinus (eq. 3).

$\sigma$  being much bigger than  $\mu$  (and final penetration depth being not too big), the resistance force (1) is almost linear in  $z$  and the equation of motion is close to the one of a driven harmonic oscillator ( $\ddot{z} + (\alpha/m)z = g$ ). This has already been observed for spheres sinking into loose sand with no initial velocity [7, 12]. As the intruder cannot go back up, the oscillating motion is restricted to half a period after which the intruder stops ( $z(t_s) = z_s$ ) and writes:

$$\frac{z}{z_s} = \frac{1}{2} \left[ 1 - \cos\left(\pi \frac{t}{t_s}\right) \right], \quad (3)$$

where  $t_s = \pi \sqrt{m/\alpha}$  and  $z_s = 2mg/\alpha$ . Figure 4 shows the penetration depth in function of time for the OS and

the CS in dense or loose sand and for the rod in dense sand for various load values. One can see that all motion curves superimpose and are well described by equation 3 when depth and time are normalized by their measured final values  $z_s$  and  $t_s$ . The dynamical curves  $z/z_s(t/t_s)$  taking into account the quadratic term of the resistance force (eq. 1) would systematically stand under the sinus. However, when numerically integrating the equation of motion with this quadratic term, the discrepancy to the sinus is hardly noticeable when the dimensionless parameter  $N = \beta mg/\alpha^2$  is smaller than 1, and the maximum value of  $N$  in our experiments is 0.6. More surprising is the good agreement of CS curves with equation 3. This shows that the global dynamic of penetration, even when the blown air effect is present, does not suffer the lack of an explicit  $\dot{z}$  dependency for the resistance force, whereas it is a dynamical effect as shown by the quasi-static experiments in dense sand (fig. 2). Indeed, when the load mass is slowly added, keeping inertial effects to a minimum, the blown air effect is not observed and the penetration depth increases by steps similarly for OS and CS. Obviously, the CS has to penetrate the granular medium both on a significant height and fast enough, so that the pressure of the trapped air can increase above a needed threshold to initiate and sustain the fluidization of the sand.

For a fixed granular free surface and before the blown air effect, the mass conservation for the trapped air inside the shell writes as the balance of the shell velocity  $\dot{z}$  and the velocity  $v_{air}$  of the air entering the granular medium:  $\dot{\rho}_a = -\rho_a \partial v / \partial z = -\rho_a (v_{air} - \dot{z}) / (h - z)$ , where  $\rho_a$  is the volumic mass of the air. In the frame of an adiabatic compression, this translates for the air pres-

sure  $p$  inside the shell:  $\dot{p} = [\gamma p / (h - z)](\dot{z} - v_{air})$ , where  $\gamma$  is the adiabatic index. Stating a Darcy flow (viscous, incompressible and quasi-stationary) for the air through the porous sand bed, the equation governing the pressure inside the shell without blown air effect writes:

$$\frac{dp}{dt} = \frac{\gamma p}{h - z} \left( \dot{z} - \frac{K}{\eta_a} \frac{p - p_0}{2z} \right), \quad (4)$$

where  $K$  is the permeability of the porous medium,  $\eta_a$  the viscosity of the air and  $p_0$  the atmospheric pressure. Clearly the de-pressurizing Darcy flow is in delay with the pressurizing motion of the shell and the pressure gradient inside the sand may increase above the critical value of the onset of sand fluidization, which writes to a first approximation :  $(\partial p / \partial z)|_c = -(p - p_0) / (2z)|_c = -\phi \rho g$ . Using the Ergun relation for the permeability:  $K = (1 - \phi)^3 d^2 / (180 \phi^2)$  and putting in equation (4) the motion of a shell without blown air effect in dense sand ( $\phi = 0.61$ ,  $\sigma = 130$  and  $\mu = 2.2$ ) with the added resistance force due to the pressure difference on the two sides of the shell cap, this onset is very easily reached: for a load  $m \simeq 50$  g, at a depth of the order of a grain diameter. Rather than over-passing the onset, it may be more critical to sustain the effect with the *a priori* bigger air flow rate in the fluidizing / bubbling regime. Nevertheless, the above set of equations is dependent of the initial conditions. The needed load  $m$  value goes to about 210 g when the initial depth  $z$  is set to 1 mm, and as a consequence, blown air effect can not be observed in quasi-static experiments, unless a big difference between static and dynamic  $\sigma$  and  $\mu$  values. Note that lowering the ambient pressure should have no effect in dense sand on OS penetration but would delay the blown air effect for CS. In the frame of the above analysis, keeping all other parameters constant (0 initial depth) but decreasing  $p_0$  to 25 mbar makes the onset mass increase to about 1.6 kg.

Besides, in the quasi-static experiments, the penetration depths for a given load mass are much smaller than when inertia is present, as expected. The equality of the modulus of the weight and the resistance force works between the two successive steps  $n$  and  $n + 1$  is then  $m_{n+1}g(z_{n+1} - z_n) = (\alpha/2)(z_{n+1}^2 - z_n^2) + (\beta/3)(z_{n+1}^3 - z_n^3)$ . The dynamic depth  $z_{n+1}$  is a unique function of  $m_{n+1}$  given that  $z_n$  satisfies the static equilibrium  $m_{n+1}g = \alpha_s z_n + \beta_s z_n^2$ , where the right-hand side is the force of equation (1) with static values for coefficients  $\mu$  and  $\sigma$ . Finally the quasi-static curves show small stick-slip steps, which suggests close static and dynamical values for  $\mu$  and  $\sigma$ . The usual experiments measuring the resistance force at constant and slow penetration speed would stand between the two (static and dynamic) boundary curves.

We have reported in this letter what we call the blown air effect in granular media: the penetration of a shell into a granular medium is considerably eased by a flow of air through the medium. This flow, which decreases the granular compactness, is initiated and sustained by the shell motion itself. The penetration of intruders is well described by solid friction involving effective friction / penetration coefficients. This description stands when the motion displays the blown air effect, even though it demands inertia so that the pressure gradient increases and remains up a threshold value needed to fluidize the sand. The pressure dynamics during the blown air effect, as the challenging explicit description of the effective coefficients, remains to be completed. The pressurized air effect is put here in light thanks to a simple experimental set-up where the blown air is initially trapped inside the pushed shell. However, for possible derived industrial applications, one can imagine to rather inject the air.

We thank Erwan Reffet for his involvement in the very first experiment and Simon Dagois-Bohy for fruitful discussions.

- 
- [1] M. E. Cates, *et al.*, Phys. Rev. Lett., **81**, 1841(1998).
  - [2] R. Albert, *et al.*, Phys. Rev. Lett. **82**, 205-208 (1999).
  - [3] I. Albert, *et al.*, Phys. Rev. E **64**, 06303 (2001).
  - [4] M. B. Stone, *et al.*, Nature **427**, 503 (2004).
  - [5] G. Hill, S. Yeung., and S. A. Koehler, Europhys. Lett. **72**, 137-143 (2005).
  - [6] R. Soller, and S. A. Koehler, Phys. Rev. E **74**, 021305 (2006).
  - [7] H. Katsuragi, and D. J. Durian, Nature Phys. **3**, 420-423 (2007).
  - [8] D. J. Costantino, *et al.*, Phys. Rev. Lett. **101**, 108001 (2008).
  - [9] Z. Peng, *et al.*, Phys. Rev. E **80**, 021301 (2009).
  - [10] S. T. Thoroddsen and A. Q. Shen, Phys. Fluids **13** (1), 4 (2001).
  - [11] D. Lohse, *et al.*, Phys. Rev. Lett. **93** (19), 198003 (2004).
  - [12] D. Lohse, *et al.*, Nature **432**, 689-690 (2004).
  - [13] G. Caballero, *et al.*, Phys. Rev. Lett. **99**, 018001 (2007).
  - [14] J. R. Royer, *et al.*, Phys. Rev. Lett. **99**, 038003 (2007).
  - [15] C. Laroche, S. Douady, and S. Fauve, Journal de Physique **50**, 699 (1989).
  - [16] H. K. Pak, E. Van Doorn, and R. P. Behringer, Phys. Rev. Lett. **74**, 4643 (1995).
  - [17] N. Burtally, P.J. King, and M. R. Swift, Science **295**, 1877 (2002).
  - [18] M. E. Möbius, *et al.*, Phys. Rev. Lett. **93**, 198001 (2004).
  - [19] J. R. Royer, *et al.*, Nature Phys. **1**, 164 (2005).
  - [20] M. Schröter, *et al.*, EPL **78**, 44004 (2007).
  - [21] See EPAPS Document No. .
  - [22] S. Deboeuf, P. Gondret, and M. Rabaud, Phys. Rev. E **79**, 041306 (2009).

---

---



# Bibliographie

- [1] *Les Présocratiques*. Gallimard - La Pleiade, 1988. 18
- [2] Platon. *Timée*. Vers 358 avant J-C. 18
- [3] W. Köhler. *Psychologie de la forme*. Gallimard, 1929. 18
- [4] Galilée. *Galilée, Discours concernant deux sciences nouvelles*. PUF, 1995. 20
- [5] P. S. Laplace. *Mécanique Céleste*. 1806. 21
- [6] E. Haeckel. *Kunstformen der Natur*. 1904. 21
- [7] D'Arcy W. Thompson. *On Growth and Forms*. Cambridge University Press, 1917. 22
- [8] Clive Ellegaard, Adam Espe Hansen, Anders Haaning, Kim Hansen, Anders Marcussen, and Shinya Watanabe Tomas Bohr Jonas Lundbek Hansen. Creating corners in kitchen sinks. *Nature*, 1998. 24
- [9] A. Turing. The chemical basis of morphogenesis. *Proceedings of the Royal Society of London*, 1952. 24
- [10] G. I. Taylor. The instability of liquid surfaces when accelerated in a direction perpendicular to their planes. *Proceedings of the Royal Society of London*, 201(1065) :192–196, 1950. 25
- [11] H. Bénard. *Les Tourbillons cellulaires dans une nappe liquide propageant de la chaleur par convection, en régime permanent*. Gauthier Villars, 1901. 25
- [12] W. T. Kelvin. Hydrokinetic solutions and observations. *Philosophical Magazine*, 1871. 25
- [13] S. Douady. *Surface instabilities under parametric excitation*. PhD thesis, Univ. Paris VI, 1989. 25
- [14] P. G. Saffman and G. I. Taylor. The penetration of a fluid into a porous medium or hele-show cell containing a more viscous fluid. *Proc. R. Soc. London*, 245, Ser. A :312, 1985. 25, 26
- [15] C. R. Twidale. River patterns and their meaning. *Earth Science Reviews*, 2004. 25
- [16] J. Kepler. *De Nive Sexangula*. Oxford : Clarendon Press, 1611. 25

- [17] J. D. Murray. *Mathematical Biology*. Springer, 1989. 25
- [18] S. Leduc. *La Biologie Synthétique*. A. Poinat, 1912. 25, 38
- [19] P. Hersen, K. H. Andersen, H. Elbelrhiti, B. andreotti, P. Claudin, and S. Douady. Corridors of barchan dunes : Stability and size selection. *Physical Review E*, 2004. 25
- [20] E. Couturier, S. Courrech du Pont, and S. Douady. A global regulation inducing the shape of growing folded leaves. *Plos One*, 2009. 25, 29
- [21] H. Meinhardt. *The Algorithmic Beauty of Sea Shells*. Springer, 1995. 25
- [22] E. R. Weibel. *Morphometry of the human Lung*. Springer, 1963. 25, 68, 146, 154
- [23] Y. Couder. *Viscous Fingering as an archetype for Growth Patterns*. Cambridge University Press, 2000. 26, 110
- [24] H. Fujikawa and M. Matsuhita. Fractal growth of bacillus subtilis on agar plates. *Journal of the Physical Society of Japan*, 1989. 27
- [25] C. Darwin. *On the Origin of Species by Means of Natural Selection, or the Preservation of Favoured Races in the Struggle for Life*. John Murray, 1859. 29
- [26] B. Mauroy, M. Filoche, E. R. Weibel, and B. Sapoval. An optimal airway tree may be dangerous. *Nature*, 2004. 29, 70, 71, 154
- [27] P. L. Moreau de Maupertuis. *Essai sur la formation des corps organisés*. Berlin - Bibliothèque Royale, 1754. 31
- [28] L. V. Belousov. Morphomechanics : goals, basic experiments and models. *International Journal of Developmental Biology*, 2006. 31
- [29] V. Fleury. *De l'oeuf à l'éternité, le sens de l'évolution*. Flammarion, 2006. 31
- [30] S. L. Miller. A production of amino acids under possible primitive earth conditions. *Science*, 1953. 32
- [31] R. Dawkins. *Le Gène Egoïste*. Odile Jacob, 2003. 32
- [32] S. Douady, A. Manning, and B. Hennion. In the beginning there was shape. *Origins of Life : Self-Organization and/or Biological Evolution ?*, 2009. 32
- [33] E. Farge. Mechanical induction of twist in the drosophila foregut/stomodaeal primordium. *Current Biology*, 2003. 32
- [34] T. Heams. James cameron, encore un effort pour être darwinien! *Le Monde*, 2010. 33
- [35] J. Staune. Le non-darwinisme visionnaire de james cameron. *Le Monde*, 2010. 33

- 
- [36] J-B. André and N. Baumard. Réponse à t. heams et j. staune. *Le Monde*, 2010. 33
- [37] V. Fleury. Réponse à j. staune, j-b. andré et n. baumard. *Le Monde*, 2010. 34
- [38] D. Monnier and C. Vogt. Sur la production artificielle des formes des éléments organiques. *Comptes-rendus de l'Académie des Sciences*, 1882. 38
- [39] D. D. Double, A. Hellawell, and S. J. Perry. The hydration of portland cement. *Proceedings of the Royal Society of London*, 359(1699) :435–451, 1978. 43
- [40] R-E. Eastes and C. Darrigan. Jardins chimiques. *La Recherche*, 2006. 43
- [41] A. De Wit and G. M. Homsy. Nonlinear interactions of chemical reactions and viscous fingering in porous media. *Physics Of Fluids*, 11(5), 1999. 46
- [42] A. De Wit. Fingering of chemical fronts in porous media. *Physical Review Letters*, 87(5) :054502, 2000. 46
- [43] T. Podgorski, M. Sostarecz, S. Zorman, and A. Belmonte. Fingering instabilities of a reactive micellar interface. *Physical Review E*, 76 :016202, 2007. 46
- [44] D. A. Stone and R.E. Goldstein. Tubular precipitation and redox gradients on a bubbling template. *PNAS*, 101(32) :11537–11541, 2004. 46
- [45] J. H. E. Cartwright, J. M. Garcia-Ruiz, M. L. Novella, and F. Otalora. Formation of chemical gardens. *Journal of Colloid and Interface Science*, 256 :351–359, 2002. 46
- [46] R. D. Coatman, N. L. Thomas, and D. D. Double. Studies of the growth of "silicate gardens" and related phenomena. *Journal of Material Science*, 15(8) :2017–2026, 1980. 46
- [47] S. Thouvenel-Romans and O. Steinbock. Oscillatory growth of silica tubes in chemical gardens. *J. Am. Chem. Soc.*, 125 :4338–4341, 2003. 46, 47
- [48] S. Thouvenel-Romans, W. van Saarloos, and O. Steinbock. Silica tubes in chemical gardens : Radius selection and its hydrodynamic origin. *Europhysics Letters*, 67(1) :42–48, 2004. 46
- [49] S. Thouvenel-Romans, J. J. Pagano, and O. Steinbock. Bubble guidance of tubular growth in reaction–precipitation systems w bubble guidance of tubular growth in reaction–precipitation systems w bubble guidance of tubular growth in reaction–precipitation systems. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 7 :2610–2645, 2005. 46
- [50] D. H. Tarling. *Principles and Applications of Paleomagnetism*. Chapman and Hall, London, 1973. 62
- [51] E. Roux. Origine et évolution de l'appareil respiratoire aérien des vertébrés. *Revue des maladies respiratoires*, 19, 2002. 64, 65
-



- [52] S. F. Perry, R. Wilson, C. Straus, M. B. Harris, and J. E. Remmers. Which came first, the lung or the breath? *Comparative Biochemistry and Physiology*, 129, 2001. 64
- [53] H. Gray. *Anatomy of the human body*. 1858. 68
- [54] S. Kato and K. Sekine. Fgf-fgfr signaling in vertebrate organogenesis. *Cellular and molecular biology*, 45, 1999. 76
- [55] T. Jaskoll, G. Abichaker, D. Witcher, F. G. Sala, S. Bellusci, M. K. Hajihosseini, and M. Melnick. Fgf10/fgfr2b signaling plays essential roles during in vivo embryonic submandibular salivary gland morphogenesis. *Developmental Biology*, 5, 2005. 76
- [56] R. Rice, B. Spencer-Dene, E. C. Connor, A. Gritli-Linde, A. P. McMahon, C. Dickson, I. Thelsleff, and D. P. C. Rice. Disruption of fgf10/fgfr2b-coordinated epithelial-mesenchymal interactions causes cleft palate. *Journal of clinical investigation*, 113(12), 2004. 76
- [57] D. M. Ornitz and N. Itoh. Fibroblast growth factors. *Genome Biology*, 2001. 77
- [58] S. Bellusci, J. Grindley, H. Emoto, N. Itoh, and B. L. M. Hogan. Fibroblast growth factor 10 (fgf10) and branching morphogenesis in the embryonic mouse lung. *Development*, 124, 1997. 77, 92
- [59] K. Sekine, H. Ohuchi, M. Fujiwara, M. Yamasaki, T. Yoshizawa, T. Sato, N. Yagishita, D. Matsui, Y. Koga, N. Itoh, and S. Kato. Fgf10 is essential for limb and lung formation. *Nature genetics*, 21, 1999. 77
- [60] R. J. Metzger and M. A. Krasnow. Genetic control of branching morphogenesis. *Science*, 284, 1999. 77
- [61] A. A. Mailleux, D. Tefft, D. Ndiaye, N. Itoh, J-P Thiery, D. Warburton, and S. Bellusci. Evidence that sprouty2 functions as an inhibitor of mouse embryonic lung growth and morphogenesis. *Mechanisms of Development*, 102, 2001. 77, 78, 93
- [62] D. Sutherland, C. Samakovlis, and M. A. Krasnow. Branchless encodes a drosophila fgf homolog that controls tracheal cell migration and the pattern of branching. *Cell*, 87, 1996. 78
- [63] S. Bellusci, Y. Furuta, M. G. Rush, R. Henderson, G. Winnier, and B. L. M. Hogan. Involvement of shh in mouse embryonic lung growth and morphogenesis. *Development*, 124, 1997. 78, 79
- [64] C. V. Pepicelli, P. M. Lewis, and A. P. McMahon. Sonic hedgehog regulates branching morphogenesis in the mammalian lung. *Current Biology*, 8, 1998. 78

- 
- [65] T. Hirashima, Y. Isawa, and Y. Morishita. Mechanisms for split localization of fgf10 expression in early lung development. *Developmental dynamics*, 238, 2009. 78
- [66] W. V. Cardoso and J. Lü. Regulation of early lung morphogenesis : questions, facts and controversies. *Development*, 133, 2006. 78
- [67] D. Warburton, S. Bellusci, S. de Langhe, P. M. del Moral, V. Fleury, A. Mailleux, D. Tefft, M. Unbekandt, K. Wang, and W. Shi. Molecular mechanisms of early lung specification and branching morphogenesis. *Pediatric Research*, 57(5), 2005. 81
- [68] R. J. Metzger, O. D. Klein, G. R. Martin, and M. A. Krasnow. The branching programme of mouse lung development. *Nature*, 2008. 82, 150
- [69] V. Fleury. *Physical Mechanisms of Branching Morphogenesis in Animals*. Springer, 2005. 83
- [70] S. R. Lubkin and J. D. Murray. A mechanism for early branching in lung morphogenesis. *Journal of mathematical Biology*, 34, 1995. 83, 98
- [71] M. Unbekandt. *Etude du rôle des contraintes mécaniques lors de la morphogénèse du poumon*. PhD thesis, Université Paris 7, 2006. 83, 149
- [72] H. P. Makarenkova, M.P. Hoffman, A. Beenken, A. V. Eliseenkova, R. Meech, C. Tsau, V. N. Patel, R. A. Lang, and M. Mohammadi. Differential interactions of fgfs with heparan sulfate control gradient formation and branching morphogenesis. *Science Signaling*, 2, 2010. 145
- [73] E. R. Weibel. Beau poumon - bon poumon ? *Revue des Maladies Respiratoires*, 2004. 151
- [74] A. Horowitz and M. Simons. Branching morphogenesis. *Circulation Research*, 2008. 152
- [75] R. Thom. *Prédire n'est pas expliquer*. Flammarion, 1993. 155
- [76] J. Duran. *Sands, Powders, and Grains : An Introduction to the Physics of Granular Materials*. Springer, 1999. 181
- [77] M.E. Cates, J.P. Wittmer, J.P. Bouchaud, and P. Claudin. Jamming, force chains, and fragile matter. *Physical Review Letters*, 81(9), 1998. 181
- [78] D. Lohse, R. Bergmann, R. Mikkelsen, C. Zeilstra, D. van der Meer, M. Versluis, K. van der Weele, M. van der Hoef, and H. Kuipers. Impact on soft sand : Void collapse and jet formation. *Physical Review Letters*, 93(19), 2004. 182
- [79] H. Katsuragi and D. J. Durian. Unified force law for granular impact cratering. *Nature*, 2007. 182, 184, 191
-

- [80] M. Schröter, S. Nägle, C. Radin, and H. L. Swinney. Phase transition in a static granular medium. *EPL*, 78, 2007. [182](#), [190](#)
- [81] M. B. Stone, R. Barry, D. P. Bernstein, M. D. Pelc, Y. K. Tsui, and P. Schiffer. Local jamming via penetration of a granular medium. *Physical Review E*, 70, 2004. [182](#)
- [82] M. Burrows and G. Hoyle. The mechanism of rapid running in the ghost crab, *ocypode ceratophthalma*. *Journal of Experimental Biology*, 58 :327–349, 1973. [182](#)
- [83] C. Li, P. B. Umbanhowar, H. Komsuoglu, D. E. Koditschek, and D. I. Goldman. Sensitive dependence of the motion of a legged sensitive dependence of the motion of a legged robot on granular media. *PNAS*, 106 :3029–3034, 2008. [182](#)
- [84] D. Lohse, R. Rauhé, Raymond Bergmann, and Devaraj van der Meer. Creating a dry variety of quicksand. *Nature*, 2004. [184](#), [191](#)

