



HAL
open science

Modélisation de l'électroperméabilisation à l'échelle cellulaire

Michael Leguebe

► **To cite this version:**

Michael Leguebe. Modélisation de l'électroperméabilisation à l'échelle cellulaire. Biologie cellulaire. Université de Bordeaux, 2014. Français. NNT : 2014BORD0169 . tel-01148925

HAL Id: tel-01148925

<https://theses.hal.science/tel-01148925>

Submitted on 5 May 2015

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.

THÈSE PRÉSENTÉE POUR OBTENIR LE GRADE DE

**DOCTEUR DE
L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX**

École doctorale de Mathématiques et d'Informatique
Spécialité Mathématiques Appliquées et Calcul Scientifique

par

Michael LEGUÈBE

Modélisation de l'électroperméabilisation à l'échelle cellulaire

Encadrée par Thierry Colin et Clair Poignard

Soutenue le 22 Septembre 2014

Membres du jury :

M	Otared KAVIAN,	Professeur, Université de Versailles,	Président,
Mme	Florence HUBERT,	Maître de Conférences, Université d'Aix-Marseille,	Rapporteur,
M	Bertrand MAURY,	Professeur, Université Paris-Sud,	Rapporteur,
M	Frédéric GIBOU,	Professeur, University of California,	Examineur,
M	Lluis M. MIR,	Directeur de recherche, Institut Gustave Roussy,	Examineur,
M	Thierry COLIN,	Professeur, Institut Polytechnique de Bordeaux,	Directeur,
M	Clair POIGNARD,	Chargé de recherche, Inria Bordeaux Sud-Ouest,	Directeur.

Résumé

La perméabilisation des cellules à l'aide d'impulsions électriques intenses, appelée *électroperméabilisation*, est un phénomène biologique impliqué dans des thérapies anticancéreuses récentes. Elle permet, par exemple, d'améliorer l'efficacité d'une chimiothérapie en diminuant les effets secondaires, d'effectuer des transferts de gènes, ou encore de procéder à l'ablation de tumeurs. Les mécanismes de l'électroperméabilisation restent cependant encore méconnus, et l'hypothèse majoritairement admise par la communauté de formation de pores à la surface des membranes cellulaires est en contradiction avec certains résultats expérimentaux.

Le travail de modélisation proposé dans cette thèse est basé sur une approche différente des modèles d'électroporation existants. Au lieu de proposer des lois sur les propriétés des membranes à partir d'hypothèses à l'échelle moléculaire, nous établissons des lois *ad hoc* pour les décrire, en se basant uniquement sur les informations expérimentales disponibles. Aussi, afin de rester au plus près de ces dernières et faciliter la phase de calibration à venir, nous avons ajouté un modèle de transport et de diffusion de molécules dans la cellule. Une autre spécificité de notre modèle est que nous faisons la distinction entre l'état conducteur et l'état perméable des membranes.

Des méthodes numériques spécifiques ainsi qu'un code en 3D et parallèle en C++ ont été écrits et validés pour résoudre les équations aux dérivées partielles de ces différents modèles. Nous validons le travail de modélisation en montrant que les simulations reproduisent qualitativement les comportements observés *in vitro*.

Mots-clés : électroperméabilisation, cellules, équations aux dérivées partielles, méthodes numériques sur grille cartésienne, diffusion surfacique discrète.

Abstract

Cell permeabilization by intense electric pulses, called electropermeabilization, is a biological phenomenon involved in recent anticancer therapies. It allows, for example, to increase the efficacy of chemotherapies still reducing their side effects, to improve gene transfer, or to proceed tumor ablation. However, mechanisms of electropermeabilization are not clearly explained yet, and the mostly adopted hypothesis of the formation of pores at the membrane surface is in contradiction with several experimental results.

This thesis modeling work is based on a different approach than existing electroporation models. Instead of deriving equations on membranes properties from hypothesis at the molecular scale, we prefer to write *ad hoc* laws to describe them, based on available experimental data only. Moreover, to be as close as possible to these data, and to ease the forthcoming work of parameter calibration, we added to our model equations of transport and diffusion of molecules in the cell. Another important feature of our model is that we differentiate the conductive state of membranes from their permeable state.

Numerical methods, as well as a 3D parallel C++ code were written and validated in order to solve the partial differential equations of our models. The modeling work was validated by showing qualitative match between our simulations and the behaviours that are observed *in vitro*.

Keywords : electropermeabilization, cells, partial differential equations, numerical methods on cartesian grid, discrete surface diffusion.

Remerciements

Un grand merci à Clair Poignard, qui, depuis ce stage de M1 qu'il m'avait proposé, a su non seulement trouver un parfait équilibre entre encadrement et autonomie, mais a également tout fait pour me guider et me promouvoir au sein des communautés scientifiques de l'électroporation et des mathématiques. Grâce à lui j'ai pu prendre la mesure de ce que serait mon futur environnement, avec ses avantages, ses inconvénients, mais surtout de me rendre compte des enjeux passionnants qu'offrent les mathématiques appliquées. Je tiens également à remercier Thierry Colin et Olivier Saut qui ont été là pour que tout se déroule sans le moindre accroc de mon point de vue, et m'ont également beaucoup apporté en termes de savoir-faire.

Merci aux membres du jury, Florence Hubert, Bertrand Maury et Frédéric Gibou, d'avoir porté un grand intérêt à mon travail, et pour leurs encouragements pour la suite de ma carrière scientifique.

Un grand merci à Lluis Mir, à Aude Silve, Marie Breton, ainsi qu'aux membres du laboratoire Ampère avec qui nous avons travaillé et participé aux conférences ces dernières années. Les différentes occasions que nous avons eu de nous rencontrer ont pu me montrer à quel point le travail pluridisciplinaire pouvait être enrichissant. Cela m'a aussi grandement aidé à prendre du recul sur mon travail, et à mesurer l'importance de savoir communiquer ses recherches à un public extérieur aux mathématiques.

À Otared Kavian, merci de m'avoir guidé sur le plan mathématique, toujours dans la bonne humeur, en particulier pour m'avoir proposé cette étude des solutions périodiques qui trouve une application directe au regard du plan clinique.

Bien que je n'ai participé qu'aux prémices d'une collaboration qui s'annonce riche, je tiens à remercier Roberto Natalini pour le partage de nos travaux respectifs. Je suivrai avec attention les avancées du modèle que nous avons élaboré ces derniers mois.

Merci aux camarades de l'équipe MC2, pour leurs discussions scientifiques comme pour les moments de détente. Même si mon sujet était un peu différent de ce que fait la majorité de l'équipe en cancérologie, j'ai pu apercevoir dans les groupes de travail ou les séminaires l'intérêt de la collaboration avec les médecins, et à quel point les mathématiques pouvaient apporter quelque chose dans ce domaine.

Lors de mon stage de M1, je pensais pour plaisanter rendre hommage à la fontaine à eau du laboratoire de nous avoir sauvé pendant l'été. Je ferais mieux de remercier le personnel de l'IMB, ainsi que celui d'Inria, qui nous ont fourni des conditions de travail sans reproche, même dans un contexte peu évident à gérer.

Je remercie aussi tous mes amis relecteurs de ce manuscrit, non-mathématiciens, qui ont du subir la lecture de toutes ces équations, afin de chasser du texte les quelques fautes recalcitrantes. Celles qui

resteraient ne sont dûes qu'à ma négligence. J'ai une pensée pour les élèves de collège, qui, quelque part en Dordogne, ont eu droit à une dictée peu ordinaire...

Merci aux amis de la Soucoupe, qui m'ont permis de m'aérer l'esprit et de me détacher de mes problèmes le temps de quelques parties. Merci à Jérôme, Simon, Tom, Vincent, et j'en oublie de m'avoir fait participer à des conversations sur l'informatique, qui, même si je n'en saisissais pas forcément les tenants et aboutissants, m'ont permis de me cultiver scientifiquement hors de mon domaine.

Merci à Noémie-Fleur, mon amie avec un A qui ne saurait être assez grand, de m'avoir accompagné, encouragé et d'avoir supporté l'ours que je suis depuis notre entrée en Licence. Que de souvenirs ! Comme toi, j'espère que nos carrières nous permettront de nous voir régulièrement. Je vous souhaite, à toi et Simon, le meilleur des futurs.

Enfin, je remercie mon père d'avoir accepté et appuyé tous mes choix, même lorsque mes errements post-bac m'ont conduit au loin et dans l'incertain.

Ces trois années, et plus globalement toutes mes années d'études à Bordeaux 1, ont été une incroyable source d'épanouissement. J'ai l'impression qu'hier encore, je codais les premières lignes du modèle tissulaire d'électroporation de mon stage. Quand je fais le constat de ce qui a été accompli, la quantité et la diversité des savoirs acquis, leur partage, leur transmission aux étudiants, les questions qui viennent plus vite que les réponses que l'on apporte, la découverte de pays étrangers, je me dis finalement que j'ai encore de formidables années devant moi.

Table des matières

Introduction	7
Qu'est-ce que l'électroperméabilisation ?	7
Organisation du mémoire	10
Notations	15
I Modèles d'électroperméabilisation à l'échelle cellulaire	17
1 Équations du potentiel électrique cellulaire	18
1.1 Géométrie du problème	18
1.2 Équations du potentiel avec membrane	18
1.3 De la membrane à une interface simple	20
1.4 Nouvelle géométrie, notations	24
2 Modèles électriques d'électroporation	26
2.1 Le modèle de Neu, Krassowska <i>et al.</i>	26
2.1.1 Description du modèle	26
2.1.2 Résultats	27
2.1.3 Vers un nouveau modèle électrique	30
2.2 Un premier modèle statique d'électroporation	31
2.2.1 Description du modèle	31
2.2.2 Premiers résultats, comparaison avec le modèle de Neu, Krassowska <i>et al.</i>	32
2.2.3 Influence du paramètre S_1	32
2.2.4 Comparaison avec le modèle d'Ivorra, Mir et Villemejeane	35
2.3 Modèle dynamique de conductivité	37
2.4 Étude théorique du modèle dynamique	39
2.4.1 Écriture du problème électrique sur l'interface uniquement	39
2.4.2 Existence et unicité de solutions	41
2.4.3 Cas particulier des solutions périodiques	45

2.5	Résultats du modèle électrique	51
2.5.1	Comparaison avec le modèle de Neu et Krassowska.	55
2.5.2	Influence des paramètres	58
2.5.3	Comportement en temps long, comparaison avec le modèle statique.	61
2.5.4	Solutions périodiques.	62
3	Électroporation et électroperméabilisation	69
3.1	Mise en évidence de deux dynamiques distinctes	69
3.2	Modélisation des états conducteur et perméable	72
3.3	Résultats	77
4	Transport et diffusion de molécules à l'intérieur de la cellule	81
4.1	Motivations	81
4.2	Modèle de transport-diffusion avec interface	82
4.3	Résultats	83
4.4	Transport le long de microtubules	92
4.4.1	Géométrie du problème	94
4.4.2	Modèle	96
4.4.3	Résultats	98
II	Outils de simulation	102
5	Résolution des équations de l'électroperméabilisation	104
5.1	Positionnement de l'interface	104
5.2	Schéma numérique	106
5.2.1	Schéma global	106
5.2.2	Discrétisation du modèle statique	107
6	Discrétisation des équations sur le potentiel et de transport-diffusion	109
6.1	Éléments de discrétisation	109
6.2	Convergence du schéma sur le potentiel	112
6.3	Discrétisation et schéma pour le modèle de microtubules	117

7	Solveur de réaction-diffusion sur l'interface	122
7.1	Méthode volumes finis	123
7.1.1	Description	123
7.1.2	Convergence	123
7.2	Méthode différences finies	128
7.2.1	Discrétisation de l'opérateur de Laplace-Beltrami sur une sphère	128
7.2.2	Convergence	128
7.2.3	Adaptation à des surfaces paramétrées	130
8	Détails d'implémentation	133
8.1	Couplage entre les deux types de maillage	133
8.1.1	Des points d'intersection aux points de maillage	133
8.1.2	Du maillage aux points d'intersection	135
8.2	Calculs de normes discrètes	135
8.3	Parallélisation du code	137
8.4	Initialisation de la fonction level-set	140
	Conclusion	142
	Bibliographie	144

Introduction

L'*électroperméabilisation*, aussi appelée *électroporation*, est une réponse observée des cellules vivantes à l'application d'un champ électrique intense, généralement délivré sous forme d'impulsions de courte durée. Bien que cette technique soit utilisée dans plusieurs domaines d'application comme la médecine ou l'agro-alimentaire, le voile n'est pas encore totalement levé sur les mécanismes impliqués dans ce phénomène. Le travail présenté dans ce document s'inscrit dans ce cadre de recherche, à savoir une meilleure compréhension de la perméabilisation à l'échelle de la cellule, en proposant des modèles mathématiques et des outils numériques qui sont confrontés aux expériences biologiques ou électrophysiologiques. À partir des résultats que nous présentons ici, il sera alors possible d'établir de nouveaux modèles de perméabilisation à l'échelle tissulaire, en lien plus direct avec les applications.

Ce chapitre introductif présente de façon succincte le phénomène d'électroperméabilisation et ses utilisations. Dans un second temps est détaillée l'organisation de ce document, avec un résumé des principaux résultats que l'on peut y trouver.

Qu'est-ce que l'électroperméabilisation ?

En temps normal, la membrane d'une cellule biologique agit comme une barrière entre le compartiment intracellulaire et le milieu extérieur, n'autorisant que les échanges nécessaires au métabolisme de la cellule, en plus d'être un fort isolant électrique. Lorsque des impulsions de fort voltage (appelés *pulses* par la suite) sont appliquées, on constate une forte hausse non-linéaire de la conductivité et de la perméabilité de la membrane. Avec un voltage suffisamment élevé, la cellule peut conserver son caractère perméable pendant plusieurs minutes, permettant ainsi l'échange de molécules entre l'extérieur et le cytoplasme.

L'explication la plus communément admise à ce phénomène est la formation de pores aqueux à la surface de la membrane, dûe à l'énergie apportée par le champ électrique – d'où le terme *électroporation*. L'existence de ces pores n'a pour l'instant pas encore pu être prouvée *de visu*, et des doutes subsistent encore à ce propos. C'est pourquoi nous préférons parler d'*électroperméabilisation*, ce dernier terme étant plus générique, sans pour autant écarter l'hypothèse de porosité.

Plusieurs régimes d'électroperméabilisation existent, dépendant principalement de l'amplitude et de la durée d'application du champ électrique, comme l'indique la figure 1.

- Si le voltage ou la durée des pulses est trop faible, aucun effet n'est constaté.
- Dès qu'un seuil de voltage ou de durée est dépassé, on observe une perméabilisation de la membrane cellulaire. Si le pulse n'est pas trop intense, la perméabilisation est *réversible*, au sens que la membrane retrouve ses propriétés initiales.
- À plus forts voltages, l'électroperméabilisation est *irréversible* : la membrane a été altérée au point de ne plus pouvoir servir efficacement de barrière physique. Le cytosol se déverse alors dans le milieu extracellulaire et inversement, ce qui conduit à la mort de la cellule par apoptose.

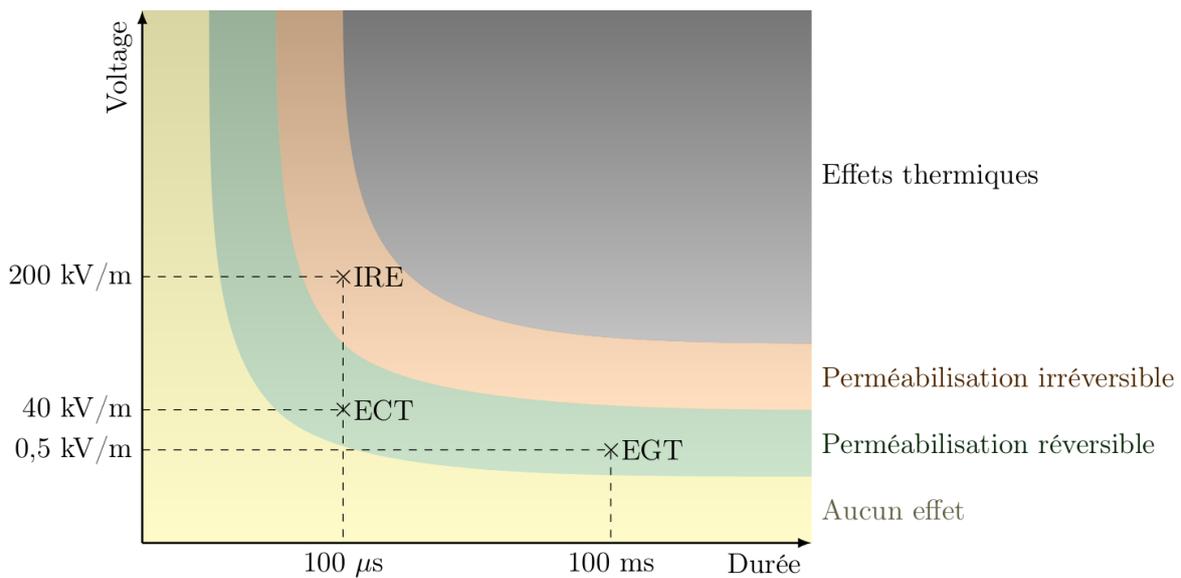


FIGURE 1 – Modes d'électroporabilité en fonction de la durée et de l'amplitude des pulses électriques (sans échelle). Les croix indiquent des paramètres couramment utilisés pour l'électrochimiothérapie (ECT), l'électrotransfert de gènes (EGT) et l'électroporation irréversible (IRE).

- Si les paramètres de pulses sont vraiment trop intenses, l'effet Joule induit par le champ électrique conduit à la destruction de la cellule par effets thermiques.

Le voltage et la durée des pulses ne sont bien sûr pas les seuls paramètres de l'électroporabilité. Le placement des seuils entre les différents régimes dépend également du type de cellule considéré (animale, végétale, vésicule), de leur densité (en suspension, en tissu), de leur environnement (*in vitro*, *in vivo*), etc. De plus, il a été constaté que la répétition des pulses, ainsi que leur fréquence joue un rôle prépondérant sur la perméabilité finale des cellules. Pour ce travail de thèse, nous resterons dans une gamme de voltages et de durée de pulses connus pour entraîner une perméabilisation réversible. Notons cependant que les équations qui ont été construites peuvent aisément être adaptées au cas irréversible. Les influences de la température sur les propriétés des cellules seront négligées, de même que la variation de leur volume généralement constatée pendant les expériences.

Si la première publication de Stämpfli sur le claquage des membranes lipidiques date de 1958 [83], ce domaine de recherche a connu son essor dans les années 1970 [61, 17, 1, 8], où l'on voit également les premières applications sur des cellules vivantes, notamment pour extraire des composants internes de celles-ci. Le développement de la thérapie génique dans les années 1980 a également contribué à l'utilisation de méthodes d'électrotransfert de gènes [62]. À l'heure actuelle, la communauté scientifique travaillant autour de l'électroporabilité compte plus de 500 membres et va grandissant étant donné le potentiel important de ses applications.

Les principales utilisations de l'électroporabilité sont à des fins cliniques, avec trois variantes principales.

L'*électrochimiothérapie* (ECT), validée au stade clinique en 1991 [7], consiste en l'injection locale d'une molécule cytotoxique non-perméante, comme la bléomycine ou la cisplatine, autour d'une zone à traiter, puis en la perméabilisation réversible de cette zone par des chocs électriques. L'effet de la molécule ainsi encapsulée dans les cellules tumorales peut donc être considérablement augmenté, avec par exemple un gain d'efficacité entre 300 et 700 pour la bléomycine [38]. L'avantage de ce



Figure 3. Results. Top: ECT treatment of a 75-year-old woman with metastatic breast cancer. Previously the patient underwent surgery and received endocrine therapy, chemotherapy and radiotherapy. The patient was treated with one single treatment of ECT in local anaesthesia with intratumoural injection of bleomycin. A. before treatment, B. two weeks after treatment, C. four weeks after treatment. A crust formed and after four weeks showed signs of falling off. The patient was very satisfied with the treatment and had no side-effects. Middle: ECT treatment of an 82-year-old woman with malignant melanoma. The patient was diagnosed in 2007, since had local spread on the lower limb and metastasis to the lungs. The patient was not suited for temozolamide, immunotherapy or isolated limb perfusion. The patient was treated with ECT in general anaesthesia and intravenous injection of bleomycin. A. before treatment, B. 24 days after treatment and C. three months after treatment. After three months the metastasis is in partial response. Bottom: ECT treatment of a 38-year-old woman with metastatic breast cancer. Previously the patient underwent mastectomy, radiotherapy and chemotherapy. The patient was treated with one single treatment of ECT in general anaesthesia with i.v. injection of bleomycin. A. before treatment, B. 10 weeks after treatment, C. two years and two months after treatment with complete resolution despite ongoing systemic disease.

FIGURE 2 – Extrait de l'article de Gehl *et al.* [50] : traitement de trois patients par électrochimiothérapie.

traitement est qu'il limite grandement les effets secondaires des chimiothérapies classiques dans la mesure où celui-ci est localisé à la zone à traiter. Particulièrement adaptée aux tumeurs cutanées ou subcutanées, l'ECT est en revanche plus difficile à réaliser pour les tumeurs situées plus profondément dans l'organisme. De nouveaux types d'électrodes, plus ou moins invasives, sont en développement afin d'atteindre de nouvelles régions [82, 2, 52]. À l'heure actuelle, plus de 4000 patients ont été traités par ECT dans le monde. Des exemples de traitement de patients sont donnés en figure 2.

L'électrotransfert de gènes (EGT), encore au stade pré-clinique, fait également intervenir le caractère réversible de l'électroporation pour améliorer l'efficacité des vaccins à ADN. L'objectif est cette fois de faciliter l'entrée de plasmides d'ADN dans le noyau cellulaire, amenant à la fabrication de l'antigène désiré [3, 76].

Enfin, l'électroporation irréversible est utilisée comme outil d'ablation tumorale, principalement aux États-Unis [18, 53]. Là encore au stade préclinique, cette technique d'ablation a pour avantage de causer de moindres dégâts à la matrice extracellulaire et aux tissus environnants, comparée aux techniques d'ablation plus courantes par rayons.

En dehors des applications cliniques, l'électropériméabilisation est également utilisée dans l'industrie agro-alimentaire, où elle facilite par exemple l'extraction des jus, permet la stérilisation de nourriture, etc. [37, 88], et on trouve même des applications en cosmétologie [98].

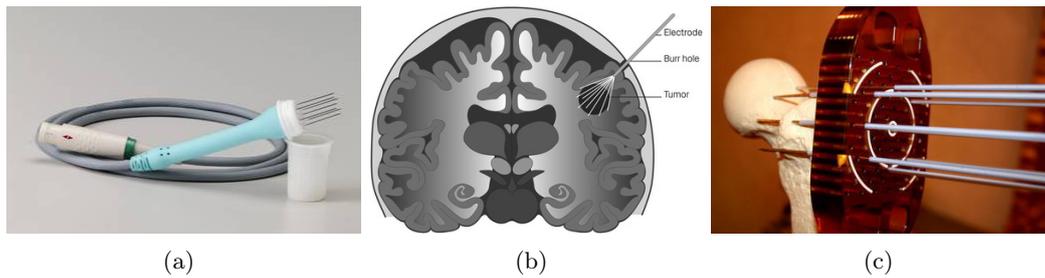


FIGURE 3 – 3(a) : électrode utilisée pour traiter les tumeurs subcutanées par ECT. 3(b) et 3(c) : de [52], systèmes d'électrodes développés pour atteindre des zones internes de l'organisme. 3(b) : déploiement des électrodes à partir d'un embout posé sur le cortex. 3(c) : dispositif de positionnement et d'insertion d'électrodes utilisé pour assurer la distance entre les électrodes ainsi que leur parallélisme.

Du point de vue de la modélisation, l'électroperméabilisation peut être abordée à trois niveaux différents. À l'échelle macroscopique, quelques modèles décrivent l'évolution de la conductivité électrique des tissus, prenant en compte la non-linéarité due au champ électrique [94, 11], ou à la température [45], ou encore la forme et la disposition des électrodes [93]. L'optique de ces travaux est de permettre l'optimisation des traitements par ECT en jouant sur les paramètres de pulses et le placement des électrodes, afin de garantir la perméabilisation d'une zone à traiter en minimisant les dégâts causés aux tissus sains.

À l'échelle de la membrane, plusieurs groupes réalisent des simulations de dynamique moléculaire pour comprendre comment est affectée la structure des lipides [22, 91].

Le cadre de cette thèse se situe entre ces deux niveaux d'observation, à l'échelle de la cellule.

Remarque : Le passage du modèle cellulaire à l'échelle tissulaire constituera à lui seul un sujet de travail important du point de vue mathématique, en commençant par une étude asymptotique des équations lorsque deux cellules viennent en contact. L'observation des résultats des modèles ici décrits sur des agrégats de cellules pourra aussi donner une indication sur ce qu'il se passe au niveau d'un tissu. Cependant, des difficultés subsisteront dans cette étape d'homogénéisation, notamment à cause de la diversité dans la composition des tissus, de leur anisotropie, de la vascularisation, etc.

Organisation du mémoire

Ce document est divisé en deux parties principales. La première moitié est consacrée à l'établissement des modèles de perméabilisation et à leur résultats, tandis que la seconde se concentre sur les outils numériques développés pour résoudre les équations aux dérivées partielles que nous poserons.

La première partie est présentée dans l'ordre quasi-chronologique du travail de modélisation réalisé.

- Le premier chapitre présente les équations régissant le potentiel électrique dans une cellule simplifiée. Il ne traite pas à proprement parler d'électroperméabilisation, et ne fait pas partie du travail effectué pendant la thèse. Ce chapitre a pour intention de familiariser le lecteur avec les notations et d'expliquer brièvement d'où proviennent les équations constituant la base de nos modèles. On y présente en particulier une méthode permettant de s'affranchir du

domaine constitué par la membrane lipidique dans les équations, à l'aide d'un développement asymptotique. Un calcul formel permet de passer des conditions de continuité du potentiel sur le domaine complet à une loi de Kirchhoff sur le saut du potentiel à travers la membrane, faisant apparaître la conductivité surfacique de la membrane. La preuve complète de la validité du développement asymptotique est disponible dans [67].

- Le second chapitre est consacré aux aspects électriques des modèles de perméabilisation. Historiquement, les modèles existants d'électroporation à l'échelle cellulaire ne quantifiaient la perméabilisation des cellules que par l'intermédiaire de la conductivité de la membrane, c'est pourquoi nous nous sommes focalisés sur ce volet du problème dans un premier temps. Le plus abouti et le plus utilisé des modèles existants a été proposé par Neu, Debruin et Krassowska [60, 20, 21]. Ce modèle est basé sur l'ajout d'un courant d'électroporation exprimé à l'aide d'une densité locale de pores et du courant passant par un seul pore. Étant donnée l'incertitude quant à l'existence des pores ou à leur nature, nous proposons une autre loi non-linéaire *ad hoc* portant sur la conductivité elle-même, en se basant sur un modèle statique de conductivité proposé par Ivorra *et al.* [40]. Le principe général est de définir un degré de porosité X_1 compris entre 0 et 1, permettant de décrire localement l'état de la membrane, entre son état au repos, et un état maximal de porosité. X_1 suit une équation différentielle fonction du potentiel transmembranaire, dont les constantes d'évolution sont intrinsèques à la cellule. La conductivité de la membrane est alors fonction de ce degré de porosité. Une importante partie de ce chapitre est consacrée à l'étude mathématique du modèle dynamique que nous proposons. L'existence et l'unicité de solutions en temps fini est prouvée, en traitant le cas particulier des solutions périodiques. Dans ce chapitre, nous montrons que notre modèle permet de reproduire qualitativement les résultats du modèle de Krassowska *et al.* Une première étude de sensibilité est réalisée sur les paramètres du modèle, et on constate notamment que la conductivité résultante est bien l'observable à suivre, et non le degré de porosité. Nous montrons enfin l'importance d'un modèle dynamique pour les micro- et nanopulses, et que l'utilisation d'un modèle statique peut conduire à une mauvaise évaluation de la conductivité membranaire.
- Les chapitres 3 et 4 traitent d'un nouveau compartiment du modèle. On y traite de la différenciation entre les états conducteur et perméable de la membrane, puis de la diffusion de molécules autour et à l'intérieur de la cellule. Ces éléments ont été ajoutés au modèle électrique simultanément mais font l'objet de deux chapitres distincts pour en faciliter la compréhension. La séparation entre état conducteur et état perméable a été incluse suite à la confrontation entre les mesures de conductivité électrique de Benz et Zimmerman [8] sur des membranes lipidiques, et les expériences classiques d'électroperméabilisation. En effet, la hausse considérable de conductivité membranaire pendant les pulses ne dure que quelques microsecondes, tandis que le caractère perméable des cellules a été mis en évidence jusqu'à une heure après application des pulses. Une explication proposée par Lluís Mir¹ et Aude Silve², avec qui nous avons collaboré, serait que sous l'influence du champ électrique et de par la présence d'eau due aux pores, les lipides subiraient une réaction chimique qui altèrent la structure de la membrane. Celle-ci deviendrait alors perméable, même une fois les pores refermés, la perméabilité se répartissant sur toute la membrane par diffusion des lipides. De ce fait, nous introduisons un nouveau degré X_2 qui mesure cette fois-ci la perméabilité et non la porosité. X_2 suit une loi similaire à X_1 , mais avec des dynamiques différentes, et un terme de diffusion le long de la membrane. Les simulations montrent que la prise en compte de cette diffusion reproduit

1. CNRS UMR 8203, Institut Gustave Roussy, Laboratoire de Vectorologie et Thérapeutiques Anticancéreuses, Villejuif, France

2. Institute for pulsed power and microwave technology, Karlsruhe Institute of Technology, Germany

un résultat expérimental observé avec des pulses de très haute fréquence [3, 80] : le degré de perméabilité final des cellules augmente lorsque la fréquence d'application des pulses diminue.

- Le second constat effectué est qu'il y avait incompatibilité entre les résultats que fournissaient notre modèle électrique, ainsi que les autres modèles d'électroporation existants, et une vaste majorité des mesures expérimentales. Le moyen de détection de la perméabilisation le plus efficace et le plus facilement mis en œuvre est l'internalisation par les cellules soit d'un agent cytotoxique, soit d'un marqueur fluorescent. Dans le premier cas, il « suffit » de compter les cellules ayant survécu, et dans le second de mesurer la luminosité des cellules pour évaluer la perméabilité des cellules. Or les modèles ne donnent qu'une information sur la conductivité membranaire. Il est donc nécessaire, pour rester au plus près des observations expérimentales, d'ajouter un modèle de transport et de diffusion des molécules, ayant pour résultat principal les quantités qui ont été absorbées par les cellules. Le modèle proposé est capable de décrire le transport de molécules de diverses tailles, électriquement chargées ou non, pour différents types de pulses. Nous parvenons ainsi à reproduire qualitativement les résultats de fluorescence pour des nano-, micro- et millipulses, montrant les mêmes répartitions spatiales de concentration que les expériences.
- La dernière section du chapitre 4 concerne le couplage entre notre modèle d'électroperméabilisation et un modèle de microtubules décrit par Natalini *et al.* [23]. En effet, une équation de diffusion seule ne permet pas d'expliquer comment des molécules très lourdes comme les plasmides d'ADN peuvent être intégrées au noyau de la cellule dans le cadre de l'électrotransfert de gènes. Les plasmides suivent en fait un processus biologique complexe impliquant de nombreuses espèces qui leur permet d'être transportés le long des microtubules constitutifs du cytosquelette, puis d'être importés dans le noyau. Nous proposons donc un modèle qui représente de façon très simplifiée ce processus, mais qui a pour particularité de placer chaque microtubule explicitement. Nous avons donc une collection d'équations de transport 1D, couplées aux équations de transport/diffusion de notre modèle d'électroperméabilisation. Les premières simulations effectuées donnent des résultats encourageants, mettant en exergue l'efficacité des microtubules dans le transport des plasmides d'ADN.

Il est évident que les phénomènes que nous prenons en compte dans nos modèles ne sont qu'une partie de ce qu'il se passe en réalité. Parmi les mécanismes qui influent également sur l'électroperméabilisation, il faut compter avec les échanges d'ions à travers les canaux protéiques de la membrane, ainsi que les mouvements de la membrane compensant la variation de la pression osmotique de la cellule, ou encore les mouvements élastiques de la membrane, etc. Ces éléments peuvent être rajoutés dans les équations, et assez simplement de manière formelle (sans doute moins évidente du point de vue de l'analyse mathématique et des méthodes numériques). Mais cela vient au prix de la perte de la simplicité du modèle en terme de nombres de paramètres, et de coût de calcul (ne serait-ce que pour effectuer une simulation sur une seule cellule). L'étape suivante dans la construction des modèles étant la phase de calibration des paramètres sur les expériences, celle-ci serait rendue très laborieuse voir impossible avec un modèle trop compliqué. C'est en ayant constamment à l'esprit cette future tâche de résolution du problème inverse que les modèles ont été élaborés, c'est-à-dire avec le moins de paramètres possibles, et en sélectionnant ceux qui semblent les plus accessibles selon les expérimentateurs.

Comme dit précédemment, la seconde partie du mémoire est consacrée au volet numérique du problème :

- Nous présentons dans un premier temps (chapitre 5) de quelle manière est discrétisée la cellule

ainsi que le schéma numérique employé, de façon générique. D'une manière générale, l'objectif de nos simulations n'est pas d'aller chercher des ordres de convergence très élevés pour capturer des phénomènes de façon très précises. Étant donné que nous ne regardons que l'aspect qualitatif des résultats, et très peu le quantitatif, nous nous contentons de schémas d'ordre 1 en temps et 2 en espace.

- Dans le chapitre suivant, nous précisons quels sont les éléments de discrétisation spatiale des équations sur le potentiel et le transport-diffusion. La méthode utilisée est basée sur celle proposée par Cisternino et Weynans [15] pour des EDP statiques présentant discontinuités sur des interfaces. La discrétisation utilise des différences finies centrées d'ordre 2 pour les points éloignés de l'interface, et s'adapte en fonction de la position de l'interface pour calculer les flux à travers celle-ci. La principale caractéristique de cette méthode est qu'elle ajoute des inconnues doubles sur l'interface, en plus des points de grille cartésienne. Cela a pour avantage de pouvoir exprimer directement des variables n'existant que sur la membrane. Nous montrons dans ce chapitre que la méthode est d'ordre 2 dans le cas où il n'y a pas d'électroporation, et d'ordre 1 lorsque la non-linéarité est prise en compte. Ce chapitre comporte également une description des éléments de discrétisation nécessaires au modèle de microtubules, en particulier la méthode utilisée pour passer d'un solveur 3D à un solveur 1D et vice versa, sans modifier la quantité totale de molécules dans la cellule.
- Le problème de diffusion-réaction des lipides sur la surface de la membrane fait intervenir l'opérateur de Laplace-Beltrami dans les équations. Le chapitre 7 propose une étude de plusieurs moyens de discrétisation de cet opérateur. On montre qu'il est impossible de conserver le maillage issu de la méthode de discrétisation du chapitre précédent, et que même avec un maillage régulier, des artefacts numériques viennent perturber la solution si l'on utilise une méthode de type volumes finis [97]. Dans la mesure où les cellules *in vitro* sont proches de sphères ou d'ellipsoïdes, nous montrons qu'il vaut mieux dans ce cas repartir de l'expression analytique du Laplacien-Beltrami à partir d'une paramétrisation de la surface, que ce soit en termes d'erreur, d'ordre de convergence ou de coût de calcul.
- Le chapitre 8 liste quelques points divers nécessaires au fonctionnement du code de calcul. On y explique le passage par interpolation entre les différents maillages de l'interface et comment sont discrétisées les normes pour mieux prendre en compte l'interface. Nous évoquons ensuite la parallélisation du code et voyons apparaître ses problèmes de scalabilité. Enfin on explique les différentes façon d'initialiser la fonction level-set définissant implicitement la position de l'interface, notamment dans le cas où la forme des cellules est fournie par une image réalisée à partir des résultat expérimentaux.

Publications

Les articles et rapports de recherche suivants ont été rédigés au cours de la thèse. La plupart du contenu s'y trouvant est une version anglophone de ce qui a été énoncé dans ce mémoire, avec bien sûr les compléments des coauteurs.

- O. Kavian, M.L., C. Pognard and L. Weynans. "Classical" Electropermeabilization Modeling at the Cell Scale. *Journal of Mathematical Biology*, 68(1-2) :235-265,2014 : article consacré à la partie électrique du modèle. On y trouve en plus de ce qui est décrit au chapitre 2 la preuve d'existence et unicité des solutions au problème statique.
- M.L., C. Pognard and L. Weynans. A second-order Cartesian method for the simulation of electropermeabilization cell models. Research Report RR-8302, Inria, 2013 (pre-print soumis) :

ce rapport détaille davantage la discrétisation des équations sur le potentiel, avec notamment une preuve de convergence 1D de la méthode.

- M.L., Periodic cell electropermeabilization modeling, Research Report RR-8545, Inria, 2014. (soumis à *Mathematical Biology and Engineering*).
- M.L., A. Silve, L.M. Mir, C. Poinard. Conducting and Permeable States of Cell Membrane Submitted to High Voltage Pulses. Mathematical and Numerical Studies Validated by the Experiments. *Journal of Theoretical Biology*, 360 :83-94,2014.

Notations

Les notations suivantes seront utilisées dans l'ensemble de ce document.

- On désignera par \mathbf{n} la normale sortante unitaire d'une surface régulière fermée de \mathbb{R}^3 (ou d'une courbe fermée de \mathbb{R}^2), de l'intérieur à l'extérieur du domaine délimité par cette surface.
- Soit \mathcal{C} une surface de \mathbb{R}^3 , et f une fonction régulière définie dans un voisinage de \mathcal{C} . On définit les valeurs de f de part et d'autre de \mathcal{C} par les limites suivantes :

$$\forall x \in \mathcal{C}, \quad f|_{\mathcal{C}^\pm}(x) = \lim_{\tau \rightarrow 0^+} f(x \pm \tau \mathbf{n}(x)).$$

La composante normale de ∇f est notée $\partial_{\mathbf{n}} f|_{\mathcal{C}^\pm}$:

$$\forall x \in \mathcal{C}, \quad \partial_{\mathbf{n}} f(x)|_{\mathcal{C}^\pm} = \lim_{\tau \rightarrow 0^+} \nabla f(x \pm \tau \mathbf{n}(x)) \cdot \mathbf{n}(x)$$

où « \cdot » est le produit scalaire euclidien de \mathbb{R}^3 ou \mathbb{R}^2 .

- Le saut $[f]_{\mathcal{C}}$ d'une fonction f définie dans un voisinage de la surface ou de la courbe \mathcal{C} est défini par

$$[f]_{\mathcal{C}} = f|_{\mathcal{C}^+} - f|_{\mathcal{C}^-}.$$

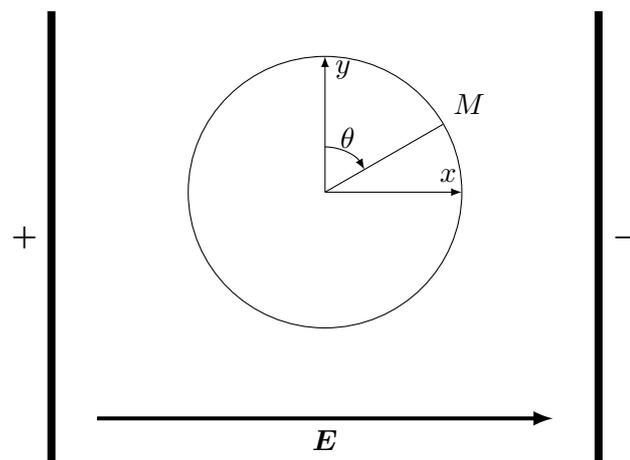
- Soit \mathbb{H} un espace de Hilbert. On note \mathbb{H}' son dual et $\langle \cdot, \cdot \rangle$ le crochet de dualité entre des éléments de \mathbb{H} et \mathbb{H}' .
- Soient un ouvert Ω et $\mathcal{O}_e, \mathcal{O}_c$ deux ouverts disjoints de Ω tels que $\mathcal{O}_e \cup \overline{\mathcal{O}_c} = \Omega$. On utilisera alors la notation suivante pour les fonctions H^1 sur chacun des sous-domaines :

$$PH^1(\Omega) := \{f \in L^2(\Omega), f|_{\mathcal{O}_e} \in H^1(\mathcal{O}_e), f|_{\mathcal{O}_c} \in H^1(\mathcal{O}_c)\}.$$

- Pour tout espace fonctionnel \mathbb{H} et $T > 0$, on désigne par $C_T(\mathbb{H})$ le sous-espace de fonctions de $C([0, +\infty), \mathbb{H})$ qui sont T -périodiques :

$$C_T(\mathbb{H}) = \{f \in C([0, +\infty), \mathbb{H}), \forall t \geq 0, f(t+T, \cdot) = f(t, \cdot)\}.$$

- Lorsque l'on considèrera une cellule circulaire en deux dimensions, placée dans un champ électrique uniforme \mathbf{E} , on désignera par θ l'angle entre un rayon et l'axe perpendiculaire à la direction du champ. Généralement, on orientera \mathbf{E} dans la direction x :



Première partie

Modèles d'électroperméabilisation à l'échelle cellulaire

Chapitre 1

Équations du potentiel électrique cellulaire

1.1 Géométrie du problème

Une cellule biologique est un système très complexe qui comporte un nombre important de sous-structures internes, telles que le noyau, les ribosomes, le cytosquelette, les mitochondries, etc. (figure 1.1(a)). La membrane cellulaire est elle-même très irrégulière car de nombreuses protéines y sont enchassées, entre autres, et en ressortent à l'intérieur comme à l'extérieur de la cellule (figure 1.1(b)). Ces structures empêchent normalement d'appliquer une hypothèse de continuité du milieu intracellulaire. Néanmoins, dans un souci de simplification des modèles physiques, on considère la cellule biologique comme un milieu ayant des caractéristiques homogènes, entouré d'une simple bicouche lipidique. De façon similaire, le milieu extracellulaire est considéré comme homogène, tout en gardant à l'esprit qu'*in vivo*, l'extérieur d'une cellule est une matrice hétérogène qui dans certains tissus est d'épaisseur bien inférieure à la taille de la cellule.

Ce modèle électromagnétique de cellule simplifiée a notamment été extrapolé par Fear et Stuchly [27], à partir des mesures effectuées par Gabriel et al. [31, 32, 33] sur des tissus biologiques.

On désigne respectivement par \mathcal{O}_e et par \mathcal{O}_c les domaines ouverts représentant les milieux extra- et intracellulaire (figure 1.2). Dans un premier temps, la présence de la membrane sera prise en compte en intercalant un domaine \mathcal{O}_m , d'épaisseur constante δ , entre \mathcal{O}_e et \mathcal{O}_c . Les faces interne et externe de la membrane sont appelées respectivement Γ et Γ^δ . Le système complet définit le domaine du problème, noté Ω .

1.2 Équations du potentiel avec membrane

Soit σ la conductivité électrique des différents milieux, qui est notée :

$$\sigma = \begin{cases} \sigma_e, & \text{dans le domaine extérieur } \mathcal{O}_e, \\ \sigma_m, & \text{dans l'épaisseur de la membrane } \mathcal{O}_m, \\ \sigma_c, & \text{à l'intérieur de la cellule } \mathcal{O}_c. \end{cases}$$

La matrice extracellulaire est un milieu conducteur, tout comme le cytoplasme, l'ordre de grandeur de la conductivité y étant de 1 S/m. En revanche, la membrane est un milieu hautement résistif, sa conductivité étant de l'ordre de 10^{-7} à 10^{-5} S/m.

La permittivité diélectrique, c'est à dire l'intensité de la réponse du matériau à un champ électrique, notée ε , est définie de manière similaire :

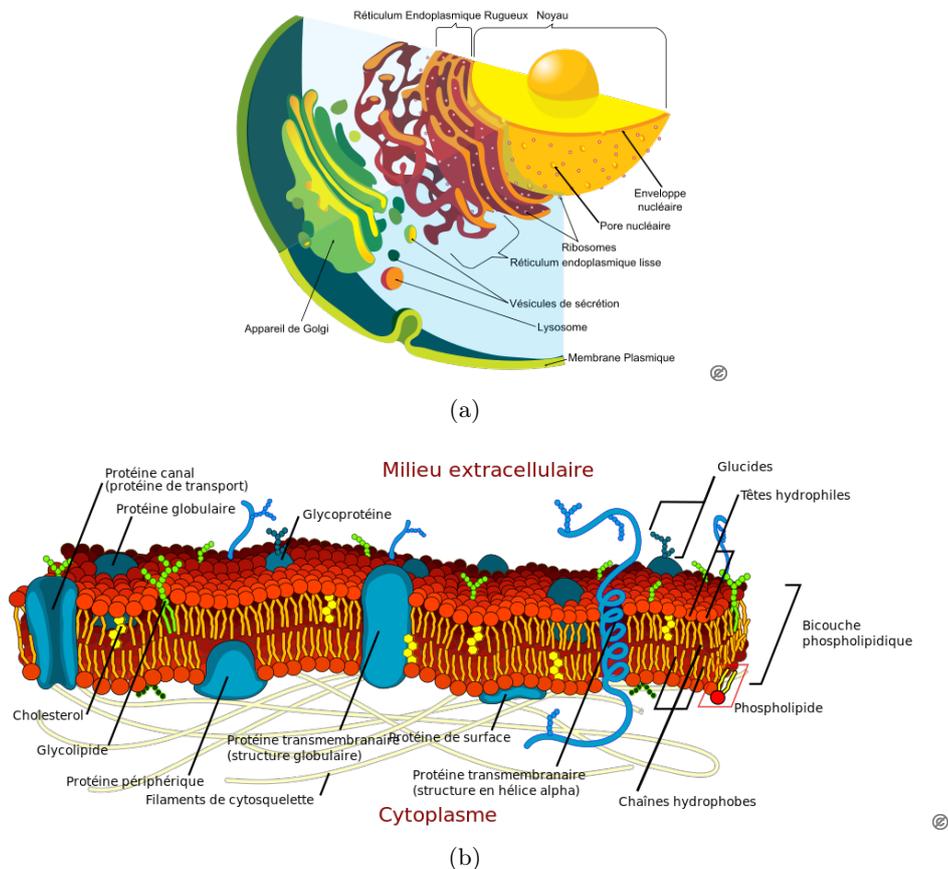


FIGURE 1.1 – 1.1(a) : Diagramme du système endomembranaire d'une cellule eukaryote. 1.1(b) : Diagramme d'une portion de membrane cellulaire.

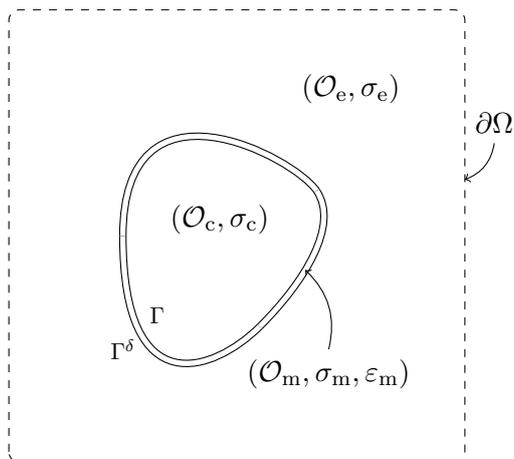


FIGURE 1.2 – Géométrie du problème. La membrane \mathcal{O}_m est comprise entre les frontières Γ et Γ^δ . La cellule $\overline{\mathcal{O}_m} \cup \mathcal{O}_c$ est incluse dans un milieu externe \mathcal{O}_e . Le domaine Ω est défini par $\Omega = \mathcal{O}_e \cup \overline{\mathcal{O}_m} \cup \mathcal{O}_c$.

$$\varepsilon = \begin{cases} \varepsilon_e, & \text{dans } \mathcal{O}_e, \\ \varepsilon_m, & \text{dans } \mathcal{O}_m, \\ \varepsilon_c, & \text{dans } \mathcal{O}_c. \end{cases}$$

La permittivité est une caractéristique qui varie en fonction de la fréquence d'application du champ électrique \mathbf{E} . D'après la loi de Maxwell-Ampère, on a

$$\nabla \times \mathbf{H} = \mathbf{j} + \mathbf{j}_d,$$

où \mathbf{H} est le champ magnétique, \mathbf{j} représente les courants de conduction et $\mathbf{j}_d = \varepsilon \partial_t \mathbf{E}$ les courants de déplacement. En régime harmonique le champ électrique s'écrit $\mathbf{E}(x, t) = \mathbf{E}(x) e^{i\omega t}$ et la loi devient

$$\nabla \times \mathbf{H} = \sigma \mathbf{E} + i\omega \varepsilon \mathbf{E}.$$

En prenant la divergence de la relation précédente, et en posant $\mathbf{E} = -\nabla U$, on obtient

$$0 = \nabla \cdot ((\sigma + i\omega \varepsilon) \nabla U). \quad (1.1)$$

Pour une gamme de fréquences allant de 1 kHz à 1 GHz, le rapport $\omega \varepsilon / \sigma$ prend une valeur significative à l'intérieur de la membrane, ce qui veut dire que les courants de déplacement qui y sont engendrés doivent être pris en compte par rapport aux courants de conduction. En revanche, dans les milieux intra- et extracellulaire, σ étant plus élevé, les effets dûs à la permittivité sont négligés. On pose alors $\varepsilon_e = \varepsilon_c = 0$.

Le potentiel électrique U dans le domaine Ω vérifie alors le problème suivant :

$$\nabla \cdot (\sigma \nabla U) = 0 \quad \text{dans } \mathcal{O}_c \cup \mathcal{O}_e, \quad (1.2a)$$

$$\partial_t \nabla \cdot (\varepsilon_m \nabla U) + \nabla \cdot (\sigma_m \nabla U) = 0 \quad \text{dans } \mathcal{O}_m, \quad (1.2b)$$

avec les conditions de continuité du potentiel et du flux sur Γ et Γ^δ :

$$U|_{\Gamma^-} = U|_{\Gamma^+}, \quad (1.2c)$$

$$U|_{\Gamma^{\delta-}} = U|_{\Gamma^{\delta+}}, \quad (1.2d)$$

$$\sigma_c \partial_n U|_{\Gamma^-} = \sigma_m \partial_n U|_{\Gamma^+}, \quad (1.2e)$$

$$\sigma_m \partial_n U|_{\Gamma^{\delta-}} = \sigma_e \partial_n U|_{\Gamma^{\delta+}}. \quad (1.2f)$$

1.3 De la membrane à une interface simple

La géométrie du problème présente un inconvénient majeur pour la résolution numérique de l'équation sur le potentiel électrique : si la cellule a une taille de l'ordre de la dizaine de micromètres, l'épaisseur de la membrane n'est que d'environ 5 nm. Ce rapport de l'ordre de 10^{-3} nécessite de devoir mailler très finement la membrane et ses abords lorsque l'on veut capter avec précision les variations du champ électrique grâce à une méthode de type éléments finis. Pour pallier ce problème, Pucihar et al. proposent [71] un modèle qui permet de rendre l'épaisseur de la membrane nulle. En se basant sur le fait que les densités de courant sur la membrane sont quasiment égales à leurs composantes normales, une conductivité surfacique κ_m est introduite en posant

$$\mathbf{j} = \frac{\sigma_m}{\delta} [U] = \kappa_m [U], \quad (1.3)$$

où $[U]$ désigne la différence de potentiel à travers la membrane.

La justification mathématique complète de cette approximation a été effectuée dans [67, 69, 68, 42, 66]. Dans cette section, nous en rapellons les heuristiques permettant d'obtenir la condition de transmission (1.3) de manière formelle, sans développer les estimations d'erreur. Un développement asymptotique du problème sur U est effectué, en faisant tendre l'épaisseur δ vers 0. Pour cela, il est nécessaire de choisir un système de coordonnées approprié, faisant apparaître δ .

Changement de variable dans la membrane

Il est tout d'abord nécessaire de faire des hypothèses raisonnables sur la régularité de la membrane. Considérons Γ comme une surface lisse de \mathbb{R}^3 , dont la courbure négative n'est pas trop importante par rapport à δ . On définit la face externe Γ^δ par

$$\Gamma^\delta = \{x \in \mathbb{R}^3, \exists y \in \Gamma, x = y + \delta \mathbf{n}(y)\}, \quad (1.4)$$

où $\mathbf{n}(y)$ est la normale sortante à \mathcal{O}_c au point y . On entend par « courbure pas trop importante » de Γ une courbure telle que la face externe soit également régulière (figure 1.3).

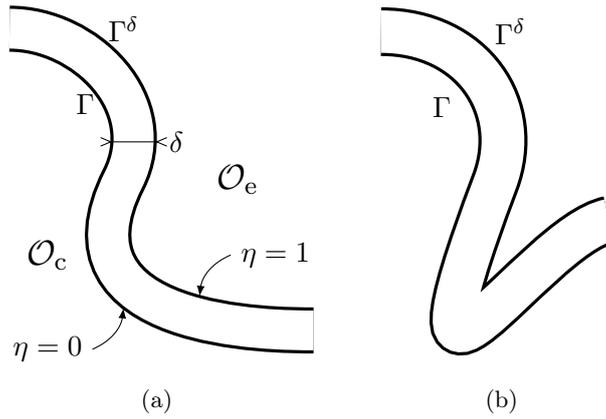


FIGURE 1.3 – Description de la membrane à l'aide de la variable η . 1.3(a) : Cas où la surface externe est régulière. 1.3(b) : Cas où la courbure est trop importante par rapport à l'épaisseur δ . Ce cas est écarté par hypothèse.

On définit alors une paramétrisation de Γ :

$$x_T = (x_1, x_2), \Gamma = \{\psi(x_T)\}, \psi \in C^1(\mathcal{U}), \mathcal{U} \in \mathbb{R}^2, \quad (1.5)$$

et le changement de variable à l'intérieur de la membrane :

$$\phi(x_T, \eta) = \psi(x_T) + \delta \eta \mathbf{n}(x_T), \mathbf{n}(x_T) = \frac{\partial_{x_1} \psi \times \partial_{x_2} \psi}{|\partial_{x_1} \psi \times \partial_{x_2} \psi|}. \quad (1.6)$$

On obtient alors une paramétrisation simple du domaine \mathcal{O}_m :

$$\mathcal{O}_m = \{\phi(x_T, \eta), x_T \in \Gamma, \eta \in]0, 1[\}. \quad (1.7)$$

Définissons une métrique riemannienne sur \mathcal{O}_m , liée à ces coordonnées :

$$\mathcal{G} = (g_{ij})_{i,j} = \langle \partial_{x_i} \phi, \partial_{x_j} \phi \rangle, \quad (1.8)$$

et notons $\mathcal{G}^{-1} = (g^{ij})_{i,j}$, $g = \det(\mathcal{G})$. Dans le cas du changement de variable retenu, on a :

$$\mathcal{G} = \begin{pmatrix} g_{11} & g_{12} & 0 \\ g_{21} & g_{22} & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{pmatrix}. \quad (1.9)$$

La courbure de Γ , notée H est donnée par

$$H(x_T) = -\frac{1}{2} \frac{\partial_{x_3} \left(\sqrt{g(x_T)} \right)}{\sqrt{g(x_T)}} \Big|_{x_3=0}. \quad (1.10)$$

Avec ces nouvelles coordonnées, le laplacien dans \mathcal{O}_m s'écrit

$$\Delta U = \frac{1}{\delta^2} \partial_\eta^2 U + \frac{1}{\delta} \underbrace{\frac{1}{\sqrt{g}} \partial_{x_3} (\sqrt{g})}_{f_3} \partial_\eta U + \frac{1}{\sqrt{g}} \sum_{i,j=1,2} \partial_i (\sqrt{g} g^{ij} \partial_j U). \quad (1.11)$$

En effectuant un développement de Taylor à l'ordre 1 de g^{ij} , f_3 et g , il reste

$$\begin{aligned} \Delta U &= \delta^{-2} \partial_\eta^2 U + \delta^{-1} f_3(x_T, 0) \partial_\eta U + \delta^0 \left(\sum_{ij} \partial_i (g^{ij}(\eta=0) \partial_j U) + \partial_3 f_3(x_T, 0) \partial_\eta U \right) + \mathcal{O}(\delta), \\ &= \delta^{-2} \partial_\eta^2 U + \delta^{-1} \partial_\eta U + \delta^0 (\Delta_\Gamma U - 2H \partial_\eta U) + \mathcal{O}(\delta), \end{aligned} \quad (1.12)$$

où Δ_Γ est l'opérateur de Laplace-Beltrami sur la surface Γ .

Pour simplifier la lecture, on indice la solution U selon le sous-domaine considéré. Ainsi, U_e , U_c et U_m désignent respectivement la solution à l'extérieur, à l'intérieur de la cellule et dans la membrane. Le problème (1.2) s'écrit alors

$$\left\{ \begin{array}{l} \Delta U_e = 0, \\ \Delta U_c = 0, \\ \partial_\eta^2 (\varepsilon_m \partial_t U_m + \sigma_m U_m) + \delta \partial_\eta (\varepsilon_m \partial_t U_m + \sigma_m U_m) + \delta^2 (\Delta_\Gamma - 2H \partial_\eta) (\varepsilon_m \partial_t U_m + \sigma_m U_m) = 0, \\ \sigma_e \partial_n U_e|_{\Gamma^{\delta+}} = \left(\frac{\varepsilon_m \partial_t + \sigma_m}{\delta} \right) \partial_\eta U_m|_{\eta=1}, \\ \sigma_c \partial_n U_c|_{\Gamma^-} = \left(\frac{\varepsilon_m \partial_t + \sigma_m}{\delta} \right) \partial_\eta U_m|_{\eta=0}, \\ U_e|_{\Gamma^{\delta+}} = U_m|_{\eta=1}, \\ U_c|_{\Gamma^-} = U_m|_{\eta=0}, \\ U_e|_{\partial\Omega} = g. \end{array} \right. \quad (1.13)$$

On remarque la présence de la constante $\sigma_m/\delta = \kappa_m$ du modèle de Pucihar que l'on notera désormais S_m .

Ansatz

Effectuons un développement asymptotique de la solution en exprimant celle-ci dans chaque sous-domaine comme une somme de puissances de δ :

$$\begin{cases} U_e &= U_e^0 + \delta U_e^1 + \delta^2 U_e^2 + \dots \\ U_c &= U_c^0 + \delta U_c^1 + \delta^2 U_c^2 + \dots \\ U_m &= U_m^0 + \delta U_m^1 + \delta^2 U_m^2 + \dots \end{cases} \quad (1.14)$$

Pour faire coïncider la face externe Γ^δ avec Γ , il est nécessaire d'étendre formellement la solution définie à l'extérieur jusqu'à Γ , ce que l'on fait à l'aide d'un développement de Taylor :

$$\begin{aligned} U_e|_{\Gamma^\delta} &= U_e|_\Gamma + \delta \partial_{\mathbf{n}} U_e|_\Gamma + \delta^2 (\Delta_\Gamma U_e|_\Gamma - 2H \partial_{\mathbf{n}} U_e|_\Gamma) + \dots \\ &= U_e^0|_\Gamma + \delta (U_e^1|_\Gamma + \partial_{\mathbf{n}} U_e^0|_\Gamma) + \delta^2 (U_e^2|_\Gamma + \partial_{\mathbf{n}} U_e^1|_\Gamma + \Delta_\Gamma U_e^0|_\Gamma - 2H U_e^0|_\Gamma) + \dots \end{aligned} \quad (1.15)$$

De même pour la dérivée normale,

$$\partial_{\mathbf{n}} U_e|_{\Gamma^\delta} = \partial_{\mathbf{n}} U_e^0|_\Gamma + \delta (\partial_{\mathbf{n}} U_e^1|_\Gamma + \Delta_\Gamma U_e^0|_\Gamma - 2H \partial_{\mathbf{n}} U_e^0|_\Gamma) + \dots \quad (1.16)$$

Il ne reste plus qu'à identifier les puissances de δ entre elles après avoir utilisé l'ansatz (1.14) dans le problème (1.13). On va d'abord s'intéresser au problème statique, c'est-à-dire en ne tenant pas compte de la permittivité dans la membrane. À l'ordre 0, ce problème se résume à

$$\begin{cases} \Delta U_e^0 = 0, \\ \Delta U_c^0 = 0, \\ \partial_\eta^2 U_m^0 = 0, \\ \sigma_e \partial_{\mathbf{n}} U_e^0|_{\Gamma^+} = S_m \partial_\eta U_m^0|_{\eta=1}, \\ \sigma_c \partial_{\mathbf{n}} U_c^0|_{\Gamma^-} = S_m \partial_\eta U_m^0|_{\eta=0}, \\ U_e^0|_{\Gamma^+} = U_m^0|_{\eta=1}, \\ U_c^0|_{\Gamma^-} = U_m^0|_{\eta=0}, \\ U_e|_{\partial\Omega} = g. \end{cases}$$

En remarquant que $\partial_\eta U_m^0$ est constant dans $]0, 1[$, les conditions de continuité des flux donnent

$$\sigma_e \partial_{\mathbf{n}} U_e^0|_{\Gamma^+} = \sigma_c \partial_{\mathbf{n}} U_c^0|_{\Gamma^-}.$$

En explicitant U_m^0 en fonction de η , les relations de continuité du potentiel aboutissent à une condition sur le saut du potentiel à travers la membrane :

$$S_m (U_e^0|_{\Gamma^+} - U_c^0|_{\Gamma^-}) = \sigma_c \partial_{\mathbf{n}} U_c^0|_{\Gamma^-}.$$

Utilisons la notation $[\cdot]_\Gamma$ du saut à travers l'interface pour réécrire le système complet.

$$\begin{cases} \Delta U_e^0 = 0, \\ \Delta U_c^0 = 0, \\ [\sigma \partial_{\mathbf{n}} U^0]_\Gamma = 0, \\ S_m [U^0]_\Gamma = \sigma_c \partial_{\mathbf{n}} U_c^0|_{\Gamma^-}, \\ U_e^0|_{\partial\Omega} = g, \end{cases} \quad (1.17)$$

ce qui constitue le modèle de Pucihar.

Pour traiter le problème dynamique, on observe que dans la membrane

$$\varepsilon_m \partial_t \Delta U_m + \sigma_m \Delta U_m = 0.$$

On cherche alors la solution sous la forme $U = V(x, t)e^{-\frac{\sigma}{\varepsilon}t}$, et le système s'écrit

$$\left\{ \begin{array}{l} \Delta U_e^0 = 0, \\ \Delta U_c^0 = 0, \\ \partial_t \Delta V_m^0 = 0, \\ \sigma_e \partial_n U_e^0|_{\Gamma^+} = C_m \partial_t (\partial_\eta V_m^0|_{\eta=1}) e^{-\frac{\sigma_m}{\varepsilon_m} t}, \\ \sigma_c \partial_n U_c^0|_{\Gamma^-} = C_m \partial_t (\partial_\eta V_m^0|_{\eta=0}) e^{-\frac{\sigma_m}{\varepsilon_m} t}, \\ U_e^0|_{\Gamma^+} = V_m^0|_{\eta=1} e^{-\frac{\sigma_m}{\varepsilon_m} t}, \\ U_c^0|_{\Gamma^-} = V_m^0|_{\eta=0} e^{-\frac{\sigma_m}{\varepsilon_m} t}, \\ U_e^0|_{\partial\Omega} = g, \end{array} \right.$$

où $C_m = \varepsilon_m/\delta$ est posé de manière similaire à S_m . Dans ce cas, c'est $\partial_\eta^2(\partial_t V_m^0)$ qui est identiquement nul. On pose alors $\partial_t V_m^0 = (\partial_\eta \partial_t V_m^0)\eta + \text{cte}$, ce qui donne à nouveau l'égalité des flux. Il faut maintenant dériver les conditions de continuité du potentiel par rapport à t pour obtenir :

$$\left\{ \begin{array}{l} \partial_t U_e = \partial_t (V_m^0|_{\eta=1}) e^{-\frac{\sigma_m}{\varepsilon_m} t} - \frac{\sigma_m}{\varepsilon_m} V_m^0|_{\eta=1} e^{-\frac{\sigma_m}{\varepsilon_m} t}, \\ \partial_t U_c = \partial_t (V_m^0|_{\eta=0}) e^{-\frac{\sigma_m}{\varepsilon_m} t} - \frac{\sigma_m}{\varepsilon_m} V_m^0|_{\eta=0} e^{-\frac{\sigma_m}{\varepsilon_m} t}. \end{array} \right.$$

En remarquant que $\partial_t \partial_\eta V_m^0 = C_m^{-1} e^{\frac{\sigma_m}{\varepsilon_m} t} \sigma_c \partial_n U_c^0|_{\Gamma^-}$ d'après les conditions sur le flux, un rapide calcul amène à la condition suivante :

$$C_m \partial_t (U_e^0|_{\Gamma^+} - U_c^0|_{\Gamma^-}) + S_m (U_e^0|_{\Gamma^+} - U_c^0|_{\Gamma^-}) = \sigma_c \partial_n U_c^0|_{\Gamma^-}.$$

Et le problème devient alors (en se passant de l'indice 0) :

$$\left\{ \begin{array}{l} \Delta U_e = 0, \\ \Delta U_c = 0, \\ [\sigma \partial_n U]_\Gamma = 0, \\ C_m \partial_t [U]_\Gamma + S_m [U]_\Gamma = \sigma_c \partial_n U_c|_{\Gamma^-}, \\ U_e|_{\partial\Omega} = g. \end{array} \right. \quad (1.18)$$

Nous rappelons que l'utilisation de cette nouvelle condition de transmission sur Γ a été pleinement justifiée dans [67] et ne fait pas l'objet de cette thèse.

1.4 Nouvelle géométrie, notations

Désormais, les modèles décrits seront situés dans un domaine Ω constitué uniquement du milieu extracellulaire \mathcal{O}_e et du cytoplasme \mathcal{O}_c , séparés par une interface d'épaisseur nulle Γ (cf. figure 1.4).

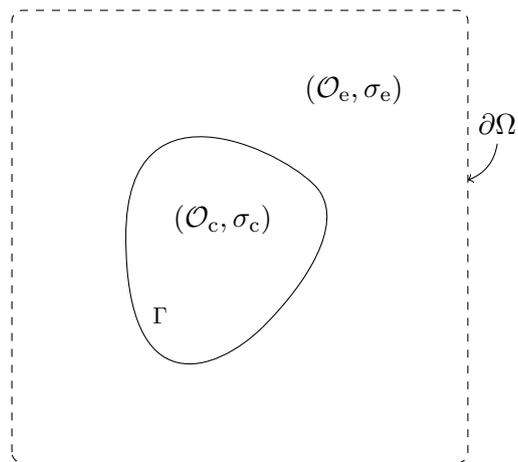


FIGURE 1.4 – Géométrie du problème à interface simple. Le domaine Ω est défini par $\Omega = \mathcal{O}_e \cup \overline{\mathcal{O}_c}$.

Notation 1.

On désignera dans la suite de ce document par \mathbf{n} la normale unitaire sortante à \mathcal{O}_c .

Chapitre 2

Modèles électriques d'électroporation

Dans les équations sur le potentiel établies au chapitre précédent, les propriétés électriques de la membrane cellulaire ont été considérées comme constantes, que ce soit dans le cas statique (1.17) ou dynamique (1.18). Cependant, lorsque la membrane est altérée sous l'effet du champ électrique, sa structure moléculaire, et donc ses caractéristiques physiques sont modifiées.

Plusieurs modèles ont été proposés jusqu'alors pour qualifier et quantifier ces changements. Pavlin *et al.* [65] passent en revue ces modèles hydrodynamique, élastique, hydroélastique, viscoélastique et enfin de création de pore aqueux. Le point commun à tous ces modèles est la présence d'un voltage critique nécessaire à l'altération de la structure de la membrane, mais dont la valeur change suivant le modèle. Si le modèle le plus retenu par les biophysiciens est celui de la formation de pores (électroporation), les prédictions obtenues jusqu'alors ne sont quantitativement pas en accord avec les expérimentations. De plus, aucun pore n'a pu encore être observé, même si la formation de macropores est théoriquement possible [81]. C'est la forte incertitude sur les mécanismes d'altération de la membrane qui nous font préférer le terme d'*électroperméabilisation* à celui d'*électroporation*.

L'approche utilisée jusqu'alors pour modéliser l'électroporation consiste à décrire ce qu'il se passe sur la membrane à l'échelle moléculaire pour établir une loi à l'échelle cellulaire, qui vient se rajouter aux équations en place. Notre approche que l'on peut qualifier de phénoménologique consiste à inclure l'électroperméabilisation dans le modèle *via* l'effet qu'elle produit sur la conductivité surfacique de la membrane S_m . Il s'agit dans ce cas d'établir une loi *ad hoc*, qui ne tient pas compte de résultats à l'échelle de la membrane.

Les paragraphes suivants sont consacrés à la description du modèle disponible d'électroporation le plus approfondi, et à la présentation de notre modèle.

2.1 Le modèle de Neu, Krassowska *et al.*

2.1.1 Description du modèle

Le modèle d'électroporation le plus abouti et le plus utilisé à l'heure actuelle a été proposé par Neu, DeBruin et Krassowska [59, 60, 81, 20, 21]. L'idée principale de ce modèle est de rajouter à la condition sur le saut de potentiel transmembranaire $[U]_\Gamma$ du problème (1.18) un courant d'électroporation I_{ep} :

$$C_m \partial_t [U]_\Gamma + S_m [U]_\Gamma + I_{ep} = \sigma_c \partial_n U_c |_\Gamma. \quad (2.1)$$

Pour définir la valeur de ce courant, Neu *et al.* se basent sur une description de la perméabilisation par l'existence de pores circulaires traversant la membrane. Ce courant est décrit comme étant le produit d'un nombre de pores local N_{ep} par le courant passant par un seul pore i_{ep} :

$$I_{\text{ep}} = N_{\text{ep}} i_{\text{ep}}. \quad (2.2)$$

Ce dernier dépend directement du potentiel transmembranaire, et est donné dans [20] par :

$$i_{\text{ep}}(\nu_{\text{m}}) = \frac{\pi r_{\text{m}}^2 \sigma \nu_{\text{m}} RT}{F \delta} \cdot \frac{e^{\nu_{\text{m}}} - 1}{\frac{w_0 e^{w_0 - n \nu_{\text{m}}} - n \nu_{\text{m}}}{w_0 - n \nu_{\text{m}}} e^{\nu_{\text{m}}} - \frac{w_0 + e^{w_0 + n \nu_{\text{m}}} + n \nu_{\text{m}}}{w_0 + n \nu_{\text{m}}}}, \quad (2.3)$$

où ν_{m} est le potentiel transmembranaire adimensionné $\nu_{\text{m}} = [U]F/RT$, F la constante de Faraday, R la constante des gaz parfaits et T la température en Kelvin. Cette formule fait intervenir les paramètres suivants :

- r_{m} le rayon du pore, qui est une estimation du rayon moyen de tous les pores présents sur la surface de la membrane,
- σ la conductivité du milieu aqueux intermédiaire qui remplit le pore,
- w_0 la barrière d'énergie du pore et
- n la longueur relative d'entrée du pore.

Le nombre de pores N_{ep} suit une équation différentielle du premier ordre :

$$\partial_t N_{\text{ep}} = \alpha e^{([U]/[U]_{\text{ep}})^2} \left(1 - \frac{N_{\text{ep}}}{N_0} e^{-q([U]/[U]_{\text{ep}})^2} \right), \quad (2.4)$$

où les paramètres sont

- N_0 le nombre de pores initial, lorsqu'aucun champ n'est appliqué,
- $[U]_{\text{ep}}$ le seuil de potentiel transmembranaire nécessaire à l'apparition de pores,
- α et q sont des constantes provenant de la combinaison de l'équation de Smoluchowski décrivant l'évolution d'une densité de pores [1] et d'une définition de l'énergie d'un pore en fonction de son rayon [36]. L'hypothèse amenant à la construction de cette équation différentielle est qu'il existe deux types de pores : des pores hydrophobes d'un rayon inférieur à 1 nm, et des pores hydrophiles stables, où les têtes des lipides forment l'intérieur d'un tore.

2.1.2 Résultats

Nous avons effectué des simulations 2D du modèle électrique de Neu et Krassowska pour une cellule circulaire placée dans un champ électrique uniforme. Le problème sur U a été résolu à l'aide de la méthode décrite dans la seconde partie de ce document, en prenant pour condition sur $[U]$ sur la membrane l'équation (2.1). Les paramètres utilisés, regroupés dans la table 2.1, ont été directement tirés de l'article de Debruin *et al.* [20]. Afin d'avoir un premier élément de comparaison, nous avons également résolu les équations linéaires du potentiel électrique, sans tenir compte de l'électroporation, c'est-à-dire en posant $N_{\text{ep}} = 0$.

La figure 2.1 présente les résultats obtenus dans les domaines extra- et intracellulaire sur le potentiel, ainsi que la répartition de N_{ep} sur le pourtour de la membrane à $t = 5 \mu\text{s}$. Les figures 2.2 et 2.3 donnent l'évolution de $[U]$ au cours du temps, ainsi que sa valeur autour de la cellule au même instant.

La région de la membrane la plus affectée est celle où le champ électrique est perpendiculaire à la cellule, c'est-à-dire aux pôles $\theta = \pm\pi/2$. La différence de potentiel transmembranaire y est plus élevée qu'ailleurs, donc le seuil de voltage plus rapidement atteint. Ainsi la valeur de N_{ep} augmente dans ces régions. Cela crée un courant d'électroporation important comparé au terme $\sigma \partial_{\mathbf{n}} U$, ce qui vient contrebalancer la hausse du potentiel transmembranaire que l'on constate dans le cas linéaire (en pointillé sur les figures).

TABLE 2.1 – Paramètres de la simulation du modèle de Neu et Krassowska. Les paramètres biologiques sont tirés de [20].

Variable	Symbole	Valeur	Unité
<i>Paramètres biologiques :</i>			
Conductivité extracellulaire	σ_e	5	S/m
Conductivité du cytoplasme	σ_c	0,455	S/m
Capacité de la membrane	C_m	$9,5 \cdot 10^{-3}$	F/m ²
Conductivité surfacique de la membrane au repos	S_0	1,9	S/m ²
Rayon de la cellule	R	50	μm
Épaisseur de la membrane	δ	5	nm
<i>Paramètres du modèle :</i>			
Rayon moyen d'un pore	r_m	0,79	nm
Conductivité du pore	σ	1,3	S/m
Longueur relative d'entrée des pores	n	0,15	
Barrière d'énergie du pore	w_0	2,65	
Paramètre d'électroporation	α	10^9	m ⁻² s ⁻¹
Constante d'électroporation	q	2,46	
Voltage caractéristique d'électroporation	$[U]_{ep}$	0,258	V
Densité de pores à l'équilibre	N_0	$1,5 \cdot 10^9$	m ⁻²
Température	T	295	K
<i>Paramètres d'expérience :</i>			
Voltage appliqué	$ \mathbf{E} $	40 000	V/m
Durée du pulse	T_p	10	μs
<i>Paramètres numériques :</i>			
Grille cartésienne	N	150^2	
Pas de temps	Δt	5	ns
Temps de simulation	T_f	20	μs

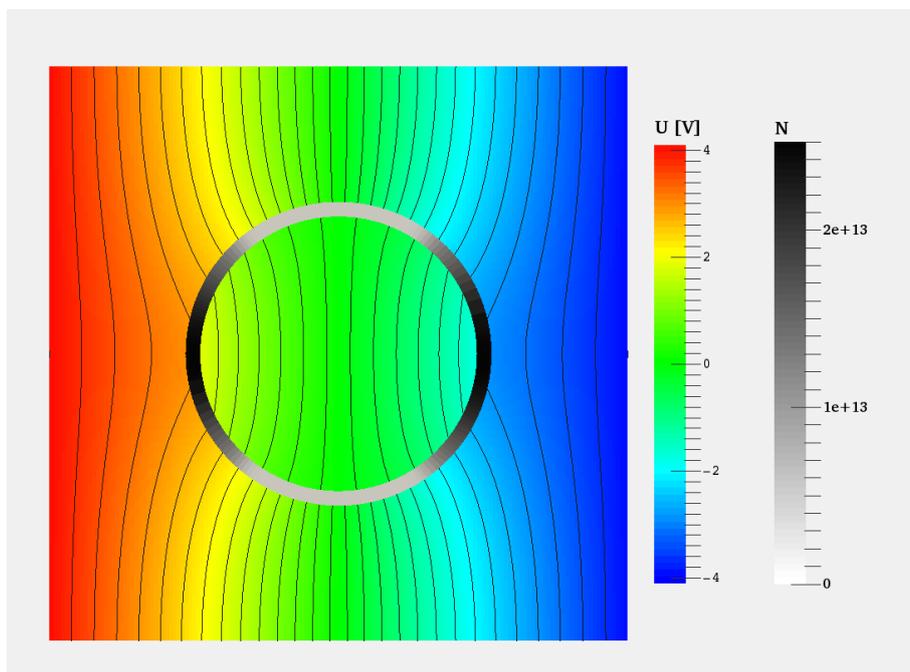


FIGURE 2.1 – Résultats obtenus avec le modèle de Neu et Krassowska à $t = 5 \mu\text{s}$, en utilisant les paramètres de la table 2.1. En fond arc-en-ciel le potentiel U autour et dans la cellule. Les traits noirs indiquent les équipotentielles. La membrane est représentée par une bande dont l'épaisseur n'est présente que pour le confort de la visualisation. En noir et blanc est représentée la densité de pores N_{ep} sur la surface, définie par l'équation (2.4).

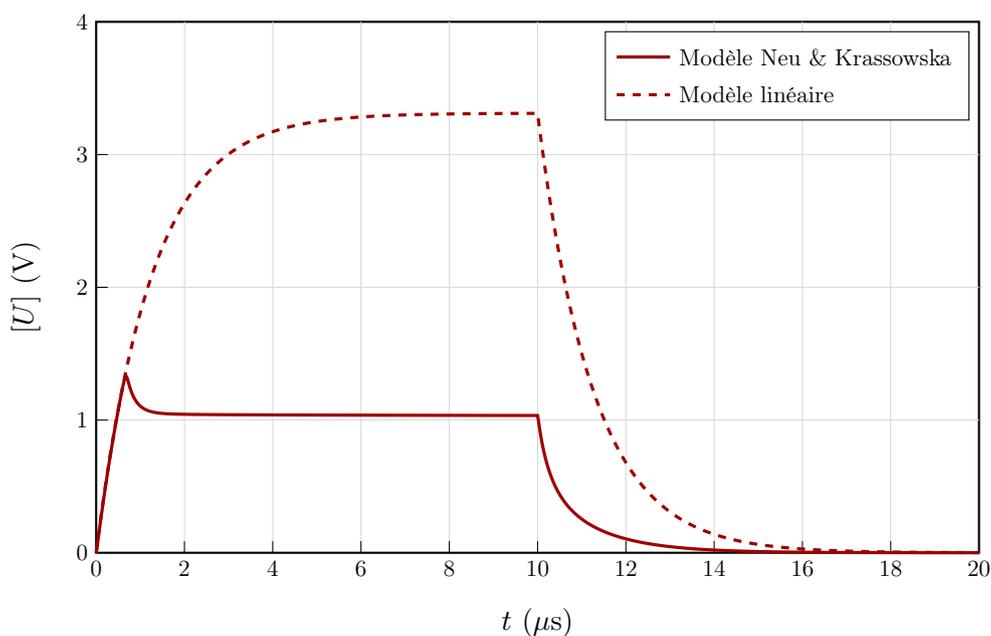


FIGURE 2.2 – Potentiel transmembranaire au pôle ($\theta = \frac{\pi}{2}$) de la cellule au cours du temps donné par le modèle de Krassowska et en régime linéaire ($N_{\text{ep}} = 0$). L'application du pulse cesse à $t = 10 \mu\text{s}$.

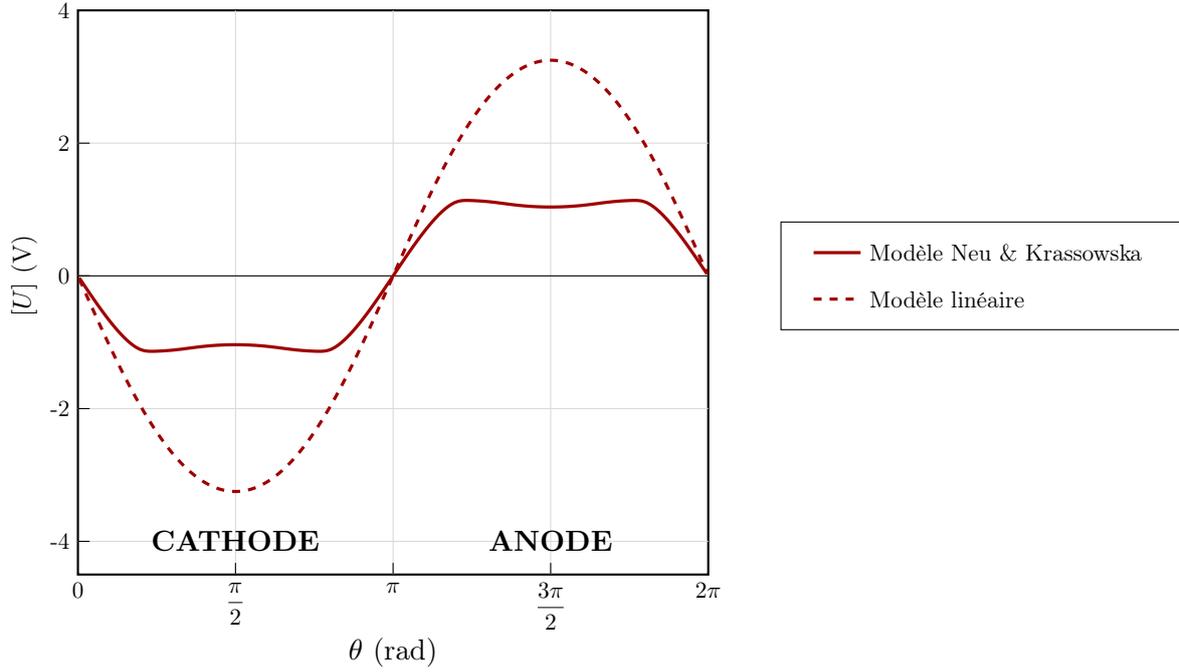


FIGURE 2.3 – Potentiel transmembranaire à $t = 5 \mu\text{s}$ le long de la membrane donné par le modèle de Neu et Krassowska et par le modèle linéaire.

2.1.3 Vers un nouveau modèle électrique

Bien que ce modèle permette de décrire l'état local d'électroporation de la membrane, il présente plusieurs inconvénients majeurs :

- La distinction entre deux types de pores, ni même l'existence d'un de ces types, n'ont pour l'instant jamais été mises en évidence de façon certaine, et l'équation (2.4) sur N_{ep} suppose que tous les pores ont la même géométrie régulière. De plus, l'équation ne garantit pas le caractère borné de N_{ep} , ce qui n'a pas de sens physique.
- Les paramètres nécessaires, au nombre de 8 pour cette seule condition sur le potentiel transmembranaire, sont tous difficilement accessibles par les expériences. Certains d'entre eux peuvent être estimés par des simulations de dynamique moléculaire, mais la plupart sont issus d'études théoriques uniquement. De plus, leur nombre rend laborieuse toute phase de calibration du modèle, même restreinte à la seule partie électrique. Réduire ce nombre de paramètres au maximum, en faisant le choix de quantités plus aisément observables dans les expérimentations facilite grandement la résolution ultérieure du problème inverse.
- Le courant total d'électroporation dépend directement du potentiel transmembranaire. Les dynamiques de création et de fermeture des pores ne sont donc pas intrinsèques à la cellule mais dépendent directement de l'intensité du pulse appliqué.

L'objectif principal dans l'établissement d'un nouveau modèle électrique d'électropéabilisation est donc la simplification, que ce soit dans la forme des équations ou dans le nombre et l'accessibilité des paramètres, tout en conservant une cohérence physique.

Une première étape vers un nouveau modèle d'électroporation consiste à regarder ce que devient le courant i_{ep} pour des petites valeurs du potentiel transmembranaire. Une linéarisation de l'équation (2.3) amène à $i_{\text{ep}}(\nu_{\text{m}}) \sim K [U]$, avec

$$K = \frac{\pi r_{\text{m}}^2 \sigma}{\delta e^{w_0}} \left(1 + \frac{n}{w_0} \left(\frac{1}{e^{w_0}} + \frac{1}{e^{-w_0}} \right) \right)^{-1} \sim 2.10^{-11}.$$

Il est donc possible d'exprimer le produit $I_{\text{ep}} = N_{\text{ep}}i_{\text{ep}}$ sous une forme linéarisée $KN_{\text{ep}}[U]$, où le terme KN_{ep} est homogène à une conductivité surfacique, telle que définie à la section 1.3, équation (1.18). L'ordre de grandeur de cette conductivité serait alors de 10^3 , ce qui est bien supérieur à la conductivité de base de la membrane.

L'enjeu des nouveaux modèles de potentiel électrique que nous décrirons consiste donc à déterminer l'évolution de cette conductivité surfacique, notamment de quelle manière celle-ci est affectée par le potentiel transmembranaire.

2.2 Un premier modèle statique d'électroporation

2.2.1 Description du modèle

Dans leur article [40], Ivorra *et al.* présentent les résultats de plusieurs expériences déterminant la conductivité surfacique d'une membrane cellulaire en fonction d'un voltage appliqué à la cellule. Ils proposent également un modèle statique de conductivité, qui la décrit comme ayant un profil de sigmoïde autour d'une valeur seuil de voltage.

Nous utilisons ce même principe pour décrire la conductivité S_{m} , en l'exprimant en fonction de la valeur absolue de la différence de potentiel transmembranaire. Lorsque le voltage est nul, la conductivité vaut celle des lipides au repos, notée S_0 . Si le voltage est supérieur à une valeur seuil V_{th} , la conductivité tend vers une valeur maximale $S_0 + S_1$, qui correspond à la conductivité surfacique de la membrane électroporée de façon irréversible, supérieure de plusieurs ordres de grandeur à S_0 . S_{m} est donnée par

$$\forall \lambda \in \mathbb{R}, \quad S_{\text{m}}(\lambda) := S_0 + \frac{1 + \tanh(k_{\text{ep}}(|\lambda| - V_{\text{th}}))}{2} S_1, \quad (2.5)$$

où k_{ep} détermine la « vitesse » de transition entre les deux états (cf. figure 2.4). D'autres expressions de $S_{\text{m}}(\lambda)$ sont possibles, mais doivent avoir la même monotonie, résumée en ces cinq propriétés :

$$\left\{ \begin{array}{l} S_{\text{m}} \text{ est continue sur } \mathbb{R}, \\ \lambda \mapsto S_{\text{m}}(\lambda) \text{ est paire,} \\ 0 < S_0 \leq S_{\text{m}}(\lambda) \leq S_0 + S_1, \\ S_{\text{m}} \text{ est croissante sur } \mathbb{R}^+, \\ \lim_{\lambda \rightarrow +\infty} S_{\text{m}}(\lambda) = S_0 + S_1. \end{array} \right. \quad (2.6)$$

Le problème statique s'écrit alors

$$\left\{ \begin{array}{l} \Delta U = 0 \text{ sur } \mathcal{O}_e \cup \mathcal{O}_c, \\ [\sigma \partial_{\mathbf{n}} U]_{\Gamma} = 0, \\ S_{\text{m}}([U]) [U]_{\Gamma} = \sigma_c \partial_{\mathbf{n}} U_c|_{\Gamma^-}, \\ U|_{\partial\Omega} = g, \end{array} \right. \quad (2.7)$$

où S_{m} est donnée par la définition (2.5).

Nous invitons le lecteur curieux à consulter la preuve complète de l'existence et l'unicité de solutions au problème statique ci-dessus dans l'article de Kavian *et al.* [44].

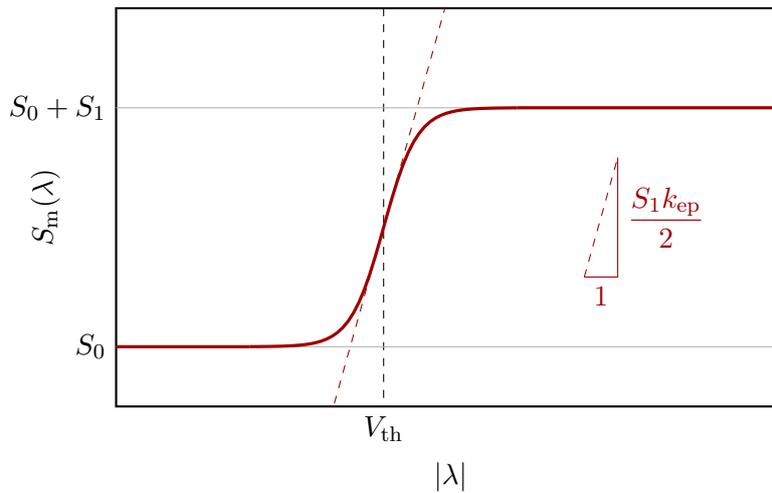


FIGURE 2.4 – Conductivité S_m en fonction du potentiel transmembranaire λ , définie à l'équation (2.5).

TABLE 2.2 – Paramètres de simulation pour le modèle statique.

Variante	Symbole	Valeur	Unité
<i>Paramètres biologiques :</i>			
Conductivité du cytoplasme	σ_c	0,455	S/m
Conductivité du milieu extracellulaire	σ_e	0,1	S/m
Conductivité surfacique de la membrane au repos	S_0	1,9	S/m ²
Rayon de la cellule	R	50	μm
Épaisseur de la membrane	δ	5	nm
<i>Paramètres du modèle :</i>			
Conductivité maximale de la membrane	S_1	10^6	S/m ²
Seuil d'électroporation	V_{th}	1,5	V
Vitesse de transition	k_{ep}	40	V ⁻¹
<i>Paramètres numériques :</i>			
Grille cartésienne	N	150^2	
Coefficient de relaxation (cf.section 5.2.2)	ρ	10^{-6}	
Critère minimal de convergence	γ	10^{-12}	

2.2.2 Premiers résultats, comparaison avec le modèle de Neu, Krassowska *et al.*

Nous vérifions dans un premier temps si les résultats donnés par l'équation statique sur le potentiel reproduisent le comportement donné par le modèle de Krassowska. Pour cela, le schéma numérique employé diffère de celui utilisé précédemment puisqu'il n'y a plus de dérivée temporelle. Celui-ci est détaillé en section 5.2.2. Les paramètres utilisés sont donnés en table 2.2.

On constate (voir figures 2.5 et 2.6) que si les ordres de grandeur sont similaires à ceux donnés par le modèle de Krassowska, la différence de potentiel transmembranaire ne présente pas de recul dans les régions électroporées, mais reste à un niveau de saturation.

2.2.3 Influence du paramètre S_1

Parmi tous les paramètres du modèle électrique qu'il sera nécessaire de calibrer, la conductivité maximale S_1 est la moins accessible de tous par les expérimentateurs. Nous faisons alors une étude

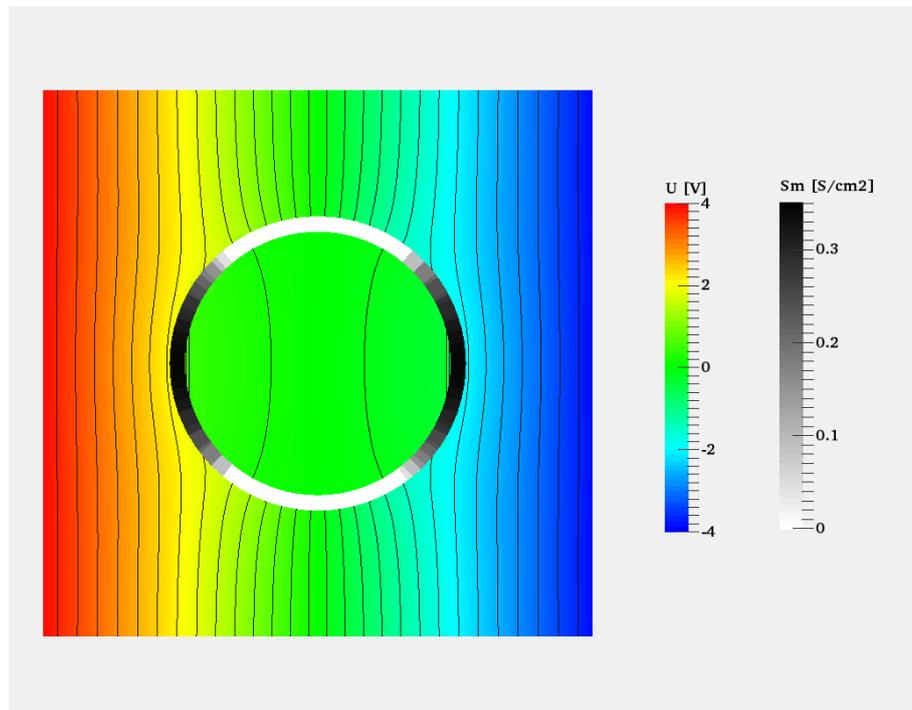


FIGURE 2.5 – Résultats obtenus en résolvant l'équation statique (2.7) avec les paramètres 2.2. Le voltage appliqué est de 40 kV/m.

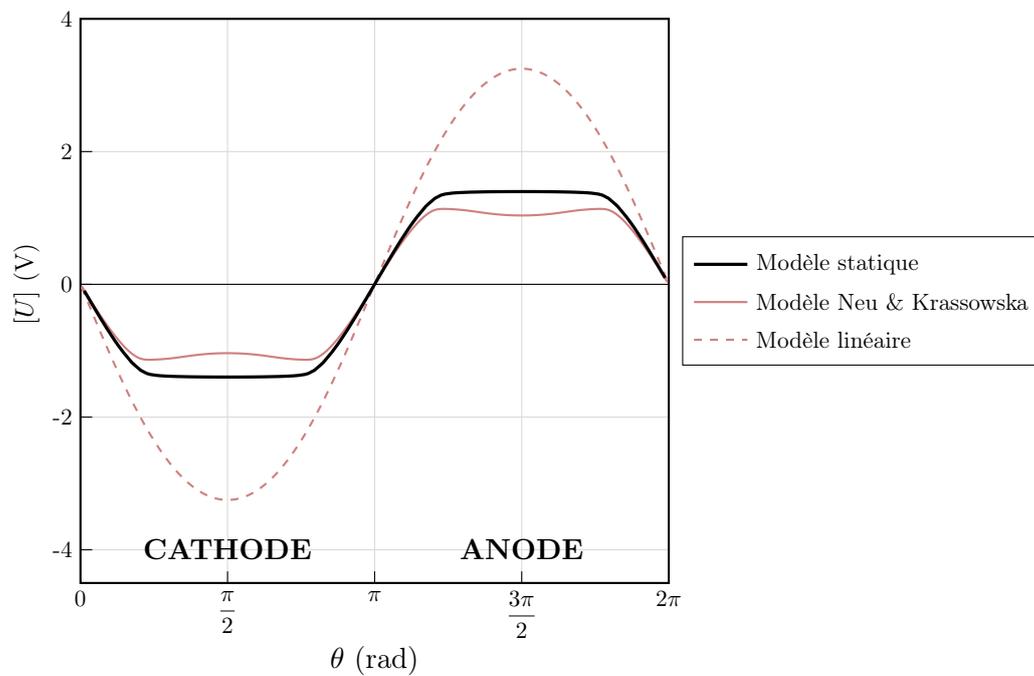


FIGURE 2.6 – Potentiel transmembranaire le long de la membrane donné par les modèles de Neu et Krassowska, linéaire et statique.

de sensibilité du modèle à ce paramètre. Étant donné que l'ordre de grandeur de S_1 n'est pas connu, nous effectuons des simulations pour des valeurs de S_1 comprises entre 10^5 et 10^8 S/m².

Si l'on note $\beta(\lambda)$ la partie non-linéaire de la conductivité :

$$\beta(\lambda) = \frac{1 + \tanh(k_{ep}(|\lambda| - V_{th}))}{2},$$

on peut considérer β comme un coefficient d'interpolation entre l'état au repos et l'état poreux maximal, permettant de décrire localement la porosité de la membrane. Cependant, la figure 2.7 montre que si les valeurs de β varient grandement en fonction de S_1 , la conductivité S_m demeure stable. De plus, les valeurs obtenues sont cohérentes avec l'estimation que nous avons fait de la conductivité lors de la linéarisation du courant du modèle de Krassowska (section 2.1.3). C'est pourquoi il nous apparaît important de ne pas considérer β comme une quantité représentative du niveau d'électroporation de la cellule, mais bien d'utiliser S_m comme observable significative.

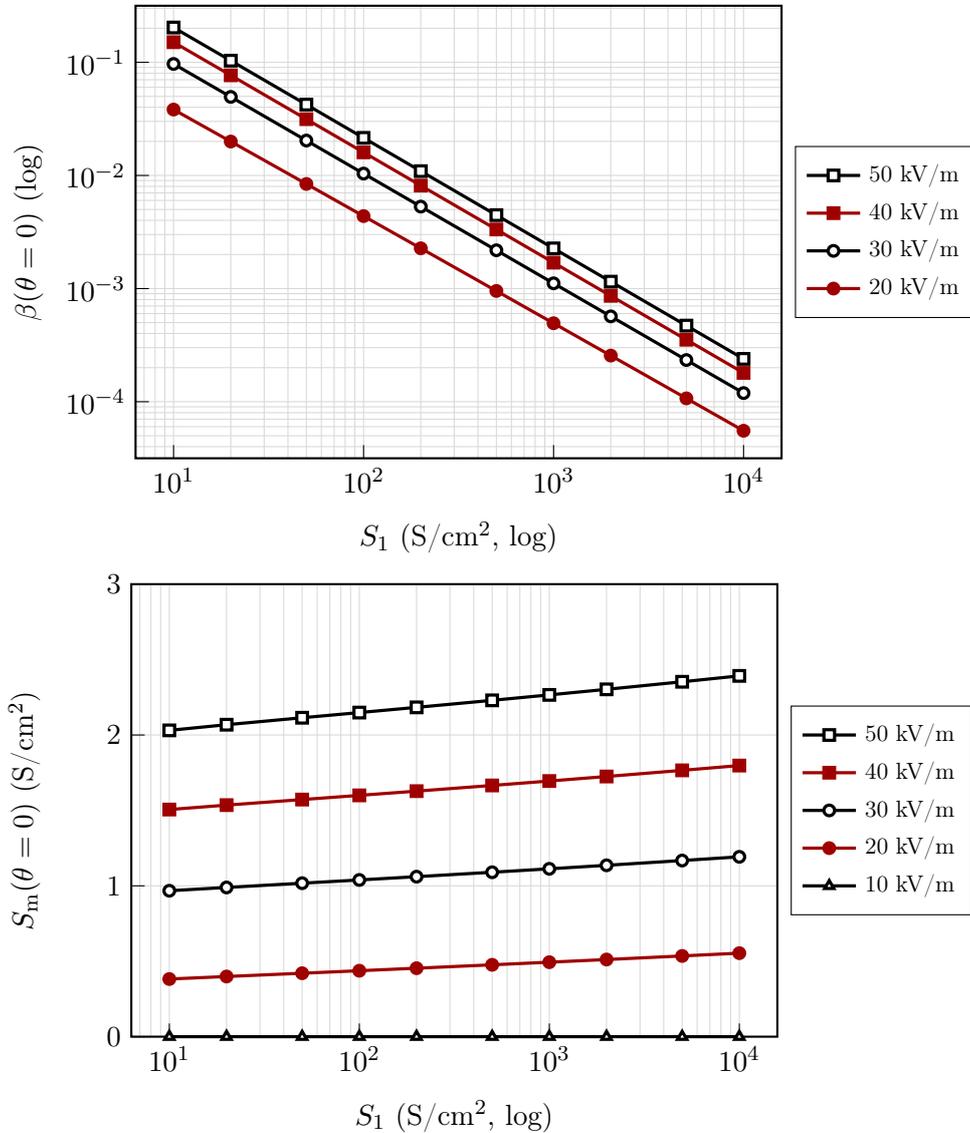


FIGURE 2.7 – Porosité β et conductivité surfacique S_m de la membrane au pôle $\theta = \pi/2$ de la cellule obtenus en résolvant l'équation statique pour différentes valeurs de S_1 et différentes intensités de pulses électriques. Les autres paramètres sont donnés dans la table 2.2.

2.2.4 Comparaison avec le modèle d'Ivorra, Mir et Villemejane

Les simulations effectuées par Ivorra *et al.* [40] ont été réalisées à l'aide d'une méthode de type éléments finis sur une coupe axisymétrique de cellule sphérique. Le problème résolu comprend la membrane cellulaire elle-même ; il s'agit donc du problème (1.2), où le terme capacitif $C_m \partial_t [U]$ est négligé. En raison des contraintes liées à la méthode, il leur a été nécessaire d'augmenter d'un facteur 10 l'épaisseur de la membrane afin d'éviter un maillage trop fin, et donc un temps de calcul prohibitif.

Lorsque l'on compare les résultats d'Ivorra *et al.* (fig. 2.10) et ceux obtenus avec notre méthode de simulation, on s'aperçoit que les comportements sont similaires. Il est à noter que le seuil d'électroporation V_{th} a été ramené à 0,4 V afin de reproduire le modèle de conductivité choisi par Ivorra *et al.* (voir encart de la figure 6 de [40]). Les figures 2.8 et 2.9 montrent une hausse importante de la conductivité surfacique S_m lorsque le voltage appliqué dépasse une valeur seuil. Cependant, du fait de la membrane épaissie, les intensités de leurs champs perméabilisants sont bien plus élevées que celles d'ordinaire rencontrées dans les expériences [54, 55, 39]. Les valeurs obtenues avec notre méthode de résolution sont plus proches de la réalité (figure 2.11).

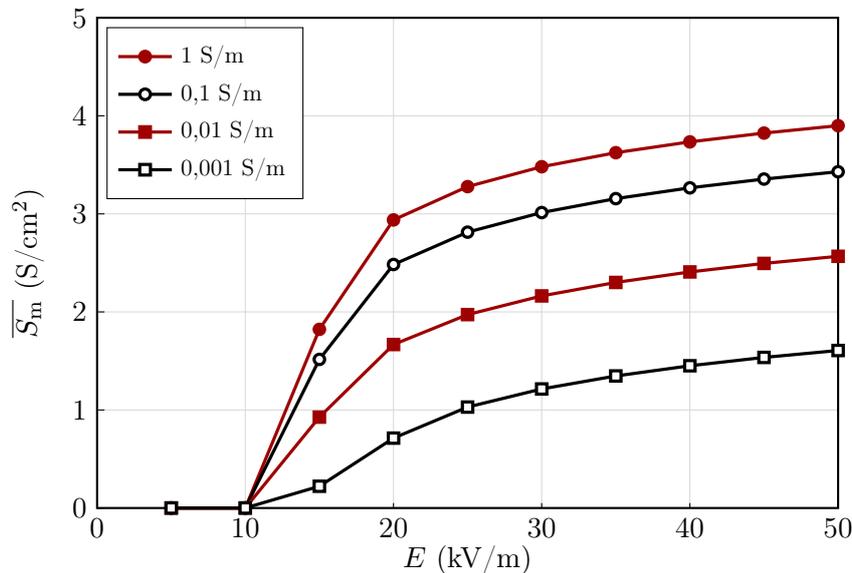


FIGURE 2.8 – Conductivité non-linéaire S_m de la membrane en fonction du champ électrique appliqué, pour diverses valeurs de la conductivité externe (en insert). Les valeurs présentées sont les moyennes $\overline{S_m}$ des conductivités sur la membrane.

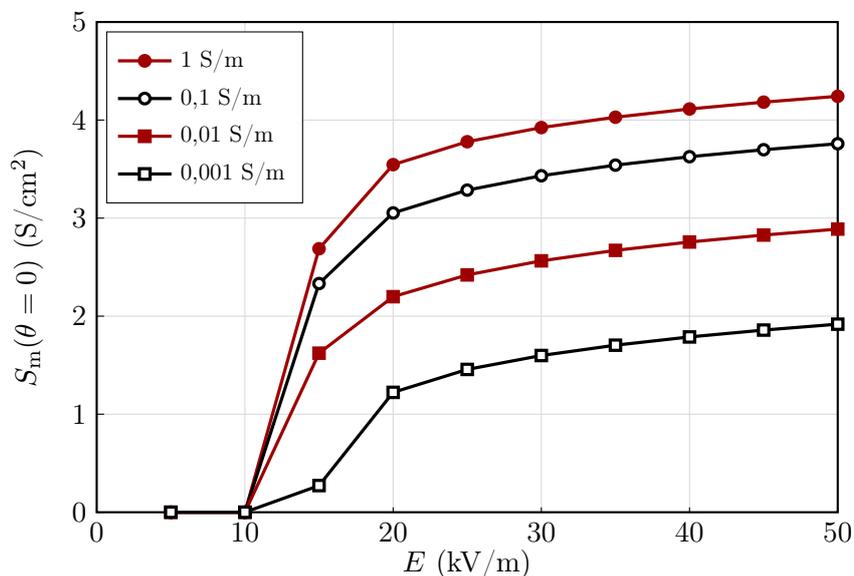


FIGURE 2.9 – Conductivité non-linéaire S_m au pôle $\theta = \pi/2$ de la cellule en fonction du champ électrique, pour différentes conductivités externes.

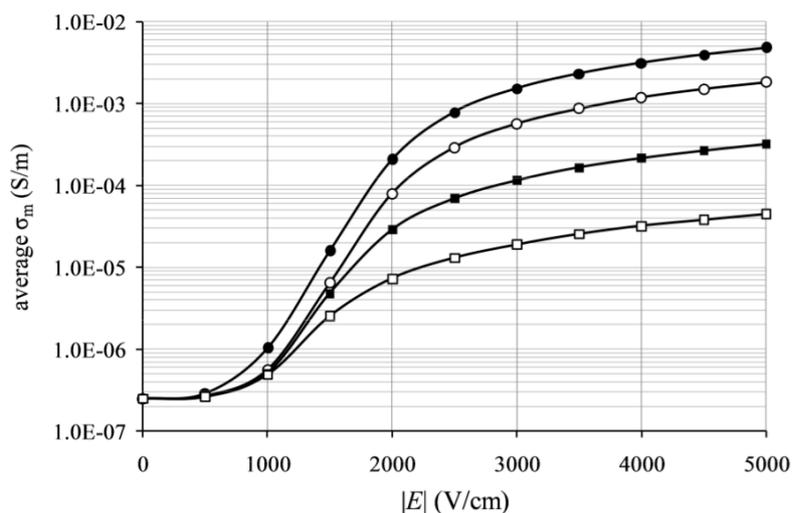


FIGURE 2.10 – Résultats des simulations d'Ivorra *et al.*, tirés de [40]. Le voltage obtenu est 10 fois supérieur à celui de nos simulations, dû à l'épaisseur plus importante de la membrane considérée. L'ordre de grandeur des conductivités σ_m/δ est le même que ceux obtenus avec notre modèle (0-20 S/cm²).

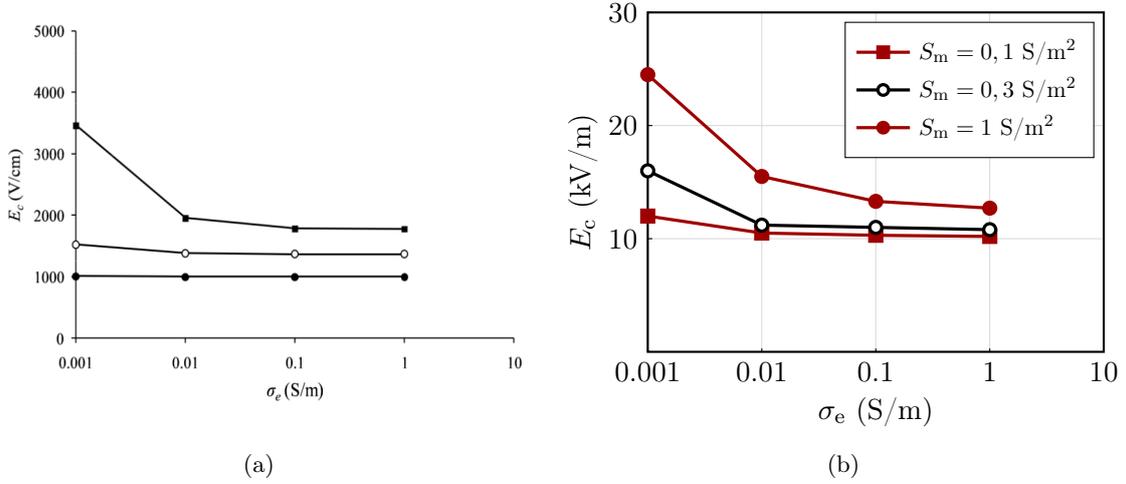


FIGURE 2.11 – 2.11(a) : résultats d'Ivorra *et al.* tirés de [40], voltage critique pour atteindre divers degrés de perméabilisation, mesurés grâce à une aire relative de pores (équivalent à X_1) : 10^{-5} (●), $3 \cdot 10^{-5}$ (○), 10^{-4} (■). 2.11(b) : Voltage nécessaire pour obtenir des conditions de perméabilisation similaires avec notre modèle.

2.3 Modèle dynamique de conductivité

Nous avons observé la différence de comportement entre le modèle de Neu *et al.* et le modèle statique précédent (figure 2.9), ainsi que les variations importantes du potentiel transmembranaire pendant les premières microsecondes d'application du champ électrique (figure 2.2). Il nous apparaît alors important de décrire plus finement l'état de la membrane au cours du pulse, en particulier pour les pulses de très courte durée – micro et nanopulses.

En se basant sur le même principe que le modèle statique précédent, le degré d'électroporation de la membrane est décrit par l'intermédiaire du changement de la conductivité électrique de celle-ci. On écrit alors la conductivité comme une interpolation entre deux états S_0 et $S_0 + S_1$, le paramètre d'interpolation $\xi \in [0, 1]$ comprenant la dynamique d'électroporation et dépendant de la position s sur la membrane :

$$\forall (t, s) \in \mathbb{R}^+ \times \Gamma, \quad S_m(t, s) := S_0 + \xi(t, s)S_1. \quad (2.8)$$

Dans la mesure où le changement de conductivité en un point dépend également du potentiel transmembranaire, le coefficient d'interpolation dépend également de celui-ci. On pose alors :

$$\xi(t, s) = X_1(t, [U(t, s)]). \quad (2.9)$$

Reste alors à définir l'évolution de ce paramètre X_1 . Pour cela, on établit que l'évolution de X_1 se fera en comparaison avec une fonction Heaviside lissée β_1 qui satisfait les propriétés suivantes :

$$\left\{ \begin{array}{l} \beta_1 \in W^{1,\infty}(\mathbb{R}), \lambda \mapsto \beta_1(\lambda) \text{ est paire,} \\ \lambda \mapsto \lambda \beta_1'(\lambda) \text{ est bornée sur } \mathbb{R}, \\ 0 \leq \beta_1(\lambda) \leq 1, \\ \beta_1 \text{ est croissante sur } \mathbb{R}^+, \\ \lim_{\lambda \rightarrow +\infty} \beta_1(\lambda) = 1. \end{array} \right. \quad (2.10)$$

La précédente définition de la conductivité (2.5) a été reprise pour β_1 , à savoir :

$$\forall \lambda \in \mathbb{R}, \quad \beta_1(\lambda) := \frac{1 + \tanh(k_1(|\lambda| - V_{th}))}{2}. \quad (2.11)$$

À un instant $t \geq 0$, supposons que le taux d'électroporation soit X_1^0 et soit un réel λ^0 qui représentera le potentiel transmembranaire. On note $\beta^0 = \beta_1(\lambda^0)$. Deux cas de figure :

- Si $\beta^0 > X_1^0$, cela veut dire que le pulse appliqué est suffisamment fort pour augmenter le niveau d'électroporation de la zone. Cette augmentation se réalise avec une dynamique notée τ_{1up} .
- Au contraire, si $\beta^0 < X_1^0$, alors le pulse appliqué ne suffit plus pour augmenter l'électroporation. La membrane rentre alors en phase de refermeture des pores, avec une dynamique notée τ_{1dw} .

À partir de ces éléments, on propose pour X_1 l'équation différentielle suivante :

$$\begin{cases} \partial_t X_1(t, \lambda) = \frac{\beta_1(\lambda) - X_1(t, \lambda)}{\tau_{1up}} & \text{si } \beta_1(\lambda) - X_1 \geq 0, \\ \partial_t X_1(t, \lambda) = \frac{\beta_1(\lambda) - X_1(t, \lambda)}{\tau_{1dw}} & \text{si } \beta_1(\lambda) - X_1 < 0, \\ X_1(0, \lambda) = X_{1,0}. \end{cases} \quad (2.12)$$

Le problème dynamique d'électroporation consiste alors à trouver un couple (U, X_1) satisfaisant :

$$\begin{cases} U \in C(\mathbb{R}^+, PH^1(\Omega)), & (2.13a) \\ \Delta U = 0 \text{ sur } \mathcal{O}_e \cup \mathcal{O}_c, & (2.13b) \\ [\sigma \partial_{\mathbf{n}} U]_{\Gamma} = 0, & (2.13c) \\ C_m \partial_t [U] + S_m(t, [U]) [U]_{\Gamma} = \sigma_c \partial_{\mathbf{n}} U_c|_{\Gamma^-}, & (2.13d) \\ U|_{\partial\Omega} = g, & (2.13e) \end{cases}$$

avec

$$S_m(t, [U(t, \cdot)]) = S_0 + X_1(t, [U(t, \cdot)]) S_1, \quad (2.13f)$$

X_1 satisfaisant l'équation différentielle

$$\begin{cases} \partial_t X_1(t, [U]) = \frac{\beta_1([U]) - X_1(t, [U])}{\tau_{1up}} & \text{si } \beta_1([U]) - X_1 \geq 0, \\ \partial_t X_1(t, [U]) = \frac{\beta_1([U]) - X_1(t, [U])}{\tau_{1dw}} & \text{si } \beta_1([U]) - X_1 < 0, \\ X_1(0, [U]) = X_{1,0}. \end{cases} \quad (2.13g)$$

Remarque : Lorsque la donnée g ne dépend pas du temps, en posant formellement $\partial_t \equiv 0$, le système admet un point d'équilibre (U^*, X_1^*) vérifiant :

$$\begin{cases} \Delta U^* = 0 \text{ sur } \mathcal{O}_e \cup \mathcal{O}_c, \\ [\sigma \partial_{\mathbf{n}} U^*]_{\Gamma} = 0, \\ S_m([U^*]) [U^*]_{\Gamma} = \sigma_c \partial_{\mathbf{n}} U_c^* |_{\Gamma^-}, \\ U^* |_{\partial\Omega} = g, \end{cases}$$

avec $S_m([U^*]) = S_0 + S_1 X_1^* = S_0 + S_1 \beta_1([U^*])$. On retrouve alors le modèle statique (2.7). Ce résultat sera démontré dans la suite du document.

2.4 Étude théorique du modèle dynamique

2.4.1 Écriture du problème électrique sur l'interface uniquement

Afin d'étudier d'un point de vue théorique les solutions des différents modèles proposés de manière plus aisée, il est possible de ramener les équations sur Ω tout entier en une seule équation sur Γ .

Introduisons pour cela les opérateurs de Steklov-Poincaré suivants, aussi appelés opérateurs Dirichlet-to-Neumann :

$$\Lambda_c : \begin{array}{l} H^{1/2}(\Gamma) \longrightarrow H^{-1/2}(\Gamma) \\ f \longmapsto \begin{array}{l} -\partial_{\mathbf{n}} v_c, \\ \text{où } \nabla \cdot (\sigma_c \nabla v_c) = 0 \text{ dans } \mathcal{O}_c \text{ et } v_c |_{\Gamma} = f, \end{array} \end{array} \quad (2.14)$$

et

$$\Lambda_e : \begin{array}{l} H^{1/2}(\Gamma) \longrightarrow H^{-1/2}(\Gamma) \\ f \longmapsto \begin{array}{l} \mathbf{n}_e \cdot \sigma_e \nabla v_e |_{\Gamma^+} = -\partial_{\mathbf{n}} v_e, \\ \text{où } \nabla \cdot (\sigma_e \nabla v_e) = 0 \text{ dans } \mathcal{O}_e, v_e |_{\partial\Omega} = 0 \text{ et } v_e |_{\Gamma} = f. \end{array} \end{array} \quad (2.15)$$

Nous aurons également besoin d'un opérateur ramenant la donnée sur le bord extérieur à l'interface :

$$\Lambda_0 : \begin{array}{l} H^{1/2}(\partial\Omega) \longrightarrow H^{-1/2}(\Gamma) \\ g \longmapsto \begin{array}{l} \mathbf{n}_e \cdot \sigma_e \nabla v |_{\Gamma^+} = -\partial_{\mathbf{n}} v, \\ \text{où } \nabla \cdot (\sigma_e \nabla v) = 0 \text{ dans } \mathcal{O}_c, v |_{\partial\Omega} = g \text{ et } v |_{\Gamma} = 0. \end{array} \end{array} \quad (2.16)$$

Remarquons que l'opérateur Λ_e est inversible. Son inverse est un autre opérateur de Steklov-Poincaré, ou Neumann-to-Dirichlet puisqu'il associe une valeur à l'interface étant donné un flux :

$$\Lambda_e^{-1} : \begin{array}{l} H^{-1/2}(\Gamma) \longrightarrow H^{1/2}(\Gamma) \\ \phi \longmapsto \begin{array}{l} v |_{\Gamma^+}, \\ \text{où } \nabla \cdot (\sigma_e \nabla v) = 0 \text{ dans } \mathcal{O}_e, v_e |_{\partial\Omega} = 0 \text{ et } -\partial_{\mathbf{n}} v_e |_{\Gamma^+} = \phi. \end{array} \end{array} \quad (2.17)$$

Notons également que d'après les inégalités de Poincaré pour Λ_e et Wirtinger-Poincaré pour Λ_c , ainsi que la continuité de la restriction d'une fonction u de $H^1(\mathcal{O})$ dans $H^{1/2}(\partial\mathcal{O})$, où \mathcal{O} est un ouvert régulier, on a :

$$\langle \Lambda_e f, f \rangle = \int_{\mathcal{O}_e} \sigma_e(x) |\nabla v_e(x)|^2 dx \geq C_e \|f\|_{H^{1/2}(\Gamma)}^2, \quad (2.18)$$

$$\langle \Lambda_c f, f \rangle = \int_{\mathcal{O}_c} \sigma_c(x) |\nabla v_c(x)|^2 dx \geq C_c \|f - M(f)\|_{H^{1/2}(\Gamma)}^2, \quad (2.19)$$

où C_e et C_c sont des constantes dépendant respectivement de \mathcal{O}_e et \mathcal{O}_c , et $M(f)$ la valeur moyenne de f sur Γ .

Nous allons également avoir besoin des propriétés suivantes :

Lemme 2.

L'opérateur $\Lambda_e + \Lambda_c$ est positif, auto-adjoint et inversible de $H^{1/2}(\Gamma)$ dans $H^{-1/2}(\Gamma)$. L'opérateur

$$\mathcal{B} := \text{Id} + \Lambda_e^{-1} \Lambda_c$$

est donc également inversible, de $H^{1/2}(\Gamma)$ dans lui-même. De plus, l'opérateur ($\mathcal{A} := \Lambda_c \mathcal{B}^{-1}, D(\mathcal{A})$) avec

$$D(\mathcal{A}) := \left\{ \varphi \in H^{1/2}(\Gamma), \mathcal{A}\varphi \in L^2(\Gamma) \right\} = H^1(\Gamma)$$

est maximal monotone.

PREUVE : L'opérateur Λ_e est positif, auto-adjoint (d'après (2.18)) et inversible. L'opérateur Λ_c est auto-adjoint et ne prend pas de valeurs négatives (2.19). L'opérateur $\Lambda_e + \Lambda_c = \Lambda_e \mathcal{B}$ est donc positif, auto-adjoint et inversible.

Montrons que l'opérateur \mathcal{A} est monotone. Soit φ de $D(\mathcal{A})$. En écrivant $\text{Id} = \mathcal{B}\mathcal{B}^{-1} = (\text{Id} + \Lambda_e^{-1} \Lambda_c) \mathcal{B}^{-1}$, on a

$$\begin{aligned} \langle \Lambda_c \mathcal{B}^{-1} \varphi, \varphi \rangle &= \langle \Lambda_c \mathcal{B}^{-1} \varphi, \mathcal{B}^{-1} \varphi \rangle + \langle \Lambda_c \mathcal{B}^{-1} \varphi, \Lambda_e^{-1} \Lambda_c \mathcal{B}^{-1} \varphi \rangle, \\ &= \langle \Lambda_c \mathcal{B}^{-1} \varphi, \mathcal{B}^{-1} \varphi \rangle + \langle \Lambda_e \Lambda_e^{-1} \Lambda_c \mathcal{B}^{-1} \varphi, \Lambda_e^{-1} \Lambda_c \mathcal{B}^{-1} \varphi \rangle, \\ &\geq 0. \end{aligned}$$

\mathcal{A} est donc monotone. Soit $f \in L^2(\Gamma)$, λ et U l'unique solution dans $PH^1(\Omega)$ du problème statique (cf [44]) :

$$\begin{cases} -\Delta U = 0 \text{ dans } \mathcal{O}_e \cup \mathcal{O}_c, \\ [\sigma \partial_{\mathbf{n}} U]_{\Gamma} = 0, \\ \lambda \sigma_c \partial_{\mathbf{n}} U|_{\Gamma^-} - [U]_{\Gamma} = f. \end{cases}$$

En posant $v := -[U]$, v satisfait :

$$v + \lambda \mathcal{A}v = f.$$

Comme \mathcal{A} est positif, on a $\|v\|_{L^2(\Gamma)} \leq \|f\|_{L^2(\Gamma)}$. Donc \mathcal{A} est maximal monotone. \square

Écrivons maintenant le problème sur l'interface :

Lemme 3.

Soient U_0 et $X_{1,0}$ deux fonctions suffisamment régulières définies respectivement dans Ω et sur Γ . Trouver une solution (U, X_1) au problème (2.13), si elle existe, est alors équivalent à déterminer (u_e, u_c, X_1) , où $u_e = U|_{\Gamma^+}$ et $u_c = U|_{\Gamma^-}$, satisfaisant

$$u_e = u_c - v, \quad (2.20a)$$

$$u_c = \mathcal{B}^{-1}(v - \Lambda_e^{-1}\Lambda_0g), \quad (2.20b)$$

où v est solution de

$$C_m \partial_t v + \Lambda_c \mathcal{B}^{-1}v + S_m(t, v)v = G, \quad (2.20c)$$

$$v(0, \cdot) = v_0, \quad (2.20d)$$

avec S_m , v_0 et G définis par

$$S_m(t, \lambda) = S_0 + X_1(t, \lambda)S_1, \quad (2.20e)$$

$$v_0 := U_0|_{\Gamma^+} - U_0|_{\Gamma^-}, \quad (2.20f)$$

$$G := \Lambda_c \mathcal{B}^{-1} \Lambda_e^{-1} \Lambda_0 g, \quad (2.20g)$$

et où, en écrivant $\lambda = v(t, s)$, pour presque tout $(t, s) \in (0, T) \times \Gamma$, X_1 satisfait

$$\partial_t X_1(t, \lambda) = \begin{cases} \frac{\beta_1(\lambda) - X_1(t, \lambda)}{\tau_{1\text{up}}} & \text{si } \beta_1(\lambda) - X_1(t, \lambda) \geq 0, \\ \frac{\beta_1(\lambda) - X_1(t, \lambda)}{\tau_{1\text{dw}}} & \text{si } \beta_1(\lambda) - X_1(t, \lambda) < 0, \end{cases} \quad (2.20h)$$

$$X_1(0, \lambda) = X_{1,0}. \quad (2.20i)$$

PREUVE : En utilisant les opérateurs de Steklov-Poincaré définis précédemment dans la condition de continuité du flux à travers l'interface (2.13c), on obtient

$$\Lambda_e u_e + \Lambda_0 g + \Lambda_c u_c = 0.$$

Comme Λ_e est inversible, on en déduit

$$u_e - u_c = -(\mathcal{B}u_c + \Lambda_e^{-1}\Lambda_0g) = -v.$$

De plus, d'après la définition de v , on a

$$\Lambda_c u_c = \Lambda_c \mathcal{B}^{-1}v - \Lambda_c \mathcal{B}^{-1} \Lambda_e^{-1} \Lambda_0 g = \Lambda_c \mathcal{B}^{-1}v - G.$$

Ainsi, en multipliant la condition de transmission sur le saut (2.13d) par (-1) et grâce à la parité de la fonction β_1 , on obtient l'équation (2.20c). \square

2.4.2 Existence et unicité de solutions

Avant de prouver l'existence et l'unicité d'une solution au problème (2.20), intéressons nous aux propriétés de la fonction X_1 . Nous allons en particulier vérifier que cette fonction est un paramètre

d'interpolation entre deux états comme défini en équation (2.8), c'est-à-dire compris entre 0 et 1 en tout temps.

Lemme 4.

Soient $T > 0$ fixé et β satisfaisant (2.10). Pour tout réel λ , l'équation différentielle

$$\begin{cases} \partial_t X_1(t, \lambda) = \begin{cases} \frac{\beta_1(\lambda) - X_1(t, \lambda)}{\tau_{1\text{up}}} & \text{si } \beta_1(\lambda) - X_1(t, \lambda) \geq 0, \\ \frac{\beta_1(\lambda) - X_1(t, \lambda)}{\tau_{1\text{dw}}} & \text{si } \beta_1(\lambda) - X_1(t, \lambda) < 0, \end{cases} \\ X_1(0, \lambda) = X_{1,0} \in [0, 1] \end{cases} \quad \forall t \in (0, T), \quad (2.21)$$

admet une unique solution $X_1(\cdot, \lambda)$ dans $C^1([0, T])$. De plus, on a

$$\forall t \in [0, T], \forall \lambda \in \mathbb{R}, 0 \leq X_1(t, \lambda) = X_1(t, -\lambda) \leq 1.$$

Enfin, il existe une constante $K(T)$ strictement positive telle que pour tout réels λ_1, λ_2 , on a

$$\forall t \in [0, T], |\lambda_1 X_1(t, \lambda_1) - \lambda_2 X_1(t, \lambda_2)| \leq K(T) |\lambda_1 - \lambda_2|. \quad (2.22)$$

PREUVE : Supposons $\tau_{1\text{up}} < \tau_{1\text{dw}}$, la fonction

$$X \mapsto \begin{cases} \frac{\beta_1(\lambda) - X}{\tau_{1\text{up}}} & \text{si } \beta_1(\lambda) - X \geq 0, \\ \frac{\beta_1(\lambda) - X}{\tau_{1\text{dw}}} & \text{si } \beta_1(\lambda) - X < 0, \end{cases} = \max\left(\frac{\beta_1(\lambda) - X}{\tau_{1\text{up}}}, \frac{\beta_1(\lambda) - X}{\tau_{1\text{dw}}}\right),$$

définie de \mathbb{R} dans \mathbb{R} , est Lipschitz pour tout λ . L'équation différentielle (2.21) admet donc une unique solution $X_1 \in C^1([0, T])$, pour toute valeur initiale $X_{1,0}$ réelle.

Montrons que X_1 est positive : en multipliant l'équation (2.21) par $X_1^- = \max(-X_1, 0)$, on obtient

$$\frac{1}{2} \partial_t |X_1^-|^2 \leq 0,$$

car $\beta_1 \geq 0$. En supposant $0 \leq X_{1,0} \leq 1$, on a $X_{1,0}^- = 0$ et par conséquent $X_1^- \equiv 0$ sur $[0, T]$. De manière similaire, multiplier l'équation par $(X_1 - 1)^+ = \max(X_1 - 1, 0)$ et utiliser le fait que $\beta_1 - 1 \leq 0$ amène à

$$\frac{1}{2} \partial_t |(X_1 - 1)^+| \leq 0.$$

Ainsi, $0 \leq X_1 \leq 1$ pour tout t de $[0, T]$.

Pour établir l'estimation (2.22), on procède comme suit. Pour λ réel, notons $Y(t, \lambda) := \lambda X_1(t, \lambda)$. Pour tout réels a et b , on a $\max(a, b) = a + (a - b)^-$. Comme $\tau_{1\text{up}} < \tau_{1\text{dw}}$, on a

$$\max\left(\frac{a}{\tau_{1\text{up}}}, \frac{a}{\tau_{1\text{dw}}}\right) = \frac{a}{\tau_{1\text{up}}} + \left(\frac{1}{\tau_{1\text{up}}} - \frac{1}{\tau_{1\text{dw}}}\right) a^-.$$

En utilisant le fait que $a^- = (|a| - a)/2$, on obtient

$$\max\left(\frac{a}{\tau_{1\text{up}}}, \frac{a}{\tau_{1\text{dw}}}\right) = \frac{a}{2} \left(\frac{1}{\tau_{1\text{up}}} + \frac{1}{\tau_{1\text{dw}}}\right) + \frac{|a|}{2} \left(\frac{1}{\tau_{1\text{up}}} - \frac{1}{\tau_{1\text{dw}}}\right).$$

L'équation différentielle suivie par Y est alors la suivante :

$$\begin{cases} \partial_t Y(t, \lambda) = H(\lambda, Y), \quad \forall t \in (0, T), \\ Y(0, \lambda) = Y_0 = \lambda X_{1,0}, \end{cases} \quad (2.23)$$

où

$$H(\lambda, Y) := \frac{\lambda\beta_1(\lambda) - Y}{2} \left(\frac{1}{\tau_{1\text{up}}} + \frac{1}{\tau_{1\text{dw}}} \right) + \frac{\lambda|\beta_1(\lambda) - Y/\lambda|}{2} \left(\frac{1}{\tau_{1\text{up}}} - \frac{1}{\tau_{1\text{dw}}} \right).$$

Pour montrer que la fonction $\lambda \mapsto H(\lambda, Y)$ est globalement Lipschitzienne sur \mathbb{R} , on utilise l'hypothèse faite sur β_1 , où l'on suppose que $\lambda\beta_1'(\lambda)$ est uniformément bornée sur \mathbb{R} . Ainsi, la fonction $\lambda \mapsto \lambda\beta_1(\lambda)$ est Lipschitzienne sur \mathbb{R} . Nous n'avons plus alors qu'à vérifier que la fonction $\lambda \mapsto h(\lambda, Y) := \lambda|\beta_1(\lambda) - Y/\lambda|$ est Lipschitzienne sur \mathbb{R} . Cela est vrai dans la mesure où

$$\begin{aligned} \frac{\partial h}{\partial \lambda} &= |b_1(\lambda) - Y/\lambda| + (\lambda\beta_1'(\lambda) + Y/\lambda) \frac{\beta_1(\lambda) - Y/\lambda}{|\beta_1(\lambda) - Y/\lambda|}, \\ &= (\beta_1(\lambda) + \lambda\beta_1'(\lambda)) \frac{\beta_1(\lambda) - Y/\lambda}{|\beta_1(\lambda) - Y/\lambda|}, \end{aligned}$$

et donc

$$\left| \frac{\partial h}{\partial \lambda} \right| \leq |b_1(\lambda) + \lambda\beta_1'(\lambda)|.$$

On en déduit que la fonction $(\lambda, Y) \mapsto H(\lambda, Y)$ est Lipschitzienne sur $\mathbb{R} \times \mathbb{R}$. En écrivant

$$Y(t, \lambda_1) - Y(t, \lambda_2) = \int_0^t (H(\lambda_1, Y_1) - H(\lambda_2, Y_2))(t) dt + (\lambda_1 - \lambda_2)X_{1,0},$$

le lemme de Gronwall nous permet de conclure que

$$\forall t \in (0, T), |Y(t, \lambda_1) - Y(t, \lambda_2)| \leq K(T) |\lambda_1 - \lambda_2|.$$

□

Intéressons nous maintenant au problème d'évolution du potentiel transmembranaire :

Théorème 5.

Soient une donnée initiale $v_0 \in L^2(\Gamma)$, une fonction $G \in L^p((0, T), L^2(\Gamma))$ pour $p > 1$, et β_1 satisfaisant les propriétés (2.10). Soit $X_{1,0} \in L^\infty(\Gamma)$ tel que $0 \leq X_{1,0} \leq 1$ sur Γ . Il existe alors une unique fonction $v \in \mathbb{E} := C([0, T], L^2(\Gamma))$, solution faible du problème

$$\begin{cases} C_m \partial_t v + \Lambda_c \mathcal{B}^{-1} v + S_m(t, v)v = G, \quad \forall t \in (0, T), \\ v(0) = v_0, \end{cases} \quad (2.24)$$

S_m étant définie par (2.20e), et, en écrivant $\lambda = v(t, s)$, pour presque tout (t, s) de $(0, T) \times \Gamma$, on a

$$\begin{cases} \partial_t X_1(t, \lambda) = \frac{\beta_1(\lambda) - X_1(t, \lambda)}{\tau_{1\text{up}}} \text{ si } \beta_1(\lambda) - X_1(t, \lambda) \geq 0, \\ \partial_t X_1(t, \lambda) = \frac{\beta_1(\lambda) - X_1(t, \lambda)}{\tau_{1\text{dw}}} \text{ si } \beta_1(\lambda) - X_1(t, \lambda) < 0, \\ X_1(0, \lambda) = X_{1,0}. \end{cases} \quad (2.25)$$

De plus, si $v_0 \in H^1(\Gamma)$ et $G \in W^{1,1}((0, T), L^2(\Gamma))$, la solution faible est alors une

solution classique du problème (2.24), à savoir

$$v \in C([0, T], H^1(\Gamma)) \cap C^1([0, T], L^2(\Gamma)).$$

PREUVE : Dans un premier temps, nous allons montrer l'existence et l'unicité de la solution faible au problème (2.24) dans \mathbb{E} par une méthode de point fixe. D'après le lemme 4, nous savons que la solution X_1 de (2.25) existe pour tout réel λ , est dans $C^1([0, T])$ et est comprise entre 0 et 1. De plus, les fonctions $\lambda \mapsto X_1$ et $\lambda \mapsto \lambda X_1$ sont Lipschitz. Posons

$$\mathcal{F}(t, v) := -S_m(t, v)v + G = -(S_0 + X_1(t, v)S_1)v + G.$$

Résoudre l'équation (2.24) est alors équivalent à trouver $v \in \mathbb{E}$ solution de

$$v = \exp\left(-\frac{t}{C_m}\mathcal{A}\right)v_0 + \frac{1}{C_m} \int_0^t \exp\left(-\frac{t-\tau}{C_m}\mathcal{A}\right) \mathcal{F}(t, v) \, d\tau. \quad (2.26)$$

D'après l'inégalité (2.22) du lemme 4, la fonction

$$v \mapsto \mathcal{F}(\cdot, v),$$

est Lipschitz de \mathbb{E} dans lui-même. Il existe donc une constante $K_1 > 0$ telle que pour tout $v_1, v_2 \in \mathbb{E}$,

$$\|\mathcal{F}(\cdot, v_1) - \mathcal{F}(\cdot, v_2)\|_{L^\infty([0, T], L^2(\Gamma))} \leq K_1 \|v_1 - v_2\|_{L^\infty([0, T], L^2(\Gamma))}.$$

Pour un réel $\alpha > 0$ que nous déterminerons ensuite, munissons \mathbb{E} de la norme suivante :

$$\|\psi\|_{\mathbb{E}} := \sup_{t \in [0, T]} \exp(-\alpha t) \|\psi(t, \cdot)\|_{L^2(\Gamma)}.$$

Si l'on note

$$\Phi(w)(t) := \exp\left(-\frac{t}{C_m}\mathcal{A}\right)v_0 + \frac{1}{C_m} \int_0^t \exp\left(-\frac{t-\tau}{C_m}\mathcal{A}\right) \mathcal{F}(\tau, w(\tau)) \, d\tau,$$

alors $\Phi : \mathbb{E} \rightarrow \mathbb{E}$ est continue. Nous allons maintenant choisir une valeur appropriée de α de façon à ce que Φ soit une contraction stricte. On a :

$$\Phi(w)(t) - \Phi(v)(t) = \frac{1}{C_m} \int_0^t \exp\left(-\frac{t-\tau}{C_m}\mathcal{A}\right) (\mathcal{F}(\tau, w) - \mathcal{F}(\tau, v)) \, d\tau.$$

D'après le lemme 2, l'opérateur \mathcal{A} est maximal monotone. Il génère donc une semi-groupe de contraction et nous avons :

$$\left\| \exp\left(-\frac{t-\tau}{C_m}\mathcal{A}\right) (\mathcal{F}(\tau, w) - \mathcal{F}(\tau, v)) \right\|_{L^2(\Gamma)} \leq \|\mathcal{F}(\tau, w) - \mathcal{F}(\tau, v)\|_{L^2(\Gamma)}.$$

Ainsi,

$$\begin{aligned} \|\Phi(w)(t) - \Phi(v)(t)\|_{L^2(\Gamma)} &\leq \frac{1}{C_m} \int_0^t \|\mathcal{F}(\tau, w) - \mathcal{F}(\tau, v)\|_{L^2(\Gamma)} \, d\tau, \\ &\leq \frac{K_1}{C_m} \|w - v\|_{\mathbb{E}} \int_0^t \exp(\alpha\tau) \, d\tau, \\ &\leq \frac{K_1 C(p) \alpha^{-1}}{C_m} \exp(\alpha t) \|w - v\|_{\mathbb{E}}. \end{aligned}$$

On en déduit alors que

$$\|\Phi(w)(t) - \Phi(v)(t)\|_{\mathbb{E}} \leq \frac{K_1 C(p) \alpha^{-1}}{C_m} \|w - v\|_{\mathbb{E}}.$$

Pour des valeurs suffisamment grandes de α , la fonction Φ est une contraction sur \mathbb{E} . Par application du théorème du point fixe, l'équation 2.26 (et donc l'équation 2.24) possède alors une unique solution dans $\mathbb{E} = C([0, T], L^2(\Gamma))$.

Intéressons nous maintenant aux solutions plus régulières. Supposons $G \in W^{1,1}((0, T), L^2(\Gamma))$ et $v_0 \in H^1(\Gamma)$. La solution faible donnée par (2.26) appartient à $C^1([0, T], L^2(\Gamma))$. On en déduit

$$\partial_t v + S_m(\cdot, v)v \in C([0, T], L^2(\Gamma)).$$

En revenant au problème dans Ω , posons $U_c = U|_{\mathcal{O}_c}$. On a

$$\Delta U_c(t, \cdot) = 0 \text{ dans } \mathcal{O}_c, \quad \sigma_c \partial_{\mathbf{n}} U_c(t, \cdot) \in L^2(\Gamma),$$

qui nous conduit à $U_c(t, \cdot) \in H^{3/2}(\mathcal{O}_c)$. Puisque les domaines sont réguliers, $U_c(t, \cdot)|_{\Gamma^-}$ est $H^1(\Gamma)$. De manière similaire, la restriction de U au domaine extérieur U_e vérifie $U_e(t, \cdot)|_{\Gamma^+} \in H^1(\Gamma)$. Ainsi, le saut transmembranaire du potentiel v appartient à $C([0, T], H^1(\Gamma))$. \square

2.4.3 Cas particulier des solutions périodiques

Les expériences montrent souvent qu'un unique pulse ne parvient pas à perméabiliser la cellule, et ce pour différents types de pulses, des nanopulses aux micropulses [58, 75, 78]. C'est pourquoi l'application des chocs électriques se fait souvent de manière répétée, par trains de pulses. On peut dans ce cas considérer le terme source des équations précédentes comme étant périodique.

Dans cette section, nous nous intéressons au comportement des solutions pour ces termes sources. En particulier, nous allons montrer que la membrane atteint un régime périodique stable, et à quelle vitesse ce régime est atteint. Il serait alors possible de déterminer par exemple le nombre de pulses nécessaire et suffisant pour obtenir un niveau de conductivité membranaire souhaité. Cela est important dans la mesure où l'application de ces pulses entraîne des dommages irréversibles des tissus dans les régions proches des électrodes, et où l'accumulation de chaleur par effet Joule cause des lésions thermiques.

Nous faisons dans cette section l'étude des solutions au problème périodique pour les deux modèles de conductivité présentés précédemment :

- Le modèle de conductivité statique de l'équation (2.5), auquel nous ferons référence en termes de « modèle β ».
- Le modèle dynamique (2.13f) de la précédente section, que nous appellerons « modèle X_1 » pour plus de commodité.

Nous présentons d'abord les résultats d'existence et d'unicité de solutions périodiques pour les deux modèles de conductivité, avant d'évaluer la vitesse de convergence vers les régimes périodiques. Les résultats présentés en section 2.5.4 confirment l'estimation que nous faisons ici. Ils montrent également qu'utiliser un modèle statique de conductivité amène à une vitesse de convergence supérieure à celle donnée par un modèle dynamique. Une première conclusion serait que peu de pulses sont nécessaires pour atteindre un régime périodique, résultant dans une sous-perméabilisation de la cellule.

Existence et unicité de solutions périodiques

Théorème 6.

Soit $T > 0$ et g une fonction T -périodique de $C_T (H^1(\partial\Omega)) \cap W^{1,1}((0, +\infty), L^2(\partial\Omega))$. Il existe alors une unique solution T -périodique au problème suivant :

$$\begin{cases} U \in C_T (PH^1(\Omega)), \\ \Delta U = 0 \text{ dans } \mathcal{O}_e \cup \mathcal{O}_c, \\ U = g \text{ sur } \partial\Omega, \forall t \geq 0, \\ [\sigma \partial_{\mathbf{n}} U] = 0 \text{ sur } \Gamma, \\ C_m \partial_t [U] + S_m(t, [U]) [U] = \sigma_c \partial_{\mathbf{n}} U|_{\Gamma^-} \text{ sur } \Gamma. \end{cases} \quad (2.27)$$

De plus, soit $V_0 \in PH^1(\Omega)$ et V la solution de

$$\begin{cases} V \in C([0, +\infty), PH^1(\Omega)), \\ \Delta V = 0 \text{ dans } \mathcal{O}_e \cup \mathcal{O}_c, \\ V = g \text{ sur } \partial\Omega, \forall t \geq 0, \\ V(t=0, \cdot) = V_0(\cdot) \text{ dans } \Omega, \\ [\sigma \partial_{\mathbf{n}} V] = 0 \text{ sur } \Gamma, \\ C_m \partial_t [V] + S_m(t, [V]) [V] = \sigma_c \partial_{\mathbf{n}} V|_{\Gamma^-} \text{ sur } \Gamma. \end{cases} \quad (2.28)$$

Alors, pour tout $t \geq 0$,

$$\| [U(t)]_{\Gamma} - [V(t)]_{\Gamma} \|_{L^2(\Gamma)}^2 \leq e^{-\frac{C}{C_m} t} \| [U_0]_{\Gamma} - [V_0]_{\Gamma} \|_{L^2(\Gamma)}^2, \quad (2.29)$$

où C est une constante réelle positive.

PREUVE : L'existence et l'unicité de la solution V est donnée par le théorème 5. Avant de montrer celle de la solution périodique, nous allons vérifier si elle est bornée. Pour cela, reformulons comme précédemment les équations sur l'interface uniquement. Soit le problème suivant :

$$\begin{cases} v \in C([0, +\infty), H^1(\Gamma)), & (2.30a) \\ \partial_t v + \mathcal{A}v + S_0 v + S_{ep}(t, v)v = G \text{ sur } \Gamma, \forall t > 0, & (2.30b) \\ v(t=0, \cdot) = v_0(\cdot) \text{ sur } \Gamma, & (2.30c) \end{cases}$$

où $G \in C([0, +\infty), H^1(\Gamma))$ n'est pas nécessairement périodique, la donnée v_0 appartient à $H^1(\Gamma)$, \mathcal{A} est un opérateur maximal monotone et S_{ep} la partie non-linéaire des conductivités :

$$S_{ep}(\lambda) = S_1 \beta_1(\lambda) \text{ pour le modèle } \beta,$$

$$S_{ep}(t, \lambda) = S_1 X_1(t, \lambda) \text{ pour le modèle } X_1.$$

Pour tout $t \geq 0$, on a

$$\langle C_m \partial_t v, v \rangle + \langle \mathcal{A}v, v \rangle + S_0 \langle v, v \rangle + \langle S_{ep}(t, v)v, v \rangle = \langle G, v \rangle. \quad (2.31)$$

Pour tous les modèles de conductivités, le terme $\langle S_{ep}(t, v)v, v \rangle$ est positif. Ainsi, d'après l'inégalité de Young :

$$\frac{1}{2} C_m \partial_t \|v\|_{L^2(\Gamma)}^2 + \langle \mathcal{A}v, v \rangle + S_0 \|v\|_{L^2(\Gamma)}^2 \leq \frac{\|u\|_{L^2(\Gamma)}^2}{2\alpha} + \frac{\alpha G_{\infty}^2}{2},$$

pour tout $\alpha > 0$, avec $G_\infty := \max_{t \in [0, T]} \|G(t)\|_{L^2(\Gamma)}$. Comme \mathcal{A} est maximal monotone,

$$\frac{1}{2} C_m \partial_t \|v\|_{L^2(\Gamma)}^2 + S_0 \|v\|_{L^2(\Gamma)}^2 \leq \frac{\|v\|_{L^2(\Gamma)}^2}{2\alpha} + \frac{\alpha G_\infty^2}{2},$$

On peut désormais utiliser le lemme de Gronwall pour montrer le caractère borné L^2 de la solution en temps fini : pour tout $t > 0$,

$$\begin{aligned} \|v\|_{L^2(\Gamma)}^2 &\leq \|v_0\|_{L^2(\Gamma)}^2 \exp\left(-\frac{2\alpha S_0 - 1}{\alpha C_m} t\right) + \frac{\alpha G_\infty^2}{C_m} \int_0^t \exp\left(-\frac{2\alpha S_0 - 1}{\alpha C_m} (t - \tau)\right) d\tau, \\ &\leq \|v_0\|_{L^2(\Gamma)}^2 \exp\left(-\frac{2\alpha S_0 - 1}{\alpha C_m} t\right) + \frac{\alpha^2 G_\infty^2}{2\alpha S_0 - 1} \left(1 - \exp\left(-\frac{2\alpha S_0 - 1}{\alpha C_m} t\right)\right). \end{aligned}$$

Poser $\alpha = \frac{1}{S_0}$ minimise le coefficient $\frac{\alpha^2}{2\alpha S_0 - 1}$. Donc, pour tout $t > 0$,

$$\|v\|_{L^2(\Gamma)}^2 \leq \|v_0\|_{L^2(\Gamma)}^2 \exp\left(-\frac{S_0}{C_m} t\right) + \frac{G_\infty^2}{S_0^2} \left(1 - \exp\left(-\frac{S_0}{C_m} t\right)\right).$$

Étudions maintenant l'existence et l'unicité de solutions périodiques. Soit G une source périodique de $C_T(H^1(\Gamma))$, et \mathcal{A} un opérateur maximal monotone de $\mathcal{L}(H^1(\Gamma))$. Nous allons montrer qu'il existe une unique solution périodique v au problème suivant :

$$\begin{cases} v \in C_T(H^1(\Gamma)), \\ C_m \partial_t v + \mathcal{A}v + S_0 v + S_{\text{ep}}(t, v)v = G. \end{cases} \quad (2.32)$$

Soient $v_{1,0}$ et $v_{2,0}$ deux états initiaux de $H^1(\Gamma)$ et v_1, v_2 les solutions associées du problème (2.32). On pose $w = v_1 - v_2$. w satisfait le problème homogène

$$\begin{cases} C_m \partial_t w + \mathcal{A}w + S_0 w + S_{\text{ep}}(t, v_1)v_1 - S_{\text{ep}}(t, v_2)v_2 = 0, \\ w(t = 0, \cdot) = w(T, \cdot) = u_0(\cdot) - v_0(\cdot). \end{cases} \quad (2.33)$$

On a, pour t positif :

$$C_m \partial_t \|w\|_{L^2(\Gamma)}^2 + \langle \mathcal{A}w, w \rangle + S_0 \|w\|_{L^2(\Gamma)}^2 + \langle S_{\text{ep}}(t, v_1)v_1 - S_{\text{ep}}(t, v_2)v_2, v_1 - v_2 \rangle = 0, \quad (2.34)$$

et puisque \mathcal{A} est maximal monotone,

$$C_m \partial_t \|w\|_{L^2(\Gamma)}^2 + S_0 \|w\|_{L^2(\Gamma)}^2 + \langle S_{\text{ep}}(t, v_1)v_1 - S_{\text{ep}}(t, v_2)v_2, v_1 - v_2 \rangle \leq 0.$$

Concentrons-nous sur le terme $\langle S_{\text{ep}}(t, v_1)v_1 - S_{\text{ep}}(t, v_2)v_2, v_1 - v_2 \rangle$.

- Dans le cas du modèle β , on peut aisément vérifier que pour tout réels λ_1 et λ_2 , avec $\lambda_1 \neq 0$, la quantité

$$(\beta_1(\lambda_1)\lambda_1 - \beta_1(\lambda_2)\lambda_2)(\lambda_1 - \lambda_2) = \beta_1(\lambda_1)\lambda_1^2 \left(1 - \frac{\lambda_2}{\lambda_1}\right) \left(1 - \frac{\beta_1(\lambda_2)\lambda_2}{\beta_1(\lambda_1)\lambda_1}\right)$$

est positive, car β_1 est une fonction monotone sur $[0, +\infty)$.

- Pour le modèle X_1 , à $\lambda(t)$ fixé, l'équation différentielle

$$\frac{d}{d\tau} X_1(\tau, \lambda(t)) = \frac{\beta_1(\lambda(t)) - X(\tau, \lambda(t))}{\tau_{1\text{up}}}$$

a pour solution

$$X_1(\tau, \lambda) = \exp\left(-\frac{\tau}{\tau_{1\text{up}}}\right) X_1(t, \lambda(t)) + \frac{\beta(\lambda(t))}{\tau_{1\text{up}}} \int_0^\tau \exp\left(-\frac{\tau-s}{\tau_{1\text{up}}}\right) ds.$$

La fonction $\lambda(t) \mapsto \lambda(t)X_1(t, \lambda(t))$ est donc monotone (λ étant fixé, il en va de même pour la dynamique inverse $\tau_{1\text{dw}}$). On peut alors utiliser le même argument que pour le modèle β de conductivité, et, pour tout λ_1 et λ_2 , $\lambda_1 \neq 0$,

$$(X_1(\lambda_1)\lambda_1 - X_1(\lambda_2)\lambda_2)(\lambda_1 - \lambda_2) = X_1(\lambda_1)\lambda_1^2 \left(1 - \frac{\lambda_2}{\lambda_1}\right) \left(1 - \frac{X_1(\lambda_2)\lambda_2}{X_1(\lambda_1)\lambda_1}\right)$$

est positif.

Dans les deux cas, on a, pour t positif,

$$C_m \partial_t \|w\|_{L^2(\Gamma)}^2 + S_0 \|w\|_{L^2(\Gamma)}^2 \leq 0,$$

et donc

$$\|w(t)\|_{L^2(\Gamma)}^2 \leq \exp\left(-\frac{S_0}{C_m}t\right) \|w_0\|_{L^2(\Gamma)}^2. \quad (2.35)$$

Définissons la fonction Φ qui à une donnée initiale associe la solution au temps T :

$$\Phi : v_0 \mapsto v(T)$$

Écrire l'équation précédente en $t = T$ donne

$$\|\Phi(v_{1,0}) - \Phi(v_{2,0})\|_{L^2(\Gamma)}^2 \leq \exp\left(-\frac{S_0}{C_m}T\right) \|v_{1,0} - v_{2,0}\|_{L^2(\Gamma)}^2, \quad (2.36)$$

avec $\exp\left(-\frac{S_0}{C_m}T\right) < 1$. Φ est donc une contraction de $L^2(\Gamma)$ et il existe un unique état initial v_0 satisfaisant l'équation (2.32). Par suite, il existe un unique U_0 solution du problème (2.27). Nous avons aussi montré la convergence asymptotique des solutions du problème (2.28) vers un régime périodique. \square

Remarque : Cette preuve est valable dans un domaine Ω bidimensionnel. La régularité H^1 sur u et v est requise pour que leurs valeurs soient L^∞ , de par l'injection $H^s \hookrightarrow L^\infty$ si $s > \frac{d}{2}$, où d est la dimension de Γ . Pour un domaine 3D, il aurait fallu plus de régularité : $v_{1,0}$ et $v_{2,0}$ auraient dû appartenir à $H^{3/2}(\Gamma)$ et G à $C_T(H^{3/2}(\Gamma))$.

Remarque : Si l'opérateur \mathcal{A} est coercif, avec $\langle \mathcal{A}v, v \rangle > C_{\mathcal{A}} \|v\|_{L^2(\Gamma)}^2$ pour tout $v \in H^1(\Gamma)$, alors l'équation (2.34) donne

$$C_m \partial_t \|w\|_{L^2(\Gamma)}^2 + S_0 \|w\|_{L^2(\Gamma)}^2 + \langle S_{\text{ep}}(t, v_1)v_1 - S_{\text{ep}}(t, v_2)v_2, v_1 - v_2 \rangle \leq -C_{\mathcal{A}} \|w\|_{L^2(\Gamma)}^2,$$

et

$$\|w(t)\|_{L^2(\Gamma)}^2 \leq \exp\left(-\frac{S_0 + C_{\mathcal{A}}}{C_m}\right) \|w_0\|_{L^2(\Gamma)}^2. \quad (2.37)$$

Dans ce cas, la vitesse de convergence ne dépend plus uniquement de la conductivité de base de la membrane, mais aussi de la forme de la cellule et de la conductivité extérieure, qui sont présents dans la définition de \mathcal{A} . Nous donnons dans la section suivante une manière de mettre en évidence l'influence de ces paramètres.

Estimation de la vitesse de convergence vers le régime périodique pour une cellule circulaire.

Dans le cas d'une cellule circulaire dans un domaine 2D, il est possible d'affiner l'estimation (2.37) sur la vitesse de convergence.

Proposition 7.

Soit \mathcal{O}_c un disque de rayon R_1 et \mathcal{O}_e une couronne concentrique autour de \mathcal{O}_c , de rayon extérieur $R_2 > R_1$. Soit $H_p^{1/2}(\Gamma)$ l'espace des fonctions de $H^{1/2}(\Gamma)$ de moyenne nulle. Alors l'opérateur $(H_p^{1/2}(\Gamma), \mathcal{A}) : v \mapsto \mathcal{A}v = \Lambda_c(\text{Id} + \Lambda_e^{-1}\Lambda_c)^{-1}v$, où Λ_c et Λ_e sont définis en équations (2.14) et (2.15), est coercif.

PREUVE : On procède en explicitant les opérateurs Dirichlet-to-Neumann dans ce domaine particulier. Rappelons la définition de Λ_e :

$$\Lambda_e : H^{1/2}(\Gamma) \rightarrow H^{-1/2}(\Gamma), \quad u \mapsto -\partial_{\mathbf{n}}v \quad \text{où} \quad \begin{cases} \Delta v = 0 \text{ dans } \mathcal{O}_e, \\ v|_{\partial\Omega} = 0, \\ v|_{\Gamma} = u. \end{cases}$$

Exprimons u et v à l'aide de leurs séries de Fourier :

$$v = \sum_{k \in \mathbb{Z}^*} \alpha_k r^{|k|} e^{ik\theta} + \beta_k r^{-|k|} e^{ik\theta}, \quad u = \sum_{k \in \mathbb{Z}^*} u_k e^{ik\theta},$$

avec les termes constants $u_0 = v_0 = 0$. Les conditions aux bords Γ et $\partial\Omega$ s'écrivent alors

$$\forall k \in \mathbb{Z}^*, \quad \begin{cases} \alpha_k R_1^{|k|} + \beta_k R_1^{-|k|} = u_k, \\ \alpha_k R_2^{|k|} + \beta_k R_2^{-|k|} = 0. \end{cases}$$

On en déduit les coefficients α_k et β_k :

$$\begin{cases} \alpha_k = \frac{R_1^{|k|}}{R_1^{2|k|} - R_2^{2|k|}}, \\ \beta_k = \frac{R_1^{|k|} R_2^{2|k|}}{R_1^{2|k|} - R_2^{2|k|}}. \end{cases}$$

Ainsi,

$$\partial_{\mathbf{n}} v_k|_{R_1} = \frac{|k| R_2^{2|k|} + R_1^{2|k|}}{R_1 R_2^{2|k|} - R_1^{2|k|}} u_k.$$

L'opérateur Λ_e^{-1} est alors donné explicitement par

$$\Lambda_e^{-1} : v_k e^{ik\theta} \mapsto \frac{R_1}{\sigma_e |k|} \frac{R_2^{2|k|} - R_1^{2|k|}}{R_2^{2|k|} + R_1^{2|k|}} v_k e^{ik\theta}.$$

Pour l'opérateur Λ_c ,

$$\Lambda_c : H^{1/2}(\Gamma) \rightarrow H^{-1/2}(\Gamma), \quad u \mapsto -\partial_{\mathbf{n}} v \text{ où } \begin{cases} \Delta v = 0 \text{ dans } \mathcal{O}_c, \\ v|_{\Gamma} = u, \end{cases}$$

la fonction v s'écrit uniquement avec des puissances positives de r pour éviter une explosion à l'origine :

$$v = \sum_{k \in \mathbb{Z}^*} \alpha_k r^{|k|} e^{ik\theta}.$$

La condition sur Γ s'écrit alors $\alpha_k R_1^{|k|} = u_k$ et $\Lambda_c : u_k \mapsto \frac{|k|}{R_1} u_k$.

Au final,

$$\mathcal{A} = \Lambda_c (\text{Id} + \Lambda_e^{-1} \Lambda_c)^{-1} : u_k e^{ik\theta} \mapsto \frac{|k|}{R_1} \left(\frac{1}{\sigma_c} + \frac{1}{\sigma_e} \frac{R_2^{2|k|} - R_1^{2|k|}}{R_2^{2|k|} + R_1^{2|k|}} \right)^{-1} u_k e^{ik\theta}.$$

Ainsi,

$$\begin{aligned} \langle \mathcal{A}u, u \rangle &\geq \left(\frac{1}{\sigma_c} + \frac{1}{\sigma_e} \right)^{-1} \frac{1}{R_1} \sum_{k, l \in \mathbb{Z}} |k| u_k u_l \langle e^{ik\theta}, e^{il\theta} \rangle, \\ &\geq \left(\frac{1}{\sigma_c} + \frac{1}{\sigma_e} \right)^{-1} \frac{1}{R_1} \sum_{k, l \in \mathbb{Z}} |k| u_k u_l \int_0^{2\pi} e^{ik\theta} e^{il\theta} d\theta, \\ &\geq \left(\frac{1}{\sigma_c} + \frac{1}{\sigma_e} \right)^{-1} \frac{1}{R_1} \sum_{k \in \mathbb{Z}} |k| u_k^2, \\ &\geq \left(\frac{1}{\sigma_c} + \frac{1}{\sigma_e} \right)^{-1} \frac{1}{R_1} \|u\|_{H^{1/2}(\Gamma)}^2, \\ &\geq C_{\mathcal{A}} \|u\|_{L^2(\Gamma)}^2, \end{aligned} \tag{2.38}$$

d'après la définition de $\|\cdot\|_{H^{1/2}(\Gamma)}$ donnée par [74], page 141, avec

$$C_{\mathcal{A}} := \left(\frac{1}{\sigma_c} + \frac{1}{\sigma_e} \right)^{-1} \frac{1}{R_1}. \tag{2.39}$$

L'opérateur \mathcal{A} est donc coercif. □

Plusieurs remarques sur ce résultat :

Remarque 1 : Il n'est pas possible d'étendre cette propriété aux fonctions de moyenne non nulle, en conséquence de la non-inversibilité de Λ_c . Par exemple, les fonctions constantes $u = u_0 \neq 0$ vérifient $\langle \mathcal{A}u, u \rangle = 0 < \|u\|_{H^{1/2}(\Gamma)}^2$.

Remarque 2 : Il est également possible de considérer une cellule placée dans un champ électrique uniforme en amenant le rayon R_2 à l'infini, et en considérant uniquement le cas $|k| = 1$. Sous ces conditions, qui sont les plus fréquemment rencontrées dans les expériences, le rapport $\left(R_2^{2|k|} - R_1^{2|k|}\right) / \left(R_2^{2|k|} + R_1^{2|k|}\right)$ tend vers 1 et $\|u\|_{H^{1/2}(\Gamma)} = 2 \|u\|_{L^2(\Gamma)}$, de telle sorte qu'on ait l'égalité

$$\langle \mathcal{A}u, u \rangle = \left(\frac{1}{\sigma_c} + \frac{1}{\sigma_e}\right)^{-1} \frac{2}{R_1} \|u\|_{L^2(\Gamma)}. \quad (2.40)$$

Remarque 3 : Cette propriété peut être également montrée dans le cas tridimensionnel, en invoquant les fonctions harmoniques sphériques en lieu et place des séries de Fourier. En effectuant un calcul similaire, l'estimation sur la constante de coercivité diffère du cas 2D d'un facteur 2 :

$$\langle \mathcal{A}u, u \rangle \geq \left(\frac{1}{\sigma_c} + \frac{1}{\sigma_e}\right)^{-1} \frac{1}{2R_1} \|u\|_{H^{1/2}(\Gamma)}.$$

Remarque 4 : Lorsque la donnée extérieure est constante, et *a fortiori* périodique, ce résultat montre la convergence vers un état statique (U^*, X_1^*) , caractérisé par $X_1^* = \beta_1([U^*])$ pour les deux modèles de conductivité.

Les résultats numériques validant cette estimation de la constante $C_{\mathcal{A}}$ sont présentés en section 2.5.4.

2.5 Résultats du modèle électrique

Cette section est consacrée à l'étude du modèle dynamique à partir de simulations réalisées grâce à la méthode décrite en partie 2 du manuscrit. Après avoir présenté un résultat type, nous vérifions que notre modèle est capable de reproduire le comportement du modèle de Krassowska pour des micropulses. Une première étude sommaire de sensibilité est ensuite réalisée. Enfin, nous comparons les résultats produits par les modèles statique et dynamique, et montrons l'importance de choisir un modèle dynamique.

En figures 2.12, 2.13 et 2.14, on présente l'état d'une cellule 3D au cours du temps. Cette simulation a été réalisée avec les paramètres de la table 2.3. On constate qu'après une phase de charge linéaire de la membrane, la différence de potentiel transmembranaire atteint le seuil d'électroporation. À partir de cet instant, la conductivité de la membrane augmente, et un courant d'électroporation vient contrebalancer la hausse du potentiel. La valeur de la conductivité se stabilise alors pendant toute la durée du pulse, avant de diminuer progressivement une fois celui-ci coupé.

TABLE 2.3 – Paramètres de la simulation 3D pour le modèle électrique dynamique.

Variable	Symbole	Valeur	Unité
<i>Paramètres biologiques :</i>			
Conductivité du cytoplasme	σ_c	0,455	S/m
Conductivité extracellulaire	σ_e	0,1	S/m
Capacité de la membrane	C_m	1	F/m ²
Conductivité surfacique de la membrane au repos	S_0	1,9	S/m ²
Rayon de la cellule	R	10	μm
<i>Paramètres du modèle :</i>			
Seuil d'électroporation (EP)	V_{th}	0,4	V
Vitesse d'activation de l'EP	k_1	40	V ⁻¹
Temps caractéristique d'EP	$\tau_{1\text{up}}$	$2 \cdot 10^{-5}$	s
Temps caractéristique de fermetures des pores	$\tau_{1\text{dw}}$	$2 \cdot 10^{-5}$	s
Conductivité de la membrane électroporée	S_1	10^6	S/m ²
<i>Paramètres de pulses :</i>			
Voltage appliqué	$ \mathbf{E} $	40 000	V/m
Durée des pulses	T_p	10	μs
Période des pulses	T	20	μs
Durée des simulations	T_f	1000	μs
Porosité initiale	$X_{1,0}$	0	
<i>Paramètres numériques :</i>			
Taille du domaine de simulation	L	40	μs
Grille cartésienne	N	50^3	
Pas de temps	Δt	20	ns

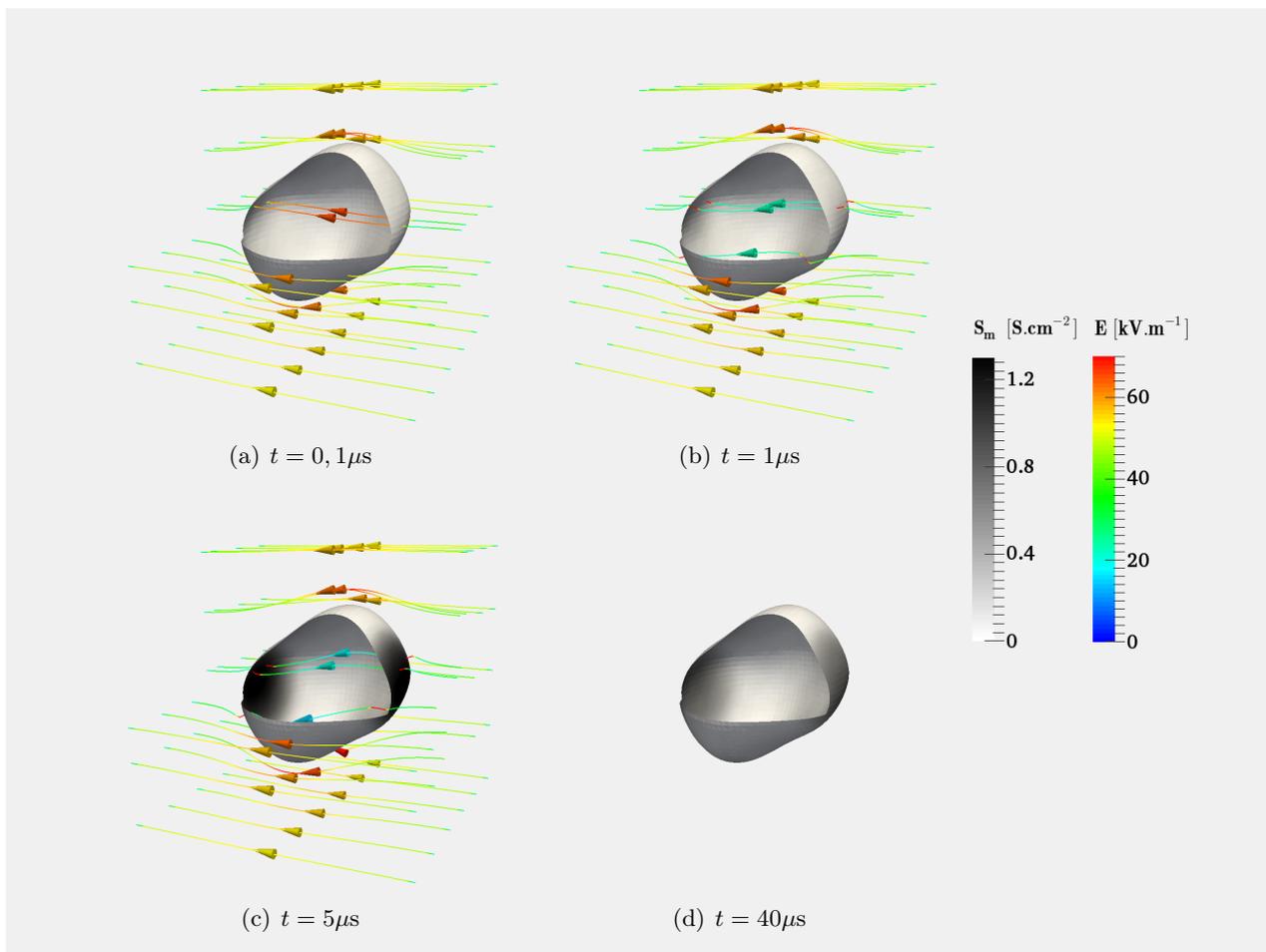


FIGURE 2.12 – Champ électrique E et conductivité surfacique S_m pour une cellule 3D en différents instants de la simulation : 2.12(a) pendant la phase linéaire de charge, 2.12(b) lorsque le seuil de voltage est atteint, 2.12(c) au cours du pulse, 2.12(d) dans la phase de décharge, après le pulse. Paramètres : table 2.3.

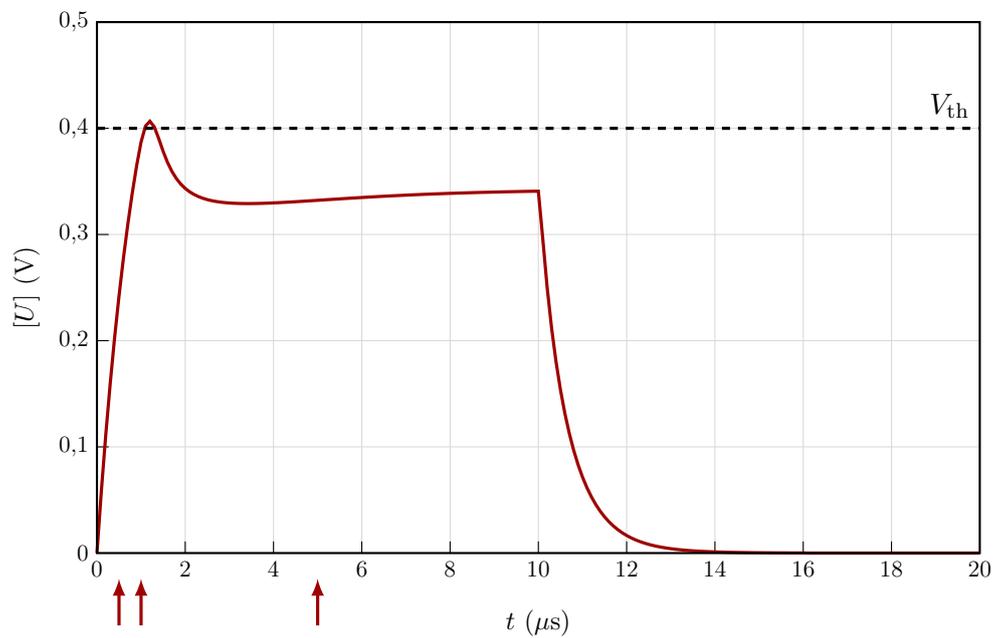


FIGURE 2.13 – Différence de potentiel transmembranaire au point de la cellule le plus proche de l'anode au cours du temps. Les flèches indiquent les temps des prises de vue de la figure 2.12. Paramètres : table 2.3.

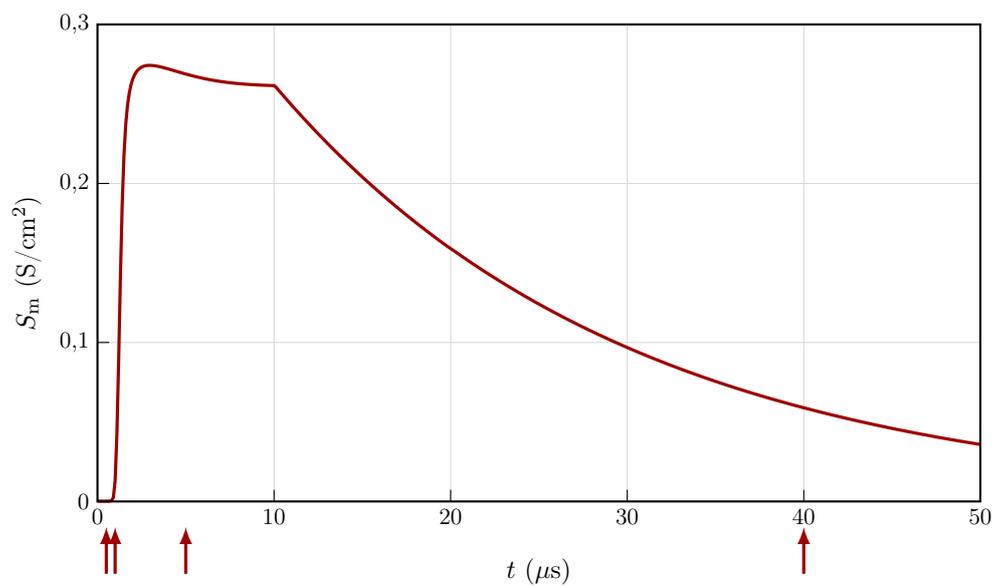


FIGURE 2.14 – Moyenne de la conductivité membranaire de la cellule au cours du temps. Les flèches indiquent les temps des prises de vue de la figure 2.12. Paramètres : table 2.3.

Remarque : Il est possible de prendre en compte la présence du noyau cellulaire en incluant un domaine supplémentaire à l'intérieur du cytoplasme. Les conditions de transmission sur l'enveloppe du noyau sont alors similaires à celles sur la membrane externe. Il faut alors obtenir ou déterminer une capacité et des conductivités minimum et maximum pour cette interface. Sur l'illustration suivante, nous avons choisi de conserver les mêmes valeurs que sur la membrane.

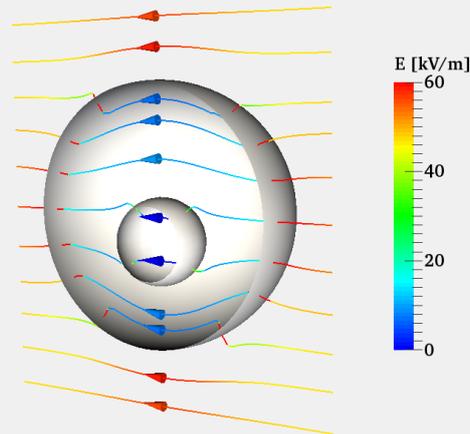


Figure - Champ électrique dans une cellule avec noyau, soumise à un pulse de 50 kV/m.

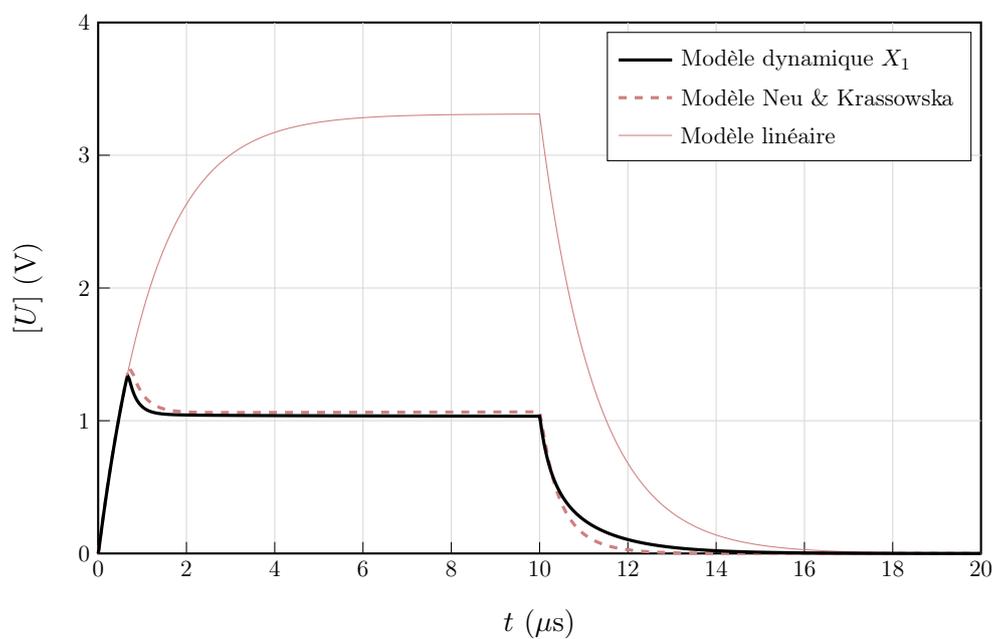
2.5.1 Comparaison avec le modèle de Neu et Krassowska.

Pour valider notre modèle, il est nécessaire que celui-ci soit capable de reproduire qualitativement les résultats donnés par le modèle de Neu et Krassowska. Pour cela, nous avons effectué une simulation 2D avec les mêmes paramètres de cellule et de pulse qu'en section 2.1. Les paramètres propres à notre modèle dynamique de conductivité ont été ajustés de façon à reproduire les comportements observés sur la différence de potentiel transmembranaire. Ceux-ci sont listés dans la table 2.4.

Les figures 2.15 et 2.16 montrent que le modèle peut être qualitativement en accord avec le modèle de Neu et Krassowska. Nous avons également calculé le courant d'électroporation le long de la membrane dans les deux cas et vérifié qu'ils étaient similaires, comme indiqué par la figure 2.17.

TABLE 2.4 – Paramètres de la simulation pour comparaison avec le modèle de Neu et Krassowska.

Variable	Valeur	Unité	Variable	Valeur	Unité
Paramètres biologiques :			Paramètres d'expérience :		
σ_e	5	S/m	$ \mathbf{E} $	40 000	V/m
σ_c	0,455	S/m	T_p	10	μs
C_m	$9,5 \cdot 10^{-3}$	F/m ²	$X_{1,0}$	0	
S_0	1,9	S/m ²	Paramètres numériques :		
R	50	μm	L	200	μ
δ	5	nm	N	150^2	
Paramètres du modèle :			Δt	5	ns
V_{th}	1,5	V	T_f	20	μs
k_1	40	V ⁻¹			
τ_{1up}	10^{-6}	s			
τ_{1dw}	10^{-3}	s			
S_1	$2,5 \cdot 10^8$	S/m ²			

**FIGURE 2.15** – Potentiel transmembranaire au pôle ($\theta = \frac{\pi}{2}$) de la cellule au cours du temps donné par le modèle de Krassowska et notre modèle.

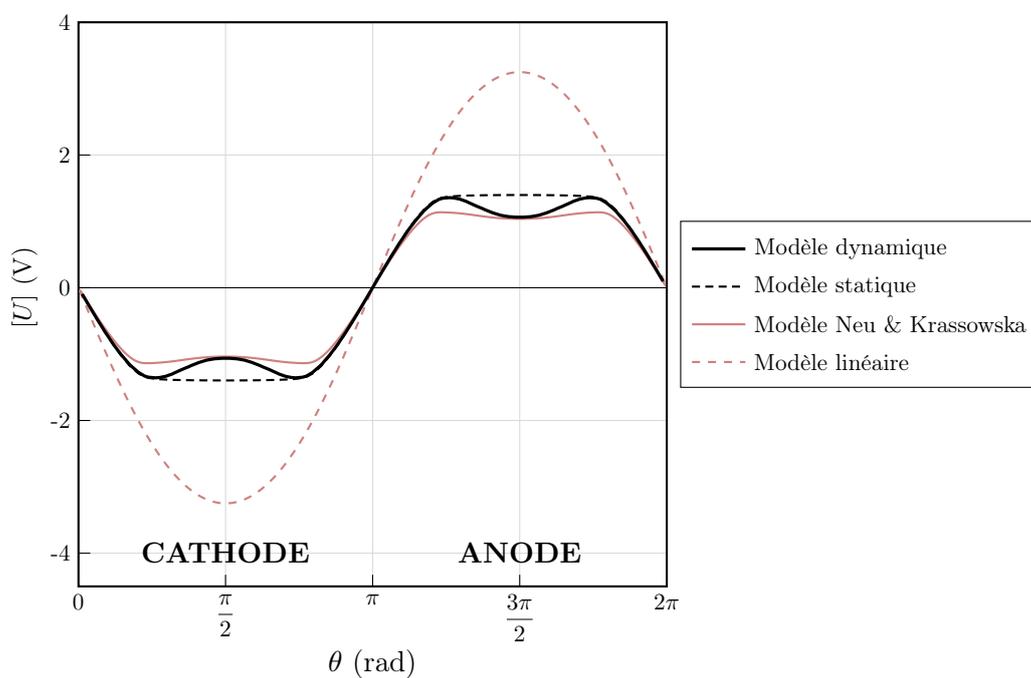


FIGURE 2.16 – Potentiel transmembranaire le long de la membrane obtenu grâce aux différents modèles présentés.

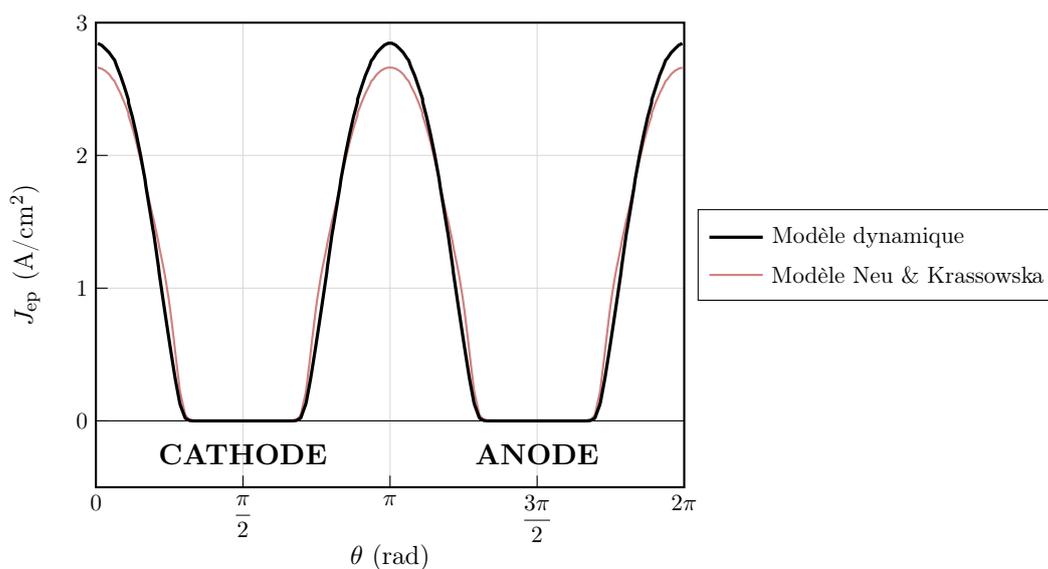


FIGURE 2.17 – Courant d'électroperoration J_{ep} le long de la membrane pour le modèle de Neu et Krassowska et notre modèle dynamique. Dans le cas du modèle de Neu et Krassowska, le courant vaut $J_{ep} = N_{ep} i_{ep}$, tandis qu'il vaut $J_{ep} = S_m([U]) [U]$ dans notre modèle.

2.5.2 Influence des paramètres

Une étude préliminaire de sensibilité du modèle à certains paramètres a été menée afin de déterminer lesquels d'entre eux sont les plus influents. Pour cela nous avons fait varier tour à tour chacun d'entre eux dans une gamme de valeurs raisonnables. Il est évident que cela ne constitue pas une exploration exhaustive de l'espace des paramètres, comme ce que l'on peut retrouver dans les résolutions de problème inverse. Le but est ici de simplement se familiariser avec le modèle et d'identifier les paramètres cruciaux sur lesquels il faudra concentrer l'effort dans la phase de calibration ultérieure.

Paramètres propres au modèle.

Les paramètres spécifiques à notre modèle dynamique qui influent sur la conductivité S_m de la membrane sont k_1 , V_{th} , S_1 et les constantes de temps τ_{1up} et τ_{1dw} . L'influence de chacun sur la conductivité a été réportée dans la figure 2.18.

Le paramètre k_1 définissant la pente de la fonction β_1 , qui traduit le changement entre les états de la membrane, n'a qu'une influence limitée sur la solution. Il est nécessaire de diminuer de façon importante la valeur de k_1 pour observer un effet sur la conductivité. Cependant, il n'est pas possible de le diminuer jusqu'à 0 : cela voudrait dire que la membrane deviendrait conductrice même sans aucune différence de potentiel.

La valeur du seuil de voltage influe sur la conductivité finale, dans la mesure où les expériences situent ce seuil entre 200 mV et 5 V, en fonction des cellules et des conditions d'application des pulses. L'influence reste cependant limitée dans la mesure où la gamme de conductivités ne couvre qu'un ordre de grandeur.

La dynamique de création des pores τ_{1up} ne semble avoir aucune influence sur la conductivité. Il faut cependant rappeler que celle-ci a été évaluée à la fin d'un pulse de 100 μs , et que ce résultat est susceptible de changer avec des nanopulses par exemple.

En revanche, on observe un phénomène similaire au cas statique avec la conductivité maximum S_1 atteignable par la membrane : la valeur finale du degré de porosité X_1 compense les variations de S_1 . Il est donc nécessaire ici également d'évaluer la perméabilisation avec la quantité S_m .

Paramètres externes.

Intéressons nous maintenant à la manière dont répond le modèle aux variations de paramètres externes tels que le rayon de la cellule ou la conductivité extracellulaire. Comme indiqué en section 6.2, où l'on calcule une solution analytique dans un cas très simple pour tester notre méthode numérique, la solution dépend principalement de ces deux données.

On constate en figure 2.19 qu'au terme d'un seul micropulse, les solutions extracellulaires les plus conductrices amènent à un niveau de conductivité plus important, ce dernier dépendant de l'intensité du pulse. On remarque cependant –voir figure 2.20– que quelle que soit la conductivité externe, la zone concernée par la hausse de conductivité reste la même.

En ce qui concerne le rayon des cellules, on observe que celui-ci a une influence importante sur le niveau de conductivité finale. La taille des cellules expérimentales étant souvent inférieure à 20 μm , nous retrouvons le fait observé que plus une cellule est petite, plus le voltage nécessaire pour la perméabiliser est important [38].

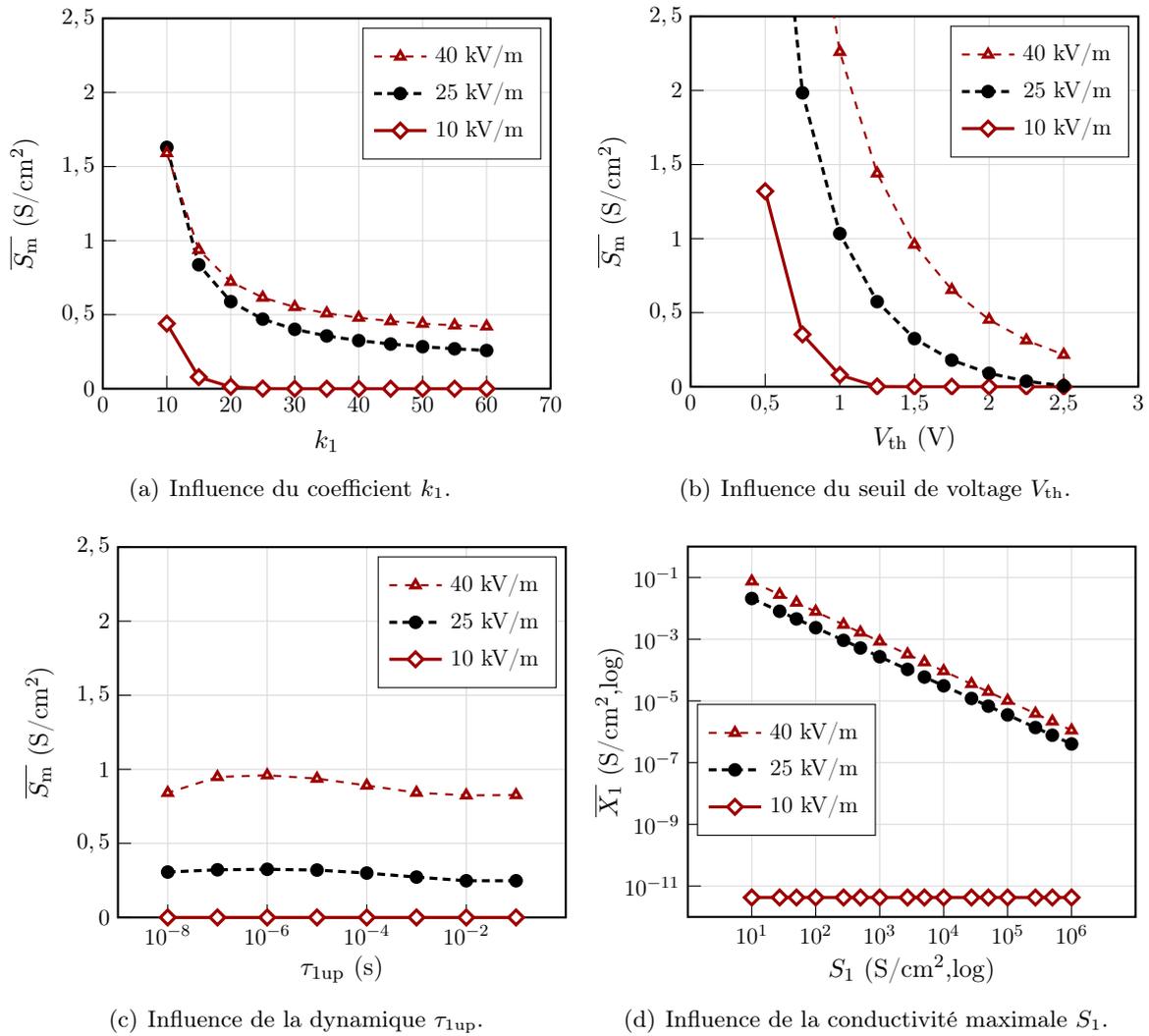


FIGURE 2.18 – Influence des paramètres propres au modèle dynamique sur la valeur moyenne $\overline{S_m}$ de la conductivité S_m et sur la valeur moyenne $\overline{X_1}$ du coefficient X_1 , à $t = 100 \mu\text{s}$. Trois amplitudes de pulses ont été considérées : 10, 25 et 40 kV/m.

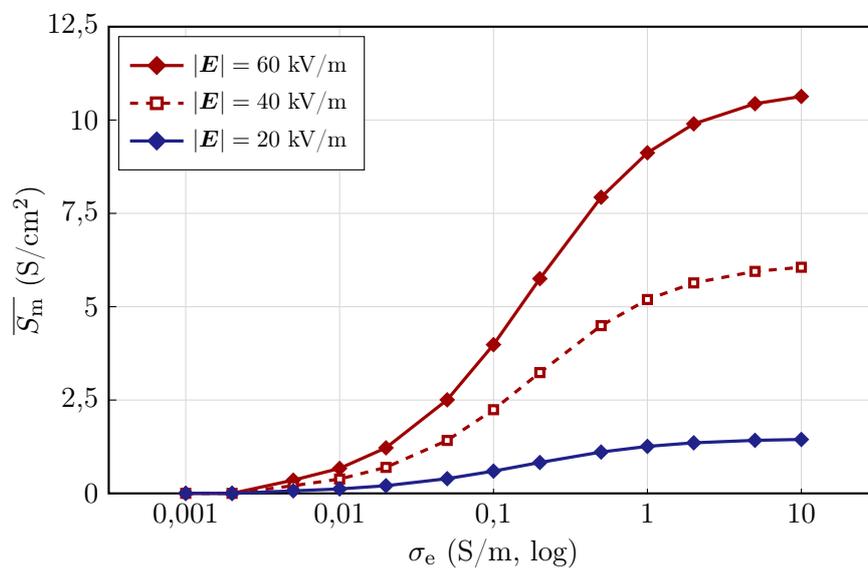


FIGURE 2.19 – Moyenne de la conductivité surfacique S_m en fonction de la conductivité externe pour différents voltages appliqués.

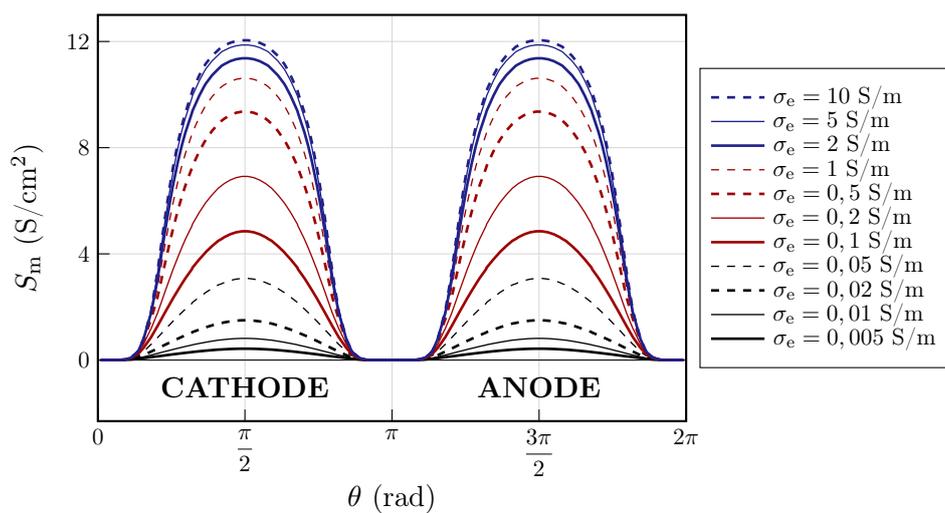


FIGURE 2.20 – Conductivité surfacique S_m de la membrane donnée par le modèle dynamique à $t = 100 \mu s$, avec un champ électrique de 40 kV/m, pour différentes conductivités externes σ_e .

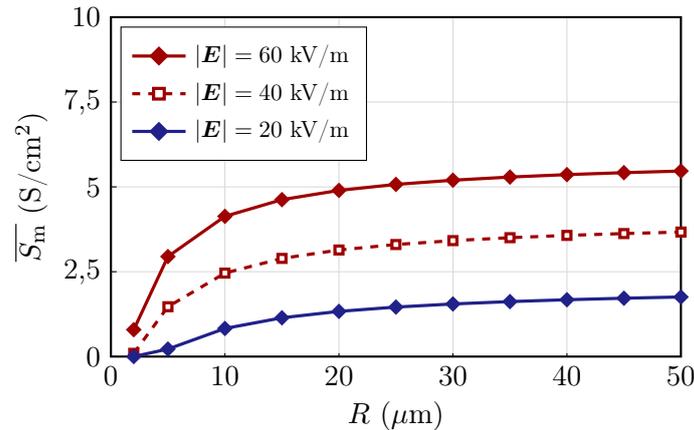


FIGURE 2.21 – Moyenne de la conductivité surfacique S_m en fonction du rayon de la cellule pour différents voltages appliqués et une conductivité externe $\sigma_e = 0,1$ S/m.

2.5.3 Comportement en temps long, comparaison avec le modèle statique.

Afin de poursuivre les comparaisons avec les modèles existants, nous avons effectué des simulations en temps long à pulse constant, pour vérifier si notre modèle dynamique converge bien vers les résultats du modèle statique. Nous montrons en figure 2.22 que cela est effectivement le cas pour la différence de potentiel transmembranaire, comme pour la conductivité surfacique qui en résulte. Notons cependant que si le potentiel tend vers une valeur d'équilibre plus proche du seuil qu'à la fin d'un micropulse (typiquement $100 \mu\text{s}$), la conductivité décroît au cours du temps. Ainsi, utiliser un modèle statique de conductivité pour des pulses courts conduit à une sous-évaluation de la conductivité membranaire durant le pulse. Si le but des simulations est de déterminer le voltage nécessaire pour obtenir une conductivité donnée, un modèle statique donnera des valeurs de champs électriques plus importantes, pouvant causer plus de dommage aux tissus. Cela met en exergue l'importance d'utiliser un modèle décrivant l'état transitoire de la cellule pour des pulses d'une durée inférieure à la milliseconde.

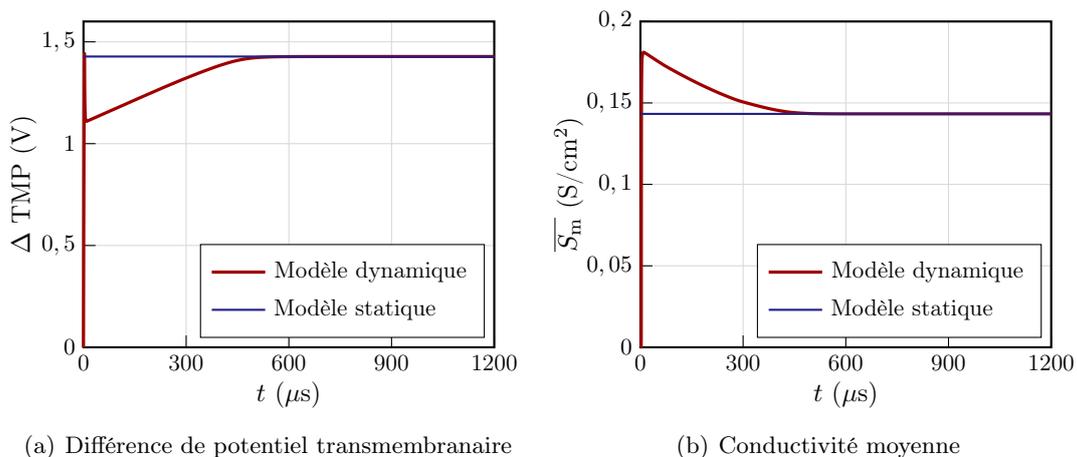


FIGURE 2.22 – Comparaison entre les modèles statique et dynamique. Les paramètres utilisés sont donnés en table 2.4.

TABLE 2.5 – Paramètres des simulations 2D avec pulses périodiques.

Variable	Symbole	Valeur	Unité
<i>Paramètres biologiques :</i>			
Conductivité du cytoplasme	σ_c	0,455	S/m
Capacité de la membrane	C_m	1	F/m ²
Conductivité surfacique de la membrane au repos	S_0	1,9	S/m ²
Rayon de la cellule	R	6	μm
<i>Paramètres du modèle :</i>			
Seuil d'électroporation (EP)	V_{th}	0,2	V
Vitesse d'activation de l'EP	k_1	40	V ⁻¹
Temps caractéristique d'EP	$\tau_{1\text{up}} = \tau_{1\text{dw}}$	10 ⁻⁶	s
Conductivité de la membrane électroporée	S_1	10 ⁶	S/m ²
<i>Paramètres de pulses :</i>			
Voltage appliqué	$ \mathbf{E} $	40 000	V/m
Durée des pulses	T_p	10	μs
Période des pulses	T	20	μs
Durée des simulations	T_f	1000	μs
<i>Paramètres numériques :</i>			
Taille du domaine de simulation	L	30	μs
Grille cartésienne	N	100 ²	
Pas de temps	Δt	200	ns

2.5.4 Solutions périodiques.

Nous présentons dans cette section les résultats consacrés aux pulses périodiques, en particulier sur la vitesse de convergence vers un régime périodique de la conductivité membranaire. Dans un premier temps, la constante de coercivité de l'opérateur \mathcal{A} déterminée en section 2.4.3, équation (2.39) sera évaluée. La non-linéarité due à la perméabilisation sera prise en compte dans un second temps, pour les modèles statique et dynamique de conductivité.

Les simulations ont été effectuées en 2D, avec pour paramètres les valeurs indiquées en table 2.5. La méthode numérique utilisée est la même que pour les modèles précédemment présentés, et donc détaillée dans la seconde partie de ce mémoire. Étant basé sur une grille cartésienne, il est bien plus aisé d'utiliser notre schéma dans un domaine rectangulaire $[x_{\min}, x_{\max}] \times [y_{\min}, y_{\max}]$, suffisamment grand par rapport au rayon de la cellule. Comme précédemment, les conditions de bord simulent un champ électrique uniforme d'amplitude $|\mathbf{E}|$ orienté dans la direction x .

Résultats du modèle linéaire.

Pour évaluer la constante $C_{\mathcal{A}}$ définie en (2.39) en fonction de la conductivité externe σ_e , nous considérons la conductivité constante, à sa valeur de base S_0 . Les paramètres de pulses retenus pour étudier les effets linéaires ne sont pas ceux rencontrés d'ordinaire dans les expériences. Les protocoles d'application des pulses laissent généralement une seconde entre deux chocs électriques, ce qui laisse largement de temps à la conductivité pour retrouver sa valeur initiale. La solution est alors déjà périodique pour n'importe quelle intensité de pulse. Pour éviter cela, la fréquence des pulses a été largement augmentée pour éviter la décharge complète de la membrane entre deux pulses. De plus, la capacité C_m de la membrane a été modifiée pour valoir 1 (au lieu de $\sim 0,01$) pour allonger la

durée de charge et décharge. Cela a aussi l'avantage de permettre une comparaison directe avec la valeur de $C_{\mathcal{A}}$, le facteur C_m^{-1} de l'équation (2.37) n'apparaissant plus.

La solution périodique \bar{v} du problème (2.32) est obtenue en effectuant une simulation sur une longue durée de 50 périodes, et en vérifiant que la dernière période ne diffère pas de l'avant-dernière de plus d'un ratio de 10^{-10} : si T_f désigne le temps final de simulation,

$$\frac{\int_{T_f-T}^{T_f} \|\bar{v}(t) - \bar{v}(t-T)\|_{H^{1/2}(\Gamma)} dt}{\int_{T_f-T}^{T_f} \|\bar{v}(t)\|_{H^{1/2}(\Gamma)} dt} < 10^{-10}. \quad (2.41)$$

Si cette condition est remplie, alors la dernière période est considérée comme la solution périodique. On calcule alors l'erreur avec la solution calculée v

$$e(t) := \|\bar{v}(t) - v(t)\|_{L^2(\Gamma)}. \quad (2.42)$$

Un *fit* de l'erreur est alors effectué avec une fonction exponentielle :

$$e(t) \sim Ae^{-Bt}, \quad (2.43)$$

où A et B sont des constantes, comme illustré en figures 2.23 et 2.24. La constante B peut être vue comme une estimation de la vitesse de convergence $S_0 + C_{\mathcal{A}}$.

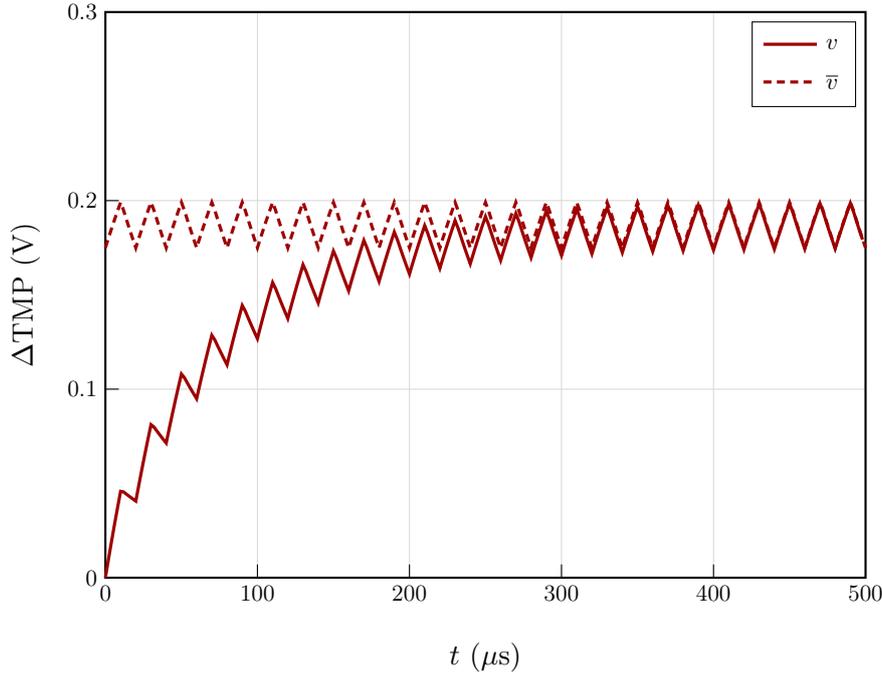


FIGURE 2.23 – Différence de potentiel transmembranaire (trait plein) et solution périodique (pointillé) pour le problème linéaire, avec $\sigma_e = 0.2 \text{ S.m}^{-1}$.

Le processus est répété pour différentes valeurs de la conductivité extracellulaire σ_e , et différents rayons de cellules R_1 . Les coefficients de Fourier des solutions sont calculés de façon à vérifier si la forme carrée du domaine de simulation n'est pas trop importante. On rappelle que l'évaluation directe de $C_{\mathcal{A}}$ grâce aux normes $L^2(\Gamma)$ n'est possible que dans le cas où $|k| = 1$ (cf. remarque et equation (2.40)). Les simulations ont montré des coefficients de Fourier maximum u_k , $|k| \neq 1$ pour $|k| = 3$, avec $u_{|3|} \sim 0.001u_{|1|}$. Les figures 2.25 et 2.26 montrent que la dépendance de la vitesse de convergence B avec σ_e et \mathbb{R}_1 correspond à l'estimation.

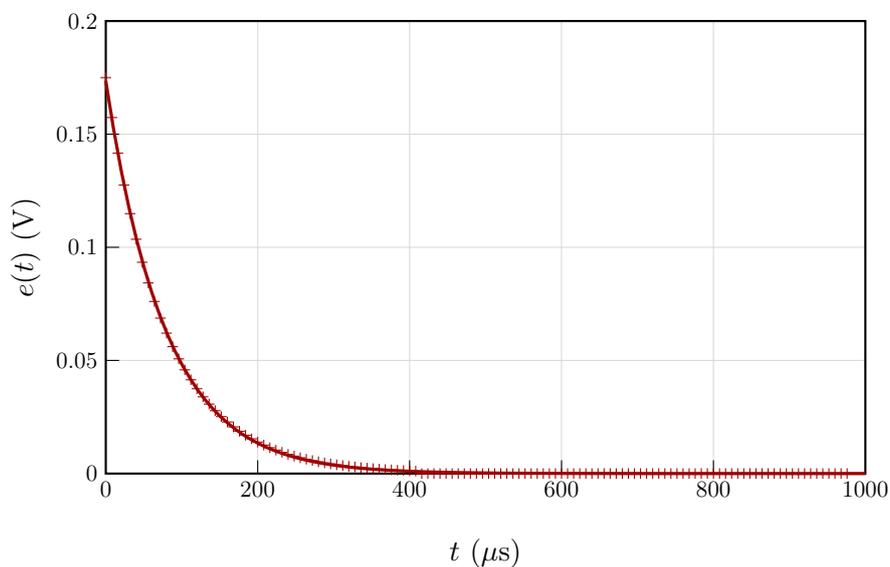


FIGURE 2.24 – Fit de l'erreur $e(t)$ définie à l'équation (2.42) entre la différence de potentiel transmembranaire et la solution périodique, donnant la constante $B \sim S_0 + C_A$.

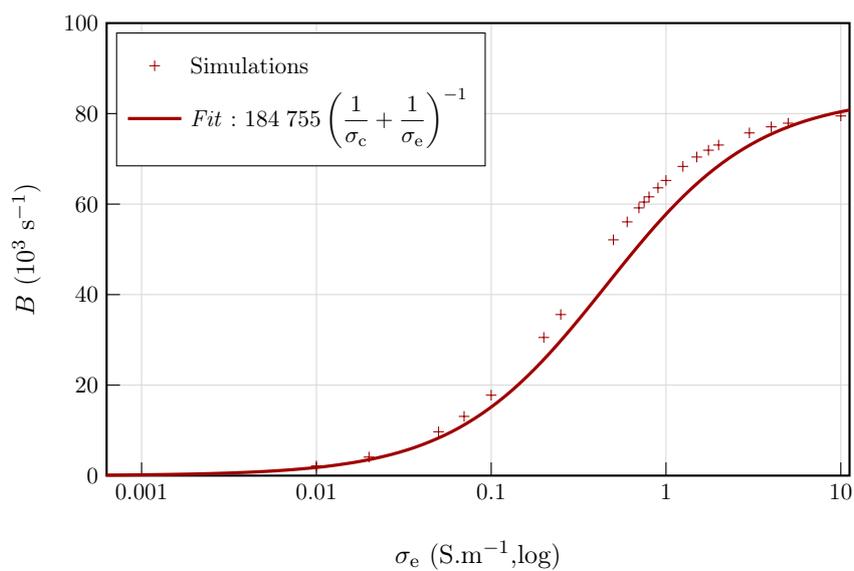


FIGURE 2.25 – Modèle de conductivité linéaire : vitesse de décroissance B de l'erreur L^2 en fonction de la conductivité extracellulaire σ_e avec $R_1 = 6 \mu\text{m}$. La constante de fit est de l'ordre de grandeur de $R_1^{-1} \sim 167\,000$.

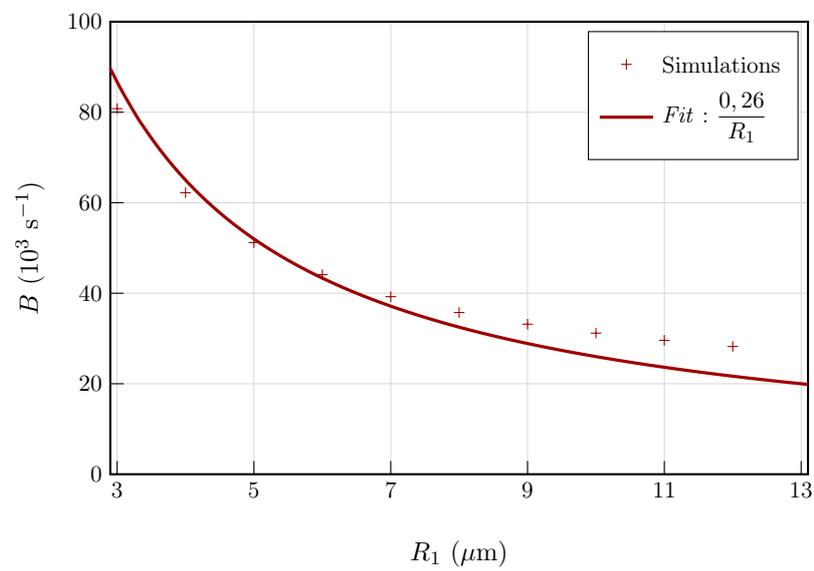


FIGURE 2.26 – Modèle de conductivité linéaire : vitesse de décroissance B de l'erreur L^2 en fonction du rayon de la cellule avec $\sigma_e = 0,5 \text{ S.m}^{-1}$. La constante de *fit* est de l'ordre de grandeur de $(\sigma_c^{-1} + \sigma_e^{-1})^{-1} \sim 0,24$.

Résultats du modèle statique de conductivité.

La même méthode a été employée pour étudier la vitesse de convergence vers le régime périodique quand la conductivité de la membrane est une fonction non-linéaire de la différence de potentiel transmembranaire (ΔTMP). Les simulations ont abouti à une convergence exponentielle vers la solution périodique, comme dans le cas linéaire. Notons maintenant C cette vitesse :

$$e(t) \sim e^{-Ct}e(0).$$

La constante C contient toujours la conductivité au repos de la membrane, ainsi que la coercivité de l'opérateur \mathcal{A} . Notons $C = S_0 + C_{\mathcal{A}} + C_{S_{\text{ep}}}$, où $C_{S_{\text{ep}}}$ est la contribution de la non-linéarité.

La figure 2.27 montre que les quantités C et $C_{S_{\text{ep}}}$ varient de manière similaire au modèle linéaire, la différence étant un facteur multiplicatif. Cela s'explique par le fait que le ΔTMP n'atteint pas la même valeur maximale dans tous les cas. Un milieu externe peu conducteur entraîne un ΔTMP moindre, et inversement. Cela influence notamment la valeur maximale que peut prendre $C_{S_{\text{ep}}}$. Si on note λ_{max} la valeur maximale du ΔTMP , alors

$$C_{S_{\text{ep}}} \leq S_1 \max_{\lambda} |(\lambda\beta_1(\lambda))'| = S_1 (\beta_1(\lambda_{\text{max}}) + |\lambda_{\text{max}}| \beta_1'(\lambda_{\text{max}})) := C_{\text{max}}, \quad (2.44)$$

car λ_{max} est inférieur au seuil V_{th} dans toutes nos simulations. La figure 2.28 montre une évolution similaire entre les quantités C_{max} et $C_{S_{\text{ep}}}$.

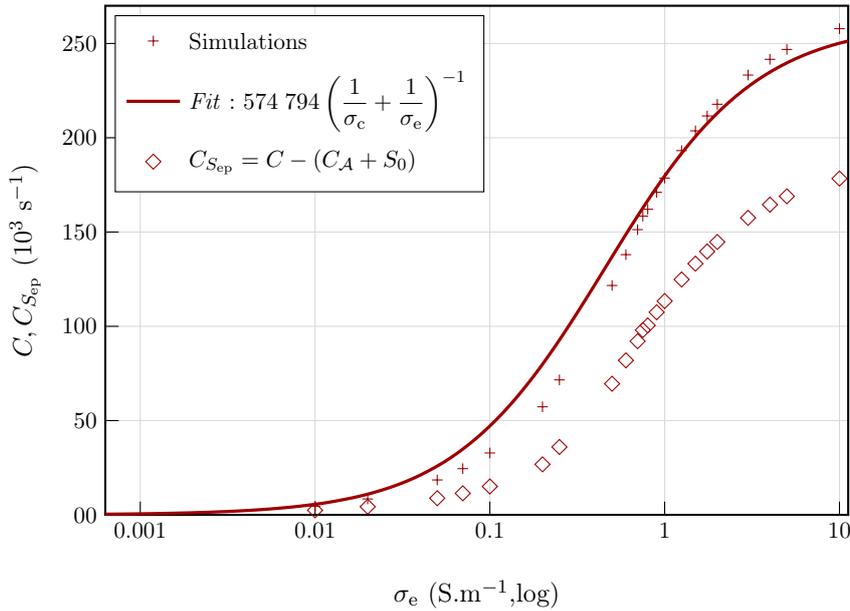


FIGURE 2.27 – Modèle β de conductivité : évolution de la vitesse de convergence vers un régime périodique en fonction de σ_e . La contribution de la non-linéarité $C_{S_{\text{ep}}}$ a également été tracée à part, à partir des valeurs de $C_{\mathcal{A}}$ présentées en figure 2.25.

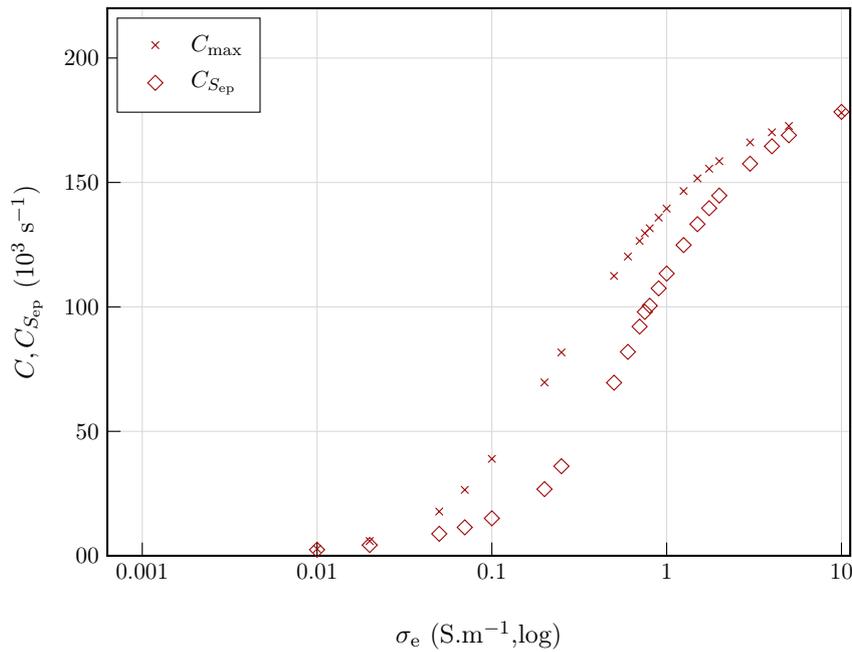


FIGURE 2.28 – Comparaison entre C_{sep} obtenu avec les simulations et l'estimation de C_{max} donnée par l'équation (2.44), calculée à partir des valeurs maximales de ΔTMP des simulations.

Modèle dynamique de conductivité.

La figure 2.29 montre une évolution différente de la vitesse de convergence pour le modèle dynamique X_1 . Pour des conductivités faibles, le comportement reste le même que dans le cas statique. En revanche, passée une valeur de conductivité externe, correspondant à la valeur de la conductivité interne, la vitesse de convergence peut retrouver les valeurs du cas linéaire, lorsque le temps caractéristique d'électroporation τ_{1up} est suffisamment grand. Pour de petites valeurs de τ_{1up} , la membrane réagit de manière quasi-instantanée par rapport au temps de charge, et on se rapproche alors du modèle statique, ce que confirment les résultats.

Les résultats présentés dans cette section ont tous trait à la vitesse de convergence vers un état périodique. Il est sans doute plus intéressant de traduire ceux-ci en termes de nombre de pulses à appliquer pour atteindre ce régime. En figure 2.30 est tracé le nombre de pulses nécessaires pour obtenir une réponse périodique de la cellule. Il est calculé de telle sorte que la simulation ne diffère pas de la solution périodique de plus de 1% en norme $L^2(\Gamma)$:

$$N(\sigma_e) := \left\lceil \frac{2 \ln 10}{C(\sigma_e)T} \right\rceil. \quad (2.45)$$

On peut constater que pour les cas où il y a effectivement perméabilisation ($\sigma_e \geq 0,3 \text{ S.m}^{-1}$), trois à quatre pulses supplémentaires sont nécessaires pour obtenir la convergence dans le cas dynamique, en comparaison avec le modèle statique pour lequel deux pulses sont suffisants. Si l'intention est d'obtenir une conductivité du niveau de la solution périodique, alors simplement considérer un modèle statique de conductivité peut amener à un niveau moindre de perméabilisation que celui prévu.

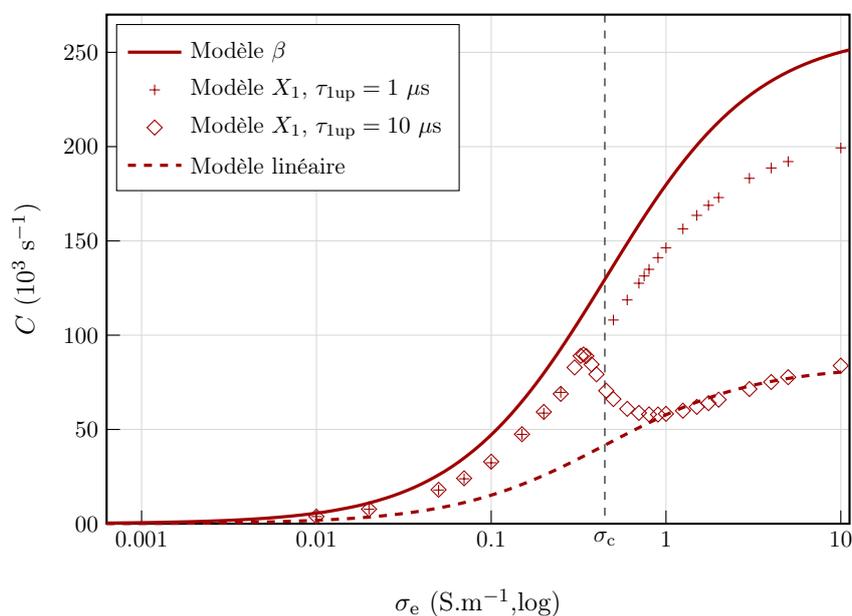


FIGURE 2.29 – Modèle X_1 de conductivité : évolution de la vitesse de convergence vers un régime périodique en fonction de σ_e , pour deux dynamiques de poration.

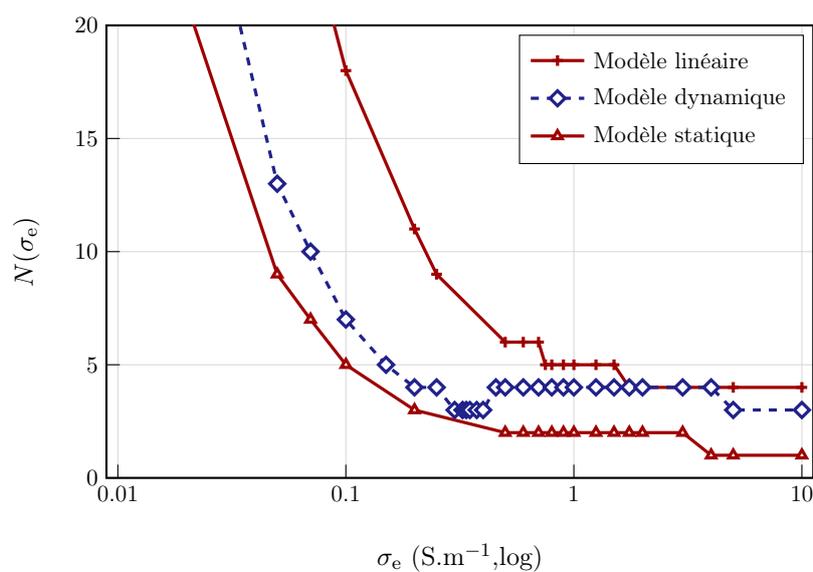


FIGURE 2.30 – Nombre de pulses nécessaires pour atteindre le régime périodique en fonction de la conductivité extracellulaire, pour les modèles de conductivité constante, statique et dynamique.

Chapitre 3

Électroporation et électroperméabilisation

L'explication aujourd'hui privilégiée et la plus intuitive pour expliquer les modifications des propriétés électriques des membranes cellulaires ainsi que l'incorporation de molécules est la formation de pores circulaires. Lorsque la membrane est ainsi ouverte, des échanges se produisent entre le cytoplasme et le milieu extra-cellulaire, en fonction du degré de porosité. Si ce dernier est suffisamment important pour laisser passer par exemple des brins d'ADN, il paraît alors assez difficile de maintenir un tel état pendant plusieurs minutes sans compromettre l'intégrité de la cellule.

Nous verrons dans ce chapitre que plusieurs résultats expérimentaux contradictoires montrent que l'hypothèse des pores n'est pas suffisante pour les expliquer. Nous montrerons en particulier qu'il est nécessaire de distinguer deux dynamiques qui caractérisent les états conducteur et perméable de la membrane.

3.1 Mise en évidence de deux dynamiques distinctes

- En 1979, Benz et Zimmermann réalisent des expériences sur les membranes lipidiques [8], en particulier sur le temps de décharge électrique de celles-ci. En mesurant un rapport courant-voltage, ils mettent en avant un retour à un état d'équilibre électrique qui se produit en l'espace de *quelques microsecondes* (figure 3.1). La membrane retrouve alors une conductivité qui est proche de la conductivité au repos. Ce processus a pu être répété une vingtaine de fois, au cours desquelles la conductivité atteignait le même maximum et retrouvait l'état initial une fois les pulses coupés.
- Un grand nombre de simulations de dynamique moléculaire porte sur la formation de pores dans des bicouches lipidiques, en quelques nanosecondes. En revanche, trop peu de celles-ci portent sur la fermeture de ces pores pour en tirer un résultat fiable. Cela étant dit, elles semblent indiquer un retour à l'état initial en une durée similaire [101, 85, 86] (figure 3.2).
- Plusieurs expériences de Teissié, Rols *et al.* [72, 41], montrent en revanche que le caractère perméable de la membrane dure *plusieurs minutes*. La figure 3.3 montre que de l'iodure de propidium (PI, un marqueur fluorescent), même injecté quinze minutes après application du champ électrique, parvient à rentrer dans les cellules. La quantité de molécules intégrée reste cependant inférieure au cas où l'injection de PI a lieu avant les pulses. Cela indique néanmoins que le champ électrique n'est pas seul responsable de l'internalisation du PI. De nombreuses autres expériences faisant intervenir des molécules non chargées comme la bléomycine mettent en évidence cette longue durée du caractère perméable des cellules.

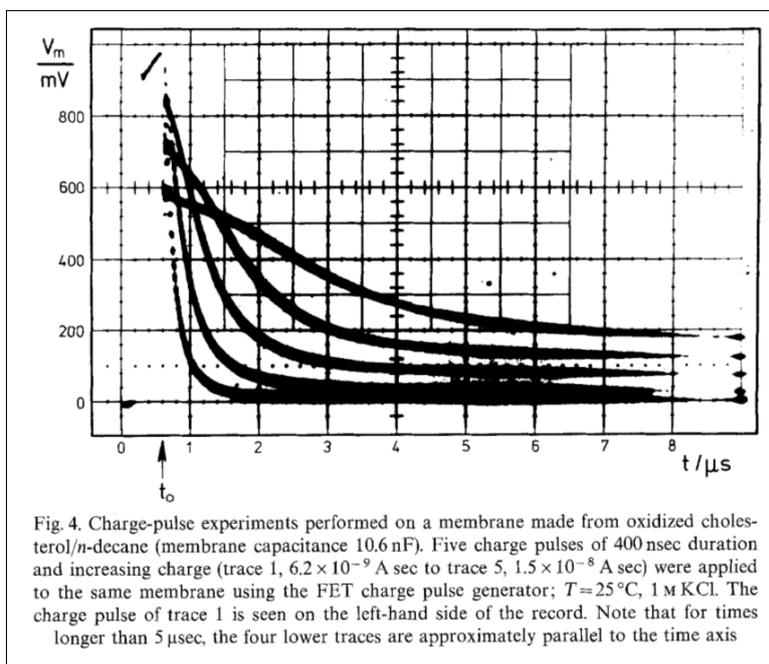


Fig. 4. Charge-pulse experiments performed on a membrane made from oxidized cholesterol/*n*-decane (membrane capacitance 10.6 nF). Five charge pulses of 400 nsec duration and increasing charge (trace 1, 6.2×10^{-9} A sec to trace 5, 1.5×10^{-8} A sec) were applied to the same membrane using the FET charge pulse generator; $T=25^\circ C$, 1 M KCl. The charge pulse of trace 1 is seen on the left-hand side of the record. Note that for times longer than 5 μsec , the four lower traces are approximately parallel to the time axis

FIGURE 3.1 – Extrait de l'article de Benz et Zimmermann [8].

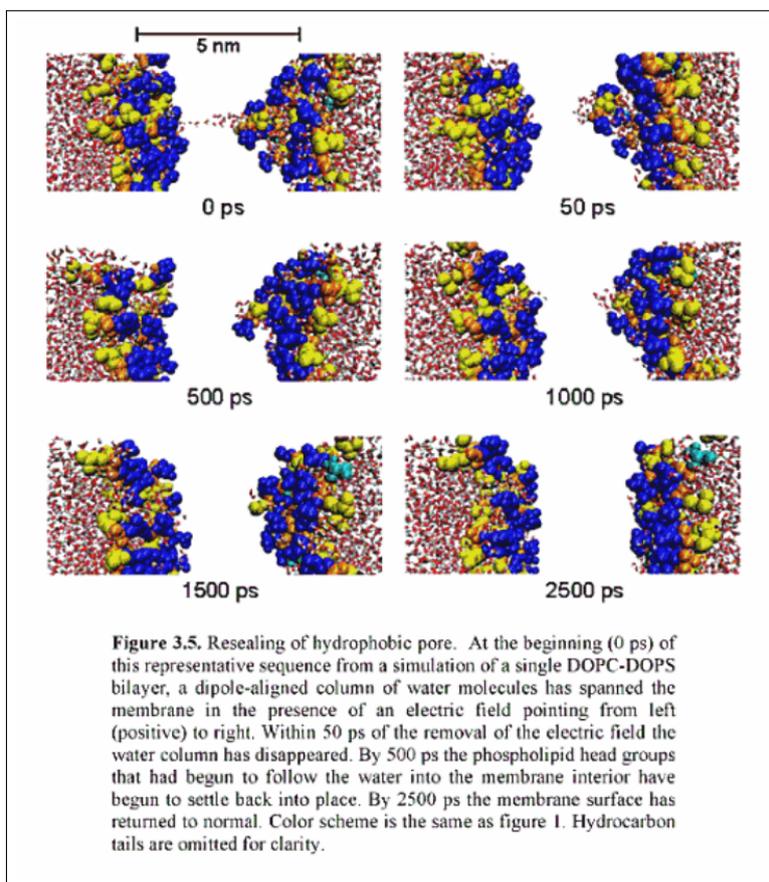
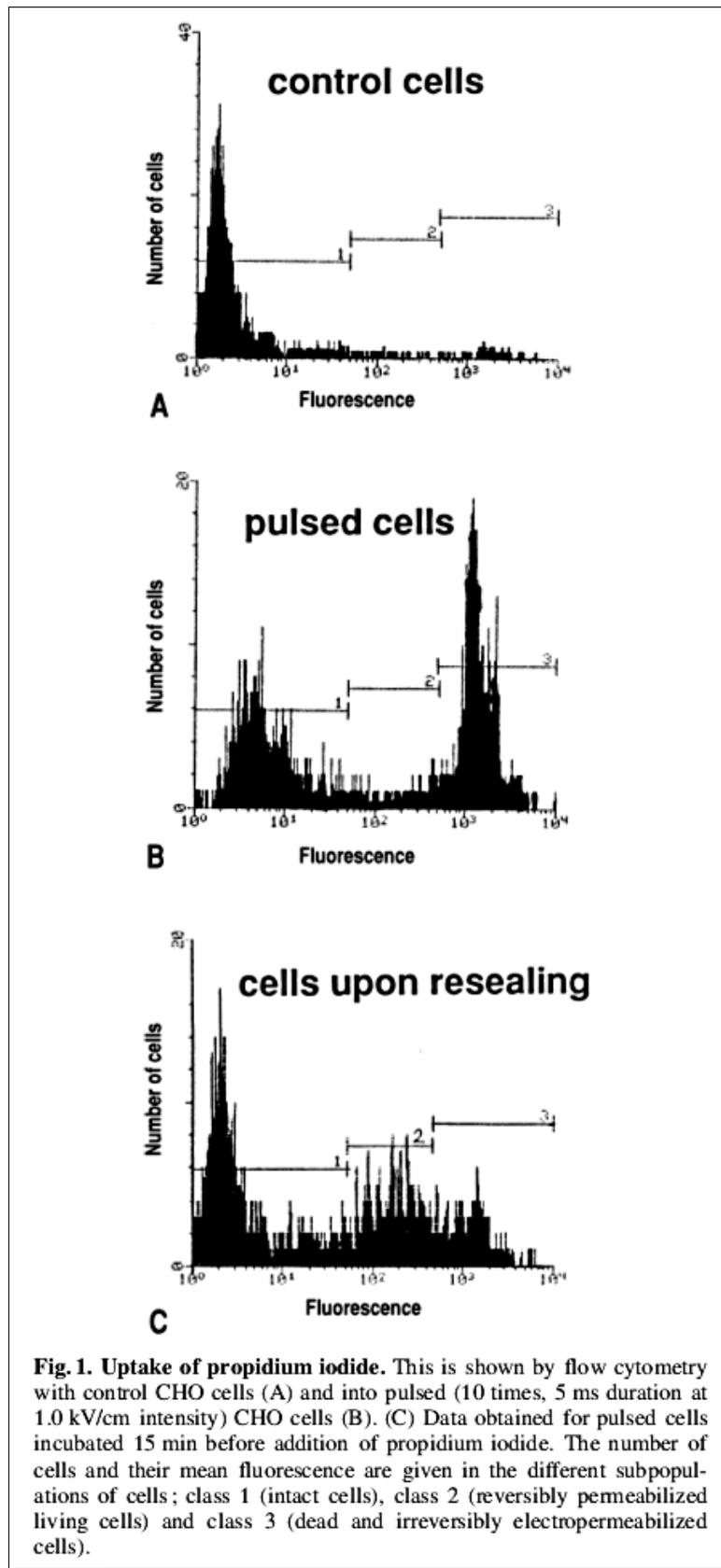


Figure 3.5. Resealing of hydrophobic pore. At the beginning (0 ps) of this representative sequence from a simulation of a single DOPC-DOPS bilayer, a dipole-aligned column of water molecules has spanned the membrane in the presence of an electric field pointing from left (positive) to right. Within 50 ps of the removal of the electric field the water column has disappeared. By 500 ps the phospholipid head groups that had begun to follow the water into the membrane interior have begun to settle back into place. By 2500 ps the membrane surface has returned to normal. Color scheme is the same as figure 1. Hydrocarbon tails are omitted for clarity.

FIGURE 3.2 – Extrait de la thèse de Ziegler [101].

FIGURE 3.3 – Extrait de l'article de Rols *et al.* [72]

En confrontant ces différents résultats, on en déduit que l'existence de pores, si elle est vraisemblable pendant les pulses, n'est plus valide une fois ceux-ci coupés, la membrane retrouvant des propriétés électriques proches de celles de départ. La structure de la membrane a pourtant bien été altérée, puisque des molécules continuent à la franchir bien après.

Une proposition d'explication nous a été proposée par Lluís Mir et Aude Silve. La perméabilisation est un processus qui nécessite de l'énergie, mais n'est constatée que si cette énergie est apportée suffisamment longtemps. Ces deux conditions sont caractéristiques des réactions chimiques. Si l'on s'intéresse à ce qu'il se passe à l'échelle de la membrane pendant les pulses, l'énergie est apportée de façon considérable par le champ électrique (environ 1 V de différence en 5 nm), pendant au moins plusieurs nanosecondes. De plus, la présence des pores dans la bicouche amène des molécules d'eau au voisinage des parties hydrophobes des lipides. La réaction chimique la plus probable avec ces conditions est une oxydation des lipides saturés constituant la membrane. Cela a été mis en évidence par des simulations de dynamique moléculaire [91] et confirmé par des expériences de spectrographie de masse de membranes de liposomes soumises à des champs électriques (figure 3.4, résultats en cours de publication). Les décalages des pics par multiples de 16 entre les espèces de contrôles et les espèces de membranes perméabilisées est caractéristique des réactions d'oxydation. Si une quantité suffisante de lipides est altérée dans une région, on peut imaginer que la membrane y serait plus en mesure de laisser passer certaines molécules. En bref, l'état perméable de la membrane serait dû à une oxydation des lipides, déclenchée par le champ électrique et la présence de pores.

Une fois les pulses coupés, les zones où se trouvaient des pores aqueux se refermeraient, amenant à un état électrique proche de l'état de départ. Les lipides oxydés de ces zones seraient alors réparés par la cellule par un mécanisme d'exocytose, qui nécessite un temps de l'ordre de plusieurs minutes. Cela expliquerait la durée de plusieurs minutes pendant laquelle la cellule reste perméable. Il faut ajouter à cela le fait que les lipides diffusent le long de la membrane, ce qui serait un élément expliquant la désensibilisation des cellules observée expérimentalement (voir section 5.5 de [80]). La diffusion des lipides est un mécanisme bien connu et chiffré, la constante de diffusion valant autour de $1 \mu\text{m}^2/\text{s}$ [14, 90, 87].

La figure 3.5 résume sous forme schématique l'hypothèse qui nous a été proposée.

3.2 Modélisation des états conducteur et perméable

Dans le chapitre précédent, nous avons utilisé une variable X_1 pour situer l'état de la membrane entre un état au repos et un état de conductivité maximale. Cette variable peut être vue comme le degré local de porosité de la membrane. Pour modéliser les deux dynamiques introduites en section 3.1, nous ajoutons au modèle dynamique une autre variable, notée X_2 , qui décrit le degré d'altération des lipides, et par conséquent, le degré de perméabilité de la membrane.

Remarque : La notion de perméabilité de la membrane est différente de ce que l'on peut rencontrer en géotechnique lors de mesures de conductivité hydraulique des sols, comme reporté par Chapuis et Aubertin [13]. En effet, les mécanismes expliquant comment une molécule peut franchir la membrane ne sont pas encore clairement définis, en particulier lorsque la porosité serait nulle, contrairement à un fluide entraîné par gravité à travers un matériau poreux. Il n'est donc pas possible d'établir une relation algébrique directe entre porosité et perméabilité du type Kozeny-Carman.

Contrairement au modèle dynamique (2.13), le temps caractéristique de fermeture des pores, et donc de diminution de X_1 , sera choisi bien plus court pour retrouver le comportement montré par Benz et Zimmermann.

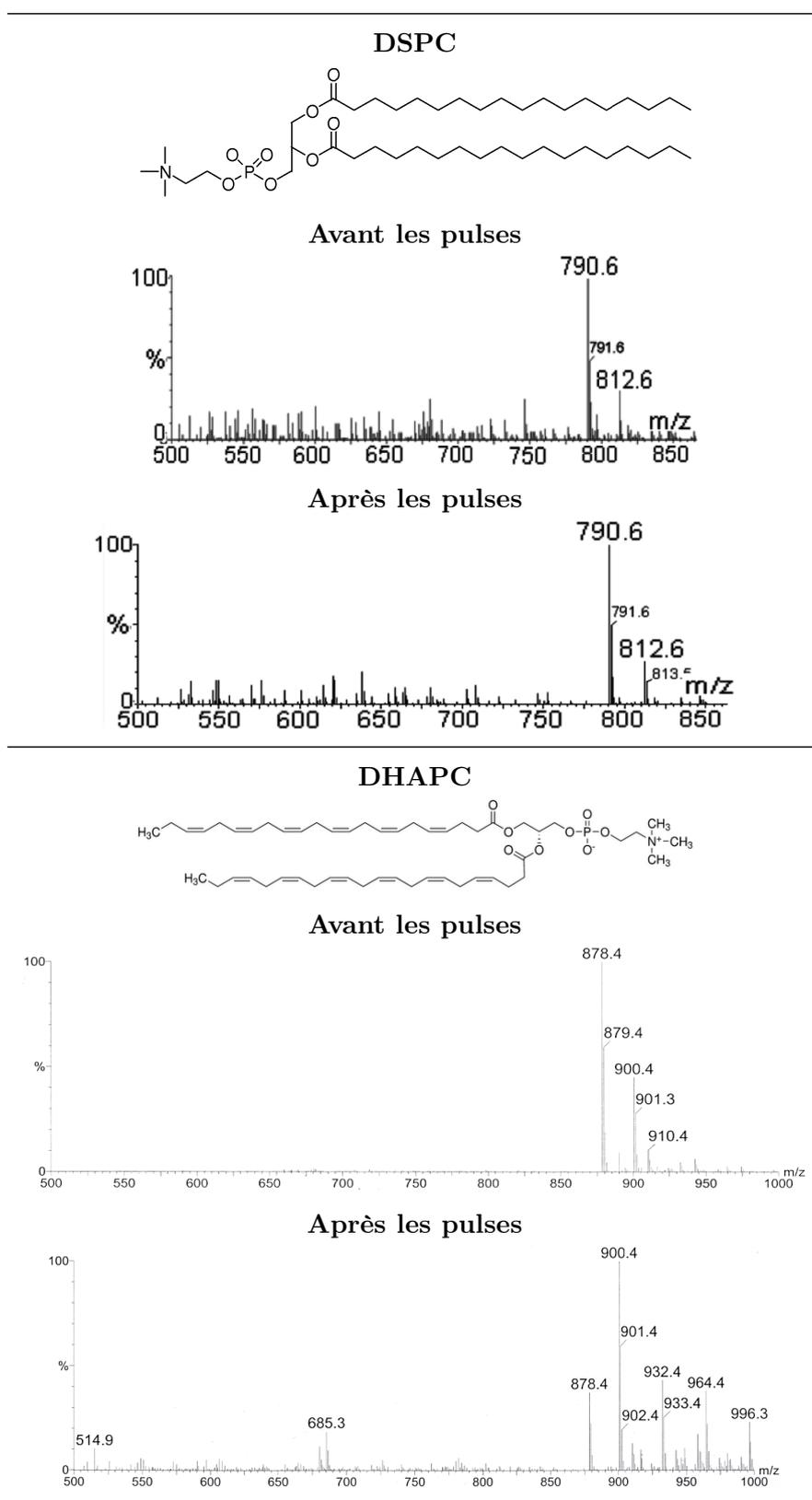


FIGURE 3.4 – Résultats de Marie Breton, présentés à la conférence BioEM 2013, Thessalonique : Spectrogrammes de masse de molécules de DSPC (insaturés, pas sujets à l'oxydation, colonne de gauche) et de DHAPC (saturés, fortement oxydable, colonne de droite). Les lipides proviennent de vésicules qui ont été soumis à 500 pulses de 10 ns, 2,5 MV/m. Les pics 932, 964 et 996 du spectrogramme des DHAPC correspondent à des ajouts respectifs de 2, 4 et 6 atomes d'oxygène (simple, double et triple peroxydation).

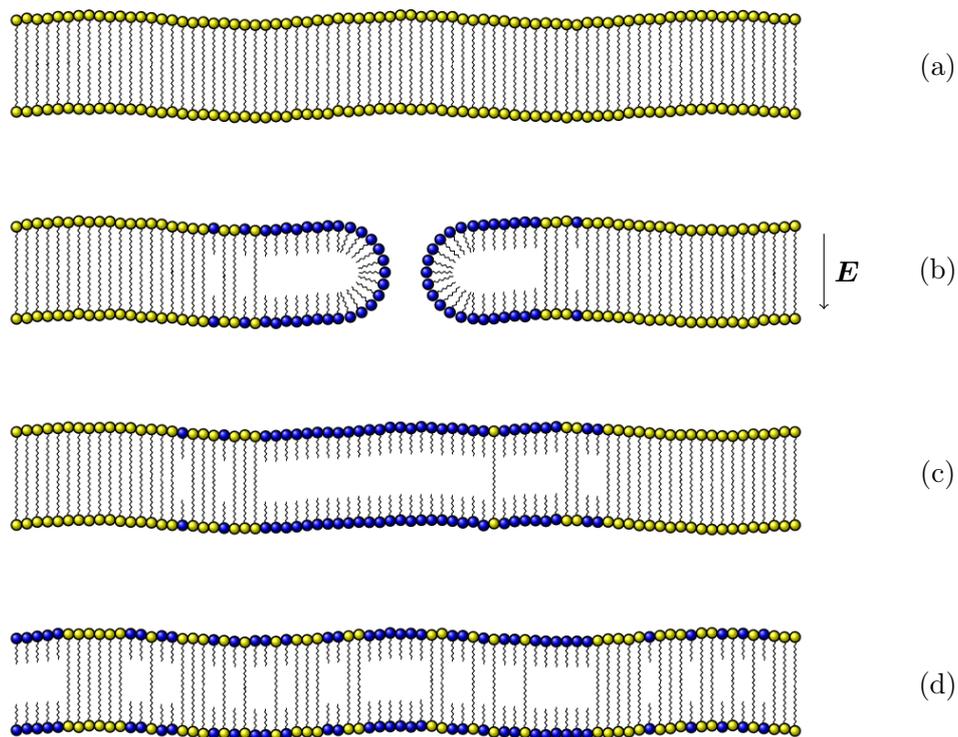


FIGURE 3.5 – Perméabilisation de la membrane cellulaire à l'échelle des lipides.

- (a) Membrane au repos.
- (b) Création d'un pore sous l'effet du champ électrique. L'énergie apportée et la présence d'eau entraîne l'oxydation des lipides.
- (c) Fermeture du pore quelques microsecondes après la fin du pulse. Les lipides restent oxydés.
- (d) Diffusion des lipides altérés. Ils seront peu à peu remplacés par exocytose, en l'espace de plusieurs minutes.

Pour modéliser l'évolution de l'altération des lipides, nous optons pour une équation de réaction-diffusion sur X_2 , définie uniquement sur Γ :

$$\begin{cases} \partial_t X_2(t, X_1) - d_L \Delta_\Gamma X_2(t) = F(X_1, X_2), \\ X_2(0, X_1) = X_{2,0}. \end{cases} \quad (3.1)$$

La perméabilisation étant créée pendant le temps d'existence des pores et du champ électrique, la variable déclenchant l'augmentation de X_2 est X_1 et non plus $[U]$. Nous choisissons un terme source similaire à celui de l'équation sur X_1 , dont les dynamiques sont cependant différentes :

$$F(X_1, X_2) = \begin{cases} \frac{\beta_2(X_1) - X_2(t, X_1)}{\tau_{2\text{up}}} & \text{si } \beta_2(X_1) - X_2 \geq 0, \\ \frac{\beta_2(X_1) - X_2(t, X_1)}{\tau_{2\text{dw}}} & \text{si } \beta_2(X_1) - X_2 < 0. \end{cases} \quad (3.2)$$

La fonction β_2 est, comme β_1 , une sigmoïde comprise entre 0 et 1 qui sert à déterminer la limite entre un régime perméabilisant et un régime de reconstruction :

$$\beta_2(X_1) = \frac{(1 + \tanh(k_2(X_1 - X_{1,\text{th}})))}{2}, \quad (3.3)$$

où k_2 détermine la pente de la transition et $X_{1,\text{th}}$ est un seuil de porosité à franchir. La dynamique d'altération $\tau_{2\text{up}}$ est choisie très courte, de l'ordre de $\tau_{1\text{up}}$, alors que le temps de reconstruction $\tau_{2\text{dw}}$ est de l'ordre de plusieurs minutes.

L'opérateur de diffusion Δ_Γ apparaissant dans l'équation (3.1) est l'opérateur de Laplace-Beltrami sur la surface Γ , et d_L le coefficient de diffusion des lipides. Cet opérateur nécessite un traitement numérique particulier étant donné que la forme de la surface Γ n'est pas connue *a priori*. Le chapitre 7 de la seconde partie décrit les méthodes utilisées pour discrétiser Δ_Γ .

Tel quel, notre modèle n'effectue qu'un couplage partiel entre conductivité et perméabilité. Or, la structure des lipides étant altérée par les pulses, il est probable que les propriétés électriques de la membrane diffèrent sensiblement de l'état au repos. Nous posons pour cela

$$\forall t > 0, \forall s \in \Gamma, S_m(t, s) = S_0 + S_1 X_1(t, s) + S_2 X_2(t, s), \quad (3.4)$$

où S_1 désigne la conductivité surfacique d'une membrane totalement poreuse, et S_2 est la conductivité des lipides totalement oxydés, légèrement supérieure à S_0 . On peut alors s'attendre à ce qu'une fois les pulses coupés, la valeur totale de S_m soit du même ordre de grandeur que S_0 .

Réécrivons le nouveau problème de façon complète : déterminer (U, X_1, X_2) tels que

$$\begin{cases} U \in C(\mathbb{R}^+, PH^1(\Omega)), & (3.5a) \\ \Delta U = 0 \text{ sur } \mathcal{O}_e \cup \mathcal{O}_c, & (3.5b) \\ [\sigma \partial_{\mathbf{n}} U]_{\Gamma} = 0, & (3.5c) \\ C_m \partial_t [U] + S_m(t, [U]) [U]_{\Gamma} = \sigma_c \partial_{\mathbf{n}} U_c|_{\Gamma^-}, & (3.5d) \\ U|_{\partial\Omega} = g, & (3.5e) \end{cases}$$

avec

$$S_m(t, [U(t, \cdot)]) = S_0 + S_1 X_1(t, [U(t, \cdot)]) + S_2 X_2(t, X_1), \quad (3.5f)$$

X_1 satisfaisant l'équation différentielle sur Γ

$$\begin{cases} \partial_t X_1(t, [U]) = \frac{\beta_1([U]) - X_1(t, [U])}{\tau_{1\text{up}}} \text{ si } \beta_1([U]) - X_1 \geq 0, \\ \partial_t X_1(t, [U]) = \frac{\beta_1([U]) - X_1(t, [U])}{\tau_{1\text{dw}}} \text{ si } \beta_1([U]) - X_1 < 0, \\ X_1(0, [U]) = X_{1,0}, \end{cases} \quad (3.5g)$$

et X_2 suivant en tout point de Γ

$$\begin{cases} \partial_t X_2(t, X_1) - d_L \Delta_{\Gamma} X_2(t) = \frac{\beta_2(X_1) - X_2(t, X_1)}{\tau_{2\text{up}}} \text{ si } \beta_2(X_1) - X_2 \geq 0, \\ \partial_t X_2(t, X_1) - d_L \Delta_{\Gamma} X_2(t) = \frac{\beta_2(X_1) - X_2(t, X_1)}{\tau_{2\text{dw}}} \text{ si } \beta_2(X_1) - X_2 < 0, \\ X_2(0, X_1) = X_{2,0}. \end{cases} \quad (3.5h)$$

Nous allons maintenant vérifier que la fonction X_2 telle que nous l'avons posée est bien un degré de perméabilisation, au sens que ses valeurs sont bien comprises entre 0 et 1 :

Proposition 8.

Soit X_2 la solution de (3.1) et X_1 donné. Alors pour presque tout $(t, s) \in (0, T) \times \Gamma$

$$0 \leq X_2(t, s) \leq 1.$$

PREUVE : De manière similaire à la démonstration de l'existence de X_1 , posons $X_2^- := \max(0, -X_2)$. En multipliant l'équation (3.1) par X_2^- puis intégrant par parties, on obtient

$$\frac{1}{2} \partial_t \|X_2^-\|_{L^2(\Gamma)}^2 + d_L \|\nabla X_2^-\|_{L^2(\Gamma)}^2 = - \int_{\Gamma} F(X_2, X_1) X_2^- \, ds.$$

Or

$$F(X_1, X_2) X_2^- = \frac{b_2(X_1) - X_2}{\tau_{2\text{up}}} X_2^- \geq 0$$

et $\|X_2^-\|^2|_{t=0} = 0$. Nous en déduisons que X_2 est positive. De même, posons $Y_2 := X_2 - 1$ et $Y_2^+ := \max(0, X_2 - 1)$. Comme

$$F(X_1, Y_2 + 1) = \begin{cases} \frac{\beta_2(X_1) - 1 - Y_2}{\tau_{2\text{up}}} & \text{si } b_2(X_1) - 1 - Y_2 \geq 0, \\ \frac{\beta_2(X_1) - 1 - Y_2}{\tau_{2\text{dw}}} & \text{si } b_2(X_1) - 1 - Y_2 \leq 0, \end{cases}$$

remarquons que

$$F(X_1, Y_2 + 1)Y_2^+ = \frac{b_2(X_1) - 1 - X_2}{\tau_{2\text{dw}}}Y_2^+ \leq 0.$$

Ainsi, $Y_2^+ = 0$ et $X_2 \leq 1$. □

3.3 Résultats

Pour étudier la validité de notre modèle, nous vérifions son aptitude à reproduire un comportement observé lorsque les pulses sont délivrés à diverses fréquences.

- Lors d'expériences d'optimisation des pulses pour le transfert de plasmides d'ADN, André *et al.* montrent [3] qu'après avoir appliqué un pulse perméabilisant de fort voltage, il est parfois nécessaire d'attendre une seconde avant d'appliquer un pulse de bas voltage pour augmenter la perméabilité des cellules aux plasmides.
- Dans [80], Silve *et al.* constatent que l'augmentation de la fréquence des pulses entraîne une diminution du niveau de perméabilisation des cellules, dans le cas de nano- ou de micropulses.

Pour mettre en évidence cette influence de la fréquence, nous effectuons des simulations sur des cellules sphériques soumises à dix pulses perméabilisants de $10 \mu\text{s}$, 40 kV/m . Les pulses sont appliqués avec des périodes de répétition allant de 1 ms à 1 s , correspondant à des fréquences respectives de 1000 Hz à 1 Hz .

La figure 3.6 présente la répartition du taux de perméabilité X_2 pour chaque cellule, à divers instants de la simulation. À la fin du premier pulse, toutes les cellules ont les mêmes valeurs de X_2 , concentrées aux pôles électriques. Avant le début du second pulse, à basse fréquence (10 et 20 Hz), les lipides ont disposé de suffisamment de temps pour être répartis uniformément sur la surface de la membrane. En revanche, pour les autres fréquences, on observe encore une concentration des lipides altérés autour des pôles. Ainsi, lorsque le second pulse provoque l'augmentation de X_2 dans ces mêmes régions, le niveau total de X_2 est plus élevé pour les basses fréquences (figure 3.7). En répétant ce processus à chaque pulse, on obtient une différence significative du degré de perméabilisation entre les basses et hautes fréquences.

Si l'on ne tient pas compte de la diffusion des lipides, l'augmentation de la perméabilité n'est pas significative pour ces paramètres de pulses. On peut donc en conclure que cette diffusion est un élément non négligeable du modèle, sans lequel il est impossible de reproduire qualitativement les comportements observés par les expérimentateurs.

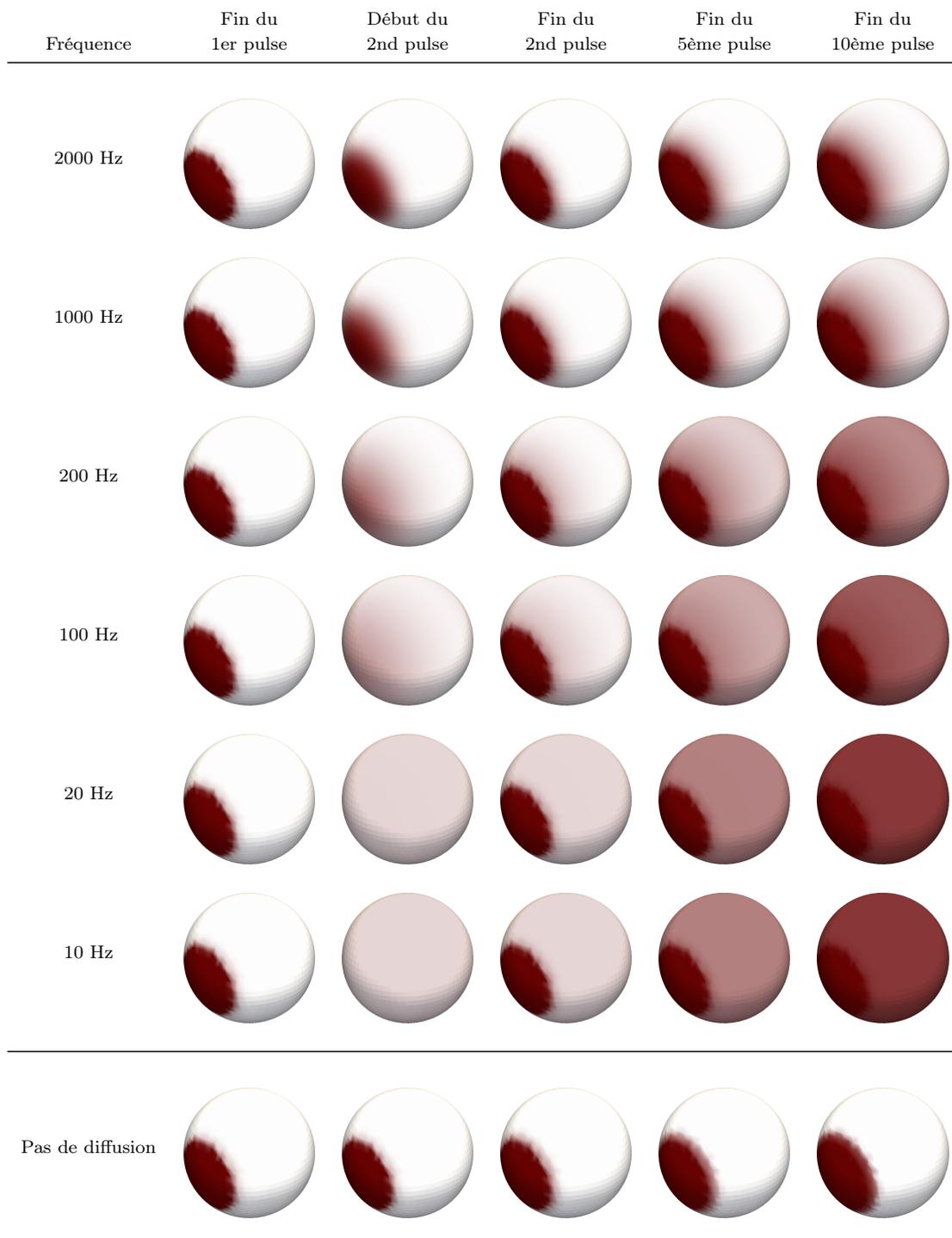


FIGURE 3.6 – Répartition du taux de perméabilité X_2 sur la membrane de cellules soumises aux mêmes pulses électriques, mais à des fréquences différentes. Paramètres en table 3.1.

TABLE 3.1 – Paramètres des simulations de diffusion des lipides.

Variable	Symbole	Valeur	Unité
Paramètres cellulaires :			
Rayon de la cellule	R	8	μm
Conductivité du cytoplasme	σ_c	0,455	S/m
Conductivité extracellulaire	σ_e	1,5	S/m
Capacité de la membrane	C_m	0,0095	F/m ²
Conductivité surfacique de la membrane au repos	S_0	1,9	S/m ²
Diffusion des lipides sur la surface	d_L	10^{-9}	m ² /s
Paramètres du modèle :			
Seuil de poration	$X_{1,\text{th}}$	0,2	V
Seuil de perméabilisation	$X_{2,\text{th}}$	80 000	S/m ²
Pente de transition de la poration	k_1	40	V ⁻¹
Pente de transition de la perméabilisation	k_2	10	m ² /S
Temps caractéristique de poration	$\tau_{1\text{up}}$	$2 \cdot 10^{-6}$	s
Temps caractéristique de fermetures des pores	$\tau_{1\text{dw}}$	$1 \cdot 10^{-7}$	s
Temps caractéristique de perméabilisation	$\tau_{2\text{up}}$	$1 \cdot 10^{-6}$	s
Temps caractéristique de reconstruction de la membrane	$\tau_{2\text{dw}}$	600	s
Conductivité de la membrane électroporée	S_1	10^6	S/m ²
Conductivité de la membrane altérée	S_2	1,9	S/m ²
Porosité initiale	$X_{1,0}$	0	
Altération initiale	$X_{2,0}$	0	
Paramètres de pulses :			
Voltage appliqué	$ \mathbf{E} $	40 000	V/m
Durée des pulses	T_p	10	μs
Période des pulses	T	0,0005 à 0,1	s
Paramètres numériques :			
Taille du domaine de simulation	L	30	μm
Grille cartésienne	N	50^3	
Pas de temps pendant les pulses	Δt	20	ns

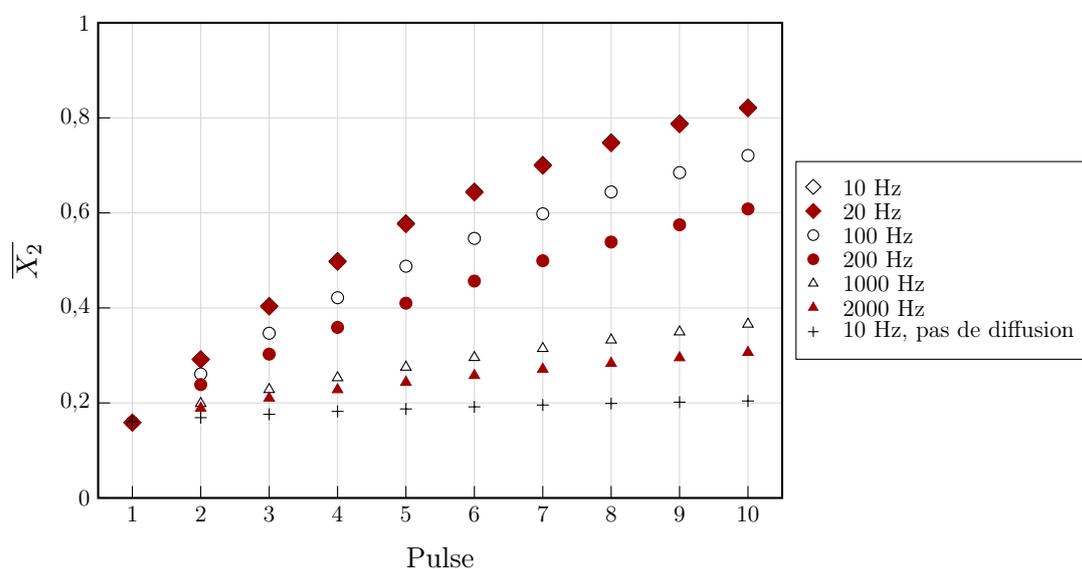


FIGURE 3.7 – Degré moyen de perméabilité $\bar{X}_2 = |\Gamma|^{-1} \int_{\Gamma} X_2$ après chaque pulse pour différentes fréquences de pulses. Une simulation a été effectuée en retirant la diffusion des lipides à titre de comparaison. Le calcul des moyennes est effectué une fois la membrane déchargée suite à la coupure des pulses, lorsque $\max(S_m) < 0,1X_{2th}$. Paramètres en table 3.1.

Chapitre 4

Transport et diffusion de molécules à l'intérieur de la cellule

4.1 Motivations

Les modèles existants d'électroperméabilisation, comme ceux qui ont été proposés au chapitre 2, évaluent la perméabilité d'une cellule directement à partir de la conductivité de sa membrane. Cependant, on ne dispose que de peu de résultats qualitatifs sur la partie électrique du modèle. En effet, même si des résultats qualitatifs et quantitatifs commencent à être publiés [30, 96], l'immense majorité des expériences d'électroporation consiste en

- l'observation de la fluorescence d'une molécule comme l'iodure de propidium (PI) à l'intérieur de la cellule [25, 56, 58, 92],
- l'évaluation d'un taux de mortalité de cellules en présence d'un agent cytotoxique comme la bléomycine [12, 38, 79, 77],
- l'observation de l'expression d'un gène qui a été inséré par électrophorèse dans la cellule préalablement perméabilisée [3, 10, 75, 84].

Ces différents types d'expériences impliquent l'introduction dans la cellule d'une molécule qui avant l'application de chocs électriques ne peut pas traverser la membrane. Afin d'avoir une base de comparaison la plus proche possible des expériences en vue de la résolution du problème inverse, on rajoute aux équations précédentes sur le potentiel électrique un modèle de transport et/ou de diffusion de la concentration M d'une molécule spécifique.

Selon l'espèce M choisie, le mode de déplacement de celle-ci varie grandement. Par exemple, les brins d'ADN utilisés pour le transfert de gènes sont lourds (de 10 à 100 kDa) mais chargés électriquement. Ainsi, leur mode de transport privilégié sera l'électrophorèse. Au contraire, la bléomycine est une molécule relativement petite (environ 1,4 kDa) mais électriquement neutre, qui ne se déplace donc que par diffusion. Enfin, l'iodure de propidium, petit (0,6 kDa) et chargé, se déplacera grâce à une combinaison des deux phénomènes.

Remarque : On peut d'ores et déjà remarquer que si les propriétés électriques d'une cellule et de sa membrane sont intrinsèques, la perméabilité d'une cellule est définie relativement à une molécule. En effet, la taille, la conformation spatiale et la charge de celle-ci influe sur la manière dont elle traverse la membrane. Lorsqu'il s'agira de déterminer les paramètres du modèle, ceux-ci devront être ajustés suivant la molécule modélisée.

Remarque : Dans le cas de la bléomycine, on sait qu'une concentration M_{death} d'environ 1 nM (correspondant à 500-1 000 molécules) est létale pour la cellule [38]. Il est alors possible de rajouter au modèle sur la concentration une manière d'évaluer la probabilité de survie de la cellule, nulle si $M > M_c$ et égale à 1 sinon. On peut alors directement comparer le taux de survie des expériences aux résultats des simulations.

4.2 Modèle de transport-diffusion avec interface

De la même manière que pour le potentiel, on désigne respectivement par M_e et M_c les concentrations à l'extérieur et à l'intérieur de la cellule. Ces concentrations vérifient les équations suivantes :

$$\partial_t M_e - d_e \Delta M_e + \mu_e \nabla \cdot (M_e \nabla u) = 0 \text{ dans } \mathcal{O}_e, \quad (4.1a)$$

$$\partial_t M_c - d_c \Delta M_c + \mu_c \nabla \cdot (M_c \nabla u) = 0 \text{ dans } \mathcal{O}_c, \quad (4.1b)$$

avec les conditions de transmission

$$d_e \partial_n M_e - \mu_e M_e \partial_n U_e = d_c \partial_n M_c - \mu_c M_c \partial_n U_c \text{ sur } \Gamma, \quad (4.1c)$$

$$P_m(t, s)[M]_\Gamma = d_c \partial_n M_c - \mu_c M_c \partial_n U_c \text{ sur } \Gamma, \quad (4.1d)$$

et les conditions de bord et initiale

$$M|_{\partial\Omega} = M_{\text{imp}}(t), \quad (4.1e)$$

$$M(t = 0, \cdot) = M^0 \mathbf{1}_{\mathcal{O}_e}, \quad (4.1f)$$

où M^0 est la concentration externe initiale, et M_{imp} la concentration externe appliquée. Celle-ci est indiquée variable au cours du temps pour prendre en compte par exemple le fait que l'injection peut avoir lieu après le pulse. On peut également prendre en compte de cette manière la dégradation des molécules, comme cela peut être le cas pour des plasmides d'ADN [76], ou encore l'évacuation par l'organisme.

La donnée $\mu = (\mu_e, \mu_c)$ désigne la motilité de la molécule M sous l'effet d'un champ électrique dans les milieux \mathcal{O}_e et \mathcal{O}_c respectivement. Notons que la valeur de μ peut être négative, le signe dépendant de la charge positive ou négative de la molécule. Généralement, l'effet électrophorétique est négligeable à l'intérieur de la cellule, ce qui conduit à choisir $\mu_c = 0$, en particulier pour les molécules de grande taille. En effet, la présence de structures internes plus grandes et compactes, ainsi que celle du cytosquelette empêchent le transport de molécules le long des lignes de champ électrique.

La condition (4.1c) exprime la continuité du flux à travers Γ , la composante $\mu_e M_e \partial_n U_e$ provenant du terme de transport. La condition (4.1d), de type Kedem-Kachalsky, est fréquemment rencontrée dans les problèmes de perméabilité de membrane [43]. Le coefficient P_m impliqué dans cette relation est défini localement et représente la perméabilité de la membrane à la molécule M , de façon analogue à la conductivité S_m pour le potentiel. L'enjeu du modèle de perméabilisation est de définir l'évolution de P_m . Pour cela, on se base sur le modèle précédent faisant la distinction entre pores et lipides oxydés. On pose

$$P_m(t, s) = P_0 + X_1(t, s)P_1 + X_2(t, s)P_2, \quad (4.2)$$

où X_1 et X_2 sont les taux de porosité et d'oxydation de la membrane introduits au chapitre précédent. P_0 est une constante décrivant la perméabilité au repos de la membrane à la molécule M . Dans la plupart des cas, celle-ci est nulle, mais pour de très petites molécules, il serait possible que P_0 soit strictement positive. P_1 et P_2 désignent les perméabilités de la membrane lorsque celle-ci est totalement poreuse et totalement oxydée. Dans la mesure où une molécule est plus susceptible de franchir la membrane lorsque celle-ci est poreuse, la valeur de P_1 est choisie plus grande de plusieurs ordres de grandeur par rapport à celle de P_2 . On a ainsi

$$P_0 < P_2 \ll P_1. \quad (4.3)$$

Remarque : Dans les modèles électriques présentés précédemment, la réussite ou l'échec d'un protocole d'électroporation était déterminé suivant le niveau de conductivité membranaire. Ayant introduit le degré de perméabilité P_m , celui-ci apparaît comme un indicateur d'évaluation plus pertinent.

4.3 Résultats

L'objectif de notre modèle est de reproduire qualitativement les résultats bruts des expériences d'électroperméabilisation. Pour cela, nous allons effectuer des comparaisons avec des expériences ayant en commun la molécule observée, ici de l'iodure de propidium (PI), mais avec des paramètres de pulses différents.

Les deux premiers résultats, publiés par Vernier *et al.* [92], ont été obtenus après avoir appliqué des micro- et nanopulses à des cellules circulaires (cf fig. 4.1 et 4.2). On y observe une forte dissymétrie dans la fluorescence du PI, celle-ci étant plus intense du côté de la cellule faisant face à l'anode, mais dans le cas des micropulses seulement. Cette dissymétrie est plus marquée juste après les pulses et s'estompe avec le temps. Après application des nanopulses, aucun influx de PI n'est constaté. Les auteurs en concluent qu'il n'y a pas électroporation, mais nous verrons qu'il convient de définir précisément ce qui caractérise la perméabilisation d'une cellule.

Nous allons également tester notre modèle à l'aide d'une expérience faisant intervenir des millipulses. Dans [26], Escoffre *et al.* montrent une évolution similaire dans la répartition du PI dans plusieurs cellules de formes variées¹. L'incorporation s'effectue aux extrémités de la cellule, et de façon plus importante proche de l'anode (figure 4.3).

Remarquons d'ores et déjà que si l'on peut établir de façon raisonnable qu'une concentration plus importante de PI entraîne une fluorescence plus importante, nous ne pouvons pas caractériser précisément la relation entre ces deux quantités. On peut seulement présumer de l'existence d'une valeur de saturation produisant un maximum de luminosité. Ici nous supposerons que la relation est linéaire et adopterons un code couleur allant du noir pour 0 au rouge pour une valeur maximale arbitraire de la concentration dans la cellule.

1. Une video montrant l'internalisation du PI au cours du temps est disponible en ligne. [📺](#)

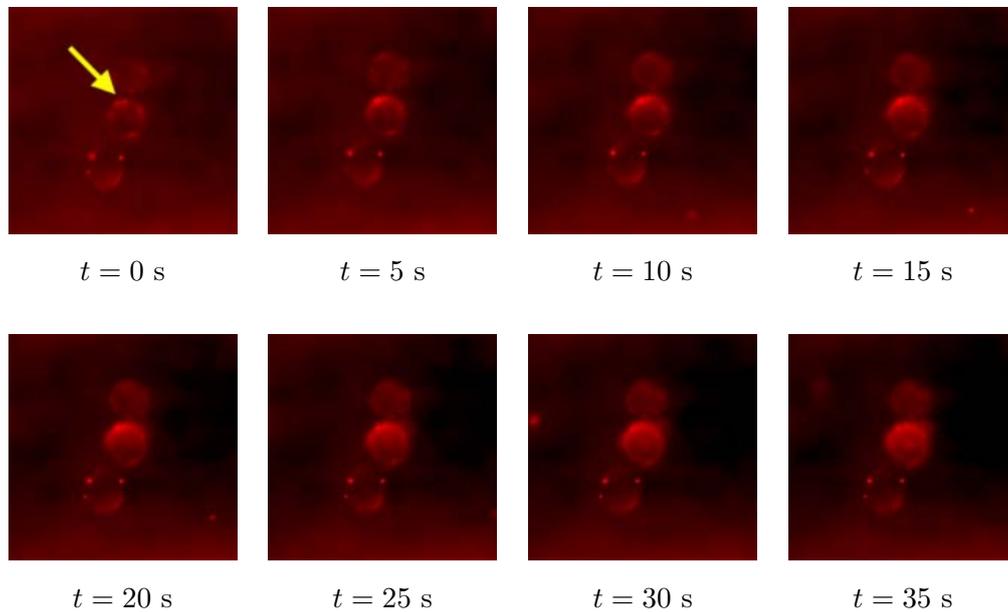


FIGURE 4.1 – De [92], fluorescence de l'iodure de propidium incorporé par électroporation dans des lymphocytes Jurkat humains (ATCC TIB-152). Les cellules ont été soumises à cinq pulses de $100 \mu\text{s}$ à $0,5 \text{ MV/m}$. Le champ électrique est orienté du haut vers le bas. Les temps indiqués ont pour origine la fin du dernier pulse. La fréquence de ceux-ci n'étant pas précisée dans l'article, nous choisirons pour les simulations celle utilisée dans une autre expérience décrite, à savoir 4 Hz .

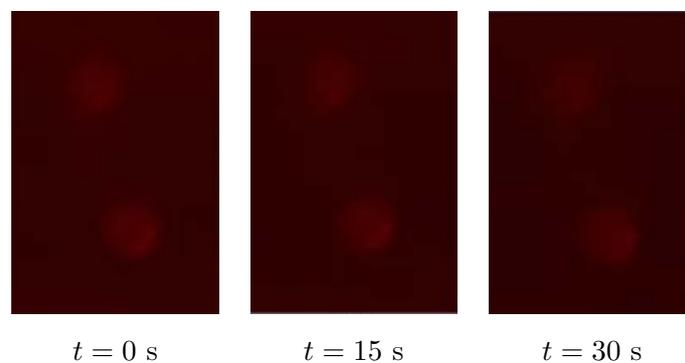


FIGURE 4.2 – Non-incorporation de PI après application de 10 pulses de 30 ns , $2,5 \text{ MV/m}$.

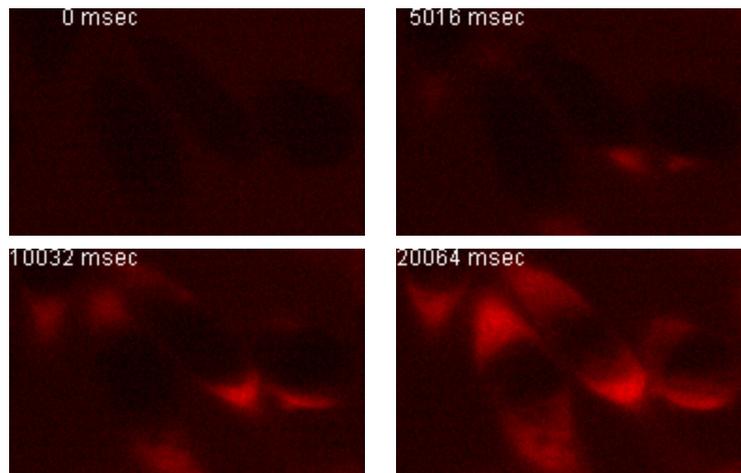


FIGURE 4.3 – De [26], captures de la vidéo montrant l'internalisation de PI dans des cellules d'ovaires de Hamster chinois (CHO), après l'application de 10 pulses de 20 ms à 50 kV/m, 1 Hz. Le champ électrique est orienté du bas vers le haut.

Les simulations ont été effectuées en utilisant les mêmes paramètres physiologiques bien que les cellules utilisées soient différentes. Nous avons également conservé les propriétés de diffusion et de transport des molécules dans les trois cas. L'ensemble des paramètres communs aux simulations est présenté en table 4.1. Notons que pour tenir compte de l'encombrement dû à la présence de la cellule, la valeur de μ_e a été progressivement diminuée lorsque l'on est proche de la membrane.

Remarque : Le problème de transport-diffusion étant linéaire en M , la concentration externe est fixée à 1 pour exprimer directement les résultats relativement à la valeur initiale.

Pour résoudre les équations de transport-diffusion (4.1), nous utilisons une méthode similaire à celle utilisée précédemment pour le potentiel électrique. Cette étape supplémentaire nécessite un splitting entre transport et diffusion à chaque itération en temps où le champ électrique est actif. Les détails de ce schéma sont donnés dans la partie de ce document consacrée aux aspects numériques, en section 5.2.1.

Millipulses

Intéressons nous d'abord à l'expérience d'Escoffre *et al.* impliquant des millipulses et des géométries variées. Nous nous focaliserons sur la cellule au milieu de l'image pour tenir compte de l'influence de ses voisines.

Pour déterminer la position des interfaces dans le domaine de résolution, une image est fournie en entrée décrivant les contours des cellules. Plus de détails sont donnés en section 8.4. Cependant, du fait de la méthode numérique employée, il a été nécessaire de sensiblement écartier les cellules les unes des autres afin d'avoir suffisamment de points de discrétisation entre deux membranes.

Pour cette simulation, nous avons choisi d'utiliser les équations statiques sur le potentiel et X_1 afin de pouvoir augmenter le pas de temps à une valeur raisonnable. En effet, ce dernier est limité à moins d'une microseconde environ si l'on souhaite résoudre le problème dynamique complet.

Nous observons (figures 4.4 et 4.5) que le PI est transporté pendant les pulses en direction de la cathode, créant d'une part une zone où la concentration diminue en aval des cellules suivant le champ électrique, et de l'autre côté une accumulation de PI.

TABLE 4.1 – Paramètres communs aux simulations de transport/diffusion de PI dans des cellules.

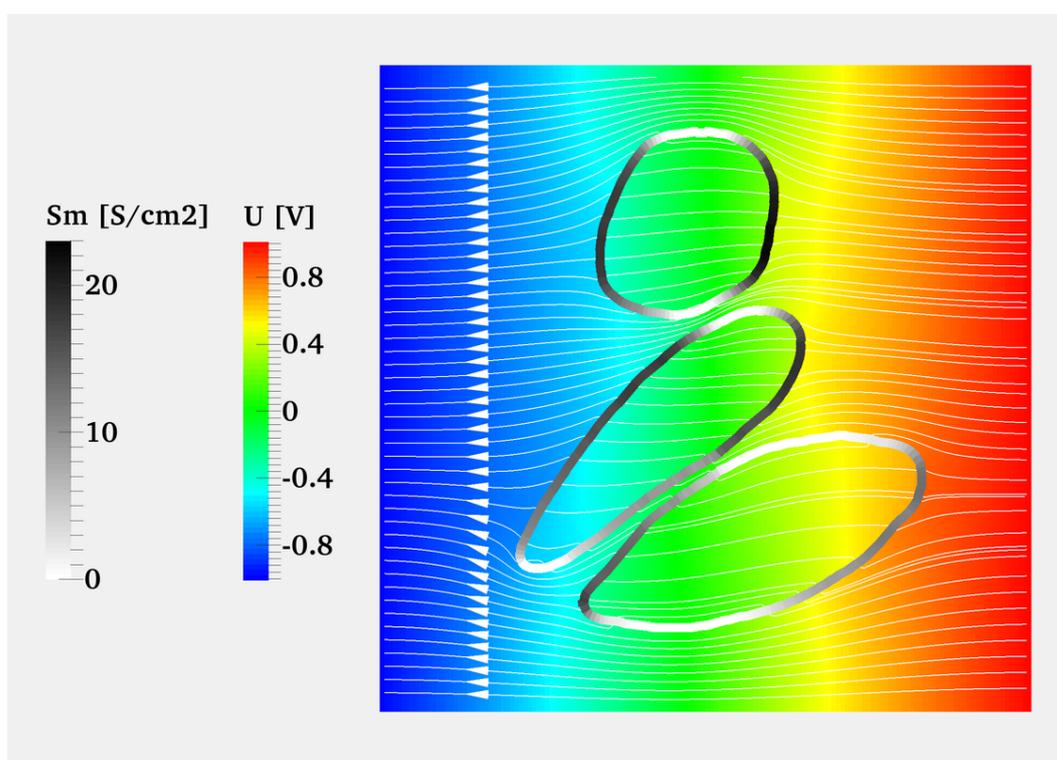
Variable	Symbole	Valeur	Unité
<i>Paramètres cellulaires :</i>			
Conductivité du cytoplasme	σ_c	0,455	S/m
Conductivité extracellulaire	σ_e	1,5	S/m
Capacité de la membrane	C_m	0,0095	F/m ²
Conductivité surfacique de la membrane au repos	S_0	1,9	S/m ²
Diffusion des lipides sur la surface	d_L	10 ⁻⁹	m ² /s
<i>Paramètres relatifs au PI :</i>			
Diffusion dans le milieu extracellulaire	d_e	10 ⁻⁸	m ² /s
Diffusion dans le cytoplasme	d_c	5.10 ⁻¹³	m ² /s
Motilité dans le milieu extracellulaire	μ_e	5.10 ⁻⁸	m/Vs
Motilité dans le cytoplasme	μ_c	0	m/Vs
Concentration extracellulaire initiale	M^0	1	mol/m ³
<i>Paramètres du modèle :</i>			
Seuil de poration	$X_{1,th}$	0,4	V
Seuil de perméabilisation	$X_{2,th}$	10 000	S/m ²
Pente de transition de la poration	k_1	40	V ⁻¹
Pente de transition de la perméabilisation	k_2	10	m ² /S
Temps caractéristique de poration	τ_{1up}	2.10 ⁻⁶	s
Temps caractéristique de fermetures des pores	τ_{1dw}	1.10 ⁻⁷	s
Temps caractéristique de perméabilisation	τ_{2up}	2.10 ⁻⁶	s
Temps caractéristique de reconstruction de la membrane	τ_{2dw}	600	s
Conductivité de la membrane électroporée	S_1	10 ⁶	S/m ²
Conductivité de la membrane altérée	S_2	1,9	S/m ²
Perméabilité de la membrane électroporée	P_1	10 ⁻²	m/s
Perméabilité de la membrane altérée	P_2	10 ⁻⁹	m/s
Porosité initiale	$X_{1,0}$	0	
Altération initiale	$X_{2,0}$	0	

Lorsque les pulses sont coupés, la perméabilité des lipides diminue et se répartit uniformément du fait de leur diffusion sur la membrane. L'incorporation se fait alors de façon plus homogène bien que plus lente, et le PI commence à diffuser dans le cytoplasme.

Globalement, le résultat à l'intérieur de la cellule est satisfaisant dans la mesure où on retrouve la dissymétrie observée durant l'expérience. Un ajustement plus fin des paramètres à l'aide d'une des nombreuses méthodes de problème inverse disponibles pourra amener à un résultat encore plus proche, mais cela ne constitue pas l'objet de ce travail.

TABLE 4.2 – Paramètres additionnels pour effectuer les simulations de l'expérience d'Escoffre *et al* [26].

Variable	Symbole	Valeur	Unité
<i>Paramètres expérimentaux :</i>			
Voltage appliqué	$ \mathbf{E} $	50 000	V/m
Durée des pulses	T_p	20	ms
Période des pulses	T	1	s
Nombre de pulses		10	
<i>Paramètres numériques :</i>			
Taille du domaine de simulation	L	40	μm
Grille cartésienne	N	150^3	
Pas de temps pendant le pulse	Δt	100	μs
Pas de temps pendant la phase de transport	Δt	10	ms
Durée de la simulation	T_f	20	s
Tolérances pour les résolutions de points fixes (U et M)	ϵ	10^{-8}	

**FIGURE 4.4** – Potentiel électrique, lignes de champ et conductivité membranaire obtenus par résolution de l'équation statique 2.7, où la conductivité S_m est définie par 3.5f avec $X_1 = \beta_1$. Les cellules ont été réorientées et le champ électrique est dans le sens négatif dans la direction x . Paramètres en tables 4.1 et 4.2.

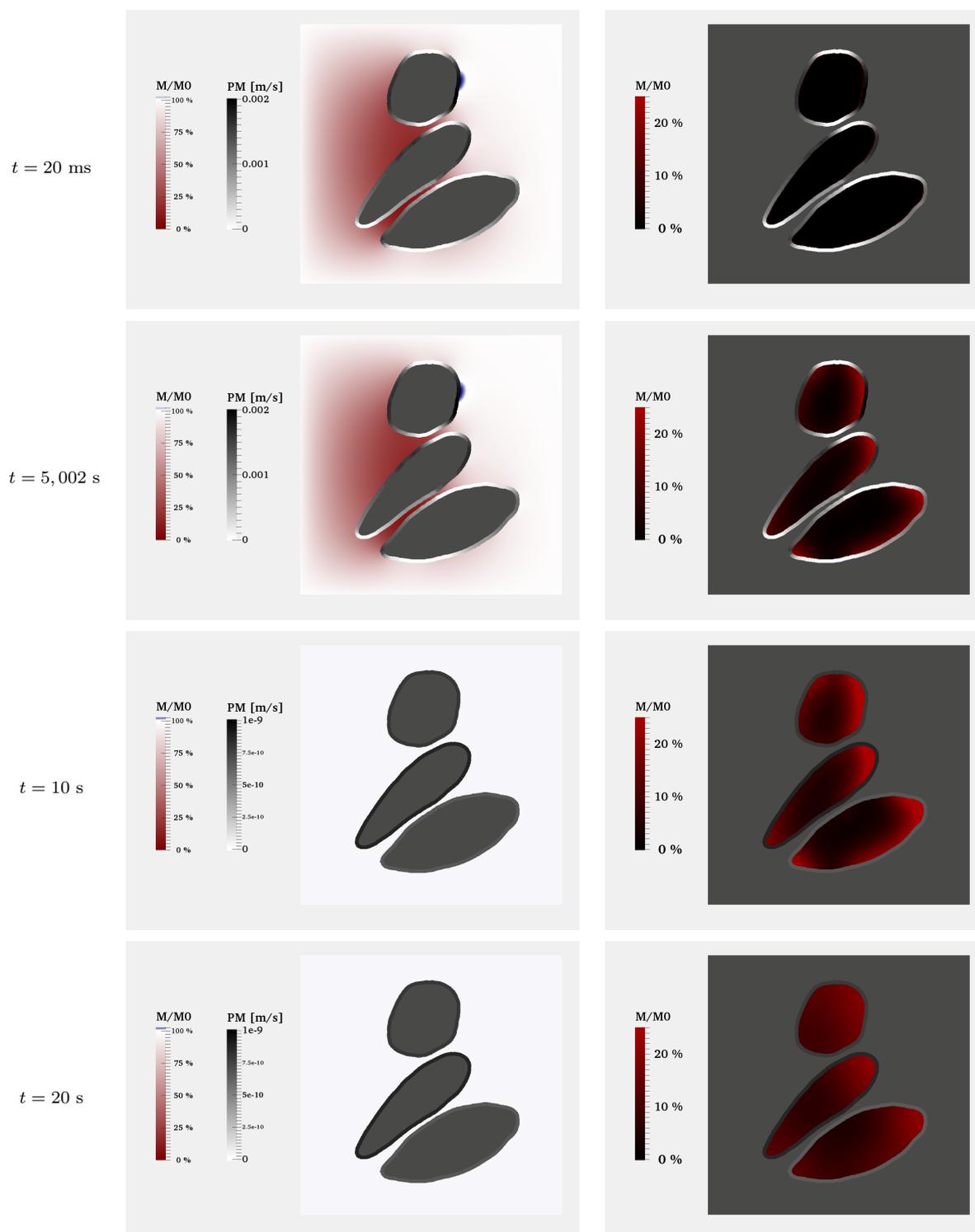


FIGURE 4.5 – Concentration de PI à l'intérieur (colonne de gauche) et à l'extérieur (colonne de droite) lors des simulations de millipulses. Les échelles de couleur ne sont pas les mêmes pour mieux visualiser ce qui est internalisé par la cellule. De plus, le PI n'émet de la lumière rouge que s'il est à l'intérieur de la cellule. Sur les membranes est représentée en niveau de gris la perméabilité P_m . Attention aux deux échelles selon que l'on est à la fin d'un pulse ($t = 20$ ms et $t = 5,002$ s) ou dans la phase de diffusion ($t = 10$ s et $t = 20$ s). Paramètres en tables 4.1 et 4.2.

Micropulses

Venons-en aux expériences de Vernier *et al.* sur les cellules CHO. Les pulses étant ici d'une durée de $100 \mu s$, il est possible et même important de résoudre le problème dynamique sur le potentiel, le coût de calcul devenant raisonnable.

Les résultats sur les concentrations de PI sont reportés en figure 4.6. On constate que l'accumulation de PI sur la face externe de la membrane du côté de l'anode est plus importante que dans le cas précédent. Cela s'explique par le champ électrique appliqué qui est ici 10 fois plus intense. L'effet de transport électrophorétique des molécules est alors davantage prépondérant sur leur diffusion.

On observe à nouveau la dissymétrie caractéristique de l'électroperméabilisation en présence de molécules chargées électriquement, ce qui semble confirmer l'aptitude de notre modèle à reproduire qualitativement les résultats expérimentaux. Seule la diffusion à l'intérieur de la cellule semble trop importante par rapport à ce qui est constaté.

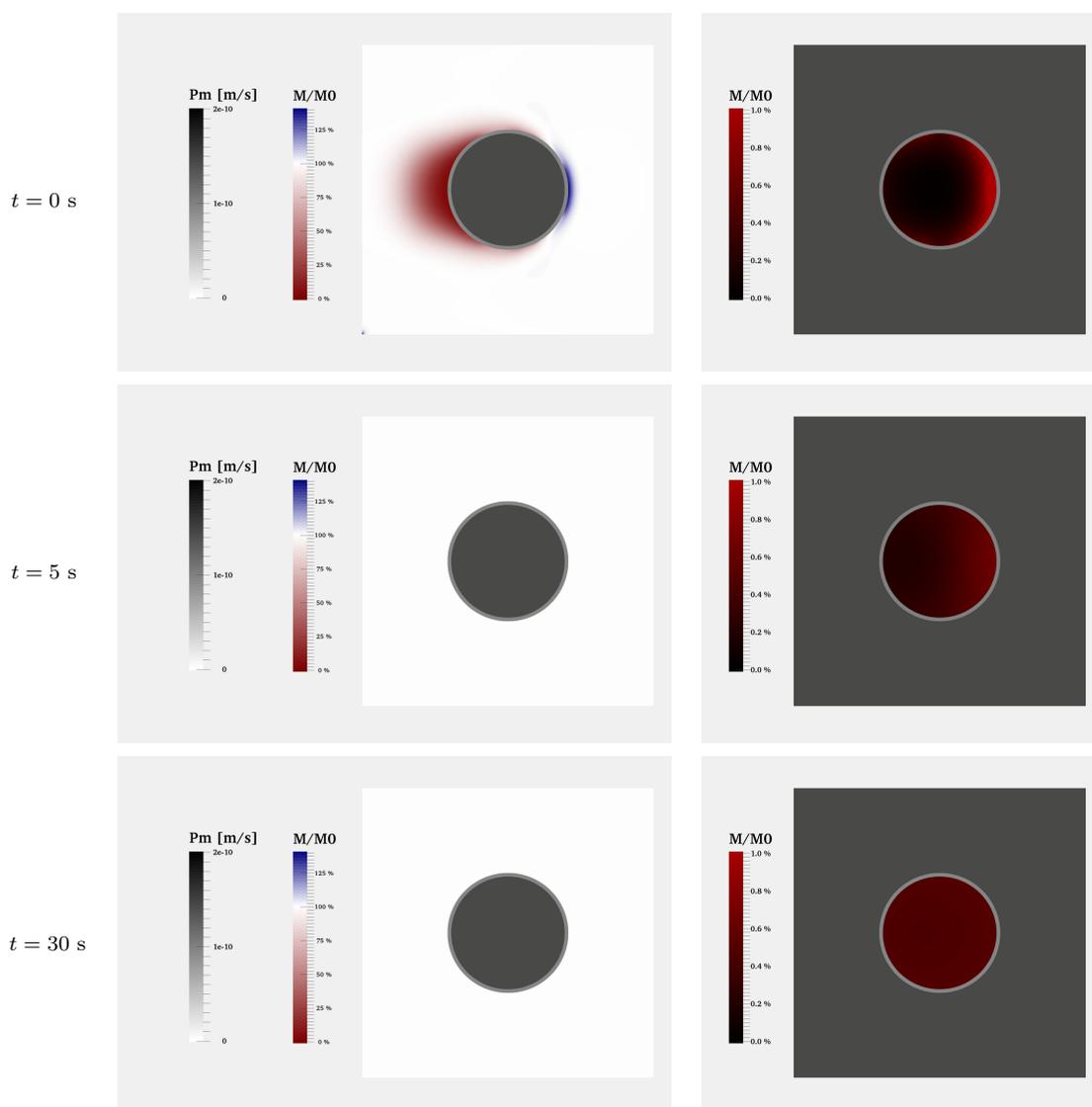


FIGURE 4.6 – Concentration de PI à l'intérieur (colonne de gauche) et à l'extérieur (colonne de droite) lors des simulations de micropulses. Les temps indiqués ont pour origine la fin du dernier pulse, de manière similaire à la figure 4.1. Paramètres en tables 4.1 et 4.3.

TABLE 4.3 – Paramètres additionnels pour les simulations de l'expérience avec micropulses de Vernier *et al* [92].

Variable	Symbole	Valeur	Unité
<i>Paramètres expérimentaux :</i>			
Voltage appliqué	$ \mathbf{E} $	500	kV/m
Durée des pulses	T_p	100	μs
Période des pulses	T	0,25	s
Nombre de pulses		5	
Rayon de la cellule	R	4	μm
<i>Paramètres numériques :</i>			
Taille du domaine de simulation	L	20	μm
Grille cartésienne	N	150^3	
Pas de temps pendant le pulse	Δt	0,2	μs
Pas de temps pendant la phase de transport	Δt	10	ms
Durée de la simulation	T_f	35	s
Tolérances pour les résolutions de point fixe sur M	ε	10^{-8}	

Nanopulses

Intéressons-nous enfin au cas des nanopulses. Les simulations montrent à nouveau des résultats similaires aux expériences, à savoir quasiment aucune internalisation de PI (cf figure 4.7 où la même échelle de couleur que pour les micropulses a été choisie). En effet, les pulses sont trop courts par rapport à l'échelle de temps du transport, et la perméabilité n'a pas le temps d'atteindre sa valeur maximale pendant les pulses.

Cependant, si l'on prête attention au niveau final de perméabilité de la membrane P_m (graphe 4.8), on s'aperçoit que les valeurs sont du même ordre de grandeur pour les nano- et micropulses. Ainsi, si l'expérience avait porté sur une molécule non chargée comme la bléomycine, d'une part la valeur maximale P_1 aurait probablement été bien inférieure, mais surtout la quantité finale dans le cytoplasme aurait été similaire pour les deux protocoles de pulses.

C'est pourquoi il nous paraît important de bien préciser que lorsqu'une cellule est électroporée ou non, elle l'est pour une molécule donnée. Aussi nous voyons là qu'une membrane perméable n'entraînerait pas forcément l'entrée de la molécule dans le cytoplasme. Ces déductions restent cependant au conditionnel dans la mesure où la calibration des paramètres n'est pas encore faite.

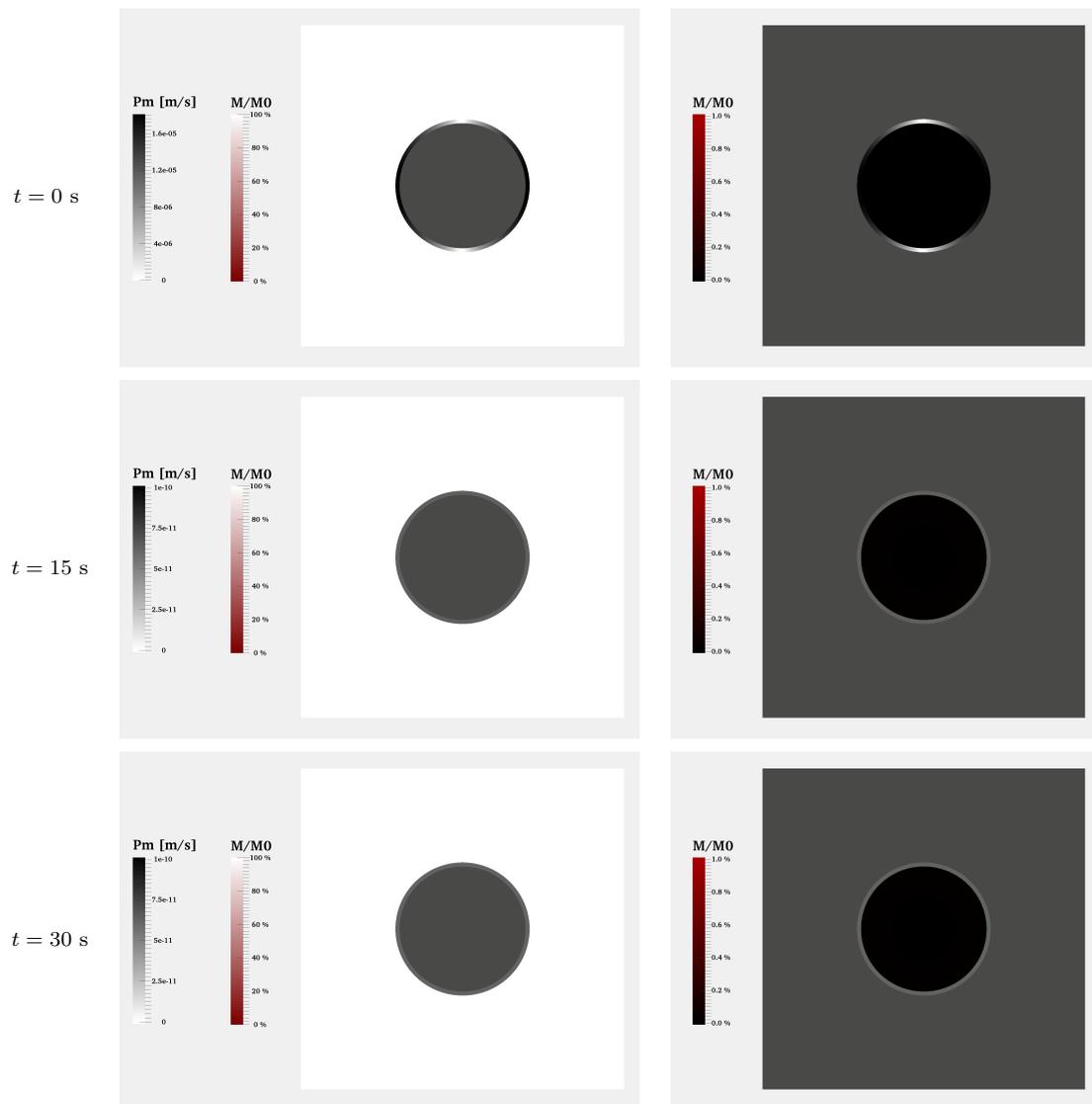
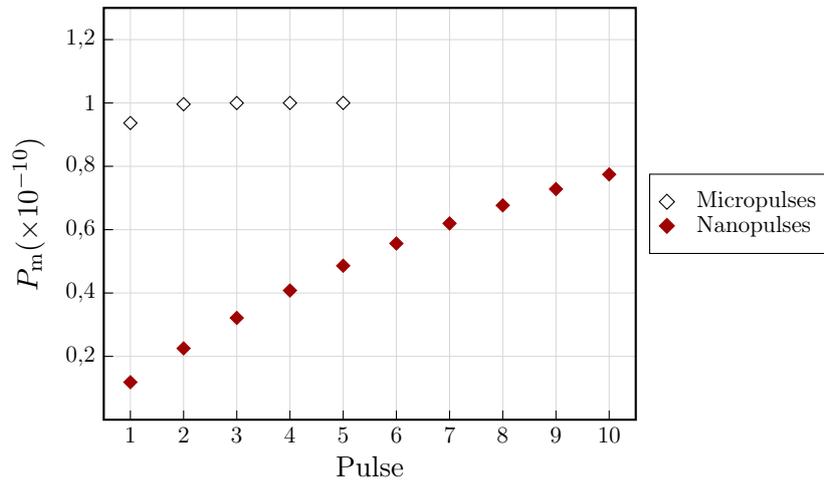


FIGURE 4.7 – Concentration de PI à l'intérieur (colonne de gauche) et à l'extérieur (colonne de droite) lors des simulations de nanopulses. Les temps indiqués ont pour origine la fin du dernier pulse. Paramètres en tables 4.1 et 4.4.

TABLE 4.4 – Paramètres additionnels pour les simulations des nanopulses [92].

Variable	Symbole	Valeur	Unité
<i>Paramètres expérimentaux :</i>			
Voltage appliqué	$ E $	2,5	MV/m
Durée des pulses	T_p	30	ns
Période des pulses	T	0,25	s
Nombre de pulses		10	
Rayon de la cellule	R	4	μm
<i>Paramètres numériques :</i>			
Taille du domaine de simulation	L	20	μm
Grille cartésienne	N	150^3	
Pas de temps pendant le pulse	Δt	1	ns
Pas de temps pendant la phase de transport	Δt	10	ms
Durée de la simulation	T_f	35	s
Tolérances pour les résolutions de point fixe sur M	ε	10^{-8}	

**FIGURE 4.8** – Niveau moyen de perméabilité de la membrane à la fin de chaque micro- et nanopulse des deux simulations précédentes.

4.4 Transport le long de microtubules

Nous avons montré avec les précédentes expériences et simulations de quelle manière une petite molécule se répartissait dans le cytoplasme. Celle-ci est très concentrée sur la face interne de la membrane cellulaire, et a besoin de beaucoup de temps pour diffuser dans toute la cellule. Si l'on avait considéré une grosse molécule, comme un plasmide d'ADN, ayant un coefficient de diffusion dans le cytoplasme inférieur de plusieurs ordres de grandeur, la concentration n'aurait augmenté que dans les régions périphériques de la cellule. Pourtant, les expériences d'électrotransfert de gènes montrent bien une expression des gènes qui ont été injectés. Cela veut dire qu'il y a eu transport des plasmides de la face interne de la membrane jusqu'au noyau de la cellule, distants de plusieurs micromètres. Pour modéliser ce transport, nous ne pouvons plus uniquement considérer la cellule comme un milieu homogène où les molécules se déplacent seulement par diffusion, mais aussi tenir compte des mécanismes internes à la cellule qui permettent ce déplacement.

Dans notre cas, les plasmides d'ADN sont transportés vers le noyau *via* le réseau de microtubules qui est un des constituants du cytosquelette de la cellule. Les microtubules sont des polymères

de tubuline, long de quelques micromètres, et d'un diamètre de 20 nm environ (figure 4.9(a)). Ces filaments forment une structure radiale, dont le point d'origine, appelé simplement *centre organisateur des microtubules*, est situé à proximité du noyau. Les microtubules ont pour rôle entre autres d'assurer le transport de molécules ou de vésicules du noyau vers le cytoplasme et inversement. Ce déplacement s'effectue par l'intermédiaire de moteurs moléculaires comme la dynéine ou la kynésine, auxquelles l'élément à déplacer s'attache [49], voir figure 4.9(b). La kynésine permet un transport du noyau vers la membrane, tandis que la dynéine sert à effectuer le trajet inverse.

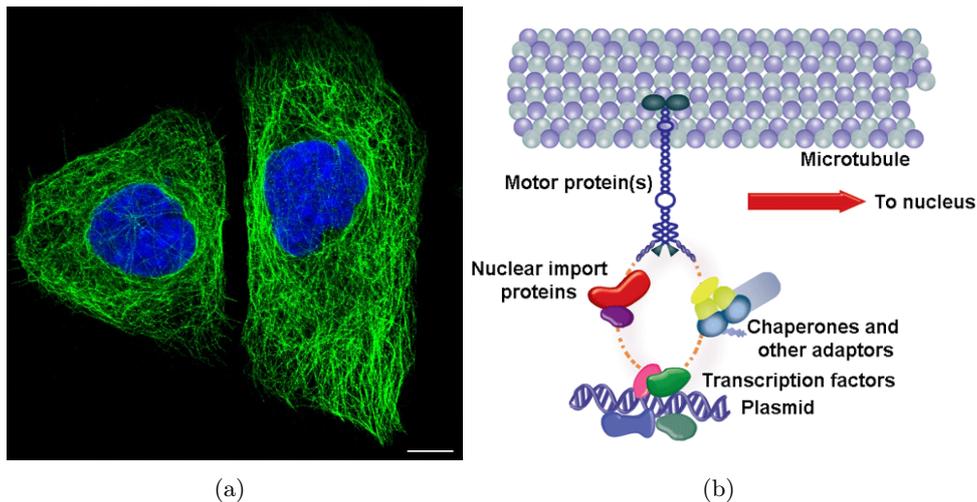


FIGURE 4.9 – 4.9(a) : tiré du *Human Protein Atlas* [89] : Fluorescence des microtubules de cellules de lignée humaine A-431 (en vert). Le noyau est teinté en bleu. La barre blanche représente 10 μm . 4.9(b) : accrochage des complexes plasmides-importine au microtubules par l'intermédiaire de diverses protéines, dont une faisant office de moteur moléculaire (page web de D.A. Dean).

Dès qu'une molécule de dynéine est attachée à un plasmide d'ADN proche d'un microtubule, le complexe formé est amené à proximité du noyau à une vitesse proche de 1 $\mu\text{m}/\text{s}$, puis est libéré et peut à nouveau « diffuser ». L'inclusion du plasmide dans le noyau peut se faire par l'intermédiaire de la protéine Ran, qui cycle entre ses formes GTP et GDP, dont les gradients de concentrations permettent ainsi l'import et l'export de molécules à travers l'enveloppe nucléaire [95]. D'autres mécanismes interviennent dans ce franchissement, notamment un type de molécules appelées importines, sans lesquelles l'ADN ne peut pas passer.

Le modèle de transport le long des microtubules que nous ajouterons à notre modèle d'électroperméabilisation se base sur celui proposé par Dimitrio *et al.* [23], mettant en évidence l'efficacité de ce mode de transport. Ce modèle combine une EDP de diffusion en deux dimensions à une équation de transport 1D le long d'un microtubule, avec des échanges cinétiques entre un nombre minimal d'espèces : plasmide avec ou sans dynéine, complexe plasmide+dynéine attaché au tube.

En termes de modélisation, les récents articles de Dean *et al.* [5, 4, 19] constituent une excellente source d'informations, sur les mécanismes cellulaires comme sur les valeurs de paramètres.

Pour notre modèle, nous conservons une majeure partie des simplifications qui ont été faites par Dimitrio *et al* en faisant les suppositions suivantes :

- La dynéine est présente en quantité suffisante dans toutes les régions du cytoplasme. Dès qu'un plasmide d'ADN est à l'intérieur de la cellule, celui-ci est considéré comme formant un complexe avec la dynéine.
- Nous supposons que la concentration en importines est connue au cours du temps (choisie constante dans un premier temps).

- Seuls les complexes plasmides-importines peuvent être attachés aux microtubules.
- Aucun plasmide ne peut rentrer dans le noyau s'il ne forme pas un complexe avec de l'importine.
- Aucun complexe plasmide-importine ne sort de la cellule.
- L'influence du cycle Ran est négligée. Les plasmides ne se déplacent que par diffusion autour du noyau.
- La probabilité de détachement des microtubules est négligée. Les complexes plasmides-importine ne sont libérés qu'aux extrémités des microtubules.

Ainsi, nous proposons de suivre l'évolution d'une concentration volumique de plasmides seuls M et de complexes plasmides-importine M^* , depuis l'extérieur de la cellule jusqu'à l'intérieur du noyau. Lorsque ces derniers sont attachés aux microtubules, nous exprimons leur concentration comme une concentration linéique W .

4.4.1 Géométrie du problème

Le domaine Ω est maintenant composé de trois sous-domaines \mathcal{O}_e , \mathcal{O}_c et \mathcal{O}_n , ce dernier représentant le noyau cellulaire (cf figure 4.11). Les milieux \mathcal{O}_c et \mathcal{O}_n sont séparés par une interface Γ_n . L'interface précédemment notée Γ sera notée Γ_c pour faciliter la distinction entre les membranes. On notera \mathbf{n} la normale unitaire orientée d'un domaine intérieur vers un domaine extérieur, c'est-à-dire de \mathcal{O}_n vers \mathcal{O}_c , et de \mathcal{O}_c vers \mathcal{O}_e .

Les microtubules seront représentés par N courbes 1D, notés \mathcal{T}_i , $i = 1$ à N , paramétrées selon leurs abscisses curvilignes :

$$\mathcal{T}_i : \Psi_i(s), \forall s \in [0, l_i],$$

où l_i désigne la longueur du microtubule. Les abscisses sont orientées de façon à ce que les points $\Psi(s = 0)$ soient proches de la face interne de la membrane cellulaire. On note \mathcal{E}_i l'extrémité du microtubule située dans la région du centre organisateur des microtubules :

$$\mathcal{E}_i := \Psi_i(l_i)$$

En chaque point d'un microtubule \mathcal{T}_i , on définit un disque $D_i(s)$ de rayon r_0 , perpendiculaire au microtubule : $\forall i \in \llbracket 0, N \rrbracket, \forall s \in [0, l_i]$,

$$D_i(s) := \left\{ \Psi_i(s) + \theta_1 \nu_1 + \theta_2 \nu_2, \sqrt{\theta_1^2 + \theta_2^2} \leq r_0, \nu_1 \times \nu_2 = \partial_s \Psi_i, \nu_1 \perp \nu_2, \|\nu_1\| = \|\nu_2\| = 1 \right\}.$$

Autour de chaque microtubule \mathcal{T}_i on définit une zone d'attraction $\mathcal{U}(\mathcal{T}_i)$, qui est un voisinage tubulaire de \mathcal{T}_i , de rayon r_0 (figure 4.10) :

$$\forall i \in \llbracket 0, N \rrbracket, \mathcal{U}(\mathcal{T}_i) = \bigcup_{s \in [0, l_i]} D_i(s).$$

Remarque : En deux dimensions, le disque D devient un segment de longueur $2r_0$, perpendiculaire au microtubule.

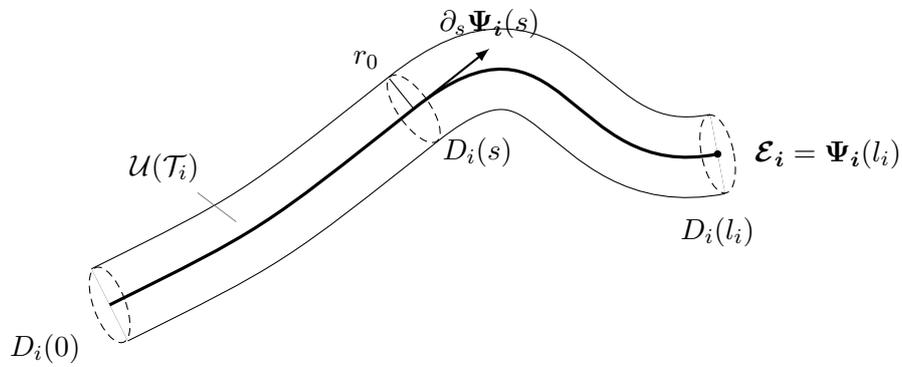


FIGURE 4.10 – Définition du voisinage d'un microtubule \mathcal{T}_i en 3D. Le rayon r_0 a été considérablement augmenté par rapport à la longueur du microtubule. Le rapport l_i/r_0 est d'ordinaire compris entre 100 et 1 000.

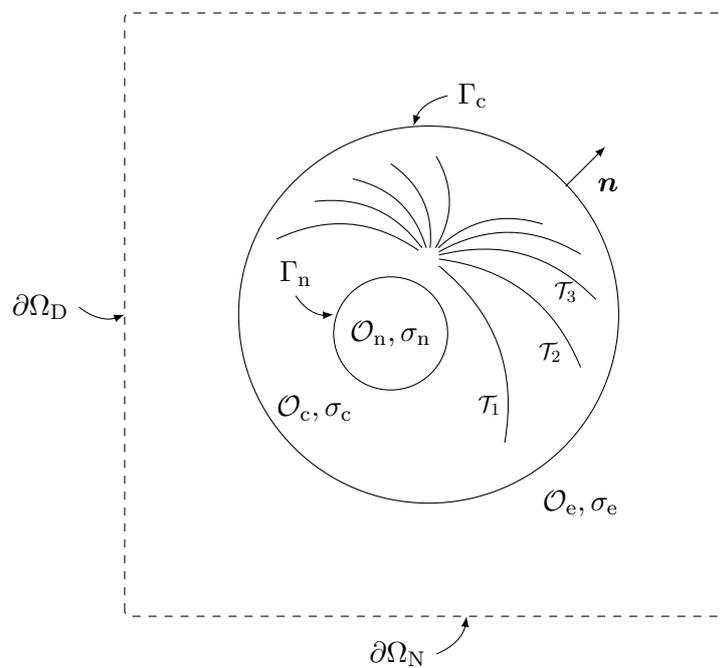


FIGURE 4.11 – Géométrie 2D du modèle de microtubules.

4.4.2 Modèle

Partie électrique

La conductivité électrique est notée

$$\sigma = \begin{cases} \sigma_e & \text{dans } \mathcal{O}_e, \\ \sigma_c & \text{dans } \mathcal{O}_c, \\ \sigma_n & \text{dans } \mathcal{O}_n. \end{cases}$$

Les équations du potentiel sont similaires aux modèles proposés dans les chapitres précédents :

$$\Delta U = 0 \text{ dans } \mathcal{O}_e \cup \mathcal{O}_c \cup \mathcal{O}_n, \quad (4.4a)$$

avec les conditions de transmission sur les flux aux interfaces :

$$\sigma_e \partial_n U|_{\Gamma_c^+} = \sigma_c \partial_n U|_{\Gamma_c^-}, \quad (4.4b)$$

$$\sigma_c \partial_n U|_{\Gamma_n^+} = \sigma_n \partial_n U|_{\Gamma_n^-}, \quad (4.4c)$$

et pour les sauts de potentiel :

$$C_c \partial_t [U]_{\Gamma_c} + S_c([U]_{\Gamma_c}) [U]_{\Gamma_c} = \sigma_c \partial_n U|_{\Gamma_c^-}, \quad (4.4d)$$

$$C_n \partial_t [U]_{\Gamma_n} + S_n([U]_{\Gamma_n}) [U]_{\Gamma_n} = \sigma_n \partial_n U|_{\Gamma_n^-}, \quad (4.4e)$$

avec les conditions suivantes :

$$U = g \text{ sur } \partial\Omega_D, \quad (4.4f)$$

$$\partial_n U = 0 \text{ sur } \partial\Omega_N, \quad (4.4g)$$

$$U(t = 0) = U^0. \quad (4.4h)$$

Etant donné que les expériences de transfert de gènes utilisent des millipulses, nous choisissons un modèle statique de conductivité électrique des membranes :

$$S_{crm}([U]) = S_n([U]) = S_0 + S_1 e^{-\left(\frac{x_{1,th}}{[U]}\right)^2}. \quad (4.5)$$

Cette formulation est basée sur l'expression de l'énergie électrostatique, par rapport à $[U]^2$.

Transport et diffusion des plasmides

L'ADN étant une molécule chargée, il faut tenir compte de l'effet électrophorétique dans nos équations. Ici également, nous considérons la motilité électrique comme nulle dans \mathcal{O}_c comme dans \mathcal{O}_n . Les coefficients de diffusion d et d^* des espèces respectives M et M^* sont indexées de la même manière que la conductivité. On note :

- k^* la vitesse d'attachement entre les plasmides et l'importine,
- $k_{\mathcal{T}}$ le taux d'attachement des complexes plasmides-importine aux tubes,
- W_i la concentration linéique de ces complexes sur le microtubule \mathcal{T}_i ,
- $v_{\mathcal{T}}$ la vitesse de déplacement de W sur les microtubules, de l'ordre de $1 \mu\text{m/s}$ [57],

- $I(t, x)$ la distribution de l'importine dans la cellule, supposée connue.

La concentration des plasmides sans importine M suit les équations suivantes :

$$\partial_t M - d_e \Delta M + \mu_e \nabla \cdot (M \nabla U) = 0 \text{ dans } \mathcal{O}_e, \quad (4.6a)$$

$$\partial_t M - d_c \Delta M = -k^* IM \text{ dans } \mathcal{O}_c, \quad (4.6b)$$

avec les conditions de flux

$$d_e \partial_n M|_{\Gamma_c^+} - \mu_e M \partial_n U|_{\Gamma_c^+} = d_c \partial_n M|_{\Gamma_c^-}, \quad (4.6c)$$

$$d_c \partial_n M|_{\Gamma_n^+} = 0, \quad (4.6d)$$

et sur le saut à travers Γ_c

$$P_c([U]_{\Gamma_c}) [M]_{\Gamma_c} = d_c \partial_n M|_{\Gamma_c^-}, \quad (4.6e)$$

et avec

$$M = M^0 \text{ sur } \partial\Omega, \quad (4.6f)$$

$$M(t=0) = M^0 \mathbf{1}_{\mathcal{O}_e}. \quad (4.6g)$$

Nous optons là aussi pour un modèle de perméabilité membranaire P_c plus simple :

$$P_c([U]) = P_0 + P_1 \exp\left(-\frac{E_{\text{th}}^2 |\Gamma_c| t}{\int_0^t \int_{\Gamma_c} [U]_{\Gamma_c}^2 ds dt}\right). \quad (4.7)$$

L'expression de P_c fait apparaître l'énergie électrique totale apportée à la membrane cellulaire pendant les pulses. La valeur de P_c décroît une fois les pulses coupés.

La concentration du complexe plasmide-importine est gouverné par :

$$\partial_t M^* - d_c \Delta M^* = k^* IM - k_{\mathcal{T}} M^* \sum_{i=1}^N \mathbf{1}_{\mathcal{U}(\mathcal{T}_i)} + \frac{v_{\mathcal{T}}}{\pi r_0^2} \sum_{i=1}^N W_i(l_i) \delta_{D_i(l_i)}(x) \text{ dans } \mathcal{O}_c, \quad (4.8a)$$

$$\partial_t M^* - d_n \Delta M^* = 0 \text{ dans } \mathcal{O}_n, \quad (4.8b)$$

avec les conditions de flux

$$d_c \partial_n M^*|_{\Gamma_c^-} = 0, \quad (4.8c)$$

$$d_c \partial_n M^*|_{\Gamma_c^+} = d_n \partial_n M^*|_{\Gamma_n^-}, \quad (4.8d)$$

et pour le saut à travers Γ_n

$$P_n([U]_{\Gamma_n}) [M^*]_{\Gamma_n} = d_n \partial_n M^*|_{\Gamma_n^-}, \quad (4.8e)$$

et avec

$$M^*(t=0) = 0, \quad (4.8f)$$

où P_n est la perméabilité de l'enveloppe nucléaire aux plasmides, différente de celle de la membrane cellulaire, dans la mesure où le passage est un mécanisme actif. Sur les microtubules,

$$\partial_t W_i(s) - v_{\mathcal{T}} \partial_s W_i(s) = k_{\mathcal{T}}(s) \int_{D_i(s)} M^*(x) dx, \quad (4.9)$$

$$W_i(s=0) = 0. \quad (4.10)$$

Les termes $k_{\mathcal{T}} M^* \sum_{i=1}^N \mathbb{1}_{\mathcal{U}(\mathcal{T}_i)}$ et $k_{\mathcal{T}}(s) \int_{D_i(s)} M^*(x) dx$ traduisent la captation par les microtubules des plasmides avec importine. M^* est intégré sur une section transverse de la zone d'attraction $\mathcal{U}(\mathcal{T}_i)$ du microtubule, c'est-à-dire un disque $D(s)$. Ainsi, nous avons donc bien des quantités homogènes, M^* étant en mol/m³ (ou g/m³) et W_i en mol/m (ou g/m).

Le terme $\frac{v_{\mathcal{T}}}{\pi r_0^2} \sum_{i=1}^N W_i(l_i) \delta_{D_i(l_i)}(x)$ représente la quantité de plasmides relâchés aux extrémités des microtubules. Ici également, on divise le flux de sortie du microtubule par πr_0^2 pour homogénéiser les quantités M^* et W_i (par $2r_0$ dans le cas 2D).

Les méthodes numériques employées pour résoudre ces équations, et en particulier pour discrétiser les termes présentés ci-dessus, sont données en sections 6.3.

4.4.3 Résultats

Nous souhaitons mettre en exergue le rôle joué par les microtubules sur l'incorporation des plasmides ADN dans le noyau, au cours d'une expérience d'électroperméabilisation. La comparaison entre une simulation avec et une simulation sans microtubules s'impose.

On considère une cellule, avec son noyau, dans laquelle sont placés sept microtubules. Leur disposition ainsi que leur nombre sont totalement arbitraires et ne constituent en aucun cas une reproduction de la réalité. Les solveurs utilisés pour calculer l'évolution des concentrations sur les microtubules étant peu coûteux, on peut toutefois en multiplier grandement le nombre, le seul inconvénient étant la moindre lisibilité des résultats.

Comme attendu, on observe (figure 4.12) que les plasmides sont en bien moindre concentration dans les régions proches des extrémités des microtubules car aussitôt captés et transportés en direction du noyau. Par conséquent, si la quantité totale de plasmides à l'intérieur de la cellule est la même dans les deux simulations (figure 4.13), on constate une nette différence dans la concentration à l'intérieur du noyau (figure 4.14), le gain étant même croissant au cours des premières secondes.

Remarque : Afin de ne pas avoir recaptation en boucle des plasmides sitôt qu'ils sont restitués par les microtubules, la valeur du coefficient d'accroche $k_{\mathcal{T}}$ a été amenée à 0 sur le dernier micromètre de chaque microtubule. Il est probable que cette variable doive être ajustée plus finement, en variant en fonction du nombre de microtubules présents dans la région, et soit saturée par un nombre limite de plasmides.

Nous pouvons comparer nos résultats à ceux des expériences menées par Rosazza *et al.* [73], lesquels contiennent de très nombreuses statistiques sur des trajectoires d'agrégats de plasmides d'ADN qui ont été suivis par fluorescence. Dans cet article sont décrits les deux modes de transport des plasmides : diffusion libre et transport actif le long des microtubules et du réseau d'actine de la

cellule. Notons que ce dernier n'est pas pris en compte dans notre modèle. Les constantes de diffusion des plasmides issues des expériences sont du même ordre de grandeur que les paramètres que nous avons choisi (voir table 4.5). La vitesse le long des microtubules est sensiblement supérieure dans notre cas : $1 \mu\text{m/s}$ dans notre simulation, pour 100 à 600 nm/s dans les expériences. Il est donc logique que nous trouvions un temps de transport le long du microtubule de l'ordre de 3 à 4 secondes ($t = 4 \text{ s}$ étant l'instant d'entrée des premiers plasmides dans le noyau en quantité significative), alors que les expériences relèvent une durée de transport de l'ordre de 10 secondes. Nous pourrions donc nous servir de ces expériences pour améliorer nos simulations, en restreignant les gammes de paramètres que nous utiliserons, et définir des réseaux et des vitesses de transport plus réalistes, dans la mesure où il seraient capables de reproduire les différentes distributions obtenues dans cet article.

Ces premiers résultats sont encourageants car ils mettent déjà en évidence sur un exemple simple l'importance des microtubules. L'avantage du couplage mis en place est qu'il permet un lien direct entre notre solveur d'électroporation-diffusion et le modèle de microtubules. De plus, il peut s'adapter à une grande variété de formes de cellules et de noyaux, comme par exemple les myoblastes sur lesquels sont réalisés les expériences d'EGT.

Bien que ce modèle donne une estimation d'une concentration de plasmide à l'intérieur du noyau à partir d'une concentration à l'extérieur de la cellule, il n'est pour l'instant pas possible d'en tirer plus de conclusions concernant le transfert de gènes par électroporation, d'autant plus qu'on ne dispose que de très peu de résultats expérimentaux *in vitro* permettant de valider le modèle. Afin de faire la relation avec les expériences *in vivo*, il reste de nombreuses inconnues à lever, tant sur le plan biologique que mathématique, les deux principales étant :

- Connaissant le dosage des plasmides, leur point d'injection dans un tissu et le champ électrique que l'on applique, quelle est leur répartition autour des cellules ?
- Si une quantité N de plasmides a intégré le noyau, quel sera leur niveau d'expression ?

Si l'on peut amener des éléments de réponse sur le passage de la face externe des membranes cellulaires aux noyaux, ce qui se passe avant et après reste une question ouverte.

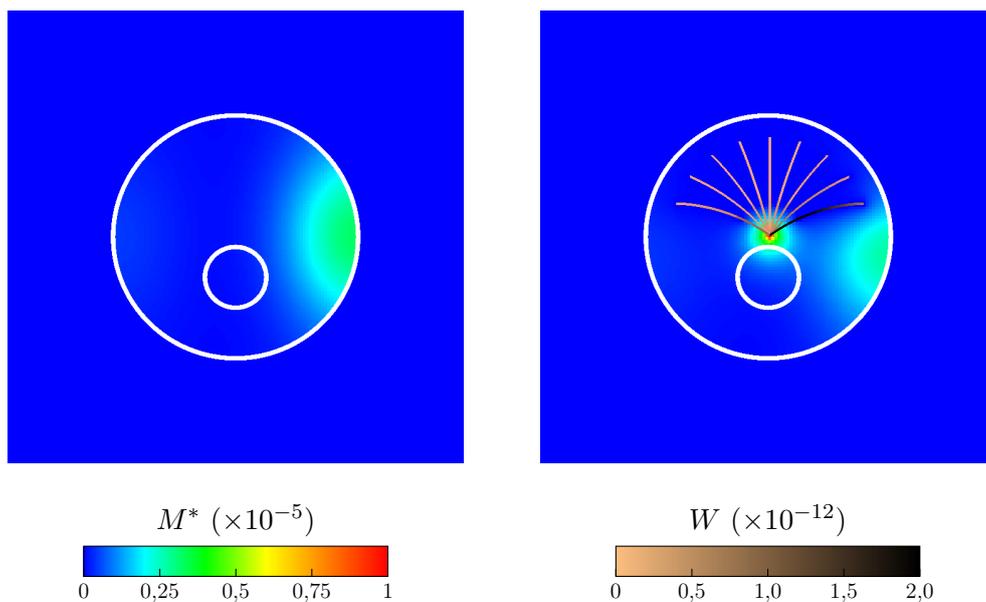


FIGURE 4.12 – Répartition spatiale de la concentration de plasmide avec importine M^* à $t = 10 \text{ s}$ dans des simulations avec et sans microtubules. Paramètres en table 4.5.

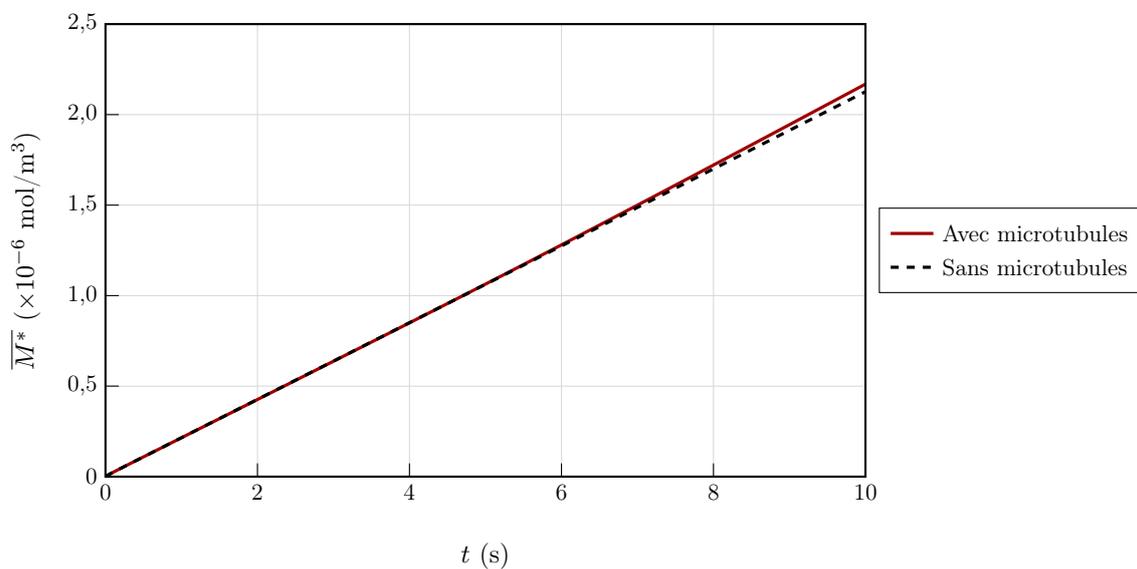


FIGURE 4.13 – Comparaison entre simulations avec et sans microtubules : concentration moyenne de plasmide avec importine M^* . La moyenne est réalisée sur l'ensemble du volume de la cellule (cytoplasme et noyau). Paramètres en table 4.5.

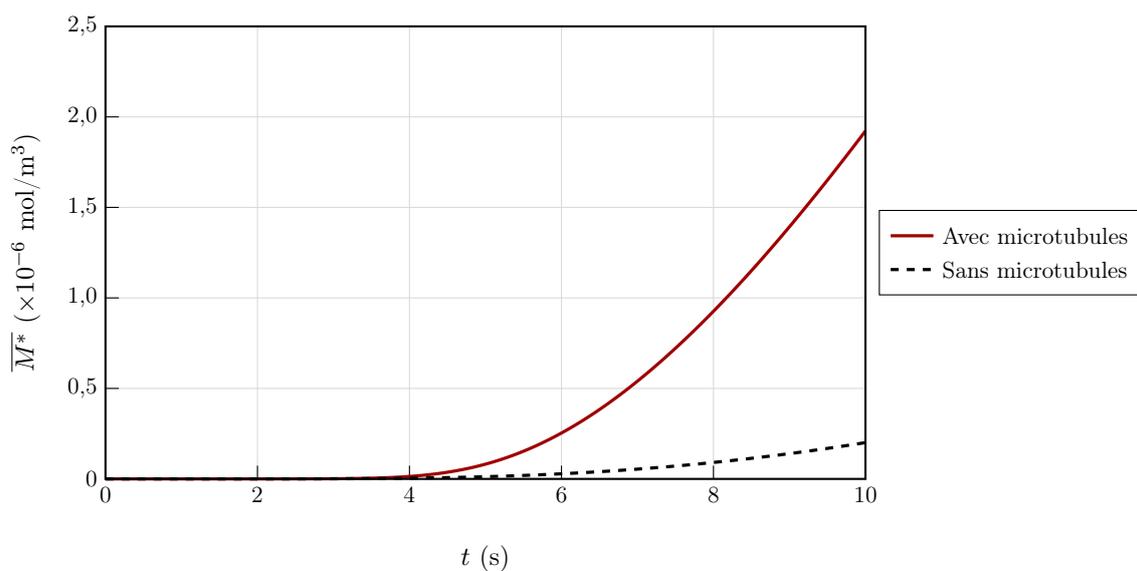


FIGURE 4.14 – Comparaison entre simulations avec et sans microtubules : concentration moyenne de plasmide avec importine M^* , dans le noyau uniquement. Paramètres en table 4.5.

TABLE 4.5 – Paramètres des simulations du modèle de microtubules.

Variable	Symbole	Valeur	Unité
Paramètres cellulaires :			
Rayon de la cellule	R	8	μm
Rayon du noyau	R_n	2	μm
Conductivité du cytoplasme	σ_c	0,455	S/m
Conductivité extracellulaire	σ_e	1,5	S/m
Capacité de la membrane	C_m	0,0095	F/m ²
Conductivité surfacique de la membrane au repos	S_0	1,9	S/m ²
Diffusion des lipides sur la surface	d_L	10^{-9}	m ² /s
Perméabilité de la membrane nucléaire	P_n	10^{-5}	m/s
Paramètres de diffusion :			
Diffusion de M dans le milieu extracellulaire	d_e	10^{-11}	m ² /s
Diffusion de M dans le cytoplasme	d_c	5.10^{-13}	m ² /s
Diffusion de M^* dans le cytoplasme et le noyau	d^*	5.10^{-13}	m ² /s
Motilité de M dans le milieu extracellulaire	μ_e	1.10^{-7}	m/Vs
Concentration extracellulaire initiale	M^0	1	mol/m ³
Paramètres du modèle d'électroporation :			
Seuil de poration	$X_{1,\text{th}}$	0,2	V
Seuil de perméabilisation	$X_{2,\text{th}}$	5 000	S/m ²
Pente de transition de la poration	k_1	40	V ⁻¹
Pente de transition de la perméabilisation	k_2	10	m ² /S
Temps caractéristique de poration	$\tau_{1\text{up}}$	2.10^{-6}	s
Temps caractéristique de fermetures des pores	$\tau_{1\text{dw}}$	1.10^{-7}	s
Temps caractéristique de perméabilisation	$\tau_{2\text{up}}$	2.10^{-6}	s
Temps caractéristique de reconstruction de la membrane	$\tau_{2\text{dw}}$	600	s
Conductivité de la membrane électroporée	S_1	10^6	S/m ²
Conductivité de la membrane altérée	S_2	1,9	S/m ²
Perméabilité de la membrane électroporée	P_1	10^{-7}	m/s
Perméabilité de la membrane altérée	P_2	10^{-8}	m/s
Porosité initiale	$X_{1,0}$	0	
Altération initiale	$X_{2,0}$	0	
Paramètres des microtubules :			
Vitesse de transport	$v_{\mathcal{T}}$	1	$\mu\text{m/s}$
Distance d'attraction des microtubules	r_0	20	nm
Taux d'accroche aux microtubules	$k_{\mathcal{T}}$	10^6	s ⁻¹
Taux d'accroche des plasmides à l'importine	k^*	0,5	(s[I]) ⁻¹
Concentration d'importine	I	1	
Paramètres de pulse :			
Voltage appliqué	$ E $	15 000	V/m
Durée du pulse	T_p	100	ms
Durée des simulations	T_f	100	s
Paramètres numériques :			
Taille du domaine de simulation	L	30	μm
Grille cartésienne	N	150^2	
Paramètre de relaxation pour le point fixe sur M	ρ	10^{-5}	
Tolérance pour le point fixe	ε	10^{-5}	
Pas de temps pendant le pulse	Δt	10	μs
Pas de temps après le pulse	Δt	10	ms

Deuxième partie

Outils de simulation

La seconde moitié de ce mémoire se focalise sur les méthodes numériques employées pour résoudre les équations des modèles présentés précédemment. Les raisons ayant guidé le choix de ces méthodes sont la nécessité de décrire précisément des données n'existant que sur l'interface représentant la membrane, tout en conservant un coût de calcul raisonnable pour plusieurs EDP sur des domaines bi- ou tridimensionnels. En particulier, étant donné que l'analyse que nous faisons du modèle n'est que qualitative, il ne nous a pas paru nécessaire de monter à des ordres élevés de méthodes numériques.

Pour résoudre les équations sur le potentiel électrique, notre choix s'est porté vers des discrétisations sur grille cartésienne pour leur relative facilité de parallélisation, et pour lesquelles il existe de nombreuses méthodes numériques. Citons par exemple celles de type *Immersed Interface* (IIM) [47, 48] dérivées de celle de Leveque et Li [46], les méthodes *Matched Interface Boundary* [100, 99], ou encore les méthodes proposées par Gibou *et al.* [35, 34], inspirées des méthodes *Ghost Fluid* de Fedkiw *et al.* [29, 28]. Comme nous devons disposer d'une évaluation précise de la différence de potentiel transmembranaire à l'interface, qui est rapellons-le l'élément déclencheur de tout notre problème, nous avons choisi de nous baser sur la méthode de différences finies proposée par Cisternino et Weynans [15]. Cette dernière a pour avantage par rapport aux précédentes d'ajouter aux inconnues classiques sur la grille cartésienne deux inconnues à chaque point d'intersection entre la grille et l'interface. Ces points supplémentaires permettent de fournir des informations qui n'existent que sur l'interface, comme la conductivité surfacique ou la perméabilité, et qui n'auraient pas de sens si elles étaient exprimées dans les domaines extra- et intracellulaires. Dans [15], Cisternino et Weynans ont montré la convergence à l'ordre 2 de leur méthode pour un problème statique linéaire et des interfaces avec des géométries complexes. Leur discrétisation de l'opérateur elliptique et des flux à l'interface a été adaptée au problème dynamique d'électroperméabilisation. Nous montrons que le schéma global conserve l'ordre 2 pour le problème linéaire, et est d'ordre 1 lorsque la perméabilisation est prise en compte.

Un code 2D/3D en C++ a été développé spécifiquement pour ce problème, et a été parallélisé pour lever en partie les limitations dues à la 3D. Les performances sont satisfaisantes dans la mesure où il est possible d'effectuer des simulations directes du modèle complet en environ 15 minutes pour une grille 150^2 et une demi-journée pour une grille 60^3 . Une phase d'optimisation du code et/ou du couple schéma-méthode numériques retenu sera peut-être nécessaire pour accélérer la résolution du problème inverse de calibration des paramètres. L'objectif du volet numérique de ce travail est avant tout de mettre en place une méthode relativement stable nous permettant l'analyse des modèles construits, plus que la comparaison exhaustive des méthodes numériques pour un problème donné.

Chapitre 5

Résolution des équations de l'électroperméabilisation

5.1 Positionnement de l'interface

Nous commençons ce chapitre en présentant la manière dont est numériquement décrit le domaine de résolution des équations présentées en première partie. La description est faite pour un domaine en deux dimensions pour en faciliter la lecture, mais peut être aisément transposée au cas tridimensionnel.

Le domaine $\mathcal{O}_c \cup \mathcal{O}_e$ est décrit par une grille cartésienne de pas h_x et h_y , définissant les points $P_{ij} = (x_i, y_j) = (ih_x, jh_y)$. Le domaine de calcul utilisé est rectangulaire et comporte respectivement N_x et N_y points dans les directions x et y .

Afin d'harmoniser les notations, la valeur approchée d'une quantité F au point P_{ij} sera notée en minuscule f_{ij} . Lorsqu'il est nécessaire de préciser dans quel sous-domaine est calculée une valeur, cela est fait en utilisant les notations f_{ij}^c et f_{ij}^e .

L'interface Γ est décrite par l'utilisation de la méthode *level-set* introduite par Osher et Sethian [64, 63]. Elle est implicitement déterminée comme le niveau 0 de la fonction distance signée φ :

$$\varphi(x) = \begin{cases} \text{dist}_\Gamma(x) & \text{in } \mathcal{O}_e, \\ -\text{dist}_\Gamma(x) & \text{in } \mathcal{O}_c. \end{cases} \quad (5.1)$$

Une des propriétés de la fonction φ est qu'il est directement possible d'obtenir les normales \mathbf{n} à ses courbes de niveaux à partir de son gradient :

$$\mathbf{n}(x) = \nabla\varphi(x). \quad (5.2)$$

On dispose ainsi en particulier des vecteurs normaux à l'interface. Pour plus de lisibilité, on note φ_{ij} la valeur de φ en P_{ij} . Pour notre problème, il n'est nécessaire de connaître les valeurs de φ que dans un voisinage de Γ . On peut alors s'économiser le coût du calcul d'une fonction distance sur la totalité du domaine, qui peut s'avérer important lorsque la forme de Γ est quelconque.

Les points de grille P_{ij} sont répartis en deux catégories :

- les points sont dits *voisins de l'interface* lorsque le signe de φ change entre ces points et un de leurs voisins de grille immédiats,

- les points sont dits *réguliers* lorsqu'ils sont situés loin de l'interface, c'est-à-dire lorsque ses voisins sont tous dans le même sous-domaine.

Si le segment $[P_{ij}P_{i+1j}]$ est coupé par l'interface – lorsque $\varphi_{ij}\varphi_{i+1j} < 0$ – on introduit le point d'interface $P_{ij,E} := (x_{i,E}, y_j)$ situé à l'intersection. Sa position est donnée par l'intermédiaire des projections des points P_{ij} sur l'interface :

$$x_{i,E} = x_{ij} - \varphi_{ij}(\mathbf{n}_{ij})_x + \varphi_{ij}(\mathbf{n}_{ij})_y \frac{h_x - \varphi_{i+1j}(\mathbf{n}_{i+1j})_x + \varphi_{i+1j}(\mathbf{n}_{i+1j})_y}{\varphi_{ij}(\mathbf{n}_{ij})_y - \varphi_{i+1j}(\mathbf{n}_{i+1j})_y}, \quad (5.3)$$

où $(\mathbf{n}_{ij})_x$ désigne la composante dans la direction x du vecteur normal \mathbf{n} en P_{ij} . Lorsque l'interface est orthogonale au segment $[P_{ij}P_{i+1j}]$, le dénominateur est nul. On utilise alors simplement :

$$x_{i,E} = x_{ij} - \varphi_{ij}\mathbf{n}_{ij}. \quad (5.4)$$

De la même manière, si ce sont les segments $[P_{i-1j}P_{ij}]$, $[P_{ij}P_{ij+1}]$ ou $[P_{ij-1}P_{ij}]$ qui sont intersectés, on définit respectivement les points $P_{ij,W} := (x_{i,W}, y_j)$, $P_{ij,N} := (x_i, y_{j,N})$ et $P_{ij,S} := (x_i, y_{j,S})$. Un exemple de configuration est donné en figure 5.1.

Remarque : Avec ces notations, chaque point d'interface peut être désigné de deux façons. Par exemple, $P_{ij,N} = P_{i+1j,S}$.

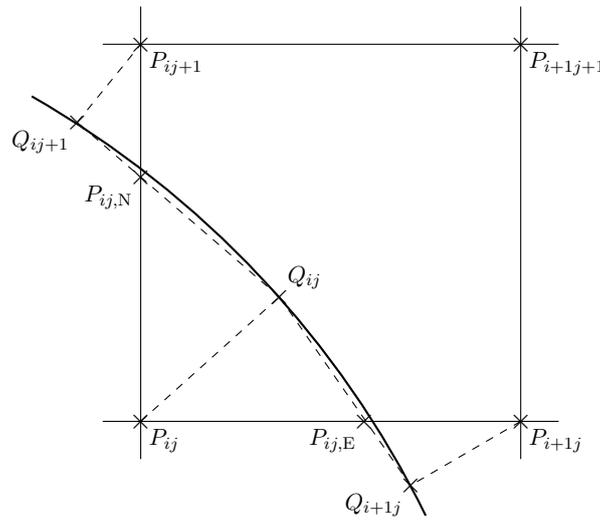


FIGURE 5.1 – Exemple de configuration pour déterminer la position de l'interface Γ (en trait épais). La position de $P_{ij,E}$ est déterminée comme étant l'intersection des segments $[P_{ij}P_{i+1j}]$ et $[Q_{ij}Q_{i+1j}]$. De même le point $P_{ij,N}$ est l'intersection des segments $[P_{ij}P_{ij+1}]$ et $[Q_{ij}Q_{ij+1}]$. L'interface est alors approchée dans cette maille par le segment $[P_{ij,E}P_{ij,N}]$.

À chaque point d'intersection, deux inconnues sont rajoutées, chacune étant associée à un des deux sous-domaines \mathcal{O}_e et \mathcal{O}_c . À l'instar des points de grille, on notera en minuscule les valeurs approchées d'une quantité sur l'interface. Par exemple, $u_{ij,\gamma}^e$ et $u_{ij,\gamma}^c$, $\gamma = N, S, E$ ou W désignent les valeurs approchées du potentiel au point $P_{ij,\gamma}$, respectivement à l'extérieur et à l'intérieur de la cellule.

5.2 Schéma numérique

Dans cette section nous présentons d'abord le schéma numérique retenu pour résoudre le modèle sur le potentiel (3.5) couplé aux équations de transport-diffusion (4.1). Des éléments spécifiques au modèle statique sur le potentiel ainsi que le schéma de discrétisation du modèle de microtubules (4.6a,4.8a,4.9) sont détaillés ensuite.

5.2.1 Schéma global

On utilise un schéma temporel semi-implicite du premier ordre pour résoudre les équations (3.5) et sur U , M , X_1 et X_2 .

Pour faciliter la lecture du schéma et éviter les conflits entre les nombreux systèmes d'indexation à venir, notons pour ce chapitre :

- Π_g l'ensemble des points de grille. Ces points seront parcourus à l'aide d'un 2-uple \mathbf{i} (3-uple en trois dimensions), avec $\mathbf{i} \in \llbracket 0, N_x \rrbracket \times \llbracket 0, N_y \rrbracket$.
- Π_Γ l'ensemble des points d'interface, qui seront parcourus avec un indice $j \in \mathbb{N}$,
- $(\Delta u)_i$ la discrétisation du laplacien de U au point de grille P_i ,
- $(\partial_n u^e)_j$ (resp. $(\partial_n u^c)_j$), l'approximation de la dérivée normale de U au point d'interface P_j dans le domaine extérieur (resp. intérieur),
- $(\Delta_\Gamma x_2)_j$ la valeur approchée du laplacien-Beltrami de X_2 sur la surface de la membrane.
- $(\nabla \cdot (\mu m \nabla u))_i$ la discrétisation du terme de transport $\nabla \cdot (\mu M \nabla U)$ au point de grille P_i .
- Les itérations en temps seront notées en exposant.

Le schéma numérique s'écrit alors, $\forall n \geq 0$:

- Loi de Poisson pour le potentiel sur la grille : $\forall P_i \in \Pi_g$,

$$(\Delta u)_i^{n+1} = 0, \quad (5.5a)$$

Condition sur les flux : $\forall P_j \in \Pi_\Gamma$

$$\sigma_e (\partial_n u^e)_j^{n+1} - \sigma_c (\partial_n u^c)_j^{n+1} = 0, \quad (5.5b)$$

Evolution du potentiel transmembranaire : $\forall P_j \in \Pi_\Gamma$,

$$C_m \frac{[u]_j^{n+1} - [u]_j^n}{\delta t} + s_{m,j}^n [u]_j^n = \sigma_c (\partial_n u^c)_j^{n+1}, \quad (5.5c)$$

avec

$$s_{m,j}^n = S_0 + S_1 x_{1,j}^n + S_2 x_{2,j}^n. \quad (5.5d)$$

- L'équation différentielle (2.13g) sur X_1 est résolue avec un schéma Runge-Kutta 4.
- Diffusion des lipides sur la membrane : $\forall P_j \in \Pi_\Gamma$,

$$x_{2,j}^{n+1} - \delta t d_L (\Delta_\Gamma x_2)_j^{n+1} = x_{2,j}^n + \delta t (\beta_2(x_{1,j}^n) - x_{2,j}^n) \cdot \begin{cases} \tau_{2\text{up}}^{-1} & \text{si } \beta_2(x_{1,j}^n) > x_{2,j}^n, \\ \tau_{2\text{dw}}^{-1} & \text{si } \beta_2(x_{1,j}^n) < x_{2,j}^n. \end{cases} \quad (5.6)$$

La méthode de discrétisation que nous avons retenue pouvant engendrer des artefacts numériques importants, nous effectuons un *splitting* des phases de transport et de diffusion des molécules.

- Transport le long des lignes de champ : $\forall P_i \in \Pi_g$

$$\tilde{m}_i = m_i^n + \delta t (\nabla \cdot (\mu m \nabla u^n))_i^n \quad (5.7)$$

- L'étape de diffusion est résolue par une méthode de point fixe sur le saut de m (cf. section suivante pour un résultat analogue) : partant de $m^{p=0} = m^n$, on résout

$$\forall P_i \in \Pi_g, m_i^{p+1} - \delta t D(\Delta m)_i^{p+1} = \tilde{m}_i, \quad (5.8a)$$

$$\forall P_j \in \Pi_\Gamma, d_e(\partial_n m^e)_j^{p+1} - d_c(\partial_n m^c)_j^{p+1} = \mu_e m_j^{e,n} (\partial_n u^e)_j^n, \quad (5.8b)$$

$$\forall P_j \in \Pi_\Gamma, \left(\frac{1}{\rho} + p_{m,j}^n \right) (m_j^{e,p+1} - m_j^{c,p+1}) = \frac{1}{\rho} (m_j^{e,p} - m_j^{c,p}) + d_c(\partial_n m^c)_j^{p+1}, \quad (5.8c)$$

avec

$$p_{m,j}^n = P_0 + P_1 x_{1,j}^n + P_2 x_{2,j}^n, \quad (5.8d)$$

tant que le résidu de convergence $\|m^{p+1} - m^p\|_{L^2(\Omega)}$ est supérieur à une tolérance ε .

- Les conditions initiales sont fixées à $u = 0$, $x_1 = 0$, $x_2 = 0$ et $m = M^0 \mathbf{1}_{\mathcal{O}_e}(x)$.
- Les conditions de bord sont de Dirichlet dans la direction x et de Neumann homogènes dans les autres directions pour le potentiel. La valeur imposée est généralement égale à Ex où E désigne l'intensité du champ électrique. Pour l'équation sur m , on impose $m = M^0$ lorsque le champ électrique est rentrant pour la phase de transport, et la même valeur en condition de Dirichlet dans l'étape de diffusion.

Le choix a été fait d'explicitier le terme en s_m dans la condition (5.5c) sur le potentiel transmembranaire afin de conserver la même matrice tout au long de la simulation. Le schéma étant moins implicite, il est possible que les conditions de stabilité sur le pas de temps soient plus contraignantes. Cependant, sur des simulations nécessitant beaucoup d'itérations en temps, notamment avec les nanopulses, l'économie d'un assemblage de matrice a été préférée.

Les discrétisations des termes $(\Delta u)_i$, $(\partial_n u^e)_j$ et $(\nabla \cdot (\mu m \nabla u))_i$ feront l'objet du chapitre 6 et celle du terme $(\Delta_\Gamma x_2)_j$ sera détaillée au chapitre 7.

Les différents systèmes linéaires construits sont résolus à l'aide de la librairie Petsc [6], qui gère quasi-automatiquement la parallélisation de cet élément du programme. Un solveur direct peut être utilisé pour les calculs séquentiels sur de petits domaines. Pour les calculs en parallèle, indispensables en tridimensionnel, il est impératif de sélectionner un solveur itératif. Du fait des nouvelles inconnues et du choix de la discrétisation des flux, la matrice du problème sur le potentiel n'est pas symétrique (cf. figure 5.2). Un solveur de type GMRES, adapté à une large gamme de matrices, a été retenu pour résoudre tous les systèmes linéaires en parallèle.

5.2.2 Discrétisation du modèle statique

Pour résoudre le modèle statique (2.7), on est tenté de poser naïvement le schéma suivant pour la différence de potentiel transmembranaire :

$$\forall P_j \in \Pi_\Gamma, \forall n \geq 0, \quad s_{m,k}^n [u]_j^{n+1} = \sigma_c (\partial_n u^c)_j^{n+1}.$$

Ce schéma donne pour résultat une solution qui alterne à chaque itération entre deux valeurs de potentiel transmembranaire. Cela vient du fait que la conductivité passe directement d'un état isolant $s_m = S_0$ à un état conducteur $s_m = S_1$, sans se stabiliser à une valeur intermédiaire. Cette alternance est due au fait que l'application \mathcal{L}_g qui à V associe $U \in PH^1(\Omega)$ la solution de

$$\begin{cases} \Delta U = 0 \text{ dans } \mathcal{O}_e \cup \mathcal{O}_c, \\ [\sigma \partial_n U]_\Gamma = 0, \\ S_m([V]_\Gamma) [U]_\Gamma = \sigma_c \partial_n U, \\ U|_{\partial\Omega} = g, \end{cases}$$

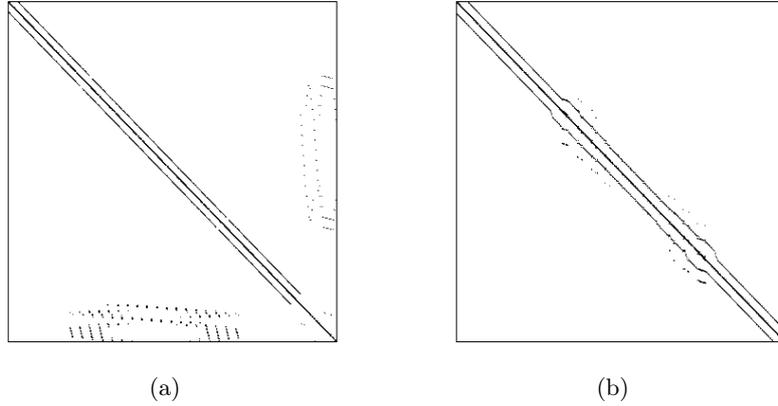


FIGURE 5.2 – Termes non nuls de la matrice du schéma sur u eqs. (5.5a) à (5.5c). 5.2(a) : En numérotant les points de grille puis les points d'interface, une structure par blocs apparaît clairement. 5.2(b) : En intercalant dans la numérotation les points d'interface au fur et à mesure du parcours de la grille, et par conséquent en ramenant les termes proche de la diagonale, il est fort probable d'obtenir un gain d'efficacité dans la résolution du système, que ce soit en termes de conditionnement ou de parallélisation.

n'est pas contractante. En effet, la constante de Lipschitz de S_m est de l'ordre de $k_1 S_1 \gg 1$.

On utilise alors le schéma modifié suivant, rendant possible l'existence d'un point fixe :

$$\forall P_k \in \Pi_\Gamma, \forall n \geq 0, \quad [u]_k^{n+1} + \rho S_{m,k}^n [u]_k^{n+1} = [u]_k^n + \rho \sigma_c (\partial_n u^c)_k^{n+1}. \quad (5.9)$$

où ρ est un paramètre suffisamment petit pour que l'application modifiée $\mathcal{L}_{\rho,g}$ qui à V associe la solution U de

$$\begin{cases} \Delta U = 0 \text{ dans } \mathcal{O}_e \cup \mathcal{O}_c, \\ [\sigma \partial_n U]_\Gamma = 0, \\ [U]_\Gamma + \rho S_m([V]_\Gamma) [U]_\Gamma = [V]_\Gamma + \rho \sigma_c \partial_n U, \\ U|_{\partial\Omega} = g, \end{cases}$$

soit une contraction stricte. La résolution du problème statique est interrompue dès lors que la différence entre deux itérations est inférieure en norme à un paramètre ε .

Remarque : Cette méthode de résolution consiste à introduire un pseudo-temps. En effet, en assimilant ρ au coefficient $\delta t / C_m$, les équations (5.9) et (5.5c) sont équivalentes.

Chapitre 6

Discrétisation des équations sur le potentiel et de transport-diffusion

Nous allons dans ce chapitre détailler les discrétisations de l'opérateur de Laplace et des flux à l'interface en se basant sur les points de la grille cartésienne. Ces discrétisations ont été proposées par Cisternino et Weynans [15], mais appliquées à un schéma numérique différent. Ensuite nous montrerons que le schéma présenté au chapitre précédent est d'ordre 2 en espace et 1 en temps. Dans ce chapitre, nous revenons à l'indexation classique des points de grille par deux entiers i et j .

6.1 Éléments de discrétisation

Laplacien discret

Pour les points de grille réguliers, le laplacien est approché par une formule classique de différences finies centrées :

$$(\Delta u)_{ij} = \frac{u_{i-1j} - 2u_{ij} + u_{i+1j}}{h_x^2} + \frac{u_{ij-1} - 2u_{ij} + u_{ij+1}}{h_y^2}. \quad (6.1)$$

Cette formule est d'ordre 2 :

$$(\Delta u)_{ij} = \Delta U(x_i, y_j) + \mathcal{O}(h_x^2, h_y^2).$$

Lorsqu'un point P_{ij} se situe au voisinage de l'interface, le même principe de différences finies est appliqué, avec les voisins immédiats de P_{ij} dans chaque direction. Dans l'exemple proposé en figure 6.1(a), le laplacien discret est donné par :

$$(\Delta u)_{ij} = \frac{\frac{u_{ij,E} - u_{ij}}{x_{ij,E} - x_i} - \frac{u_{ij} - u_{i-1j}}{h_x}}{2} + \frac{u_{ij-1} - 2u_{ij} + u_{ij+1}}{h_y^2}. \quad (6.2)$$

Cette formule est d'ordre 1 seulement car non centrée en x :

$$(\Delta u)_{ij} = \Delta U(x_i, y_j) + \mathcal{O}(h_x).$$

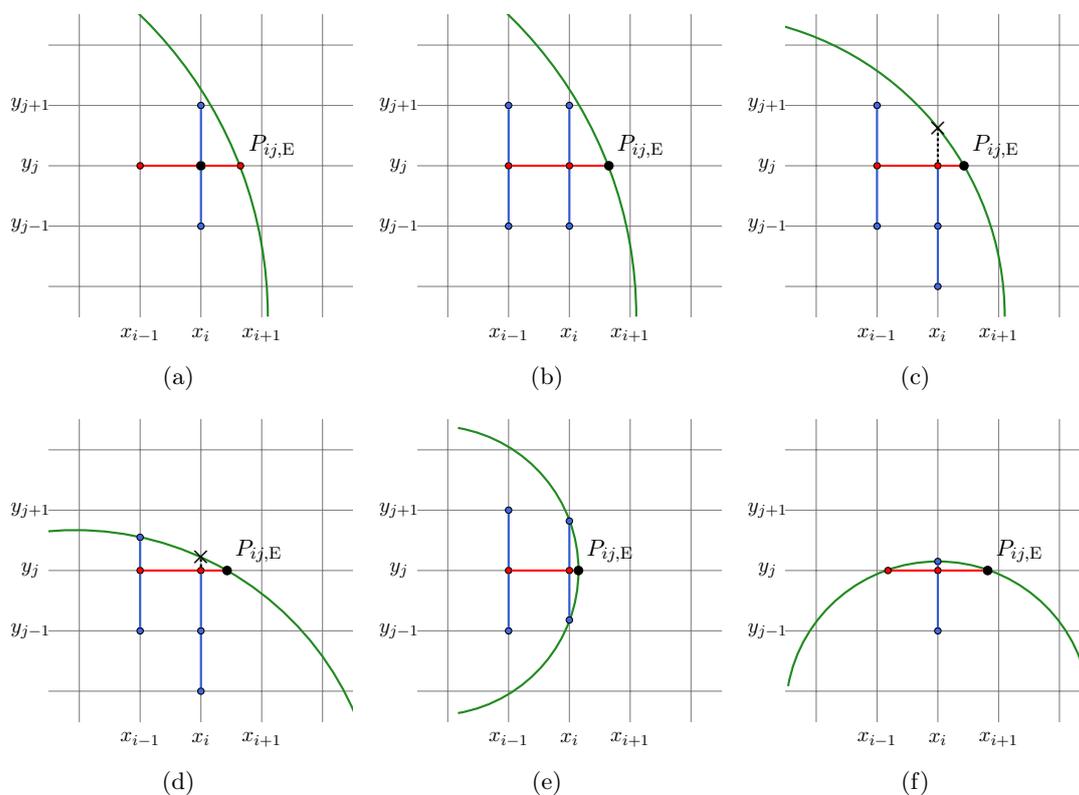


FIGURE 6.1 – Exemples de stencils de discrétisation pour des points proches de l'interface. Le point où la discrétisation est effectuée est indiqué en noir. Fig. 6.1(a) : laplacien. Fig. 6.1(b) : flux à l'interface au second ordre. Fig. 6.1(c) et 6.1(d) : flux avec correction. Fig. 6.1(e) : flux sans possibilité de correction en y . Fig. 6.1(f) : flux sans correction.

Terme de transport

Le terme $(\nabla \cdot (m\nabla u))_{ij}$ du schéma de transport (5.7) amenant m en m^* n'est calculé que sur les points de grille, du fait du *splitting* que nous avons retenu.

Si le point P_{ij} auquel ce terme est calculé est un point régulier, on utilise alors un schéma *upwind* d'ordre 1, mais sous forme conservative. Si $(\nabla u)_{x,ij}^n$ (resp $(\nabla u)_{y,ij}^n$) désigne la composante dans la direction x (resp. y) de l'approximation du champ électrique au point P_{ij} , alors

$$\begin{aligned} \frac{m_{ij}^{n+1} - m_{ij}^n}{\delta t} = & -\frac{1}{h_x} \cdot \begin{cases} (\nabla u)_{x,ij}^n m_{ij}^n - (\nabla u)_{x,i-1j}^n m_{i-1j}^n & \text{si } (\nabla u)_{x,ij}^n \geq 0, \\ (\nabla u)_{x,i+1j}^n m_{i+1j}^n - (\nabla u)_{x,ij}^n m_{ij}^n & \text{sinon,} \end{cases} \\ & -\frac{1}{h_y} \cdot \begin{cases} (\nabla u)_{y,ij}^n m_{ij}^n - (\nabla u)_{y,ij-1}^n m_{ij-1}^n & \text{si } (\nabla u)_{y,ij}^n \geq 0, \\ (\nabla u)_{y,ij+1}^n m_{ij+1}^n - (\nabla u)_{y,ij}^n m_{ij}^n & \text{sinon.} \end{cases} \end{aligned} \quad (6.3)$$

Pour un point P_{ij} voisin de l'interface, il faut vérifier si le point amont que l'on utilise dans le schéma *upwind* est dans le même domaine que P_{ij} . Si ce n'est pas le cas, c'est-à-dire si l'interface est présente entre ces deux points, le stencil est adapté de manière similaire au Laplacien. Un exemple de configuration est donné en figure 6.2. Le terme de transport y est approché par

$$(\nabla \cdot (m\nabla u))_{ij} \sim \frac{(\nabla u)_{x,ij,E}^n m_{ij,E}^n - (\nabla u)_{x,ij}^n m_{ij}^n}{x_{ij,E} - x_{ij}} + \frac{(\nabla u)_{y,ij+1}^n m_{ij+1}^n - (\nabla u)_{y,ij}^n m_{ij}^n}{h_y}. \quad (6.4)$$

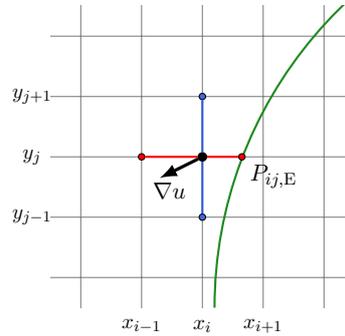


FIGURE 6.2 – Stencil de discrétisation du terme de transport pour le schéma sur m .

Flux discrets à l'interface

Approcher le flux $\partial_n U$ implique de se doter d'une formule de discrétisation du gradient de U à l'interface :

$$\partial_n U(x, y) = (\nabla U \cdot \mathbf{n})(x, y) = \partial_x U(x, y) \partial_x \varphi(x, y) + \partial_y U(x, y) \partial_y \varphi(x, y).$$

Les figures 6.1(b) à 6.1(f) donnent des exemples de discrétisation de ces flux, lorsqu'un segment orienté suivant la direction x est coupé.

La composante $\partial_x U$ est approchée avec une formule de différences finies décentrées. Par exemple, pour calculer la dérivée en x à gauche du point $P_{ij,E}$:

$$(\partial_x u)_{ij,E} = \frac{x_i - x_{i,E}}{h_x} \frac{u_{i-1j} - u_{ij,E}}{x_{i-1} - x_{i,E}} - \frac{x_{i-1} - x_{i,E}}{h_x} \frac{u_{ij} - u_{ij,E}}{x_i - x_{i,E}}. \quad (6.5)$$

Cette formule est d'ordre 2 :

$$(\partial_x u)_{ij,E} = \partial_x U(x_{i,E}) + \mathcal{O}(h_x^2).$$

Si le segment $[P_{i-1j}P_{ij}]$ comporte également un point d'interface $(P_{ij,W})$, on utilise ce dernier à la place de P_{i-1j} (cf. figure 6.1(f)) et :

$$(\partial_x u)_{ij,E} = \frac{x_i - x_{i,E}}{x_i - x_{i,W}} \frac{u_{ij,W} - u_{ij,E}}{x_{i,W} - x_{i,E}} - \frac{x_{i,W} - x_{i,E}}{x_i - x_{i,W}} \frac{u_{ij} - u_{ij,E}}{x_i - x_{i,E}}. \quad (6.6)$$

Seul l'ordre 1 est atteint avec cette formule. Cependant, avec un maillage suffisamment fin et une forme de cellule sans courbure élevée, ce cas de figure est très improbable.

Pour calculer la dérivée transverse suivant y en $P_{ij,E}$, on ne dispose pas de points de grille alignés avec ce dernier dans la direction y . On effectue alors une combinaison linéaire des dérivées en y aux points P_{ij} et P_{i-1j} lorsque cela est possible :

$$(\partial_y u)_{ij,E} = \frac{x_{i,E} - x_{i-1}}{h_x} (\partial_y u)_{ij} - \frac{x_{i,E} - x_i}{h_x} (\partial_y u)_{i-1j}. \quad (6.7)$$

Si $P_{ij,W}$ existe (figure 6.1(f)), on n'utilise qu'une seule dérivée en considérant $(\partial_y u)_{ij,E} = (\partial_y u)_{ij}$.

Les dérivées suivant y sont évaluées de la même manière qu'en (6.5), en fonction de la configuration locale, avec la contrainte de n'utiliser que des points d'un même sous-domaine. Lorsque cela est possible, on privilégie une formule centrée (figure 6.1(b)). Si un seul point d'interface est impliqué dans le calcul de $(\partial_y u)_{ij}$, la formule est décentrée (figures 6.1(c) et 6.1(d)). Les figures 6.1(e) et 6.1(f) sont des cas où les corrections sont impossibles, et qui apparaissent uniquement lorsque la courbure de l'interface est trop prononcée par rapport au maillage choisi.

Les flux sont calculés de manière similaire de l'autre côté de l'interface, ainsi que lorsque qu'un segment dans la direction y est intersecté.

On dispose maintenant d'une discrétisation complète des flux sur l'interface :

$$(\partial_{\mathbf{n}} u)_{ij,\gamma} = (\partial_x u)_{ij,\gamma} n_x + (\partial_y u)_{ij,\gamma} n_y, \quad (6.8)$$

avec $\gamma = N, S, E$ ou W , et où $\mathbf{n} = (n_x, n_y)^t$ est une approximation de $\nabla \varphi(x_{i,\gamma}, y_j)$.

Remarque : Pour étendre ce principe de discrétisation à trois dimensions, il suffit d'ajouter la seconde dérivée transverse en suivant le même procédé que pour $(\partial_y u)$ dans l'exemple précédent.

De façon globale, la discrétisation du flux est d'ordre 2, sauf en un nombre de points généralement très faible, voir nul, où celle-ci est d'ordre 1. Le fait de décentrer le calcul des dérivées transverses peut perturber les taux de convergence des schémas testés selon la proportion de stencils corrigés par rapport au total des points d'interface. La figure 6.3 montre que l'évolution de ce ratio en fonction du nombre de points de grille présente des regroupements qui seront retrouvés par la suite dans les courbes de convergence.

6.2 Convergence du schéma sur le potentiel

Dans leur article [15] Cisternino et Weynans prouvent la convergence à l'ordre 2 de leur méthode pour un problème linéaire et statique. Afin de vérifier la convergence de notre discrétisation pour le problème d'électroperméabilisation, on utilise un ensemble de paramètres qui permet de reproduire

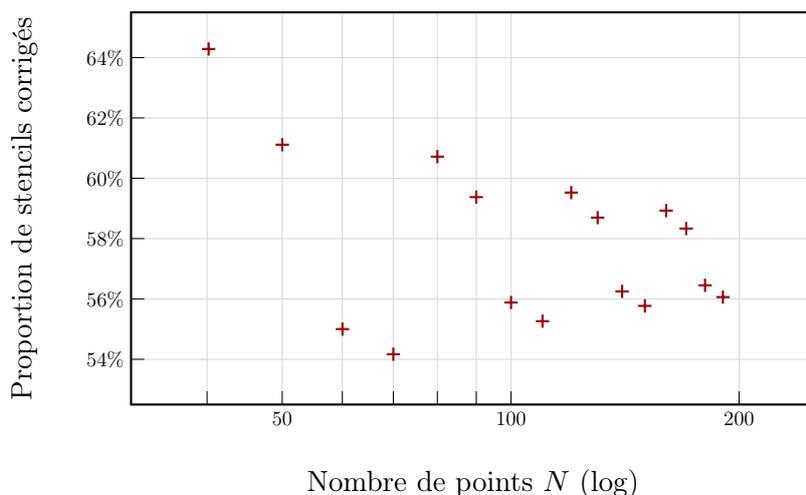


FIGURE 6.3 – Discrétisation des flux : proportion du nombre de stencils corrigés selon le principe présenté en figure 6.1(c) par rapport au nombre total de stencils de flux, en fonction du nombre de points de discrétisation $N = N_x = N_y$. L'interface considérée ici est un cercle.

qualitativement et quantitativement les résultats de Neu, Debruin et Krassowska [59, 20]. Etant donné que les modèles proposés dans ces articles ne distinguent pas électroporation et électroperméabilisation, les tests de convergence sont réalisés uniquement sur la partie électrique du schéma numérique, en considérant X_2 comme nul.

Le tableau 6.1 présente les paramètres utilisés pour résoudre le schéma sur u dans toutes les simulations de cette section.

Convergence du problème statique linéaire

Calcul d'une solution analytique Lorsque l'on considère un cas simplifié du problème sur U , il est possible d'exprimer une solution analytique qui servira de référence pour déterminer un ordre de convergence. On se place dans le cas d'une cellule circulaire de rayon R_1 , dans un domaine Ω' circulaire également, de rayon R_2 , et on fixe la conductivité de la membrane S_m à sa valeur au repos S_0 . Soit g le potentiel imposé au bord du domaine. Le problème statique

$$\begin{cases} \nabla \cdot (\sigma \nabla U) = 0 & \text{dans } \mathcal{O}_c \cup \mathcal{O}_e, \\ [\sigma \partial_n U] = 0 & \text{sur } \Gamma, \\ S_0 [U] = \sigma_c \partial_n U_c & \text{sur } \Gamma, \\ U = g & \text{sur } \partial \Omega', \end{cases} \quad (6.9)$$

possède une unique solution que l'on exprime en série de Fourier :

$$\forall 0 < r < R_2, \forall \theta \in [0, 2\pi], U(r, \theta) = \begin{cases} \sum_{k \in \mathbb{Z}} U_e^k(r) \cos(k\theta) & \text{dans } \mathcal{O}_e, \\ \sum_{k \in \mathbb{Z}} U_c^k(r) \cos(k\theta) & \text{dans } \mathcal{O}_c. \end{cases} \quad (6.10)$$

On cherche une solution sous forme harmonique en posant :

$$\begin{aligned} U_e^k(r) &= \alpha_e^k r^{|k|} + \beta_e^k r^{-|k|}, \\ U_c^k(r) &= \alpha_c^k r^{|k|}. \end{aligned}$$

TABLE 6.1 – Paramètres utilisés pour réaliser les mesures de convergence du schéma numérique. Les paramètres biologiques sont tirés de [20], et les paramètres du modèle ajustés pour reproduire les résultats de ce même article (cf. section ??). C'est pour cette raison que le temps de fermeture des pores a été considérablement augmenté.

Variable	Symbole	Valeur	Unité
<i>Paramètres biologiques :</i>			
Conductivité extracellulaire	σ_e	5	S/m
Conductivité du cytoplasme	σ_c	0,455	S/m
Capacité de la membrane	C_m	$9,5 \cdot 10^{-3}$	F/m ²
Conductivité surfacique de la membrane au repos	S_0	1,9	S/m ²
Rayon de la cellule	R	50	μm
Épaisseur de la membrane	δ	5	nm
<i>Paramètres spécifiques au modèle :</i>			
Seuil d'électroporation	$X_{1,\text{th}}$	1,5	V
Lissage de la fonction seuil d'électroporation β_1	k_1	40	V ⁻¹
Temps caractéristique d'apparition des pores	$\tau_{1\text{up}}$	10^{-6}	s
Temps caractéristique de résorption des pores	$\tau_{1\text{dw}}$	10^{-3}	s
Conductivité surfacique de la membrane électroporée	S_1	$2,5 \cdot 10^8$	S/m ²

L'absence de terme en $r^{-|k|}$ dans l'expression de la solution à l'intérieur de la cellule est nécessaire pour éviter son explosion autour de l'origine. On obtient les valeurs des coefficients α_e^k , β_e^k et α_c^k à partir des conditions de transmission et de la condition de Dirichlet :

$$\begin{aligned} \text{Flux :} \quad & \alpha_e^k R_1^{|k|} - \beta_e^k R_1^{-|k|} = \frac{\sigma_c}{\sigma_e} \alpha_c^k R_1^{|k|}, \\ \text{Saut :} \quad & \alpha_e^k R_1^{|k|} - \alpha_c^k R_1^{|k|} + \beta_e^k R_1^{-|k|} = \frac{\sigma_c |k|}{S_0 R_1} \alpha_c^k R_1^{|k|}, \\ \text{Bord :} \quad & \alpha_e^k R_2^{|k|} + \beta_e^k R_2^{-|k|} = g^k, \end{aligned}$$

soit

$$\begin{aligned} \alpha_c^k &= \left(\left(\frac{\sigma_c |k|}{S_0 R_1} + 1 + \frac{\sigma_c}{\sigma_e} \right) R_2 + \left(\frac{\sigma_c |k|}{S_0 R_1} + 1 - \frac{\sigma_c}{\sigma_e} \right) \frac{R_1^{2|k|}}{R_2^{|k|}} \right)^{-1} g^k, \\ \alpha_e^k &= \frac{1}{2} \left(\frac{\sigma_c |k|}{S_0 R_1} + 1 + \frac{\sigma_c}{\sigma_e} \right) \alpha_c^k, \\ \beta_e^k &= \frac{1}{2} \left(\frac{\sigma_c |k|}{S_0 R_1} + 1 - \frac{\sigma_c}{\sigma_e} \right) \alpha_c^k R_1^{2|k|}, \end{aligned}$$

En général, on considère le champ appliqué comme uniforme, $g = ER_2 \cos \theta$, E déterminant l'amplitude du champ électrique. Dans ce cas $g^k = 0$ pour tout $k \neq 1$, et la solution ne comporte que le mode $k = 1$.

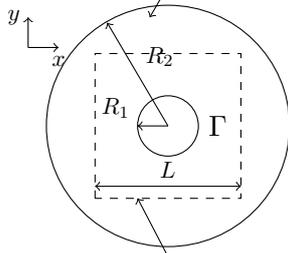
Test de convergence La solution précédemment calculée est utilisée comme condition de Dirichlet sur le bord du domaine de calcul. Celui-ci est un carré entourant la cellule et entièrement contenu dans le domaine Ω' , c'est-à-dire que la longueur de son côté L vérifie $2R_1 < L < L\sqrt{2} < 2R_2$ (cf. figure 6.4(a)).

L'erreur commise entre le résultat u_N de notre simulation sur une grille de pas $h = 1/N$ et la solution exacte U est mesurée à la fois sur les points de grille et sur l'interface :

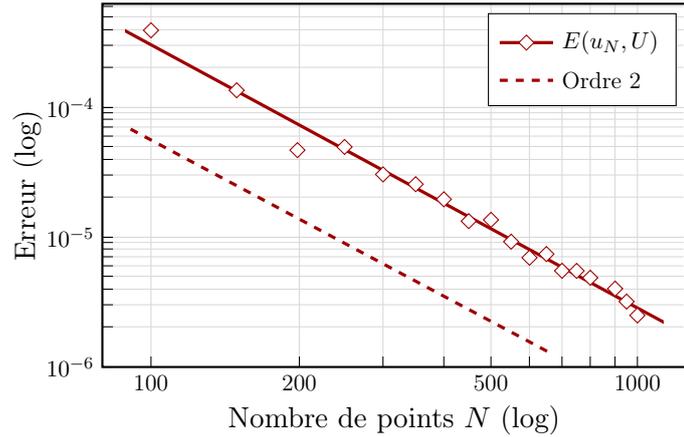
$$E(u_N, U) = \frac{\|u_N - U\|_{L^2(\Omega)}}{\|U\|_{L^2(\Omega)}} + \frac{\|u_N - U\|_{L^2(\Gamma)}}{\|U\|_{L^2(\Gamma)}}, \quad (6.11)$$

où les normes L^2 discrètes ont été définies aux équations (8.4) et (8.5). La figure 6.4(b) montre que la méthode est d'ordre 2.

Domaine de calcul de la solution analytique



Domaine de simulation



(a) Domaines de calcul des solutions analytique et numérique.

(b) Diagramme log-log de l'erreur $E(u_N, U)$ définie par l'équation (6.11) par rapport au nombre de points N .

FIGURE 6.4 – Estimation de l'ordre de précision de la méthode. La solution analytique du problème linéaire est calculée dans des domaines circulaires concentriques. La restriction de cette solution au bord du domaine de simulation est utilisée comme condition de Dirichlet. 6.4(b) : Erreur relative entre les deux solutions. La pente de la droite d'erreur vaut -2,006.

Convergence du problème dynamique linéaire

Il est encore possible dans le cas du problème dynamique linéaire ($S_m = S_0$) de déterminer une solution analytique, pour la même configuration géométrique. Celle-ci s'écrit de la même façon que la solution (6.10) du problème statique, avec des coefficients dépendants du temps :

$$U_e^k(r) = \alpha_e^k(t)r^{|k|} + \beta_e^k(t)r^{-|k|},$$

$$U_c^k(r) = \alpha_c^k(t)r^{|k|}.$$

Le saut du potentiel à travers la membrane $[U]$ suit alors l'équation différentielle ordinaire suivante :

$$\forall k, C_m \frac{d}{dt}[U^k](t) + S_0[U^k](t) = -\sigma_c \alpha_c^k(t) \quad (6.12)$$

Le saut et les coefficients sont obtenus de la même manière que précédemment. En exprimant les conditions de transmission à l'interface et la condition de bord, on aboutit à :

$$[U](t) = \left([U](0) + \frac{\sigma_c C_1}{C_m} \int_0^t g(s) \exp\left(\frac{S_0 - \sigma_c C_2}{C_m} s\right) ds \right) \exp\left(-\frac{S_0 - \sigma_c C_2}{C_m} t\right),$$

$$\alpha_c(t) = C_1 g(t) + C_2 [U](t),$$

$$\alpha_e(t) = \left(\frac{R_2}{R_1^2 + R_2^2} + \frac{\sigma_c}{\sigma_e} C_1 \right) g(t) + \frac{\sigma_c}{\sigma_e} \frac{C}{R_1} [U](t),$$

$$\beta_e(t) = \left(\frac{R_2}{R_1^2 + R_2^2} - \frac{\sigma_c}{\sigma_e} C_1 \right) R_1^2 g(t) - \frac{\sigma_c}{\sigma_e} \frac{C}{R_1} [U](t),$$

avec

$$C = \frac{-\sigma_e}{R_1^2(\sigma_e - \sigma_c) + R_2^2(\sigma_e + \sigma_c)}, \quad C_1 = 2R_2 C, \quad C_2 = \frac{R_1^2 + R_2^2}{R_1} C.$$

On calcule l'erreur de manière similaire à l'équation statique au temps final de la simulation $T_f = 100 \mu s$. Le rapport entre les pas de temps et d'espace $\delta t/h$ a été conservé entre chaque simulation. La figure 6.5 montre qu'ici également l'ordre 2 est atteint.

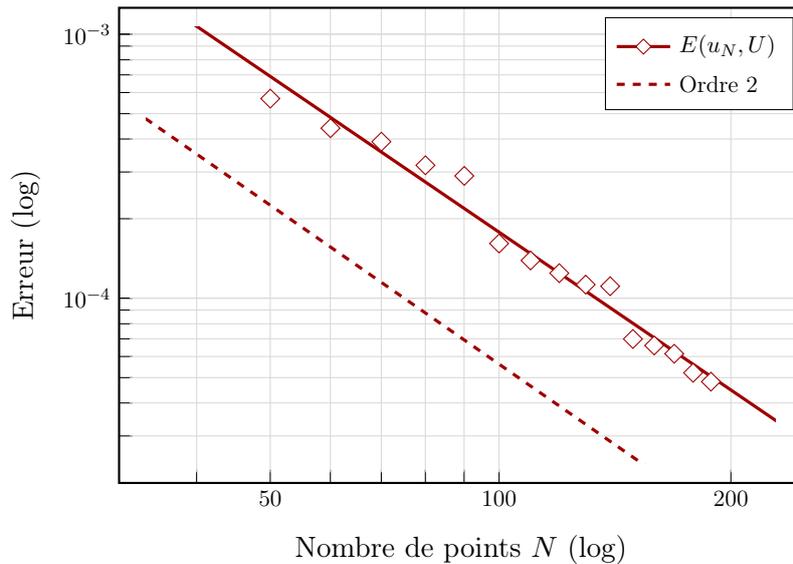


FIGURE 6.5 – Erreur par rapport au pas nombre de points N pour le problème dynamique linéaire. L'erreur est calculée après $100 \mu s$ d'application d'un pulse constant. Le produit $\delta t N$ a été gardé constant à 4.10^{-5} pour chaque simulation. La pente de la droite mesurée vaut $-1,96$. On retrouve sur cette courbe d'erreur les regroupements déjà observés en figure 6.3 qui pourraient expliquer les oscillations autour de la droite de convergence.

Convergence du problème statique non linéaire

La différence principale entre les études des schémas non-linéaire (5.9) et linéaire tient au fait qu'on ne dispose pas d'une solution analytique pour calculer une erreur. On procède alors à une comparaison entre une solution u_h calculée sur une grille de pas h et une solution calculée sur une grille plus fine, de pas $h/2$. Si p désigne l'ordre de la méthode, alors l'erreur relative E_h varie comme

h^p . En effet :

$$E_h = \frac{\|u_h - u_{h/2}\|_{L^2(\Omega)}}{\|u_{h/2}\|_{L^2(\Omega)}} \leq \frac{\|u_h - U\|_{L^2(\Omega)}}{\|u_{h/2}\|_{L^2(\Omega)}} + \frac{\|u_{h/2} - U\|_{L^2(\Omega)}}{\|u_{h/2}\|_{L^2(\Omega)}} = \mathcal{O}(h^p) + \mathcal{O}\left(\frac{h^p}{2^p}\right). \quad (6.13)$$

E_h est calculée sur les points de grille uniquement, puisque les points d'interface peuvent ne pas correspondre entre les deux grilles. La figure 6.6 montre que l'ordre 1 est atteint pour le problème statique.

Remarque : Ce résultat est cohérent dans la mesure où on effectue avec le schéma (5.9) des itérations pseudo-temporelles, en assimilant ρ au coefficient $\delta t/C_m$ de l'équation (5.5c), avec un schéma d'intégration temporelle d'ordre 1.

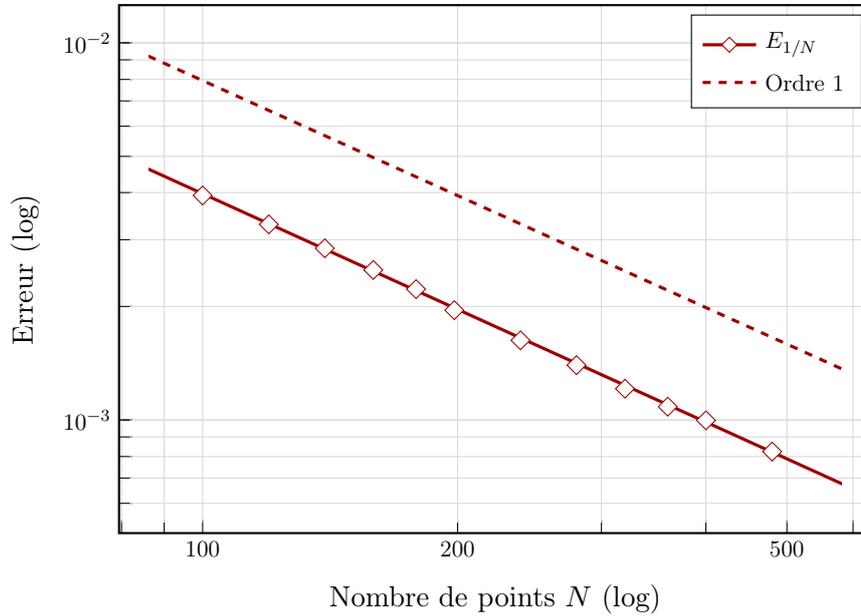


FIGURE 6.6 – Erreur par rapport au nombre de points de discrétisation N pour le problème statique non-linéaire, telle que définie à l'équation (6.13). La pente de la droite est de -1,006.

6.3 Discrétisation et schéma pour le modèle de microtubules

La résolution du problème (4.6a,4.8a,4.9) présente un enjeu sur le plan numérique, car elle nécessite d'effectuer à chaque itération un basculement entre un solveur 2D ou 3D sur M^* et une collection de solveurs de transport 1D sur chaque tube. L'opération inverse est également nécessaire aux extrémités des tubes : la concentration libérée est une concentration linéaire, et il est nécessaire d'imposer les bons coefficients afin de conserver la masse dans le solveur volumique.

Captation des plasmides par les microtubules

Afin d'assurer la conservation de la masse totale de M^* et de $\sum_p W_p$, nous devons respecter numériquement pour chaque microtubule \mathcal{T}_p , $p = 1$ à N l'égalité

$$\int_{\Omega} M^* \mathbb{1}_{\mathcal{U}(\mathcal{T}_p)}(s) dx = \int_{s=0}^{l_p} \int_{D_p(s)} M^*(x) d\sigma(D_p(s)) ds, \quad (6.14)$$

Chaque microtubule est discrétisé en utilisant un pas de longueur constante h_p . On note s_k , $k = 0, k_{\max}$ les abscisses curvilignes des points de discrétisation, notés $P_{p,k} = \Psi_p(s_k) = \Psi_p(kh_p)$. En remplaçant les intégrales continues de la relation 6.14 par des intégrales numériques, on a :

$$h_x h_y h_z \sum_{ijk} m_{ijk}^* c_{p,ijk} = h_p \sum_{k=0}^{k_{\max}} I_{p,k}, \quad (6.15)$$

où $I_{p,k}$ est une évaluation de l'intégrale $\int_{D_p(s_k)} M^*$, et $c_{p,ijk}$ un coefficient à déterminer.

Pour calculer $I_{p,k}$, il est possible d'utiliser la formule d'intégration numérique que l'on veut :

$$\int_{D_p(s_k)} M^* \sim \sum_l \alpha_l M^*(s_{kl}),$$

où les s_{kl} sont les positions des points d'intégration sur le disque $D_p(s_k)$ (figure 6.7). Étant donné que la zone d'attraction des microtubules est de petite taille par rapport aux mailles de la grille cartésienne, nous allons simplement considérer la valeur au point $P_{p,k}$ pour calculer l'intégrale :

$$\int_{D_p(s_k)} M^* \sim \pi r_0^2 M^*(P_{p,k}).$$

Pour évaluer la valeur de M^* au point $P_{p,k}$, qui n'est pas forcément sur la grille cartésienne sur laquelle M^* est calculé, on effectue une interpolation des valeurs aux points de grille :

$$\int_{D_p(s_k)} M^* \sim \pi r_0^2 \sum_l \beta_l m_l^*,$$

où λ est un triplet d'indices parcourant les points de grille au voisinage de $P_{p,k}$.

En remplaçant dans la relation 6.15, on obtient

$$h_x h_y h_z \sum_{ijk} m_{ijk}^* c_{p,ijk} = h_p \pi r_0^2 \sum_{k=0}^{k_{\max}} \sum_l \beta_l m_l^*.$$

Les coefficients $c_{p,ijk}$ peuvent donc être déterminés par identification entre les indices i, j, k et les triplets \mathbf{l} sur la grille cartésienne.

Remarque : La matrice C_p formée par la somme des coefficients $c_{p,ijk}$, $(i, j, k) \in [0, N_x] \times [0, N_y] \times [0, N_z]$, constitue une approximation de l'indicatrice $\mathbb{1}_{\mathcal{U}(\mathcal{T}_p)}$, avec un lissage au bord de cette région.

Libération des plasmides

On choisit par convention de placer les extrémités de l'ensemble des microtubules sur un même point de grille. La masse totale de plasmides restituée par le microtubule \mathcal{T}_p est $v_{\mathcal{T}} W_p(l_p)$. r_0 étant petit devant h_x , il n'est pas possible de faire apparaître le disque terminal $D_p(l_p)$ dans la grille cartésienne. Une quantité ajoutée à un point de grille correspond de ce fait à une masse de Dirac sur la maille toute entière. C'est pourquoi, afin d'avoir la conservation de la masse, nous établissons

$$\frac{v_{\mathcal{T}}}{\pi r_0^2} \sum_{p=1}^N W_p(l_p) \delta_{D_p(l_p)}(x) \sim \frac{v_{\mathcal{T}}}{h_x h_y h_z} \sum_{p=1}^N w_{p,k_{\max}},$$

où $w_{p,k_{\max}}$ est une approximation de $W_p(l_p)$.

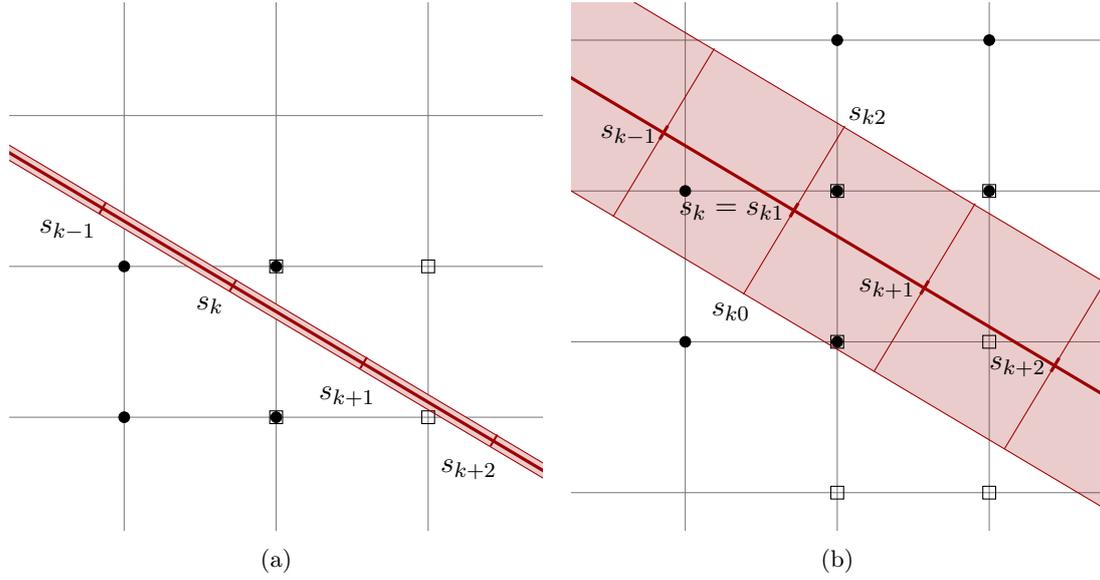


FIGURE 6.7 – Discretisation du terme d'attache aux microtubules. ● : points de grille utilisés pour calculer la valeur de m^* en s_k . □ : en s_{k+1} . 6.7(a) : cas rencontré dans les simulations, où la dimension de la zone d'attraction des microtubules est petite devant le maillage. Seule la valeur en s_k est utilisée pour calculer l'intégrale sur $D(s_k)$. 6.7(b) : cas où cette dimension a été exagérée et la formule d'intégration implique trois points.

Remarque : Si le pas d'espace tend vers 0, le disque $D_p(l_p)$ couvre alors plusieurs mailles cartésiennes. Il faut alors répartir la quantité $w_{p,k_{\max}}$ sur toutes ces mailles, en fonction de l'aire relative du disque qu'elles intersectent. Ainsi, si le coefficient $(h_x h_y h_z)^{-1}$ tend vers $+\infty$, il est compensé par un facteur $1/n$, n étant le nombre de mailles couvertes.

Schéma numérique

Les microtubules étant considérés comme fixes dans l'espace, les coefficients $c_{p,ijk}$ définis précédemment sont calculés grâce à une interpolation bilinéaire lors de la phase d'initialisation. Notons \tilde{c}_{ijk} , ou \tilde{c}_i si l'on revient au système d'indexation utilisé au chapitre dédié au schéma numérique, la somme sur tous les points de discrétisation des coefficients $c_{p,i}$. Le schéma numérique (5.8) sur M est inchangé, à un terme $-k^* I_i \tilde{m}_i$ près, qui est ajouté à la ligne (5.8a). Pour rappel \tilde{m} est le résultat du transport de m suivant les lignes de champ dans notre schéma de *splitting* transport-diffusion, et I_i désigne la concentration d'importine, supposée connue.

Pour M^* , nous calculons pour $n \geq 0$,

$$\forall P_i \in \Pi_g \cap (\mathcal{O}_c \cup \mathcal{O}_n),$$

$$\frac{1}{\delta t} m_i^{*,n+1} - D^*(\Delta m^*)_i^{p+1} = \frac{1}{\delta t} m_i^{*,n} + k^* I_i \tilde{m}_i - \tilde{c}_i m_i^{*,n} + \delta_i \varepsilon \frac{v_T}{h_x h_y h_z} \sum_{p=1}^N w_{p,k_{\max}}, \quad (6.16a)$$

$$\forall P_j \in \Pi_{\Gamma_c}, \quad d_c^*(\partial_n m^{*,c})_j^{n+1} = 0, \quad (6.16b)$$

$$\forall P_j \in \Pi_{\Gamma_n}, \quad d_c^*(\partial_n m^{*,c})_j^{n+1} - d_n^*(\partial_n m^{*,n})_j^{n+1} = 0, \quad (6.16c)$$

$$\forall P_j \in \Pi_{\Gamma_n}, \quad \left(\frac{1}{\rho} + P_n \right) [m^*]_j^{n+1} = \frac{1}{\rho} [m^*]_j^n + d_c^*(\partial_n m^{*,c})_j^{n+1}, \quad (6.16d)$$

où $\delta_{i,\mathcal{E}}$ désigne le symbole de Kronecker entre les multi-indices i et \mathcal{E} , ce dernier localisant l'extrémité commune des microtubules. Sur les microtubules, l'équation de transport de w est résolue avec un schéma *upwind* d'ordre 1, qui diffuse beaucoup la solution, mais présente l'avantage de ne pas osciller. Étant donné le faible coût de ces étapes de transport 1D explicite, il est possible de monter en ordre avec par exemple des schémas de type WENO, mais cela ne constitue pas le cœur de ce travail.

Conservation de la masse

Nous vérifions que les relations établies entre les solveurs 2D/3D et 1D assurent la conservation de la masse pendant les simulations. Pour cela, nous ne considérons que l'espèce M^* , sans aucune création depuis M , en posant soit $M = 0$, soit $k^* = 0$. Une concentration de départ est donnée pour M^* , et nous considérons une cellule sans noyau (figure 6.8). On définit la masse totale

$$\begin{aligned} \mathcal{M}(t) &:= \int_{\Omega} M^*(x, t) \, dx + \sum_{p=1}^N \int_{\mathcal{T}_p} W(s, t) \, ds, \\ &\sim h_x h_y h_z \sum_{ijk} m_{ijk}^* + \sum_{p=1}^N h_p \sum_l w_{p,l}, \end{aligned} \quad (6.17)$$

que l'on suit en calculant

$$E_{\mathcal{M}}(t) := \frac{|\mathcal{M}(t) - \mathcal{M}(t=0)|}{\mathcal{M}(t=0)}. \quad (6.18)$$

On constate figure 6.9 que l'échange entre les solveurs ne crée pas de variation de masse, confirmant notre calcul des coefficients. Lorsque que l'on active la diffusion, l'augmentation de masse constatée n'est donc dûe qu'au solveur de diffusion lui-même, à cause de la discrétisation de la condition de Neumann sur la membrane.

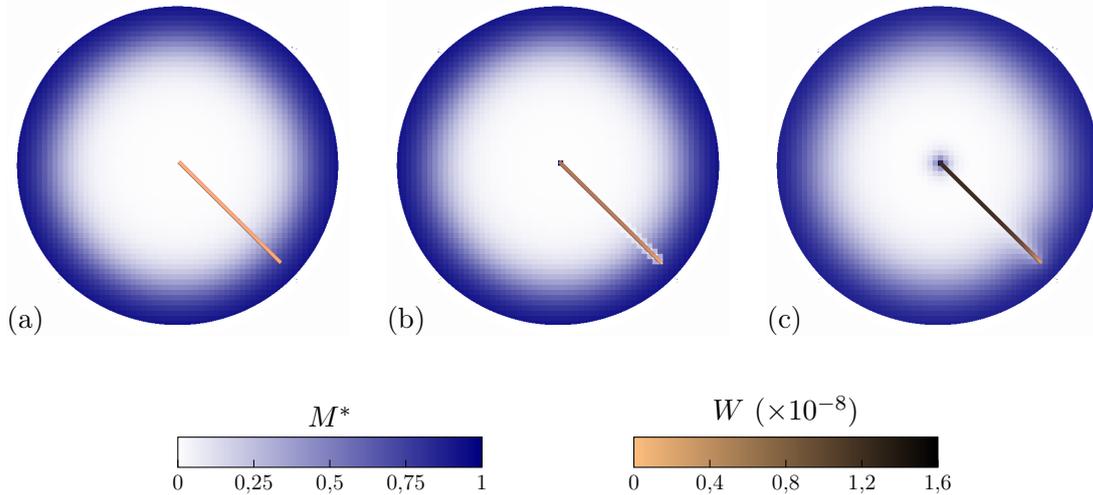


FIGURE 6.8 – Simulations de test de la conservation de la masse du solveur des microtubules. (a) : état initial. (b) : résultat sans diffusion après 20 s. (c) : résultat à 20 s avec diffusion.

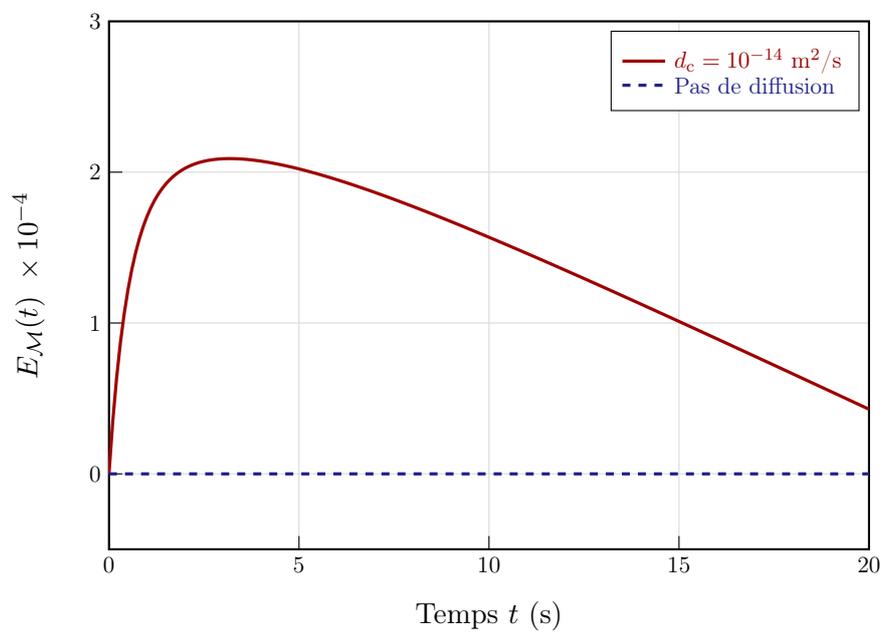


FIGURE 6.9 – Erreur relative $E_M(t)$ au cours du temps lors des simulations présentées en figure 6.8, avec pour nombres de points $N_x = N_y = 100$ et $k_{\max} = 50$.

Chapitre 7

Solveur de réaction-diffusion sur l'interface

Pour calculer la solution de l'équation (3.1), on a besoin de discrétiser le terme $\Delta_{\Gamma} X_2$ aux points d'interface. Le choix d'une méthode s'est restreint à celles qui utilisaient directement les valeurs en des points situés sur la surface. L'intérêt est d'économiser une phase de prolongement sur la grille de données qui existent déjà sur l'interface, ainsi qu'une phase d'interpolation une fois calculée la solution étendue sur la grille. Aussi, le nombre de points d'interface étant bien moindre que le nombre de points de grille, la réduction du coût de calcul est significative. Enfin, certaines variables n'étant définies que sur la membrane – les taux d'électroporation et d'électroperméabilisation – il semble plus raisonnable d'utiliser une méthode ne s'appuyant que sur la surface elle-même.

En deux dimensions, cela ne pose aucun problème car il est facilement possible de déterminer les voisins d'un point se trouvant la ligne qui constitue l'interface. Il suffit alors d'utiliser une formule de différences finies similaire à (6.2).

En 3D, le problème est plus complexe dans la mesure où l'intersection entre la surface et la grille cartésienne ne constitue pas elle-même une grille structurée. En effet, les cellules traversées par l'interface peuvent former des polygones allant de trois à six côtés (cf. figure 7.1). Les points d'interface n'ont donc pas un nombre de voisins prédéfini. En revanche, il est possible à moindres frais d'effectuer une triangulation de la surface à partir des polygones obtenus. Celle-ci reste toutefois très hétérogène.

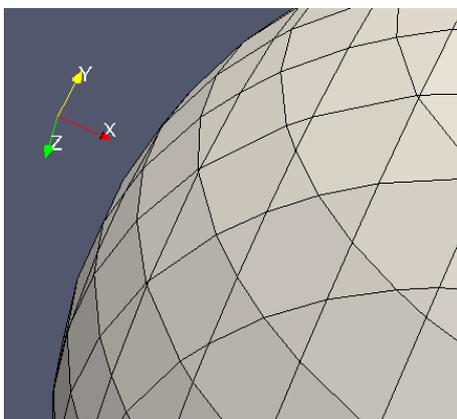


FIGURE 7.1 – Intersection d'une sphère avec une grille cartésienne : les faces sont irrégulières et il est parfois impossible de trouver des points voisins dans une direction donnée.

Ce chapitre a pour objet de présenter différentes méthodes de discrétisation de l'opérateur de Laplace-Beltrami, et de mettre en évidence leurs avantages et inconvénients respectifs.

7.1 Méthode volumes finis

7.1.1 Description

Dans [97], Xu a compilé différentes méthodes issues de la littérature, utilisées pour la plupart dans le traitement d'images ou de surfaces. Elles sont toutes basées sur une formulation de type volumes finis. L'auteur propose également deux méthodes dont il prouve la convergence. C'est la première de ces deux méthodes (discrétisation indirecte) qui sera étudiée ici, et dont voici un résumé.

Soit Γ une variété Riemannienne et $\partial\Gamma$ sa frontière C^∞ de normale unitaire sortante \mathbf{n} . Soit f une fonction de $C^1(\Gamma)$ à support compact. Alors :

$$\int_{\Gamma} \Delta_{\Gamma} f \, d\sigma_{\Gamma} = \int_{\partial\Gamma} \partial_{\mathbf{n}} f \, d\sigma_{\partial\Gamma}, \quad (7.1)$$

où $d\sigma_{\Gamma}$ et $d\sigma_{\partial\Gamma}$ désignent respectivement les mesures canoniques sur Γ et $\partial\Gamma$.

Soit un point P_i de Π_{Γ} défini précédemment comme étant l'ensemble des points d'interface. On désigne par $N_i = \{i_1 = i_{n+1}, i_2, \dots, i_n = i_0\}$ l'ensemble des points voisins de P_i . On les considère ordonnés de telle sorte que les triangles $P_i P_{i_{k-1}} P_{i_k}$ et $P_i P_{i_k} P_{i_{k+1}}$ soient de part et d'autre de l'arête $[P_i P_{i_k}]$. Pour davantage de lisibilité, on utilisera dans ce paragraphe l'indice j pour i_j et $j+1$ pour i_{j+1} .

L'équation (7.1) autour du point P_i est alors approchée par :

$$(\Delta_{\Gamma} f)_i = \frac{1}{2\mathcal{A}_i} \sum_{j \in N_i} (\mathbf{n}_j, (\nabla_{\Gamma} f)_j + (\nabla_{\Gamma} f)_{j+1}) \|P_j - P_{j+1}\|. \quad (7.2)$$

où \mathcal{A}_i est la somme des aires des triangles entourant M_i et \mathbf{n}_j est la normale unitaire sortante à l'arête $[P_j P_{j+1}]$. Cette discrétisation nécessite dans un premier temps de calculer les gradients (∇_{Γ}) sur la surface en chaque point d'interface, d'où le qualificatif « indirecte ».

Les gradients sont tout d'abord calculés sur chaque triangle par interpolation linéaire avant d'être moyennés sur les points. Soit $T_j = P_i P_j P_{j+1}$ un triangle adjacent au point P_i . Le gradient de f sur ce triangle est approché en effectuant :

$$\begin{aligned} 4\mathcal{A}_j^2 (\nabla_{\Gamma} f)_{T_j} &= (f_i - f_j)(P_{j+1} - P_j, P_i - P_{j+1})(P_i - P_j) \\ &+ (f_j - f_{j+1})(P_i - P_{j+1}, P_j - P_i)(P_j - P_{j+1}) \\ &+ (f_{j+1} - f_i)(P_j - P_i, P_{j+1} - P_j)(P_{j+1} - P_i) \end{aligned} \quad (7.3)$$

où \mathcal{A}_j est l'aire du triangle T_j . Ainsi :

$$(\nabla_{\Gamma} f)_i = \frac{1}{\mathcal{A}_i} \sum_{j \in N_i} \mathcal{A}_j (\nabla_{\Gamma} f)_{T_j}. \quad (7.4)$$

7.1.2 Convergence

Convergence en espace Pour mesurer l'erreur commise avec la discrétisation du Laplacien-Beltrami, on dispose de la relation entre la fonction coordonnées Ψ de la surface Γ et sa courbure H :

$$\Delta_{\Gamma} \Psi = H.$$

Pour une sphère de rayon r , la courbure est constante et est donnée par $\mathbf{H} = -\frac{2}{r}\mathbf{n}$, où \mathbf{n} est la normale sortante à la boule. On peut alors résoudre le problème approché $(\Delta_\Gamma\psi) = \mathbf{H}$, où ψ est une estimation des coordonnées des points de discrétisation.

Dans un premier temps, nous avons voulu vérifier s'il était possible d'utiliser les points d'intersection entre la grille cartésienne et l'interface impliqués dans les solveurs présentés au chapitre précédent. Dans chaque cellule de la grille traversée par l'interface, cette dernière est décrite par un élément de surface qu'il est possible de subdiviser en plusieurs triangles sur lesquels on calcule les gradients.

Nous avons choisi pour mesurer l'erreur de poser

$$E_{1,2} = \left\| \frac{|\psi - \Psi|_2}{\Psi} \right\|_{L^2(\Gamma)} \quad \text{et} \quad E_{1,\infty} = \left\| \frac{|\psi - \Psi|_2}{|\Psi|_2} \right\|_{L^\infty(\Gamma)}. \quad (7.5)$$

Ces erreurs sont représentées en figure 7.2(a) en fonction du nombre de points dans une direction de la grille cartésienne. On constate que pour ce maillage, on n'a pas convergence de la méthode. En effet, la répartition spatiale de l'erreur (figure 7.2(b)) fait apparaître une hétérogénéité très importante, avec des pics d'erreur aux endroits du maillage où les cellules sont de très petite taille par rapport au pas de grille. Dans ce cas, réduire le pas d'espace n'améliore pas l'erreur car l'intersection entre l'interface et la grille comporte de toute manière certaines de ces mailles qui posent problème.

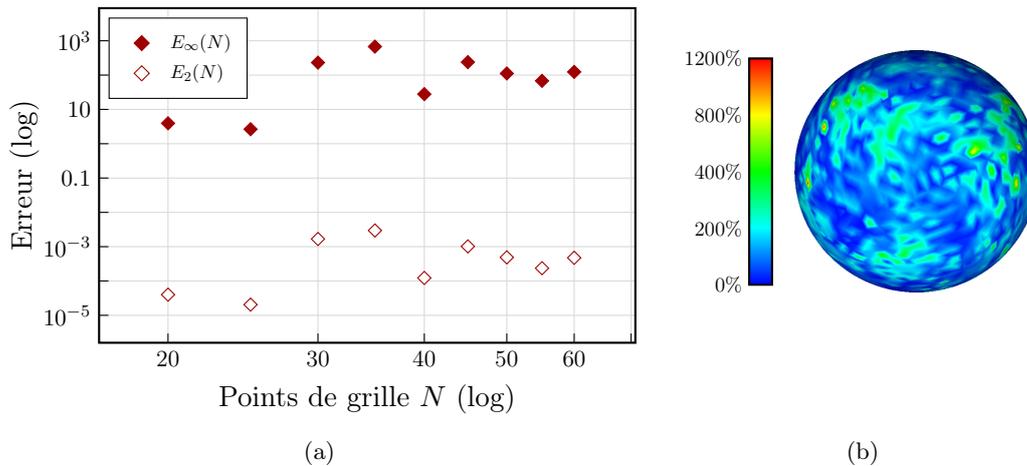


FIGURE 7.2 – 7.2(a) : Non convergence de la discrétisation de l'opérateur de Laplace-Beltrami sur la sphère par la méthode de volumes finis proposée par Xu [97], appliquée au maillage issu de l'intersection de la grille cartésienne et du niveau 0 de la level-set. L'erreur est définie en équation (7.5). 7.2(b) : répartition spatiale de la quantité $|\psi - \Psi|_2 / |\mathbf{M}|_2$ sur la sphère pour $N = 50$.

Nous avons alors procédé à un remaillage de la sphère plus régulier, dans le but de lisser l'erreur sur la surface. Pour cela, il est possible de partir d'un icosaèdre inscrit dans la sphère, puis de subdiviser itérativement chacune des faces triangulaires en quatre triangles (figure 7.3). L'erreur sur le laplacien présente un motif oscillant autour des points qui correspondent aux sommets de l'icosaèdre de départ (figure 7.4). La méthode converge à l'ordre 2 mais nécessite un nombre important de points pour limiter les oscillations.

Remarque : L'explication de cette erreur tient au fait que les sommets de l'icosaèdre sont les seuls du maillage à avoir une valence de 5, quand tous les autres ont une valence de 6. Si les triangles adjacents à un point ne sont pas répartis de manière à ne pas avoir de symétrie, il n'y peut pas y avoir de compensation entre les gradients calculés sur ces triangles. Si le nombre de voisins est impair, il est impossible d'obtenir une telle répartition.

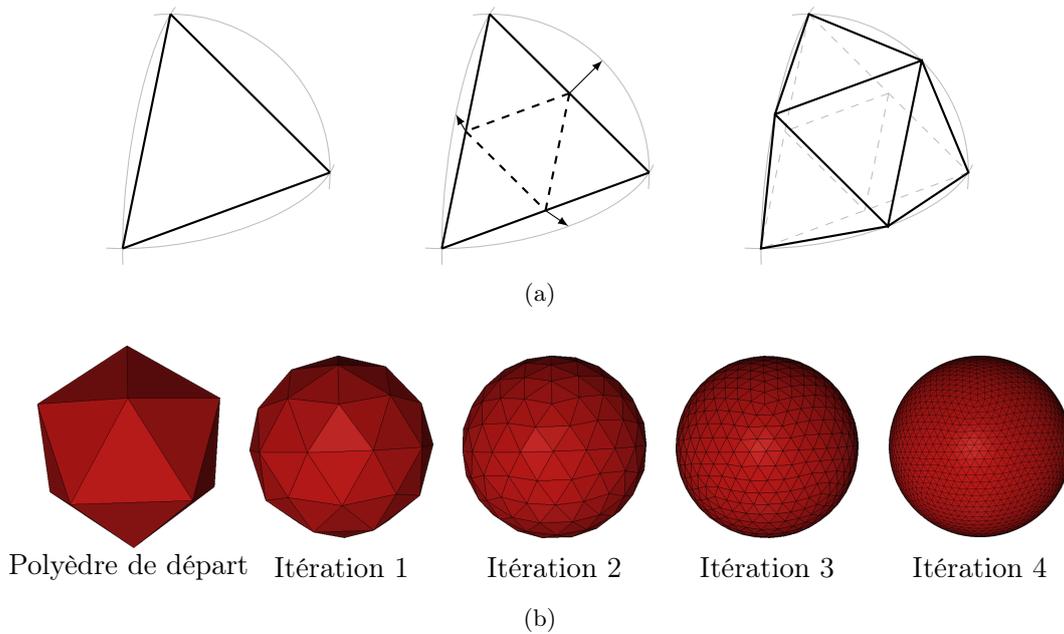


FIGURE 7.3 – 7.3(a) : méthode de subdivision des faces triangulaires du maillage. Les points créés à chaque itération sont les milieux des arêtes des triangles, qui sont ensuite projetés sur la sphère. 7.3(b) : état initial et premières itérations de la création du maillage.

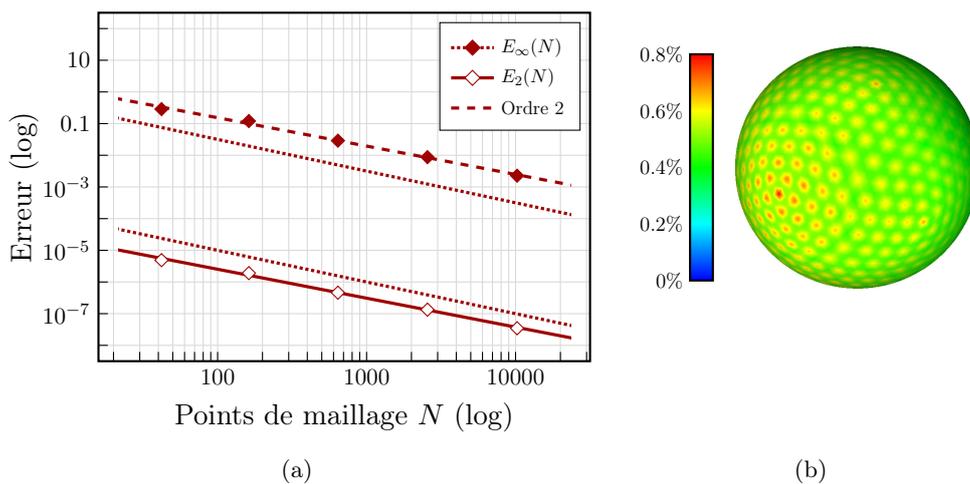


FIGURE 7.4 – 7.4(a) : Convergence de la discrétisation de l'opérateur de Laplace-Beltrami sur la sphère par la méthode de volumes finis sur un maillage régulier. 7.4(b) : répartition spatiale de l'erreur sur la sphère. Le nombre de points du maillage est du même ordre de grandeur qu'en figure 7.2(b)

Convergence en espace et en temps Pour entièrement valider ou non une méthode de résolution pour l'électroperméabilisation, il faut tester un solveur complet de réaction-diffusion. Pour cela, on se

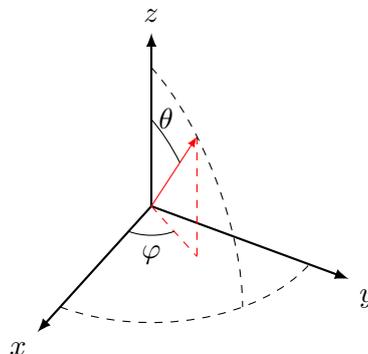
propose de calculer la solution suivante, définie sur une sphère, pour t dans $[0, 1]$:

$$\bar{f}(t, M(\theta, \varphi)) = \cos(2\pi t) \sin^2(\theta) \cos(2\varphi) + 2, \quad (7.6)$$

où nous utilisons la paramétrisation habituelle des points d'une sphère de rayon r :

$$\Psi(\theta, \varphi) = \begin{pmatrix} r \sin \theta \cos \varphi \\ r \sin \theta \sin \varphi \\ r \cos \theta \end{pmatrix}$$

$$\theta \in [0, \pi], \quad \varphi \in [0, 2\pi]$$



Pour calculer la solution approchée f , on utilise le schéma suivant : en tout point de discrétisation M_k ,

$$\begin{cases} f_k^{n+1} - \delta t D(\Delta_\Gamma)_k^{n+1} = f_k^n + \delta t \tilde{f}_k^n, \\ f_k^0 = \bar{f}(0, P_k), \end{cases} \quad (7.7)$$

où D est une constante et \tilde{f}_k^n est la valeur exacte de $\partial_t f - D\Delta_\Gamma f$ en P_k au temps t^n :

$$\tilde{f}_k^n = \left(\frac{6D}{r^2} \cos(2\pi t^n) - 2\pi \sin(2\pi t^n) \right) \cos(2\varphi) \sin^2 \theta.$$

L'erreur commise entre la solution approchée f et la solution exacte \bar{f} est mesurée en effectuant

$$E_{2,2} = \int_0^{T_f} \frac{\|f(t, \cdot) - \bar{f}(t, \cdot)\|_{L^2(\Gamma)}}{\|\bar{f}(t, \cdot)\|_{L^2(\Gamma)}} dt \quad \text{et} \quad E_{2,\infty} = \int_0^{T_f} \frac{\|f(t, \cdot) - \bar{f}(t, \cdot)\|_{L^\infty(\Gamma)}}{\|\bar{f}(t, \cdot)\|_{L^\infty(\Gamma)}} dt. \quad (7.8)$$

Comme vérifié en figure 7.5, la méthode est bien d'ordre 2 en espace et d'ordre 1 en temps.

Afin d'illustrer la différence de résultats que peut produire le solveur sur les deux types de maillages présentés, nous avons fait diffuser la quantité

$$f_2(\theta, \varphi) = \frac{1 + \tanh(10(|\sin \theta \cos \varphi| - 0,75))}{2} \quad (7.9)$$

sur une sphère en utilisant les paramètres de la table 7.1. Les résultats obtenus sont présentés en figures 7.6 et 7.7. Les triangles constituant le premier maillage se retrouvent de façon très visible sur le résultat, qui finit par diverger à partir d'un certain temps. En revanche, le maillage régulier produit une solution qui est visuellement satisfaisante.

L'avantage de la méthode volume finis présentée ici est qu'il est possible d'effectuer une diffusion sur des surfaces de quasiment n'importe quelle forme, que l'on pourrait par exemple importer depuis un mailleur.

Cependant, les oscillations que présente l'erreur de discrétisation du laplacien peuvent se retrouver si on augmente le coefficient de diffusion par rapport à la dérivée en temps. Un autre inconvénient de cette méthode est qu'elle restreint considérablement le choix dans le nombre de points placés sur la sphère si on souhaite obtenir un maillage régulier. La méthode de subdivision proposée ne permet pas d'avoir une gamme très étendue de maillages avec un nombre de points suffisant pour obtenir une solution précise, mais non prohibitif en termes de temps de calcul. C'est pourquoi nous nous sommes orientés vers d'autres méthodes de discrétisation de l'opérateur de Laplace-Beltrami.

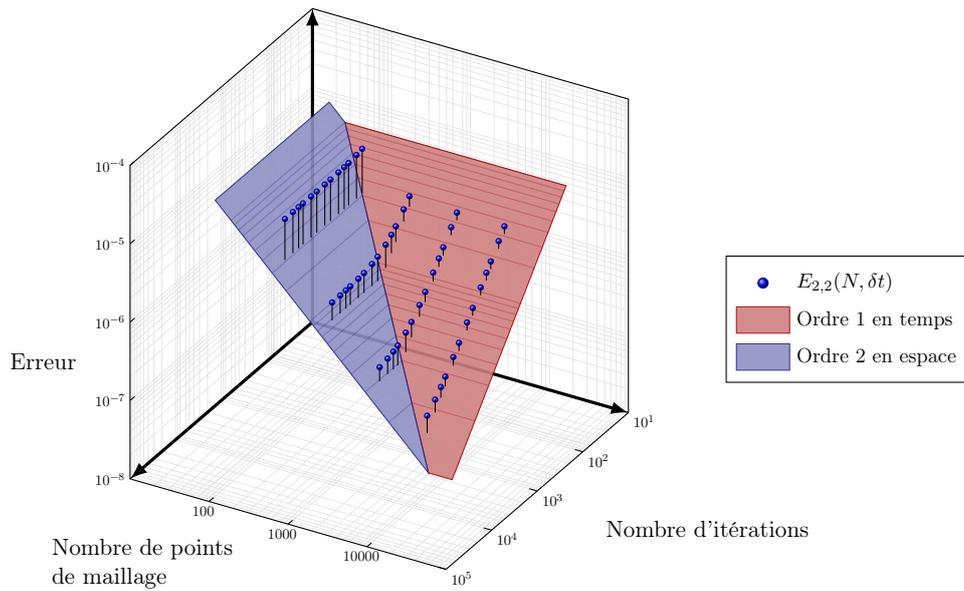


FIGURE 7.5 – Convergence de la discrétisation du solveur de diffusion sur la sphère par la méthode volumes finis. Les pentes des plans symbolisant l'ordre 1 en temps et 2 en espace sont les mêmes car le nombre de points considéré ici est le total des points du maillage, et correspond donc à un $\mathcal{O}(h^{-2})$.

TABLE 7.1 – Paramètres utilisés pour effectuer les tests du solveur de diffusion sur la sphère.

Variable	Symbole	Valeur	Unité
Rayon de la sphère	R	50	μm
Coefficient de diffusion surfacique	D	10^{-9}	$\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$
Temps final	T_f	1	s
Pas de temps	δt	100	μs

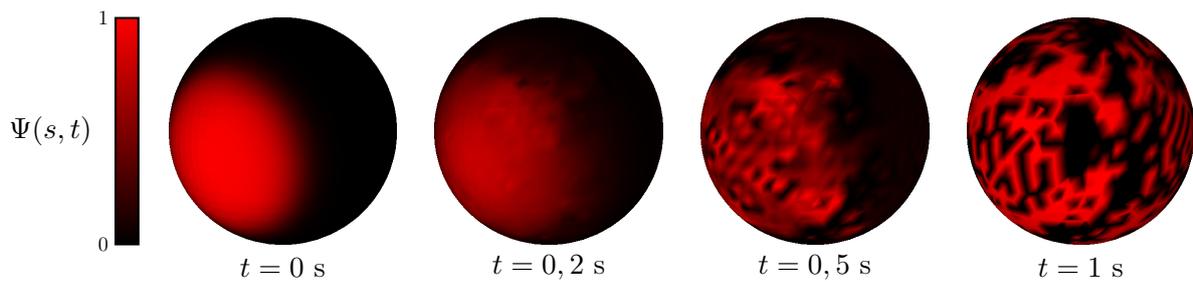


FIGURE 7.6 – Diffusion sur la sphère de la quantité f_2 définie à l'équation (7.9) à différents instants de la simulation volumes finis. La sphère est ici maillée avec l'intersection du niveau 0 de la level-set et la grille cartésienne.

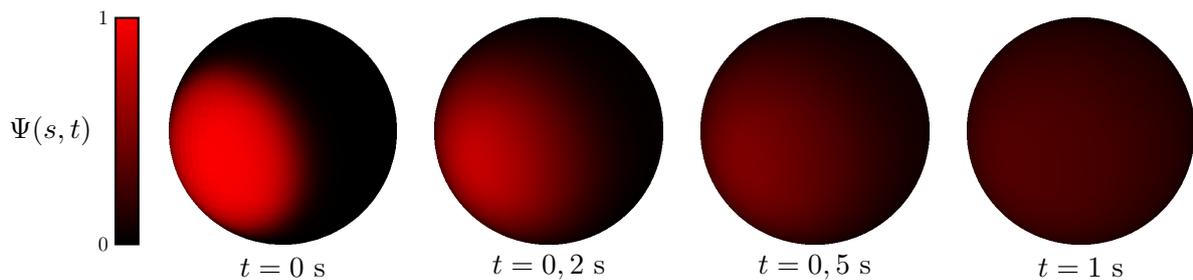


FIGURE 7.7 – Diffusion sur la sphère de la quantité f_2 avec la méthode volumes finis sur un maillage régulier.

7.2 Méthode différences finies

7.2.1 Discrétisation de l'opérateur de Laplace-Beltrami sur une sphère

Généralement, les expériences d'électroperméabilisation *in vitro* sont réalisées sur des cellules dont la forme est très proche d'une sphère. L'expression de l'opérateur de Laplace-Beltrami sur une sphère Γ est simple à déterminer. En effet, dans le système de coordonnées (θ, φ) , le Laplacien-Beltrami d'une fonction f sur Γ est donné par

$$\Delta_{\Gamma} f = \frac{1}{r^2 \sin \theta} \partial_{\theta} (\sin \theta \partial_{\theta} f) + \frac{1}{r^2 \sin^2 \theta} \partial_{\varphi}^2 f. \quad (7.10)$$

La sphère est discrétisée à l'aide d'une grille cartésienne en (θ, φ) . L'intervalle $[0, \pi]$ en θ est divisé en N sous-intervalles, de longueur $d\theta$. L'intervalle en φ est divisé en $2N$ sous-intervalles, également de longueur $d\theta$. Les points de discrétisation, notés P_{ij} sont situés au centre des mailles, avec

$$P_{ij} = P(\theta_i, \varphi_j) = \Psi \left(\left(i + \frac{1}{2} \right) d\theta, \left(j + \frac{1}{2} \right) d\theta \right).$$

La valeur de la fonction f au point P_{ij} est notée f_{ij} , et on note $s_i = \sin((i + \frac{1}{2})d\theta)$. Le laplacien-Beltrami est discrétisé à l'aide d'une formule de différences finies centrées d'ordre 2 :

$$(\Delta_{\Gamma} f)_{ij} = \frac{s_{i+1/2}(f_{i+1j} - f_{ij}) - s_{i-1/2}(f_{ij} - f_{i-1j})}{r^2 s_i d\theta^2} + \frac{f_{ij+1} - 2f_{ij} + f_{ij-1}}{r^2 s_i^2 d\theta^2}. \quad (7.11)$$

On impose les conditions périodiques en θ et en φ suivantes :

$$\begin{aligned} f_{i,2N+1} &= f_{i,0}, & f_{i,-1} &= f_{i,2N}, \\ f_{-1,j} &= f_{0,(j+N)[N]}, & f_{N+1,j} &= f_{N,(j+N)[N]}. \end{aligned} \quad (7.12)$$

7.2.2 Convergence

La discrétisation (7.11) de l'opérateur de Laplace-Beltrami sur la sphère a été validée de manière similaire aux méthodes volumes finis, à savoir en calculant la courbure de la surface Γ . La figure 7.8 présente les résultats de convergence de cette méthode. Conformément à ce qui était attendu en choisissant la discrétisation, nous obtenons bien de l'ordre 2, pour chacune des normes $\|\cdot\|_{L^2(\Gamma)}$ et $\|\cdot\|_{L^\infty(\Gamma)}$. L'erreur commise est aussi inférieure de deux ordres de grandeur par rapport à la méthode volumes finis et sa répartition spatiale est bien plus homogène. (cf. figure 7.8(b)).

Enfin, dernier atout non négligeable, le temps de calcul à nombre de points donné est nettement inférieur avec des différences finies qu'avec des volumes finis (cf. table 7.2).

Enfin, nous avons également effectué les tests de diffusion d'une quantité de départ sur la sphère, de manière similaire à ce qui a été fait pour les volumes finis. Comme présenté en figure 7.10, il n'y a pas d'influence visible de la méthode de discrétisation sur la solution.

TABLE 7.2 – Temps de calcul séquentiel pour effectuer 1 000 itérations du solveur de diffusion pour les méthodes volumes finis (VF) et différences finies (DF).

Nombre de points VF	Temps (s)	Nombre de points DF	Temps (s)	Réduction
642	8	648	3	- 62,5%
2562	62	2592	11	- 82,2%
10242	499	10368	57	- 88,5%

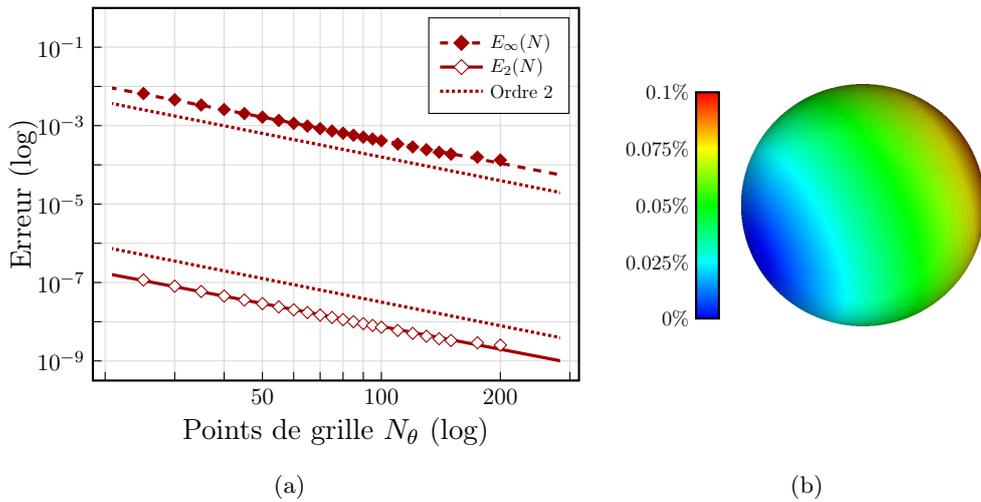


FIGURE 7.8 – 7.8(a) : convergence de la discrétisation en (θ, φ) de l'opérateur de Laplace-Beltrami sur la sphère. L'erreur constatée est calculée à partir de la formule (7.5). Les pentes des droites sont identiques et valent -2,003. 7.8(b) : répartition spatiale de l'erreur de discrétisation du Laplacien-Beltrami avec la méthode de différences finies. Le nombre de points du maillage est de 2562, c'est-à-dire du même ordre de grandeur que les maillages utilisés figures 7.2(b) et 7.4(b).

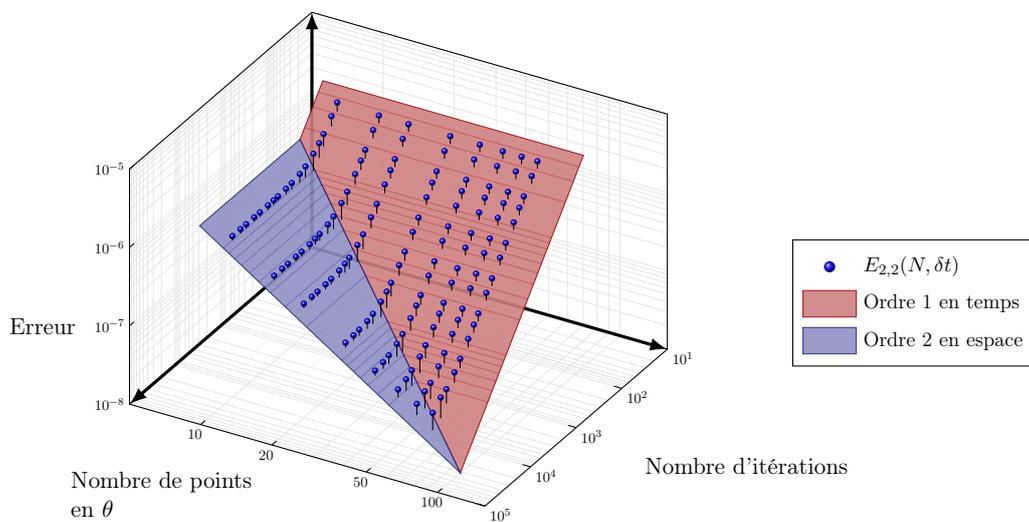


FIGURE 7.9 – Convergence du solveur de diffusion en (θ, φ) sur la sphère.

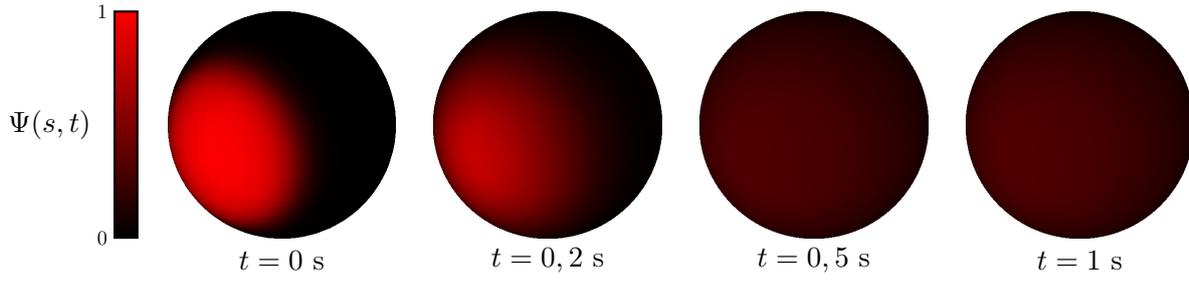


FIGURE 7.10 – Diffusion sur la sphère de la quantité f_2 définie à l'équation (7.9), calculée avec la méthode de différences finies.

7.2.3 Adaptation à des surfaces paramétrées

Étant donné que la discrétisation sur une grille en (θ, φ) du Laplacien-Beltrami est très efficace sur une sphère, nous avons étudié la possibilité d'étendre ce principe aux surfaces qui peuvent être paramétrées de cette façon. Rappelons l'expression du laplacien d'une fonction f sur une surface $\Psi(\theta, \varphi)$:

$$\Delta_{\Gamma} f = \frac{1}{\sqrt{|g|}} \left[\partial_{\theta} \left(\sqrt{|g|} (g^{\theta\theta} \partial_{\theta} f + g^{\theta\varphi} \partial_{\varphi} f) \right) + \partial_{\varphi} \left(\sqrt{|g|} (g^{\theta\varphi} \partial_{\theta} f + g^{\varphi\varphi} \partial_{\varphi} f) \right) \right] \quad (7.13)$$

où

$$g = \det \mathcal{G} = g_{\theta\theta} g_{\varphi\varphi} - g_{\theta\varphi}^2, \quad g_{\alpha,\beta} = \langle \partial_{\alpha} \Psi, \partial_{\beta} \Psi \rangle, \quad \text{pour } \alpha, \beta \in \{\theta, \varphi\},$$

et où les facteurs $g^{\alpha\beta}$ sont les coefficients de la matrice \mathcal{G}^{-1} . Cette dernière étant facile à déterminer en deux dimensions, on a plus directement

$$\Delta_{\Gamma} f = \frac{1}{\sqrt{|g|}} \left[\partial_{\theta} \left(\frac{1}{\sqrt{|g|}} (g_{\varphi\varphi} \partial_{\theta} f - g_{\theta\varphi} \partial_{\varphi} f) \right) + \partial_{\varphi} \left(\frac{1}{\sqrt{|g|}} (-g_{\theta\varphi} \partial_{\theta} f + g_{\theta\theta} \partial_{\varphi} f) \right) \right] \quad (7.14)$$

Ainsi, si l'on connaît l'expression analytique de Ψ , il est possible de calculer les coefficients g et $g_{\alpha\beta}$.

Pour discrétiser l'expression précédente du laplacien, nous utiliserons les notations

$$\tilde{g}_{ij} = \frac{1}{\sqrt{|g(\theta_i, \varphi_j)|}} = \frac{1}{\sqrt{|g(d\theta(i + \frac{1}{2}), d\theta(j + \frac{1}{2}))|}} \quad \text{et } g_{\alpha\beta,ij} = g_{\alpha\beta}(\theta_i, \varphi_j).$$

On propose alors d'approcher le laplacien à l'aide d'une formule de différences finies centrée : pour $0 \leq i < N$, $0 \leq j < 2N$,

$$\begin{aligned} \Delta_{\Gamma} f \sim \tilde{g}_{ij} & \left[\frac{\tilde{g}_{i+\frac{1}{2}j} g_{\varphi\varphi, i+\frac{1}{2}j} (f_{i+1j} - f_{ij}) - \tilde{g}_{i-\frac{1}{2}j} g_{\varphi\varphi, i-\frac{1}{2}j} (f_{ij} - f_{i-1j})}{d\theta^2} \right. \\ & + \frac{\tilde{g}_{ij+\frac{1}{2}} g_{\theta\theta, ij+\frac{1}{2}} (f_{ij+1} - f_{ij}) - \tilde{g}_{ij-\frac{1}{2}} g_{\theta\theta, ij-\frac{1}{2}} (f_{ij} - f_{ij-1})}{d\theta^2} \\ & + \frac{\tilde{g}_{i+1j} g_{\theta\varphi, i+1j} (f_{i+1j+1} - f_{i+1j-1}) - \tilde{g}_{i-1j} g_{\theta\varphi, i-1j} (f_{i-1j+1} - f_{i-1j-1})}{4d\theta^2} \\ & \left. + \frac{\tilde{g}_{ij+1} g_{\theta\varphi, ij+1} (f_{i+1j+1} - f_{i-1j+1}) - \tilde{g}_{ij-1} g_{\theta\varphi, ij-1} (f_{i+1j-1} - f_{i-1j-1})}{4d\theta^2} \right] \quad (7.15) \end{aligned}$$

avec les mêmes conditions périodiques que précédemment.

Remarque : Dans le cas d'une sphère, ou d'une forme dérivée d'une sphère, les points où $\sin(\theta) = 0$ posent problème car le laplacien fait intervenir un facteur $\sin^{-1}(\theta)$ dans le coefficient $1/\sqrt{|g|}$. En effet, la paramétrisation de la surface n'est dérivable que sur le domaine $]0, \pi[\times]0, 2\pi[$. Aux pôles, on remplace alors $g(\theta, \varphi)$ par $g(\varepsilon, \varphi)$ où ε est de l'ordre de 10^{-40} .

Par exemple, considérons une sphère étirée (ou comprimée) dans la direction z :

$$\Psi(\theta, \varphi) = r \begin{pmatrix} \cos \varphi \sin \theta \\ \sin \varphi \sin \theta \\ k \cos \theta \end{pmatrix}, \text{ avec } k \neq 0. \quad (7.16)$$

On a alors

$$\partial_\theta \Psi(\theta, \varphi) = r \begin{pmatrix} \cos \varphi \cos \theta \\ \sin \varphi \cos \theta \\ -k \sin \theta \end{pmatrix}, \quad \partial_\varphi \Psi(\theta, \varphi) = r \begin{pmatrix} -\sin \varphi \sin \theta \\ \cos \varphi \sin \theta \\ 0 \end{pmatrix},$$

$$g_{\theta\theta}(\theta, \varphi) = r^2(\cos^2 \theta + k^2 \sin^2 \theta),$$

$$g_{\varphi\varphi}(\theta, \varphi) = r^2 \sin^2 \theta,$$

$$g_{\theta\varphi}(\theta, \varphi) = 0.$$

Le laplacien est alors donné par la formule

$$\Delta_\Gamma f = \frac{1}{r^2 \sin \theta \sqrt{\cos^2 \theta + k^2 \sin^2 \theta}} \partial_\theta \left(\frac{\sin \theta}{\sqrt{\cos^2 \theta + k^2 \sin^2 \theta}} \partial_\theta f \right) + \frac{1}{r^2 \sin^2 \theta} \partial_\varphi^2 f. \quad (7.17)$$

En choisissant une fonction f , nous avons donc la possibilité de faire des comparaisons entre la discrétisation et une solution analytique. Par exemple, nous pouvons comme pour la sphère calculer la courbure de l'ellipsoïde, donnée par

$$\overline{H}(\theta, \varphi) = \Delta_\Gamma \Psi(\theta, \varphi) = -\frac{k}{r} \frac{1 + \cos^2 \theta + k^2 \sin^2 \theta}{(\cos^2 \theta + k^2 \sin^2 \theta)^2} \begin{pmatrix} k \cos \varphi \sin \theta \\ k \sin \varphi \sin \theta \\ \cos \theta \end{pmatrix}.$$

Comme pour la sphère, la figure 7.11 montre que la méthode converge à l'ordre 2 pour les normes $\|\cdot\|_{L^2(\Gamma)}$ et $\|\cdot\|_{L^\infty(\Gamma)}$.

L'avantage de cette méthode est qu'il est possible d'obtenir un solveur de diffusion sur toute surface raisonnablement régulière et paramétrable en (θ, φ) . Il suffit d'implémenter la paramétrisation et ses dérivées en θ et en φ pour calculer localement une métrique et en déduire les coefficients de discrétisation. La figure 7.12 présente des résultats de tests de diffusion similaires à ce qui a été fait sur la sphère, pour l'ellipsoïde précédemment décrite, ainsi que pour une forme proche de celle d'une hématie.

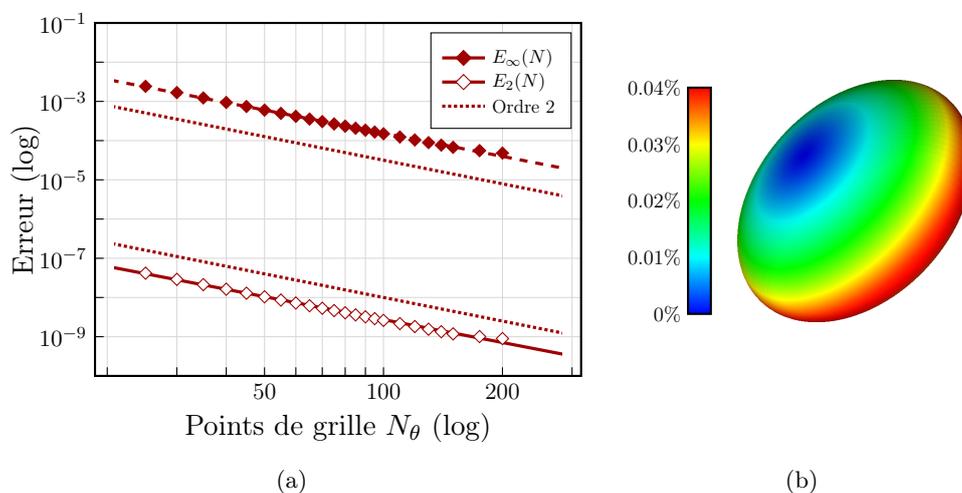


FIGURE 7.11 – 7.11(a) : convergence de la méthode de discrétisation du laplacien-Bletrami par différence finies sur un ellipsoïde. 7.11(b) : répartition spatiale de l'erreur.

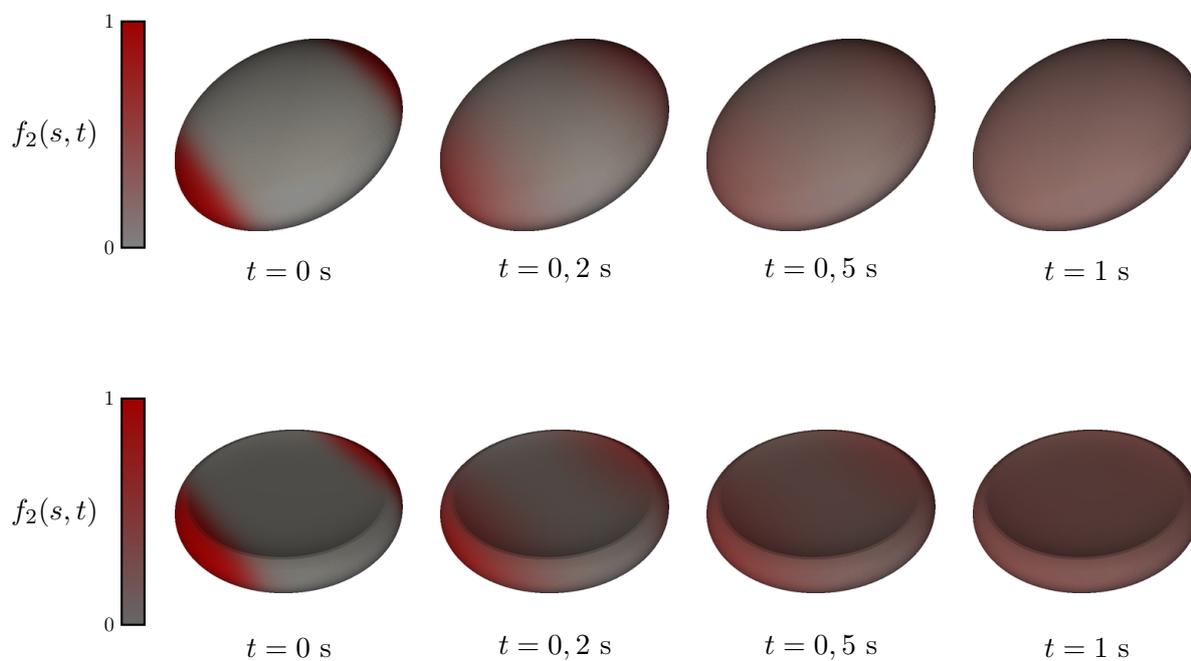


FIGURE 7.12 – Diffusion sur deux surfaces paramétrées de la quantité f_2 définie à l'équation (7.9), calculée avec la méthode de différences finies.

Chapitre 8

Détails d'implémentation

8.1 Couplage entre les deux types de maillage

Au chapitre précédent, nous avons choisi d'utiliser un maillage différent pour représenter la membrane Γ de la cellule. Les solveurs sur le potentiel électrique et la diffusion de molécules dans les domaines extra- et intracellulaire restent cependant inchangés. Il n'y a alors plus correspondance entre les points de discrétisation pour ces différentes méthodes. Il est alors nécessaire d'effectuer des interpolations entre ces deux maillages :

- Après avoir calculé le potentiel électrique à l'étape 5.5 et le taux de perméabilité X_2 correspondant, il faut exprimer cette quantité sur le nouveau maillage.
- L'opération inverse est nécessaire après avoir fait diffuser X_2 sur la surface à l'étape 5.6 du schéma, pour résoudre les équations de diffusion de molécules où la perméabilité intervient.

Dans cette section, nous appellerons points d'intersection les points de Γ utilisés dans la résolution du laplacien (chapitre 6), et points de maillage ceux utilisés par le solveur de réaction-diffusion sur l'interface (chapitre 7).

8.1.1 Des points d'intersection aux points de maillage

Pour évaluer la fonction sur un point de maillage à partir des valeurs aux intersections, on considère la cellule de la grille cartésienne 3D dans laquelle se situe ce point. Les points d'intersection avec les arêtes de cette cellule forment alors un polygone qui est quasiment situé dans un plan (cf. figure (8.1)).

En ramenant ce groupe de points dans un plan, on peut alors utiliser les coordonnées barycentriques du point du maillage. Désignons par \tilde{P} et \tilde{P}_i les coordonnées respectives du point de maillage et des sommets du polygone dans le plan qui les contient (modulo une projection de faible amplitude). Pour calculer les coordonnées barycentrique du point \tilde{P} dans ce polygone, nous faisons appel à l'algorithme décrit par Meyer *et al.* dans [51] : les coordonnées sont les réels positifs $\alpha_i, i = 1, N$ où N est le nombre de sommets du polygone, ces derniers étant supposés ordonnés suivant l'indice i autour du point \tilde{P} , et

$$\alpha_i = \frac{\overrightarrow{\tilde{P}_i \tilde{P}} \cdot \overrightarrow{\tilde{P}_i \tilde{P}_{i-1}} + \overrightarrow{\tilde{P}_i \tilde{P}} \cdot \overrightarrow{\tilde{P}_i \tilde{P}_{i+1}}}{\left\| \overrightarrow{\tilde{P} \tilde{P}_i} \right\|^2} \quad (8.1)$$

La valeur d'une fonction f au point de maillage est alors donnée par $\sum \alpha_i f_i$. La méthode d'interpolation a été testée avec des maillages en (θ, φ) et en (x, y, z) de tailles similaires ($N_\theta = N_x = N_y = N_z$), comme présenté en figure 8.2, et celle-ci converge à l'ordre 2.

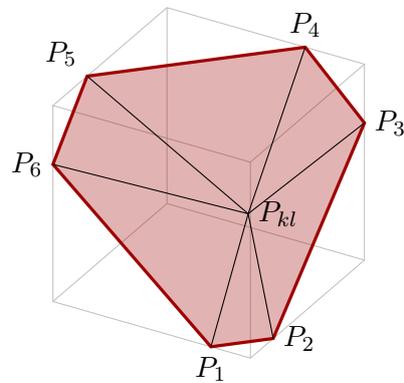


FIGURE 8.1 – Intersection entre l'interface et une cellule de la grille cartésienne contenant le point P_{kl} . Les intersections avec les arêtes du cube P_j , $j = 1 : 6$ définissent un polygône proche d'être inclus dans un plan.

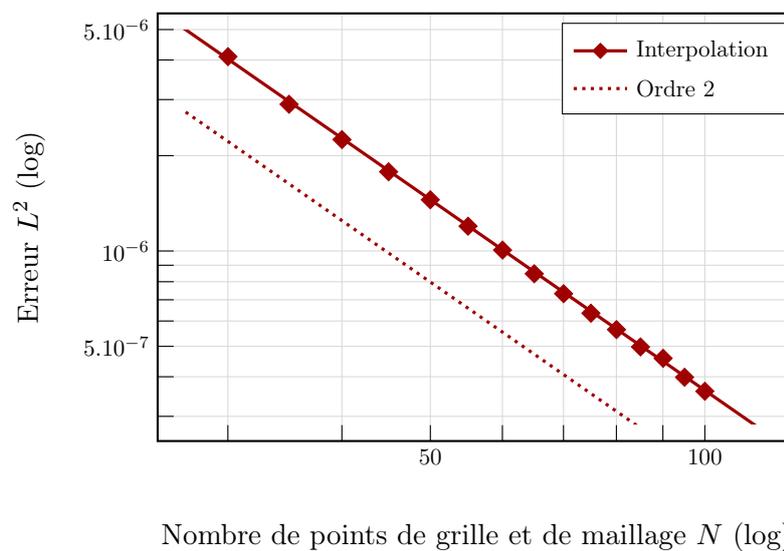


FIGURE 8.2 – Convergence de l'interpolation des points de maillage vers les points d'intersection. La fonction interpolée est $(x, y, z) \mapsto x^2 + 1$. L'erreur calculée est la norme $L^2(\Gamma)$ de l'erreur relative à cette fonction.

8.1.2 Du maillage aux points d'intersection

Dans un second temps, on considère connues les valeurs d'une fonction f aux points de maillage. Deux choix s'offrent à nous, selon si l'on dispose ou non d'une paramétrisation Ψ de Γ en (θ, φ) . Si c'est effectivement le cas, alors il est possible d'obtenir à partir des coordonnées d'une intersection sa position dans la grille en (θ, φ) à partir de l'expression de Ψ^{-1} . On considère alors f comme étant bilinéaire sur chaque maille $[\theta_i, \varphi_j] \times [\theta_{i+1}, \varphi_{j+1}]$, et la valeur de f au point d'intersection P_k est donnée par :

$$f_k(\theta, \varphi) \sim (f_{ij} - f_{i+1j} - f_{ij+1} + f_{i+1j+1}) \frac{(\theta - \theta_i)(\varphi - \varphi_j)}{d\theta^2} + (f_{i+1j} - f_{ij}) \frac{\theta - \theta_i}{d\theta} + (f_{ij+1} - f_{ij}) \frac{\varphi - \varphi_j}{d\theta} + f_{ij}. \quad (8.2)$$

Si on ne dispose pas de paramétrisation de la surface, alors une moyenne est effectuée à partir des points de maillage situés dans un rayon de $h\sqrt{3}$ autour du point d'intersection P_k où on souhaite évaluer la fonction. Si d_{ij} désigne la distance entre le point P_k et le point de maillage P_{ij} , et f_{ij} les valeurs de f en ces points, on pose :

$$f_k \sim \left(\sum_{ij, d_{ij} < h\sqrt{3}} \frac{1}{d_{ij}} \right)^{-1} \sum_{ij, d_{ij} < h\sqrt{3}} \frac{1}{d_{ij}} f_{ij}. \quad (8.3)$$

La figure 8.3 montre qu'on obtient une convergence d'ordre 2 si l'on dispose de la paramétrisation, et de 1,6 dans le cas contraire.

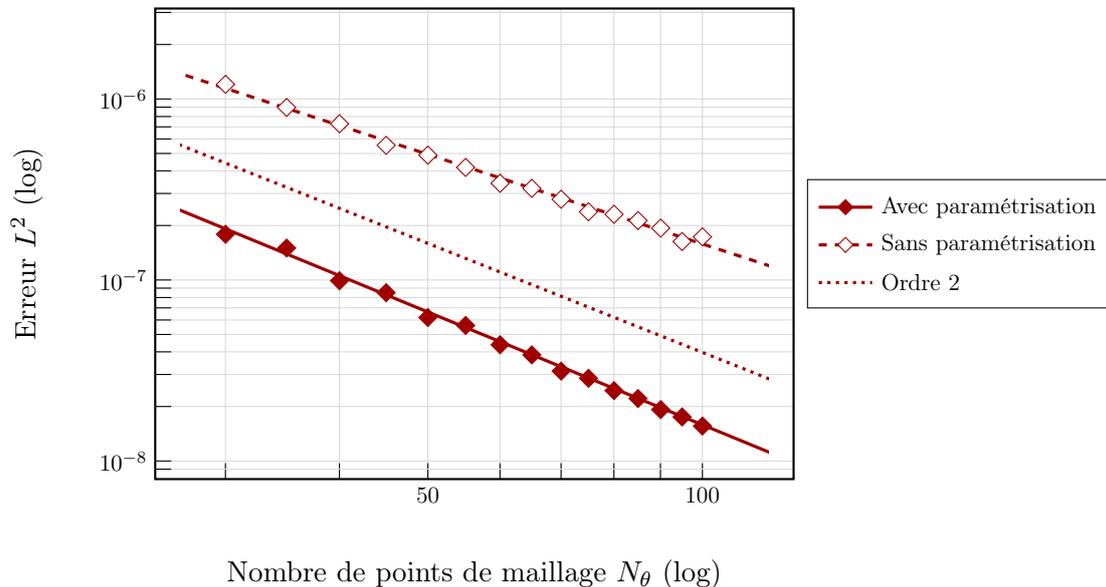


FIGURE 8.3 – Convergence de l'interpolation du maillage de l'interface vers les points d'intersection. La valeurs interpolées sont celles de la fonction $(x, y, z) \mapsto x^2 + 1$.

8.2 Calculs de normes discrètes

Les résultats de diffusion de molécules présentés en première partie montrent souvent des concentrations accrues près de l'interface. Aussi, pour calculer de façon plus correcte les intégrales dans

Remarque : En 3D, déterminer le volume occupé par chaque sous-domaine dans une maille s'avérant particulièrement coûteux en temps et difficile à mettre en œuvre, les solutions sont considérées constantes sur la totalité du volume des mailles.

Interface. Pour évaluer des taux de perméabilisation ou une conductivité moyenne, entre autres, on a fréquemment recours à un calcul de moyenne sur Γ . Comme cela a été mis en évidence précédemment sur la figure 7.1, les éléments de longueur (problème en 2D) ou de surface (3D) ont des dimensions très irrégulières. Il est donc incorrect d'effectuer une simple moyenne de toutes les valeurs présentes sur l'interface.

La norme $L^2(\Gamma)$ est approchée par :

$$\|u\|_{L^2(\Gamma)} \sim \left(\sum_{M_i \in M_\Gamma} u_k^2 \delta l_k \right)^{\frac{1}{2}}, \quad (8.5)$$

où δl_k est l'élément de longueur associé au point M_k . En deux dimensions, si M_{k-1} , M_k et M_{k+1} désignent trois points consécutifs de Γ (cf. figure 8.5(a)), alors

$$\delta l_k = \frac{1}{2} (\|M_k - M_{k-1}\| + \|M_{k+1} - M_k\|). \quad (8.6)$$

En trois dimensions, l'aire \mathcal{A}_j de chaque facette k constituant la surface est calculée en faisant la somme des aires des triangles qui la compose (cf. figure 8.5(b)) et

$$\delta l_k = \sum_{j \in F_k} \frac{\mathcal{A}_j}{n_j}, \quad (8.7)$$

où F_k désigne l'ensemble des facettes adjacentes au point M_k et n_j le nombre de points d'une facette.

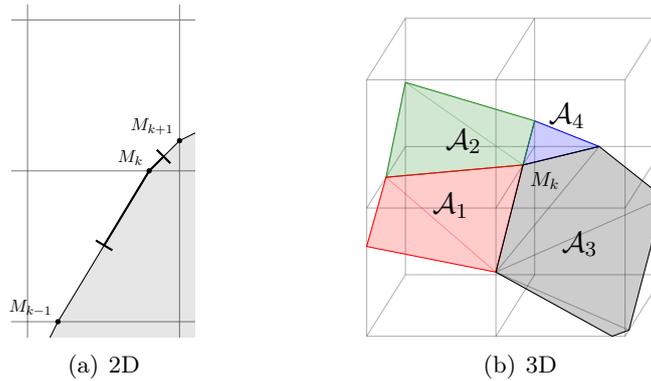


FIGURE 8.5 – Calcul de l'élément de longueur ou de surface associé à un point d'interface. Dans le cas 3D, l'aire associée à M_k est ici $\delta l_k = \mathcal{A}_1/4 + \mathcal{A}_2/4 + \mathcal{A}_3/6 + \mathcal{A}_4/3$.

8.3 Parallélisation du code

Pour effectuer des simulation en trois dimensions avec un nombre suffisant de points, il devient impératif de paralléliser les méthodes de résolution présentées à la section précédente. De façon générale, il existe deux manières de mettre en place la parallélisation de la résolution des systèmes linéaires, schématisées sur la figure 8.6.

- La décomposition d'opérateur consiste à répartir entre plusieurs processeurs les lignes de la matrice « à inverser ». Cela implique de réécrire la plupart des algorithmes de résolution, qui font intervenir des produits matrice-vecteur.
- La décomposition de domaine divise au préalable le domaine de calcul en autant de sous-domaines qu'il y a de processeurs. Chaque processeur résout un système de taille réduite, avec des conditions de bord adaptées aux zones d'échanges inter-processeurs. On voit alors très bien en quoi les méthodes sur grille cartésienne sont facilement parallélisables.

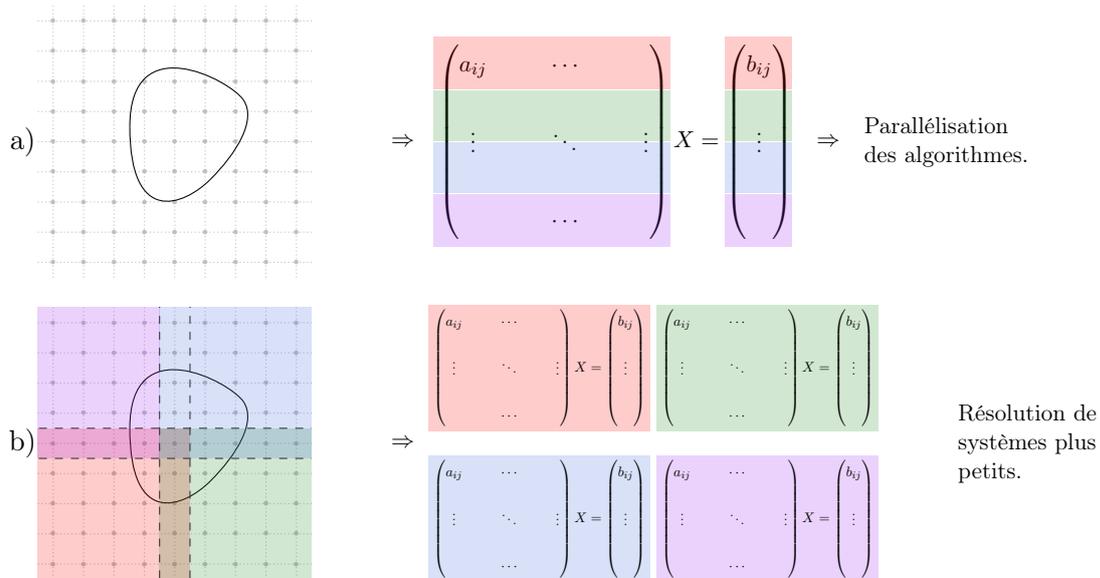


FIGURE 8.6 – Schématisation des processus de parallélisation : a) décomposition d'opérateur b) décomposition de domaine. Chaque couleur représente la charge attribuée à un processeur.

Dans notre implémentation, le choix de la méthode de parallélisation pour l'inversion des systèmes linéaires est laissé à la bibliothèque Petsc qui est invoquée. En revanche, toutes les opérations de traitement des informations hormis ces inversions (entrée-sortie, construction des matrices, évolution et calculs des observables) ont été parallélisées en utilisant la décomposition de domaine.

Étant donné que la géométrie de la cellule, ainsi que son placement dans le domaine de calcul, ne sont *a priori* pas déterminés, il en résulte un déséquilibre dans la charge de calcul distribuée aux processeurs. En effet, pour des calculs massivement parallèles, certains sous-domaines ne contiennent pas de points d'interface, alors que d'autres oui. Ce déséquilibre ne concerne que les opérations extérieures à la résolution de systèmes linéaires. Cette dernière est effectuée avec une répartition de charge plus régulière.

Cependant, le déséquilibre de charge influe sur les performances en termes de parallélisation, comme le montrent les courbes de speed-up et d'efficacité 8.7. L'accélération est définie par le rapport entre la charge totale (le temps de calcul avec un seul processeur) et le temps de calcul en parallèle, en fonction du nombre de processeurs. L'efficacité est alors définie comme ce gain divisé par le nombre de processeurs. L'idéal est de rapprocher celle-ci des 100%, et de faire en sorte qu'elle ne chute qu'au delà d'un nombre important de processeurs. On observe qu'avec notre méthode la chute d'efficacité intervient de façon significative au delà de huit processeurs, lorsque certains sous-domaines ne comprennent pas de points d'interface.

De plus, effectuer une décomposition de domaine nécessite d'établir des zones de chevauchement entre les sous-domaines, de telle sorte que l'information nécessaire soit échangée entre les processeurs. Le nombre total d'inconnues correspondant au problème initial auquel s'ajoutent les zones

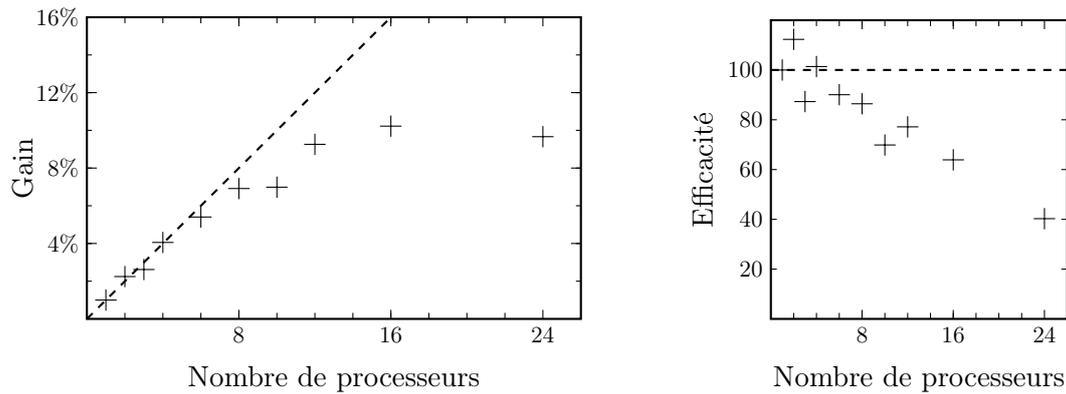


FIGURE 8.7 – Accélération et efficacité du code de simulation du problème (2.13). Les tests ont été effectués avec une grille cubique de 72 points de côté pendant 20 itérations, sur la machine Plafirm¹. La ligne pointillée indique la performance optimale.

de chevauchement est alors croissant en fonction du nombre de processeurs (cf. figure 8.8). Les temps de communication inter-processeurs deviennent également plus longs que le temps de calcul à proprement parler, ce qui fait également diminuer l'efficacité.

Notons aussi que l'ajout des solveurs de diffusion sur l'interface et de transport sur chaque micro-tubule complique grandement la parallélisation du code, de par les nombreux systèmes d'indexation à gérer et répartir entre les processeurs. Pour l'instant, le nombre de points de ces solveurs étant très petit devant la grille cartésienne, leur traitement n'a pas été parallélisé (hors de la partie réservée à l'inversion de la matrice de diffusion confiée à Petsc). Il est évident que cela constitue une source d'optimisation non négligeable.

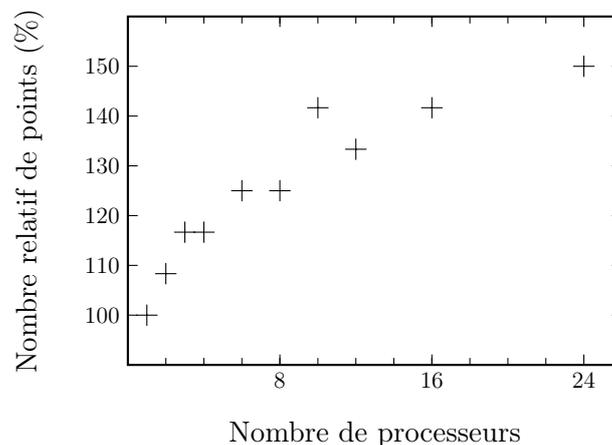


FIGURE 8.8 – Nombre de points total à traiter en fonction du nombre de processeurs, relativement au nombre de points initial. Celui-ci est calculé comme étant la somme des tailles des sous-domaines, comprenant les zones de chevauchements. La total ne tient compte que des points de grille.

Malgré ces limitations, le gain obtenu est suffisant pour justifier l'utilisation du code parallélisé lorsque le nombre de points est important, comme dans les simulations en 3D.

8.4 Initialisation de la fonction level-set

Comme nous l'avons vu dans l'ensemble de ce document, les cellules peuvent prendre des formes quelconques, souvent sphériques, parfois plus allongées. Nous avons également eu besoin d'utiliser les mêmes géométries que lors des expériences d'incorporation de PI (voir figure 4.3). Le code propose donc plusieurs méthodes de calcul de la fonction level-set φ qui nous sert à positionner la ou les membranes cytoplasmiques ou nucléaires.

Lorsque la cellule est considérée comme sphérique, il n'y a aucune difficulté à déterminer la distance à l'interface. Si la sphère a pour centre \mathbf{c} et pour rayon r , alors

$$\varphi(\mathbf{x}) = \|\mathbf{x} - \mathbf{c}\|_2 - r$$

est une fonction distance calculable sur l'ensemble du domaine à moindre frais.

Nous avons également utilisé des ellipsoïdes au cours des simulations. Là encore, il est possible de déterminer explicitement la distance à l'interface à partir d'une position \mathbf{x} . On utilise alors l'algorithme présenté en détail par David Eberly dans [24], pour les cas 2D comme 3D.

En ce qui concerne les formes issues des images des expériences (donc en 2D uniquement), une fonction a été implémentée dans le code important la fonction level-set directement depuis une image. On utilise pour cela le format d'image X-pixmap `.xpm`², qui transforme l'image en une simple chaîne de caractères, qui peut être directement visualisée dans un éditeur de texte. La fonction d'importation transforme les couleurs en niveaux de gris en faisant une moyenne des trois valeurs RGB, un simple flou optique. On dispose ainsi, après normalisation et translation, d'une fonction qui présente les caractéristiques d'une level-set. Pour que celle-ci soit proche d'une fonction distance aux points avoisinant l'interface, on effectue un lissage par moyennisation des niveaux de gris proche de l'interface. On peut ainsi donner en entrée du programme une image ne contenant que des pixels strictement noirs et blancs. Un exemple est donné en figure 8.9.

2. Le lecteur pourra consulter l'histoire de ce format racontée par son créateur en suivant ce lien http://www.w3.org/People/daniield/xpm_story.html.

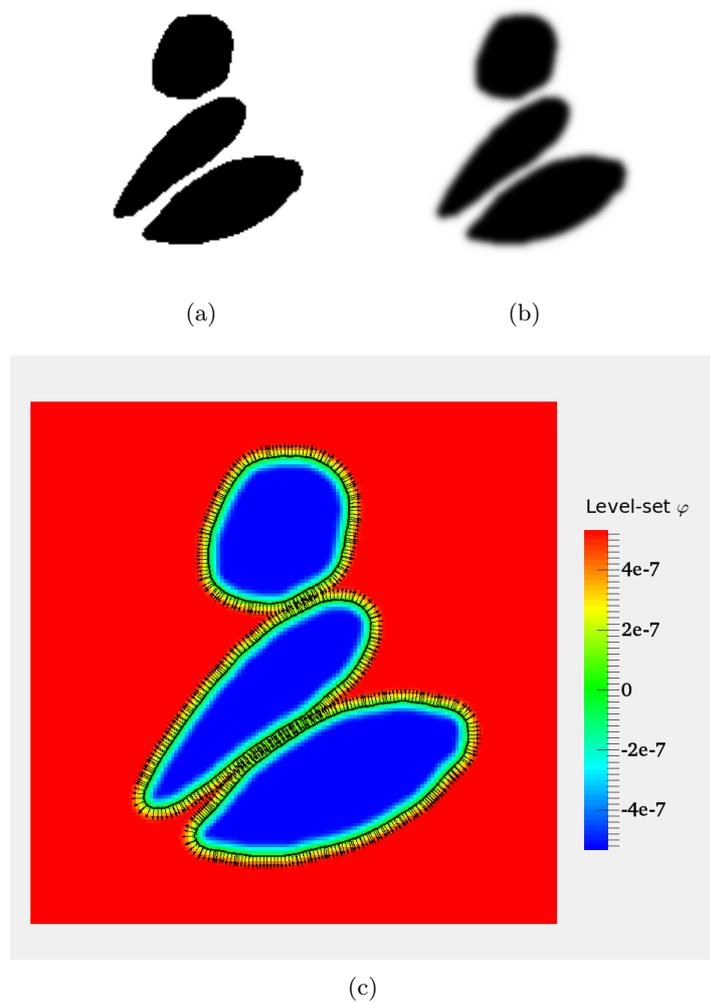


FIGURE 8.9 – Utilisation du format X-pixmap : 8.9(a) Image fournie au programme, qui peut être considérée comme un masque. 8.9(b) Image correspondant à la fonction level-set lissée. 8.9(c) Interface résultante, avec les normales aux points.

Conclusion

Les modèles de perméabilisation qui ont été écrits au cours de cette thèse se différencient de la plupart de ceux existants par plusieurs principes.

- Que ce soit pour décrire le potentiel électrique ou la concentration des molécules dans la cellule, nous sommes partis de constatations expérimentales, sans vouloir déterminer une loi à partir d'hypothèses sur la membrane. Cette approche, si elle se rencontre sur des modèles à l'échelle tissulaire, est cependant peu courante à l'échelle cellulaire.
- Afin de faciliter la validation de nos modèles, nous avons rajouté un modèle de transport et de diffusion de molécules (fluorescent, agent thérapeutique, ADN, etc.) nous donnant des résultats plus proches des expériences. Cela constitue une différence importante avec ce qui est d'habitude surveillé par les modèles, à savoir la conductivité des membranes.
- L'hypothèse nouvelle d'altération chimique des lipides nous a conduit à faire la distinction entre l'état conducteur et l'état perméable de la membrane, ce qui n'est en général pas fait clairement dans les modèles d'électroporation. Nous avons montré que sous cette hypothèse, nous avons obtenu des résultats sur la perméabilisation qu'un modèle électrique seul n'aurait pas pu produire.
- Nous résolvons les équations en utilisant un code spécifiquement créé pour cette tâche, en 3D et parallèle, se basant sur des méthodes numériques adaptées au problème non-linéaire discontinu et au problème de réaction-diffusion sur la membrane.

Au final, chaque modèle proposé a été en mesure de reproduire qualitativement ce qui a été observé expérimentalement. Le résultat est satisfaisant, mais maintenant commence la seconde phase du travail de validation, à savoir la calibration des paramètres afin de reproduire quantitativement les expériences. Les modèles ayant été conçus dans cette optique, la liste des paramètres à déterminer devrait se réduire relativement aisément.

Faisons un récapitulatif. Nous avons pour la partie électrique :

- La conductivité maximale S_1 d'une zone à porosité maximale, et son équivalent S_2 pour les zones perméables, qui semblent être les moins accessibles aux expérimentateurs. Nous avons montré qu'en fait ces paramètres n'avaient qu'une influence mineure sur la conductivité totale.
- Les dynamiques de création et fermeture des pores τ_{1up} et τ_{1dw} , ainsi que le seuil de voltage $X_{1,th}$ et la pente de la transition k_1 . Ces paramètres pourront être calibrés indépendamment du reste, à partir des mesures de courants et d'intensités lors d'expériences en *patch clamp* qui commencent à nous parvenir [96].

Concernant la diffusion des molécules, on peut considérer les constantes de diffusion et de motilité électrophorétique connues, tout comme les conductivités des milieux biologiques dans la partie électrique. Il ne reste alors que les paramètres similaires aux précédents à déterminer :

- Les perméabilités maximum P_1 et P_2 des membranes pendant et après les pulses, dont on ne connaît même pas un ordre de grandeur.
- Les dynamiques d'altération des lipides et de reconstruction de la membrane τ_{2up} et τ_{2dw} .

- Les valeurs déterminant la fonction seuil X_{2th} et k_2 .

Pour la calibration de cette partie, on peut disposer d'une grande quantité de données en temps et en espace, tirées notamment de l'internalisation de marqueurs fluorescents, ou encore de taux de survie de cellules après traitement. Dans le cas d'expériences impliquant la bléomycine, on connaît déjà une relation entre la concentration absorbée et la probabilité de survie de la cellule. En revanche, la relation entre une concentration de marqueur fluorescent et l'intensité lumineuse mesurée n'est pas encore clairement établie, d'autant plus qu'il faut compter sur le fait qu'on dispose d'observations 2D de cellules 3D.

Néanmoins, le fait de disposer de données sur la conductivité des membranes facilite grandement le travail de résolution du problème inverse. En effet, si l'on avait dû calibrer le modèle d'un seul bloc, il y aurait très probablement eu de trop nombreuses possibilités de combinaisons de paramètres donnant un résultat similaire.

Parmi les phénomènes biologiques à l'échelle cellulaire que l'on pourrait rajouter à notre modèle, on peut compter la variation en temps de la géométrie de membrane elle-même. Celle-ci peut être causée par des échanges à travers les canaux ioniques, ou encore par la variation de la pression osmotique de la cellule [70]. En effet, il est constaté pendant les expériences *in vitro* que les cellules perméabilisées gonflent après application des pulses. Tout ceci est faisable du point de vue de l'écriture des équations, mais moins évident du point de l'analyse mathématique. Aussi, en plus de conduire à une refonte du code de simulation (l'actuel étant bien moins performant lorsque l'interface bouge), cela accroîtrait encore davantage le nombre de paramètres, et rendrait plus difficile la résolution du problème inverse. Nous sommes confiants dans le fait que notre modèle actuel réalise une balance raisonnable entre simplicité des équations et aptitude à donner des résultats proches de la réalité.

Un autre challenge à venir concernant la perméabilisation sera de passer de ce modèle cellulaire au tissu. En ce qui concerne la partie électrique, on dispose déjà de pistes pour la phase d'homogénéisation, en s'inspirant de ce qui est fait dans le domaine de la cardiologie [9]. Il faudra cependant rajouter à cela la composante diffusion de notre modèle, et il peut être notamment intéressant de voir en quoi la diffusion des lipides sur la surface des membranes va changer le modèle tissulaire. Il faudra également tenir compte de la forte hétérogénéité des tissus, de leur éventuelle anisotropie, etc. Pour l'instant, une étude à l'échelle macroscopique reprenant un modèle similaire d'évolution de la conductivité à celui que nous avons proposé a été testé [11], en régime irréversible. La confrontation avec des expériences réalisées sur des pommes de terre donne des résultats encourageants, montrant notamment que la discontinuité des milieux influence fortement les conductivités résultantes.

L'intérêt des modèles à l'échelle tissulaire est principalement de déterminer le niveau de perméabilisation d'une région, souvent une tumeur, étant donné une position d'électrodes et des paramètres de pulses. Mais l'inverse est également envisageable. Avec de tels modèles, il est possible de déterminer un protocole d'électroperméabilisation optimal, assurant le traitement tout en réduisant les dégâts occasionnés aux tissus sains avoisinants. On peut aussi concevoir d'intégrer ce genre de calculs à un modèle de croissance tumorale [16], et ainsi faire véritablement de la planification de traitement par électrochimiothérapie.

Bibliographie

- [1] I.G. Abidor, V.B. Arakelyan, L.V. Chernomordik, Yu.A. Chizmadzhev, V.F. Pastushenko, and M.P. Tarasevich. Electric breakdown of bilayer lipid membranes : I. The main experimental facts and their qualitative discussion. *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry*, 104(0) :37–52, 1979. [↗](#).
- [2] B. Agerholm-Larsen, H.K. Iversen, P. Ibsen, J.M. Moller, F. Mahmood, K.S. Jensen, and J. Gehl. Preclinical validation of electrochemotherapy as an effective treatment for brain tumors. *Cancer research*, 71(11) :3753–3762, 2011. [↗](#).
- [3] F.M. André, J. Gehl, G. Serša, V. Préat, P. Hojman, J. Eriksen, M. Golzio, M. Cemazar, N. Pavišelj, M.P. Rols, D. Miklavčič, E. Neumann, J. Teissié, and L.M. Mir. Efficiency of high- and low-voltage pulse combinations for gene electrotransfer in muscle, liver, tumor, and skin. *Human Gene Therapy*, 19(11) :1261–1271, 2008. [↗](#).
- [4] M. A. Badding and D. A. Dean. Highly acetylated tubulin permits enhanced interactions with and trafficking of plasmids along microtubules. *Gene Therapy*, 20(6) :616–624, 2012. [↗](#).
- [5] M. A. Badding, E. E. Vaughan, and D. A. Dean. Transcription factor plasmid binding modulates microtubule interactions and intracellular trafficking during gene transfer. *Gene Therapy*, 19(3) :338–46, 2012. [↗](#).
- [6] S. Balay, J. Brown, K. Buschelman, W.D. Gropp, D. Kaushik, M.G. Knepley, L. Curfman McInnes, B.F. Smith, and H. Zhang. PETSc Web page, 2012. [↗](#).
- [7] M. Belehradek, C. Domenge, B. Luboinski, S. Orłowski, J. Belehradek, and L.M. Mir. Electrochemotherapy, a new antitumor treatment. first clinical phase i-ii trial. *Cancer*, 72(12) : 3694–3700, 1993. [↗](#).
- [8] R. Benz, F. Beckers, and U. Zimmermann. Reversible electrical breakdown of lipid bilayer membranes : a charge pulse relaxation study. *Journal of Membrane Biology*, 48(2) :181–204, 1979. [↗](#).
- [9] Y. Bourgault, Y. Coudière, and C. Pierre. Existence and uniqueness of the solution for the bi-domain model used in cardiac electrophysiology. *Nonlinear Analysis : Real World Applications*, 10(1) :458–482, 2009. [↗](#).
- [10] M. Breton, L. Delemotte, A. Silve, L.M. Mir, and M. Tarek. Transport of siRNA through lipid membranes driven by nanosecond electric pulses : an experimental and computational study. *Journal of the American Chemical Society*, 134(34) :13938–13941, 2012. [↗](#).
- [11] M. Breton, F. Buret, L. Krähenbühl, M. Leguèbe, L.M. Mir, R. Perrussel, C. Poignard, R. Scorretti, and D. Voyer. Nonlinear steady-state electrical current modeling for the electropermeabilization of biological tissue. In *Proceedings of the 16th IEEE Conference on Electromagnetic Field Computation*, Annecy, France, 2014. [↗](#).

- [12] L. Calmels, B. Al-Sakere, J.P. Ruaud, A. Leroy-Willig, and L.M. Mir. In vivo MRI follow-up of murine tumors treated by electrochemotherapy and other electroporation-based treatments. *Technology in Cancer Research and Treatment*, 11(4) :561–570, 2012. [↗](#).
- [13] R.P. Chapuis and M. Aubertin. On the use of the Kozeny–Carman equation to predict the hydraulic conductivity of soils. *Canadian Geotechnical Journal*, 40(3) :616–628, 2003. [↗](#).
- [14] Y. Chen, B.C. Lagerholm, B. Yang, and K. Jacobson. Methods to measure the lateral diffusion of membrane lipids and proteins. *Methods*, 39(2) :147–153, 2006. [↗](#).
- [15] M. Cisternino and L. Weynans. A parallel second order cartesian method for elliptic interface problems. *Communications in Computational Physics*, 12 :1562–1587, 2012. [↗](#).
- [16] F. Cornelis, O. Saut, P. Cumsille, D. Lombardi, A. Iollo, J. Palussiere, and T. Colin. In vivo mathematical modeling of tumor growth from imaging data : Soon to come in the future? *Diagnostic and Interventional Imaging*, 94(6) :593–600, 2013. [↗](#).
- [17] J.M. Crowley. Electrical breakdown of bimolecular lipid membranes as an electromechanical instability. *Biophysical Journal*, 13(7) :711–724, 1973. [↗](#).
- [18] R.V. Davalos, L.M. Mir, and B. Rubinski. Tissue ablation with irreversible electroporation. *Annals of Biomedical Engineering*, 33(2) :223–231, 2005. [↗](#).
- [19] D. A. Dean. Cell-specific targeting strategies for electroporation-mediated gene delivery in cells and animals. *Journal of Membrane Biology*, 246(10) :737–744, 2013. [↗](#).
- [20] K. DeBruin and W. Krassowska. Modelling electroporation in a single cell. I. Effects of field strength and rest potential. *Biophysical Journal*, 77(3) :1213–1224, 1999. [↗](#).
- [21] K. DeBruin and W. Krassowska. Modelling electroporation in a single cell. II. Effects of ionic concentrations. *Biophysical Journal*, 77(3) :1225–1233, 1999. [↗](#).
- [22] L. Delemotte, F. Dehez, W. Treptow, and M. Tarek. Modeling membranes under a transmembrane potential. *The Journal of Physical Chemistry B*, 112(18) :5547–5550, 2008. [↗](#).
- [23] L. Dimitrio, R. Natalini, and L. Milanesi. A mathematical model for the enhanced cytoplasmic transport - how to get (faster) to the nucleus. In *Bioinformatics'11*, pages 39–46, 2011. [↗](#).
- [24] D. Eberly. Distance from a point to an ellipse, an ellipsoid, or a hyperellipsoid. *Geometric Tools, LLC*. [↗](#).
- [25] J.M. Escoffre, T. Portet, L. Wasungu, J. Teissié, D. Dean, and M.P. Rols. What is (still not) known of the mechanism by which electroporation mediates gene transfer and expression in cells and tissues. *Molecular Biotechnology*, 41(3) :286–295, 2009. [↗](#).
- [26] J.M. Escoffre, T. Portet, C. Favard, J. Teissié, D.S. Dean, and M.P. Rols. Electromediated formation of DNA complexes with cell membranes and its consequences for gene delivery. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1808(6) :1538–1543, 2011. [↗](#).
- [27] E.C. Fear and M.A. Stuchly. Modelling assemblies of biological cells exposed to electric fields. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 45(10) :1259–1271, 1998. [↗](#).
- [28] R. P. Fedkiw. Coupling an eulerian fluid calculation to a lagrangian solid calculation with the ghost fluid method. *Journal of Computational Physics*, 175 :200–224, 2002. [↗](#).

- [29] R. P. Fedkiw, T. Aslam, B. Merriman, and S. Osher. A non-oscillatory eulerian approach to interfaces in multimaterial flows (the ghost fluid method). *Journal of Computational Physics*, 152 :457–492, 1999. [↗](#)
- [30] B. Flickinger, T. Berghöfer, P. Hohenberger, C. Eing, and W. Frey. Transmembrane potential measurements on plant cells using the voltage-sensitive dye ANNINE-6. *Protoplasma*, 247 (1-2) :3–12, 2010. [↗](#)
- [31] S. Gabriel, R.W. Lau, and E. Corthout. The dielectric properties of biological tissues : I. literature survey. *Physics in Medicine and Biology*, 41(11) :2231–2249, 1996. [↗](#)
- [32] S. Gabriel, R.W. Lau, and C. Gabriel. The dielectric properties of biological tissues : II. measurements in the frequency range 10 Hz to 20 GHz. *Physics in Medicine and Biology*, 41 (11) :2251–2269, 1996. [↗](#)
- [33] S. Gabriel, R.W. Lau, and C. Gabriel. The dielectric properties of biological tissues : III. parametric models for the dielectric spectrum of tissues. *Physics in Medicine and Biology*, 41 (11) :2271–2293, 1996. [↗](#)
- [34] F. Gibou and R.P. Fedkiw. A fourth order accurate discretization for the laplace and heat equations on arbitrary domains, with applications to the stefan problem. *Journal of Computational Physics*, 202 :577–601, 2005. [↗](#)
- [35] F. Gibou, R. P. Fedkiw, L.T. Cheng, and M. Kang. A second order accurate symmetric discretization of the poisson equation on irregular domains. *Journal of Computational Physics*, 176 :205–227, 2002. [↗](#)
- [36] R.W. Glaser, S.L. Leikin, L.V. Chernomordik, V.F. Pastushenko, and A.I. Sokirko. Reversible electrical breakdown of lipid bilayers : formation and evolution of pores. *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes*, 940(2) :275–287, 1988. [↗](#)
- [37] A. Golberg, J. Fischer, and B. Rubinsky. The Use of Irreversible Electroporation in Food Preservation. In *Irreversible Electroporation*, Series in Biomedical Engineering, pages 273–312. Springer Berlin Heidelberg, 2010. [↗](#)
- [38] A. Gothelf, L.M. Mir, and J. Gehl. Electrochemotherapy : results of cancer treatment using enhanced delivery of bleomycin by electroporation. *Cancer Treatment Reviews*, 29(5) :371–387, 2003. [↗](#)
- [39] T. R. Gowrishankar, A. T. Esser, Z. Vasilkoski, K. C. Smith, and J. C. Weaver. Microdosimetry for conventional and supra-electroporation in cells with organelles. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 341(4) :1266–1276, 2006. [↗](#)
- [40] A. Ivorra, J. Villemejeane, and L.M. Mir. Electrical modeling of the influence of medium conductivity on electroporation. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 12(34) :10055–10064, 2010. [↗](#)
- [41] J. Teissié and C. Ramos. Correlation between Electric Field Pulse Induced Long-Lived Permeabilization and Fusogenicity in Cell Membranes. *Biophysical Journal*, 74(4) :1889–1898, 1998. [↗](#)
- [42] P. Joly and S. Tordeux. Matching of asymptotic expansions for wave propagation in media with thin slots i : The asymptotic expansion. *Multiscale Modeling & Simulation*, 5(1) :304–336, 2006. [↗](#)

- [43] M. Kargol. A more general form of Kedem and Katchalsky's practical equations. *J. Biol. Phys.*, 22(1) :15–26, 1996. [↗](#).
- [44] O. Kavian, M. Leguèbe, C. Poignard, and L. Weynans. “Classical” Electropermeabilization Modeling at the Cell Scale. *J. Math. Biol.*, 68(1–2) :235–265, 2014. [↗](#).
- [45] I. Lacković, R. Magjarević, and D. Miklavčič. Three-dimensional Finite-element Analysis of Joule Heating in Electrochemotherapy and *in vivo* Gene Electrotransfer. *IEEE Transactions on Dielectrics and Electrical Insulation*, 16(5) :1338–1347, 2009. [↗](#).
- [46] R. J. Leveque and L.Z. Li. The immersed interface method for elliptic equations with discontinuous coefficients and singular sources. *SIAM Numerical Analysis*, 31(4) :1019–1044, 1994. [↗](#).
- [47] Z.L. Li. A fast iterative algorithm for elliptic interface problems. *SIAM Numerical Analysis*, 35 :230–254, 1998. [↗](#).
- [48] Z.L. Li and K. Ito. Maximum principle preserving schemes for interface problems with discontinuous coefficients. *SIAM Journal on Scientific Computing*, 23 :339–361, 2001. [↗](#).
- [49] H. Lodish, A. Berk, and S.L. *et al.* Zipursky. *Molecular Cell Biology, 4th edition. Section 19.3 : Kinesin, Dynein, and Intracellular Transport*. New York : W. H. Freeman, 2000. Disponible depuis : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21710> [↗](#).
- [50] L.W. Matthiessen, R.L. Chalmers, D.C.G. Sainsbury, S. Veeramani, G. Kessell, A.C. Humphreys, J.E. Bond, T. Muir, and J. Gehl. Management of cutaneous metastases using electrochemotherapy. *Acta Oncologica*, 50(5) :621–629, 2011. [↗](#).
- [51] M. Meyer, A. Barr, H. Lee, and M. Desbrun. Generalized barycentric coordinates on irregular polygons. *Journal of Graphic Tools*, 7(1) :13–22, 2002. [↗](#).
- [52] D. Miklavčič, G. Serša, E. Breclj, J. Gehl, D. Soden, G. Bianchi, P. Ruggieri, C.R. Rossi, L.G. Campana, and T. Jarm. Electrochemotherapy : technological advancements for efficient electroporation-based treatment of internal tumors. *Medical & Biological Engineering & Computing*, 50(12) :1213–1225, 2012. [↗](#).
- [53] L. Miller, J. Leor, and B. Rubinsky. Cancer cells ablation with irreversible electroporation. *Technology in cancer research & treatment*, 4(6) :699–705, 2005. [↗](#).
- [54] L.M. Mir. Therapeutic perspectives of *in vivo* cell electropermeabilization. *Bioelectrochemistry*, 53(1) :1–10, 2001. [↗](#).
- [55] L.M. Mir. Electroporation of cells in tissues. Methods for detecting cell electropermeabilisation *in vivo*. In *Electroporation based Technologies and Treatment : proceedings of the international scientific workshop and postgraduate course*, pages 32–35, 14-20 Novembre 2005. Ljubljana, Slovénie, [↗](#).
- [56] K. J. Müller, V. L. Sukhorukov, and U. Zimmermann. Reversible electropermeabilization of mammalian cells by high-intensity, ultra-short pulses of submicrosecond duration. *Journal of Membrane Biology*, 184(2) :161–170, 2001. [↗](#).
- [57] F. Nédélec, T. Surrey, and A. C. Maggs. Dynamic concentration of motors in microtubule arrays. *Physical Review Letters*, 86(14) :3192–3195, 2001. [↗](#).

- [58] O.M. Nesin, O.N. Pakhomova, S. Xiao, and A.G. Pakhomov. Manipulation of cell volume and membrane pore comparison following single cell permeabilization with 60- and 600-ns electric pulses. *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes*, 1808(3) :792–801, 2011. [↗](#).
- [59] J. Neu and W. Krassowska. Asymptotic model of electroporation. *Physical Review E*, 53(3) :3471–3482, 1999. [↗](#).
- [60] J. Neu and W. Krassowska. Singular perturbation analysis of the pore creation transient. *Physical Review E*, 74(031917) :1–9, 2006. [↗](#).
- [61] E. Neumann and K. Rosenheck. Permeability changes induced by electric impulses in vesicular membranes. *The Journal of membrane biology*, 10(1) :279–290, 1972. [↗](#).
- [62] E. Neumann, M. Schaefer-Ridder, Y. Wang, and P. H. Hofschneider. Gene transfer into mouse lyoma cells by electroporation in high electric fields. *EMBO Journal*, 1(7) :841–845, 1982. [↗](#).
- [63] S. Osher and R. Fedkiw. *Level Set Methods and Dynamic Implicit Surfaces*. Springer, 2003. [↗](#).
- [64] S. Osher and J. A. Sethian. Fronts propagating with curvature-dependent speed : Algorithms based on Hamilton-Jacobi formulations. *Journal of Computational Physics*, 79(1) :12–49, 1988. [↗](#).
- [65] M. Pavlin, T. Kotnik, D. Miklavčič, P. Kramar, and A.M. Lebar. Electroporation of planar lipid bilayers and membranes. *Advances in Planar Lipid Bilayers and Liposomes*, 6(7) :165–226, 2008. [↗](#).
- [66] V. Péron. *Modélisation mathématique de phénomènes électromagnétiques dans des matériaux à fort contraste*. Thèse, Université Rennes 1, 2009. [↗](#).
- [67] C. Poignard. *Méthodes asymptotiques pour le calcul de champs électromagnétiques dans des milieux à couche mince. Application aux cellules biologiques*. PhD thesis, Insitut Camille Jordan. Université de Lyon, November 2006. [↗](#).
- [68] C. Poignard. About the transmembrane voltage potential of a biological cell in time-harmonic regime. *ESAIM : Proceedings*, 26 :162–179, 2009. [↗](#).
- [69] C. Poignard, P. Dular, R. Perrussel, L. Krähenbühl, L. Nicolas, and M. Schatzman. Approximate conditions replacing thin layer. *IEEE Transactions on Magnetics*, 44(6) :1154–1157, 2008. [↗](#).
- [70] C. Poignard, A. Silve, F. Champion, L.M. Mir, O. Saut, and L. Schwartz. Ion fluxes, transmembrane potential, and osmotic stabilization : a new dynamic electrophysiological model for eukaryotic cells. *European Biophysics Journal*, 40(3) :235–246, 2011. [↗](#).
- [71] G. Pucihar, T. Kotnik, B. Valič, and D. Miklavčič. Numerical determination of transmembrane voltage induced on irregularly shaped cells. *Annals of Biomedical Engineering*, 34(4) :642–652, 2006. [↗](#).
- [72] M.P. Rols, C. Delteil, M. Golzio, and J. Teissié. Control by ATP and ADP of voltage-induced mammalian-cell-membrane permeabilization, gene ransfer and resulting expression. *European Journal of Biochemistry*, 254(2) :382–388, 1998. [↗](#).
- [73] C. Rosazza, A. Buntz, T. Rieß, D. Wöll, A. Zumbusch, and M.P. Rols. Intracellular Tracking of Single-plasmid DNA Particles After Delivery by Electroporation. *Molecular Therapy*, 21(12) :2217–2226, 2013. [↗](#).

- [74] J. Saranen and G. Vainikko. *Periodic integral and pseudodifferential equations with numerical approximation*. Springer Monographs in Mathematics. Springer-Verlag, Berlin, 2002. [↗](#)
- [75] S. Šatkauskas, F.M. André, M.F. Bureau, D. Scherman, D. Miklavčič, and L.M. Mir. Electrophoretic component of electric pulses determines the efficacy of in vivo DNA electrotransfer. *Human Gene Therapy*, 16(10) :1194–1201, 2005. [↗](#)
- [76] E. Signori, S. Iurescia, E. Massi, D. Fioretti, P. Chiarella, M. De Robertis, M. Rinaldi, G. Tonon, and V.M. Fazio. Dna vaccination strategies for anti-tumour effective gene therapy protocols. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, 59(10) :1583–1591, 2010. [↗](#)
- [77] A. Silve. *Nouveaux dispositifs pour l'application contrôlée d'impulsions électriques nanosecondes et pour la détection de leurs effets sur les cellules. Nouveaux résultats et hypothèses sur les paramètres contrôlant l'électropéabilisation des cellules biologiques*. PhD thesis, Université Paris-Sud, 2011. [↗](#)
- [78] A. Silve, A. Ivorra, and L.M. Mir. Detection of permeabilisation obtained by micropulses and nanopulses by means of bioimpedance of biological tissues. In *Proceedings of the 5th European Conference on Antennas and Propagation (EUCAP)*, pages 3164–3167, 2011. Rome, [↗](#)
- [79] A. Silve, I. Leray, and L.M. Mir. Demonstration of cell membrane permeabilization to medium-sized molecules caused by a single 10 ns electric pulse. *Bioelectrochemistry*, 87(0) :260–264, 2012. [↗](#)
- [80] A. Silve, A. Guimerà Brunet, B. Al-Sakere, A. Ivorra, and L.M. Mir. Comparison of the effects of the repetition rate between microsecond and nanosecond pulses : Electropéabilisation-induced electro-desensitization? *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1840(7) :2139–2151, 2014. [↗](#)
- [81] K.C. Smith, J. Neu, and W. Krassowska. Model of creation and evolution of stable electropores for DNA delivery. *Biophysical Journal*, 86(5) :2813–2826, 2004. [↗](#)
- [82] D.M. Soden, J.O. Larkin, C.G. Collins, M. Tangney, S. Aarons, J. Piggott, A. Morrissey, C. Dunne, and G.C. O'Sullivan. Successful application of targeted electrochemotherapy using novel flexible electrodes and low dose bleomycin to solid tumours. *Cancer Letters*, 232(2) : 300–310, 2006. [↗](#)
- [83] R. Stämpfli. Reversible electrical breakdown of the excitable membrane of a Ranvier node. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 30 :57–63, 1958.
- [84] S.I. Sukharev, V.A Klenchin, S.M. Serov, Chernomordik L.V., and Chizmadzhev Y.A. Electroporation and electrophoretic DNA transfer into cells : The effect of DNA interaction with electropores. *Biophysical Journal*, 63(5) :1320–1327, 1992. [↗](#)
- [85] M. Tarek. Membrane Electroporation : A Molecular Dynamics Simulation. *Biophys. J.*, 88(6) : 4045–4053, 2005. [↗](#)
- [86] D.P. Tieleman. The molecular bases of electroporation. *BMC Biochemistry*, 5(10) :1–12, 2004. [↗](#)
- [87] J.-F. Tocanne, L. Dupou-Cézanne, and A. Lopez. Lateral diffusion of lipids in model and natural membranes. *Progress in Lipid Research*, 33(3) :203–237, 1994. [↗](#)
- [88] S. Toepfl, V. Heinz, and D. Knorr. High intensity pulsed electric fields applied for food preservation. *Chemical Engineering and Processing : Process Intensification*, 46(6) :537–546, 2007. [↗](#)

- [89] M. Uhlen, P. Oksvold, L. Fagerberg, E. Lundberg, K. Jonasson, M. Forsberg, M. Zwahlen, C. Kampf, K. Wester, S. Hober, H. Wernerus, L. Björling, and F. Ponten. Towards a knowledge-based Human Protein Atlas. *Nature Biotechnology*, 28(12) :1248–50, 2010. [↗](#).
- [90] W.L.C. Vaz, F. Goodsaid-Zalduondo, and K. Jacobson. Lateral diffusion of lipids and proteins in bilayer membranes. *FEBS Letter*, 174(2) :199–207, 1984. [↗](#).
- [91] P.T. Vernier, Z.A. Levine, Y. Wu, V. Joubert, M.J. Ziegler, L.M. Mir, and D.P. Tieleman. Electroporating fields target oxidatively damaged areas in the cell membrane. *PLoS ONE*, 4(11) :e7966, 2009. [↗](#).
- [92] T. Vernier, Y. Sun, L. Marcu, S. Salemi, C.M. Craft, and M.A. Gundersen. Calcium bursts induced by nanosecond electric pulses. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 310(2) :286–295, 2003. [↗](#).
- [93] D. Šel, S. Mazeres, and D. Miklavčič. Finite-element modeling of needle electrodes in tissue from the perspective of frequent model computation. *IEEE Transactions on BioMedical Engineering*, 50(11) :1221–1232, 2003. [↗](#).
- [94] D. Šel, D. Cukjati, D. Batiuskaite, T. Slivnik, L.M. Mir, and D. Miklavčič. Sequential finite element model of tissue electropermeabilization. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 52(5) :816–827, 2005. [↗](#).
- [95] K.M. Wagstaff and D.A. Jans. Importins and beyond : Non-conventional nuclear transport mechanisms. *Traffic*, 10(9) :1188–1198, 2009. [↗](#).
- [96] L.H. Wegner, B. Flickinger, C. Eing, T. Berghöfer, P. Hohenberger, W. Frey, and P. Nick. A patch clamp study on the electro-permeabilization of higher plant cells : Supra-physiological voltages induce a high-conductance, K⁺ selective state of the plasma membrane . *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes*, 1808(6) :1728–1736, 2011. [↗](#).
- [97] G. Xu. Discrete Laplace–Beltrami operators and their convergence. *Computer Aided Geometric Design*, 21(8) :767–784, 2004. [↗](#).
- [98] L. Zhang, S. Lerner, W.V. Rustrum, and G.A. Hofmann. Electroporation-mediated topical delivery of vitamin C for cosmetic applications. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 48(2) : 453–461, 1999. [↗](#).
- [99] Y. C. Zhou and G. W. Wei. On the fictitious-domain and interpolation formulations of the matched interface and boundary (MIB) method. *Journal of Computational Physics*, 219 : 228–246, 2006. [↗](#).
- [100] Y. C. Zhou, S. Zhao, M. Feig, and G. W. Wei. High order matched interface and boundary method for elliptic equations with discontinuous coefficients and singular sources. *Journal of Computational Physics*, 213 :1–30, 2006. [↗](#).
- [101] M.J. Ziegler. *Molecular Dynamics Simulations of Lipid Bilayers in Megavolt Per Meter Electric Fields (Doctoral dissertation, University of Southern California. Chemical Engineering)*. PhD thesis, 2008. Available from ProQuest Dissertations and Theses database (UMI N° 3341825), [↗](#).