

Modélisation de la flexibilité métabolique : vers une meilleure compréhension des capacités adaptatives de l'animal

M. TAGHIPOOR¹, S. LEMOSQUET¹, J. VAN MILGEN¹, A. SIEGEL^{2,3}, D. SAUVANT⁴, F. GONDRET¹

¹ PEGASE, AgroCampus Ouest, INRA, 35590, Saint-Gilles, France

² CNRS, UMR 6074 IRISA, Campus de Beaulieu, 35042, Rennes, France

³ INRIA, Dyliss project, Campus de Beaulieu, 35042, Rennes, France

⁴ UMR Modélisation Systémique Appliquée aux Ruminants, INRA, AgroParisTech, Université Paris-Saclay, 75005, Paris, France

Courriel : masoomeh.taghipoor@inra.fr

Les animaux d'élevage doivent être capables de s'adapter aux nombreux changements liés aux progrès technologiques, aux contraintes économiques, aux demandes sociétales et aux évolutions environnementales pour préserver leurs performances de production. Cet article présente trois formalismes de modélisation associés à quelques exemples concrets en nutrition animale permettant de décrire et comprendre la flexibilité métabolique, un élément clé de l'adaptation individuelle.

Les recherches en sciences animales doivent aujourd'hui prendre en compte une grande diversité de défis auxquels sont potentiellement confrontés les animaux au cours de leur période d'élevage, comme la fluctuation des températures ambiantes, la modification des conditions de logement, la motivation physique ou sociale, la quantité et la qualité de ressources alimentaires allouées. Les progrès technologiques génèrent un afflux de données obtenues à différentes échelles de mesure, qu'elles soient issues des méthodes automatisées par capteurs ou d'investigations à haut-débit (les « omiques ») visant à construire de nouveaux caractères phénotypiques. Il reste difficile d'analyser et surtout d'intégrer toutes ces informations pour décrire et comprendre l'adaptation de l'individu face à une variation de son environnement et prédire ses performances. Pour mieux exploiter ces multiples données, il est nécessaire de mettre en œuvre des approches dites systémiques permettant d'établir et d'analyser les relations fonctionnelles entre différents éléments qui contribuent à l'expression des caractères phénotypiques (Sauvant 1992, Kitano 2000, Ideker *et al* 2001, Soussana 2013).

Cet article présente des formalismes de modélisation permettant de décrire la flexibilité métabolique en réponse à une perturbation. Nous précisons d'abord en quoi la flexibilité métabolique de l'animal est un élément clé de son adaptation

contribuant à la robustesse de l'organisme. Trois formalismes sont ensuite proposés pour décrire cette flexibilité métabolique basés sur *i*) la connaissance des interactions entre les différents composés moléculaires présents (théorie des graphes), *ii*) l'analyse des flux métabolique en état d'équilibre (analyse structurelle) et *iii*) la connaissance des régulateurs clés des réactions biochimiques (modèle dynamique). Ces formalismes sont plus ou moins pertinents selon la taille du (sous)-réseau biologique étudié, et du caractère qualitatif ou quantitatif des prédictions qu'ils fournissent. Trois exemples illustrent les potentialités d'application de ces méthodes en production animale et leurs limites. Il ne s'agit pas d'être exhaustif ni dans les méthodes de modélisation, ni dans les exemples. Ces formalismes permettent globalement de mieux décrire les moyens dont dispose le système métabolique de l'animal pour faire face aux perturbations et répondre aux besoins individuels (internes) et aux contraintes externes. Le couplage de ces formalismes peut être envisagé afin de mieux intégrer la multitude d'informations disponibles principalement aux niveaux moléculaires et cellulaires vers des aspects émergents plus globaux (fonctionnalité des sous-systèmes) et renforcer le caractère prédictif des modèles vis-à-vis des phénotypes. Ce couplage d'échelles est abordé en perspective de l'article.

1 / Robustesse et flexibilité métabolique : une vision systémique de l'adaptation individuelle

La robustesse est souvent définie comme la capacité de l'individu à maintenir ses fonctions vitales, mais aussi productives au sein d'une large gamme d'environnements. Elle caractérise la capacité d'un système biologique à faire face et à s'adapter à une perturbation externe pour maintenir son intégrité (donc garantir sa survie) et ses caractéristiques phénotypiques majeures (Sauvant et Martin 2010). Pour des animaux d'élevage, les caractères phénotypiques correspondent généralement à des critères zootechniques relatifs aux finalités productives d'intérêts socio-économiques (efficacité alimentaire, quantité et qualité des produits, impact environnemental...). À une échelle infra-animale, les caractères phénotypiques sont les caractéristiques biologiques élémentaires liées aux mécanismes de régulation moléculaires et cellulaires (Peyraud et Phocas 2014). La robustesse implique donc le maintien ou la redéfinition des structures opérationnelles et fonctionnelles du système biologique (Kitano 2007a, Friggens *et al* 2010, Sauvant et Martin 2010), ceci aux différents niveaux d'organisation du vivant (animal, organes, tissus, cellules).

La compréhension des modalités d'organisation entre les différents éléments mobilisés, de la nature des réactions et interactions qui les lient, et des voies de régulations à une ou plusieurs échelles est nécessaire pour analyser et prédire la réponse du système face à la perturbation ; l'aspect temporel de cette réponse est un des aspects majeurs à considérer pour appréhender sa robustesse (Phocas *et al* 2014).

1.1 / Réponse adaptative : une approche systémique obligatoire

L'organisme animal peut être représenté comme un système biologique complexe. Cette complexité est liée, d'une part, à la masse de connaissances nécessaires pour comprendre le fonctionnement des différents éléments du système et appréhender la variété de ses réponses, et, d'autre part, au nombre d'interactions entre les différents composants, rendant le comportement émergent difficile à prévoir (Sauvant 1992).

L'organisme animal est en effet caractérisé par la coexistence de deux organisations hiérarchiques parallèles (figure 1) :

i) une organisation spatiale qui va du macroscopique au microscopique, incluant l'animal lui-même, un ensemble hétérogène et imbriqué de sous-systèmes (circulatoire, nerveux, digestif, musculaire...), rassemblant eux-mêmes des organes, des tissus au sein de ces organes et des cellules différenciées au sein des tissus, puis des organites intracellulaires et des molécules ;

ii) une organisation temporelle prenant en compte les temps de réponse des différents éléments de chaque niveau d'organisation spatiale face aux perturbations.

Tous les éléments constitutifs du système fonctionnent donc à des échelles spatiales et temporelles qui leur sont spécifiques, mais l'existence de signaux (hormonaux, peptidiques...) et de flux de matières (métabolites, protéines...) permet d'orchestrer la réponse de l'organisme face une perturbation aiguë (changement de courte durée) ou prolongée (changement environnemental). L'adaptation peut donc être définie comme le comportement émergent du système complexe (Stelling *et al* 2004).

Pour tenter d'appréhender ce comportement émergent, l'approche dite « systémique » est à privilégier. Un des intérêts majeurs de cette approche est la possibilité de simplification, puisqu'elle permet d'adresser les niveaux d'organisation, en se basant sur la dynamique de certaines composantes du système et sur leurs interactions, sans avoir besoin d'une description complète des éléments du système.

1.2 / La flexibilité métabolique : un élément clé de l'adaptation individuelle

Pour se maintenir en vie, se développer et répondre à différents stimuli, l'organisme animal mobilise son métabolisme qui correspond à l'ensemble des réactions biochimiques. Celui-ci comprend principalement les phénomènes de synthèse (anabolisme) et de dégradation (catabolisme) permettant de fournir l'énergie et les « briques de construction » des entités indispensables au bon fonctionnement du système animal. Les régulations de ces réactions se font par les enzymes et par un ensemble de gènes codant pour ces différentes molécules.

La flexibilité métabolique désigne la capacité de l'organisme à modifier son

métabolisme en réponse à des changements de l'environnement (Larhlimi *et al* 2011). Elle qualifie plus précisément la capacité du métabolisme à utiliser différents nutriments et différentes voies pour réaliser un même objectif. Cette capacité est rendue possible par l'activation de voies métaboliques alternatives à une voie principale, et par une certaine redondance fonctionnelle permettant de composer avec l'absence d'un ou plusieurs acteurs. La flexibilité métabolique postprandiale désigne, par exemple, la capacité intrinsèque du métabolisme à adapter l'utilisation des substrats à leur disponibilité lors d'une charge orale de glucose en permettant la production de l'énergie à partir d'une oxydation lipidique vers une oxydation glucidique. À l'inverse, une altération de la flexibilité métabolique postprandiale peut empêcher un individu de faire face à la variété des substrats fournis aux cellules au cours de la journée, générant alors des désordres physiopathologiques comme les maladies métaboliques chez l'animal ou le diabète chez l'Homme (Nazare *et al* 2009). La flexibilité métabolique est donc un élément clé de l'homéostasie de l'organisme (maintien de ses constantes vitales), permettant la survie de l'individu. Elle participe aussi au déterminisme d'autres caractères comme la quantité et la nature des réserves énergétiques impliquées dans la gestion de fonctions d'homéorhèse (croissance, reproduction, lactation...) participant à la survie de l'espèce. La flexibilité métabolique peut donc être perçue comme un élément clé de l'adaptation et de la robustesse.

1.3 / La représentation en réseau du métabolisme : une nécessité pour la compréhension de la flexibilité métabolique

Une formalisation du catalogue des éléments fonctionnels (enzymes, hormones, complexes protéiques, métabolites intermédiaires, produits finaux), des gènes qui codent pour leur synthèse et de leurs relations peut être faite sous la forme d'un réseau biologique. Le réseau biologique décrivant le métabolisme est donc généralement représenté sous la forme d'un graphe dont les sommets sont les molécules elles-mêmes (éléments fonctionnels et/ou gènes), et dont les arêtes caractérisent les actions respectives des différents sommets entre eux, permettant ainsi le contrôle et l'évolution du réseau face à une perturbation (figure 2). Ainsi, deux molécules sont dites en relation s'il existe un chemin dans le graphe qui les relie, pouvant être direct entre ces deux molécules ou indirect en passant par l'intermédiaire d'autres molécules.

Figure 1. Représentation des différentes échelles temporelles dans la réponse d'un système.

Les variations à l'échelle microscopique se traduisent par des oscillations sans forcément affecter le comportement global du système appréhendé à l'échelle macroscopique.

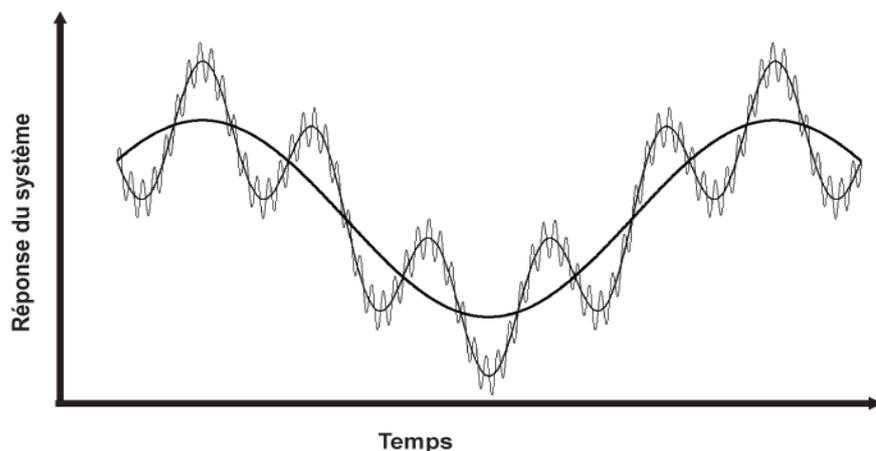
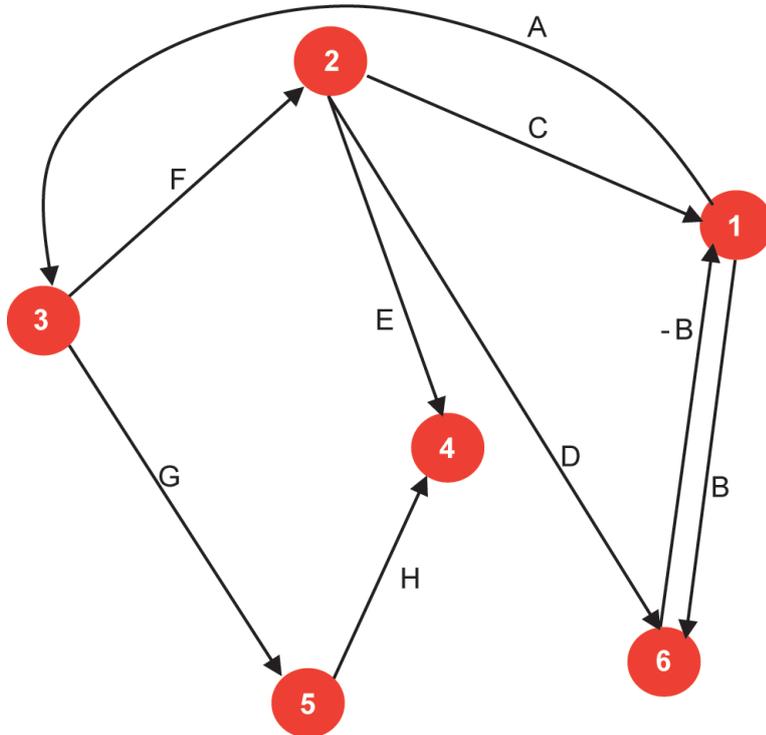


Figure 2. Exemple d'un graphe orienté avec 6 nœuds et 9 arêtes. Les nœuds 1 et 2 sont en relation directe alors que les nœuds 1 et 5 sont en relation indirecte via le nœud 3.

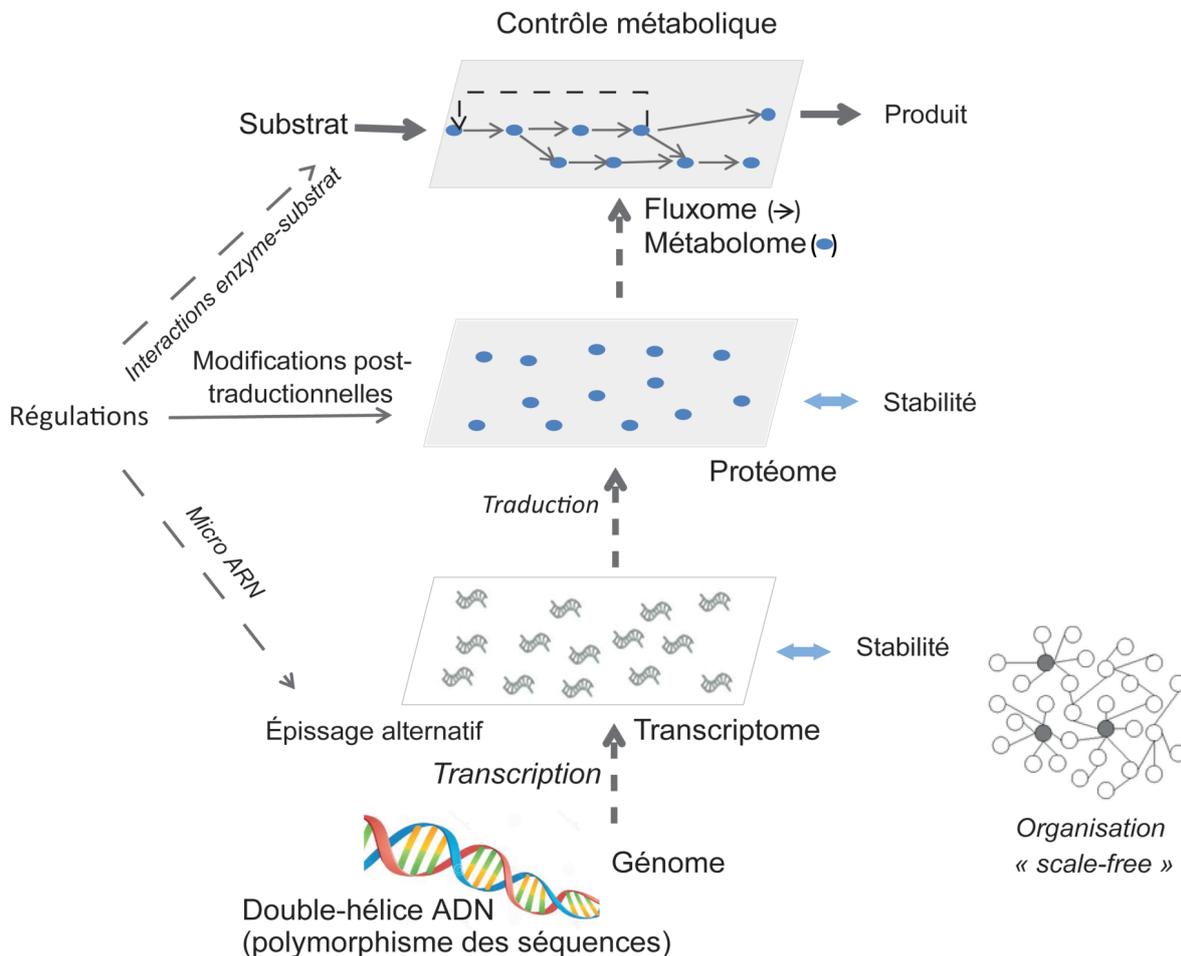


Si la notion d'organisation du métabolisme en réseau est ancienne, les avancées technologiques et méthodologiques récentes ont permis de mieux définir et explorer ce réseau (Veber *et al* 2008, Guziolowski *et al* 2009, Ghosh *et al* 2011). Ces avancées sont liées aux nouvelles données apportées par une meilleure annotation du génome et l'émergence de nouveaux outils de mesures (séquençages à haut-débit, spectrométrie de masse en tandem, empreintes métaboliques...). Ces différents outils et approches ont fait prendre conscience de la dimension très importante des réseaux biologiques chez les organismes supérieurs.

Intrinsèquement, un réseau biologique d'un eucaryote recouvre ainsi plusieurs échelles d'organisation et rassemble des éléments qui correspondent à différents types de molécules (gène, ARN, protéine, complexe protéique, métabolite). Il est commun de se focaliser à une échelle d'organisation afin de simplifier, redéfinir ou particulariser le réseau (figure 3), et d'envisager ainsi :

i) le réseau génétique décrivant les relations entre gènes, voire les interactions entre gènes et protéines. La fonction de

Figure 3. Organisation spatiale du réseau métabolique et des sources de stabilité des acteurs du réseau métabolique pour la production de produits (P) à partir de substrats (S).



ce réseau est la production régulée de protéines. Dans ce cadre, les sommets du graphe sont les gènes et les arêtes du graphe sont les régulations génétiques (Someren *et al* 2002).

ii) le réseau biochimique décrivant les relations entre substrats, enzymes et produits des réactions enzymatiques. Sa fonction principale est d'exploiter et de transformer les ressources (nutriments, énergie) disponibles. Dans ce cadre, les sommets sont les métabolites et les arêtes décrivent la réaction d'association entre le ou les substrats et l'enzyme donnant lieu aux produits de la réaction enzymatique (Grüning *et al* 2010) ;

iii) le réseau de signalisation décrivant l'association ou la dissociation rapide des molécules. Sa fonction est d'assurer un transport rapide de l'information. Dans ce cadre, les sommets du graphe sont les protéines et les arêtes décrivent les interactions fonctionnelles ou physiques modifiant les états de ces protéines (Sun *et al* 2015).

Les réseaux biologiques décrivant le métabolisme à chacun de ces trois niveaux d'organisation sont schématisés par la figure 3. Dans une vision systémique, l'équilibre de chaque niveau est dépendant des comportements des éléments des autres niveaux. Par exemple, l'expression tissu-spécifique des gènes et son adaptation aux conditions extracellulaires (comme un afflux de glucose associé à l'apparition d'un signal comme l'insuline) est permise par le recrutement de facteurs de transcription (protéines capables de se fixer sur les éléments cis sur le promoteur des gènes) activant la transcription de leurs cibles (*régulation génétique*). Les ARN messagers peuvent être traduits en protéines, elles-mêmes éventuellement modifiées de manière post-traductionnelle par phosphorylation, glycosylation, etc., et dont font partie intégrant les enzymes chargées de métaboliser les substrats (*régulation biochimique*). Ces réactions modifient les flux de matière vers la mise en réserve de l'énergie, l'oxydation des substrats et/ou la production de l'énergie (*régulation des flux*). Les protéines sont continuellement renouvelées par l'équilibre entre synthèse et protéolyse.

2 / Des approches de modélisation pour analyser de manière systémique les réseaux biologiques et leur flexibilité

Modéliser est un processus scientifique qui permet de formaliser le fonctionnement d'un système. Dans le cas de l'étude du métabolisme, la modélisa-

tion permet de construire un schéma représentatif comprenant un système opérationnel (figure 2) et un système régulateur (les hormones, les gènes) pour analyser le comportement du réseau biologique décrivant le métabolisme face à une perturbation. Cela permet notamment de simuler différents scénarios à travers des entrées des modèles, d'étudier de façon théorique (si possible) et numérique (à l'aide des logiciels appropriés) les propriétés du système (stabilité, points d'équilibre...), d'interpréter des données expérimentales, et d'avoir une prédiction du phénotype. Un des intérêts des approches de modélisation est aussi de permettre la réfutation d'hypothèses et la construction de théories alternatives.

Aujourd'hui, un large éventail de méthodes de modélisation est disponible. Ces méthodes sont génériques et peuvent être souvent utilisées quel que soit le sous-réseau biologique considéré ou la perturbation évaluée. Cependant, la question de recherche, la taille du sous-réseau à considérer, le degré d'abstraction que l'on admet, et la nature des sorties du modèle guideront le choix vers l'une ou l'autre de ces méthodes. De nouvelles méthodes de calcul, et en conséquence l'utilisation des nouvelles approches mathématiques, statistiques et informatiques permettent notamment d'exploiter ces vastes ensembles de données et les interpréter dans un cadre complexe.

Suite à la construction du modèle, les simulations numériques (expérimentations *in-silico*) à l'aide des logiciels appropriés (ou de langages de programmation adéquats) sont essentielles afin de visualiser les sorties d'un modèle ou de tester des nouvelles hypothèses. Par ailleurs, de nouvelles informations peuvent émerger suite à cette étape, en couplant le modèle conceptuel (schéma du réseau) et les données expérimentales disponibles.

Nous proposons d'aborder dans cet article trois grands types de formalismes de modélisation selon le niveau d'analyse du réseau biologique décrivant le métabolisme auquel on s'adresse et le

type de prédictions (qualitative, quantitative) souhaitées (figure 4) :

i) la modélisation structurelle qui se base sur l'étude des propriétés topologiques d'un réseau de grande taille ;

ii) la modélisation stœchiométrique qui permet d'analyser les flux métaboliques dans un état stationnaire ;

iii) la modélisation dynamique qui permet d'observer l'évolution des acteurs d'un réseau biologique dans le temps.

Dans les paragraphes 2.1, 2.2 et 2.3, nous expliquerons les caractéristiques essentielles de ces trois formalismes de modélisation, sachant que le lecteur pourra se référer pour plus de détails à des articles et ouvrages spécifiques cités. Afin de particulariser l'utilisation de chaque formalisme dans le cadre des sciences animales, chaque section est suivie d'un exemple à l'échelle d'une cellule ou d'une « super-cellule » (organe) expliquant le rôle de la flexibilité métabolique sur l'adaptation individuelle.

2.1 / La modélisation de la structure des réseaux biologiques par graphes d'influence

Définir les éléments principaux de régulation d'un réseau biologique permet de mieux appréhender l'influence de la modulation de ces éléments clés (surexpression, sous-expression, voire suppression suite à une mutation) sur les propriétés du réseau et par extrapolation le comportement du système biologique. Chez les mammifères, de nombreuses bases de données référencent aujourd'hui un grand nombre d'acteurs du métabolisme et les relations qui les lient. C'est le cas par exemple des banques en lignes telles que Kegg (www.genome.jp/kegg/) qui se focalise sur les métabolites et les réactions entre métabolites, de Reactome (<http://www.reactome.org>) référencant de nombreux processus biologiques chez l'Humain, ou de BioCyc (<http://biocyc.org/>) rassemblant des milliers de données de génomes et de processus de régulation chez différents organismes. Pour un organisme donné, ces banques de connais-

Figure 4. Les formalismes de modélisation selon la taille du système modélisé, et les types de prédiction (qualitative ou quantitative).



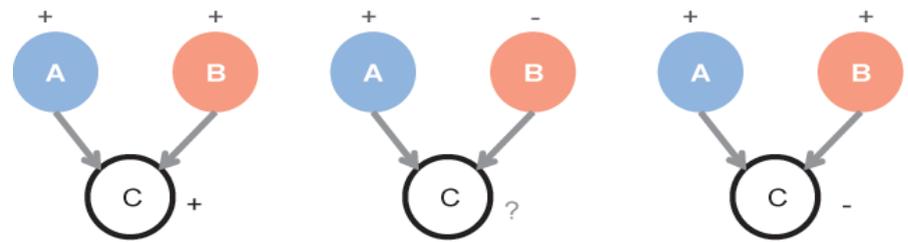
sances rassemblent usuellement plusieurs centaines à quelques milliers d'acteurs et autant de relations et d'interactions. Comprendre ces informations dans leur ensemble ne peut pas être abordé avec une démarche classique de description, de référencement des acteurs puis de linéarisation des relations d'interactions entre eux. C'est pourquoi une approche systémique s'appuyant sur la construction de graphes d'influence permet de décrire l'organisation du réseau biologique à grande échelle et de pouvoir en déduire les éléments clés de contrôle en comparant deux états stationnaires (avant et après une perturbation par exemple). Des exemples d'influences positives sont l'activation de la transcription d'un gène par une autre molécule ou la formation d'un complexe protéique actif à partir de deux protéines. Des exemples d'influences négatives sont l'inhibition de la transcription d'un gène ou l'inactivation d'une protéine par un clivage protéolytique.

a) Objectifs généraux

L'approche de modélisation par construction et analyse de graphes d'influence est bien adaptée à l'étude des réseaux biologiques comportant un nombre très important de molécules et différentes échelles d'organisation nécessaires à la compréhension de son fonctionnement. Elle consiste en l'établissement d'un graphe de réactions (réactions biochimiques et/ou régulations génétiques) à l'aide d'un algorithme faisant appel aux bases de données existantes (Kegg, BioCyc...). Si on souhaite aborder l'effet de perturbations, ce graphe de réaction est converti en un graphe d'influence aussi appelé graphe de causalité (Guziolowski *et al* 2009, figure 5).

Un nombre élevé d'influences entrantes indique que le sommet est régulé par une multitude de molécules, tandis qu'un nombre élevé d'influences sortantes indique que le sommet régule de nombreuses molécules. Une approche topologique du graphe d'influence permet donc de déterminer le nombre et la nature des molécules qui interviennent dans les réactions de régulation, de formation ou d'utilisation, et de déterminer les relations qu'elles partagent. Cette approche topologique a notamment permis de montrer que les réseaux biologiques d'au moins 43 organismes (Jeong *et al* 2000), y compris les mammifères supérieurs (Blavy *et al* 2014) sont organisés de telle sorte que la plupart des molécules ne partagent que peu d'arêtes entre elles, tandis qu'un petit nombre d'entre elles (appelées hubs par référence au trafic aérien), est à l'inverse très connecté et relie ainsi le reste des sommets du réseau. Cette organisation typique des réseaux cellulaires est dite à invariance d'échelle

Figure 5. Description des relations d'influence entre molécules au sein d'un graphe de causalité.



Les sommets du graphe d'influence sont les molécules auxquelles on associe une étiquette pour décrire leur variation entre deux états (avant et après perturbation), les arêtes sont les relations signées entre les molécules. Dans le cas schématisé ici, les quantités des molécules A et B influencent la quantité de la molécule C. Il est alors possible de prédire le sens de variation de la molécule C connaissant celui des molécules A et B. Dans la situation 1, C sera prédit comme ayant une quantité augmentée (+) puisque les variations observées de A et B sont positives (+) entre les deux états ; dans la situation 2, le sens de variation de la quantité de C n'est pas prévisible car les signes de variation entre A et B sont opposés. Cette méthode permet aussi de mettre en évidence des incohérences entre les prédictions et les observations comme dans la situation 3 : C est prédit comme ayant une quantité augmentée entre les deux états du système puisque les signes observés de A et B sont positifs (+) ; l'observation expérimentale indique néanmoins une diminution de la quantité de C (signe -).

(le terme anglais est « *scale-free* »). Pour les réseaux biochimiques, les hubs sont souvent des molécules élémentaires comme l'eau, des cofacteurs comme l'ATP, le NADP(H), le coenzyme A (CoA) ou des métabolites intermédiaires au carrefour de plusieurs voies comme le pyruvate, l'acétyl-CoA, etc. (Arita 2004). Pour les réseaux génétiques (transcriptionnels), les hubs sont souvent des facteurs transcriptionnels. Pour des organismes simples comme *E. coli* ou de *S. cerevisiae*, ces approches ont été largement utilisées pour prédire des comportements d'un réseau génétique face à un nombre limité de perturbations (Ideker *et al* 2000, Klamt *et al* 2006, Videla *et al* 2015). Un raffinement du formalisme mathématique permet de prendre en compte à la fois l'échelle génétique et l'échelle biochimique au sein d'un même graphe décrivant le métabolisme, y compris chez les organismes supérieurs (Saez-Rodriguez *et al* 2009, Blavy *et al* 2014). Cela présente l'intérêt d'aborder les contrôles opérant sur la stabilité du système à des échelles de temps courtes (réactions biochimiques) ou plus longues (régulations génétiques), ce qui est essentiel pour se rapprocher de la robustesse d'un système.

Cette approche par graphe d'influence, si elle permet de comparer deux états stationnaires successifs du réseau, ne considère pas les transitions entre ces deux états et ne décrit pas les trajectoires de la dynamique du système (évolution des quantités de molécules au fur et à mesure du temps). Malgré cette limite, le graphe d'influence permet d'identifier les principaux éléments de régulation du

réseau (figure 5). D'éventuelles incohérences entre les prédictions et les données expérimentales transcriptomiques font émerger de nouvelles questions visant à déterminer comment rétablir la cohérence ; elles peuvent par exemple résulter de la non-prise en compte de plusieurs interactions lors de la construction du réseau et qui doivent donc être corrigées dans la structure du graphe ou bien d'erreurs dans les mesures expérimentales (Thiele *et al* 2015).

b) Graphes d'influence et robustesse du système

La robustesse du réseau se définit par sa capacité à maintenir sa structure globale malgré la suppression de certains sommets ou de certaines arêtes. On considère que c'est la propriété d'invariance d'échelles (organisation « *scale-free* ») de la plupart des réseaux biologiques qui permet justement la tolérance aux erreurs (Albert *et al* 2000). En raison de sa topologie avec quelques centaines de hubs, le réseau biologique décrivant le métabolisme est en effet résistant à des défaillances aléatoires : un nœud périphérique qui est susceptible d'avoir un degré de connexion faible avec d'autres nœuds (d'autres molécules) est sans doute relativement durable et les molécules plus connectées aux autres nœuds du réseau sont vraisemblablement plus importantes fonctionnellement (Ravasz 2002).

Suite à la construction et l'analyse d'un graphe d'influence, les attendus sont en premier lieu la définition des principaux éléments de régulation du réseau

biologique étudié en comparant les prédictions aux données expérimentales issues du système considéré (cellule isolée, tissu ou organe) et soumis à une perturbation, par exemple nutritionnelle, génétique ou physiologique. Pour déterminer les éléments principaux de régulation qui définissent le comportement du système face à la perturbation, on considère intuitivement que la variation d'un élément du réseau doit être qualitativement expliquée par la variation d'au moins un prédécesseur dans le graphe d'influence ; le calcul du nombre de molécules touchées par la variation d'un prédécesseur définit alors un acteur clé du réseau comme étant celui ayant le plus grand nombre d'influences sortantes. Une dérégulation de ces facteurs induira une certaine fragilité à un sous-ensemble du réseau et/ou une redéfinition de ses caractéristiques. Ces facteurs d'amont, généralement des facteurs transcriptionnels, restent cependant difficiles à influencer directement à partir de l'extérieur de la cellule, sauf dans le cas où un ou plusieurs ligands agonistes sont clairement identifiés (par exemple pour la famille des gènes PPARs codant pour les récepteurs des proliférateurs de peroxisomes). Ce type de modélisation permet néanmoins de hiérarchiser les molécules pour lesquelles la perturbation considérée aura potentiellement des conséquences en cascade sur un large ensemble d'autres molécules. En considérant par extension la fonction biologique connue ou supposée de chacune de ces molécules affectées, les effets de la perturbation pourront être prédits sur un sous-ensemble de processus biologiques.

c) Exemple d'application de la théorie des graphes pour une meilleure connaissance des mécanismes explicatifs de la flexibilité métabolique tissulaire

L'approche par graphes d'influence a été par exemple utilisée pour identifier

les éléments de régulation en amont et proposer des processus biologiques potentiellement affectés en aval, par le changement entre une alimentation classique riche en glucides (amidon) dérivés des céréales et une alimentation alternative riche en fibres et en lipides chez le porc en croissance. Dans ce cas d'étude, les régimes présentent un même niveau d'énergie métabolisable, mais incluent une source d'énergie et des types de nutriments très différents ; ils sont donc susceptibles de mobiliser la flexibilité métabolique cellulaire aux échelles biochimiques (changements dans l'activité d'enzymes du métabolisme des lipides ou du métabolisme du glucose) et génétiques (régulations des processus ; (Gondret *et al* 2014).

Un graphe d'influence a donc été construit à l'aide du logiciel KeyRegulator Finder (<http://keyregulatorfinder.genouest.org/> ; algorithme programmé en langage C++) et exploitant la connaissance actuelle des réactions biochimiques et des régulations génétiques chez les organismes supérieurs (principalement Homme et rongeurs) telle qu'organisée dans une base académique (Transpath®). Ce graphe a été confronté aux données expérimentales obtenues par analyses transcriptomiques à l'aide de puces à ADN au sein de différents tissus clés pour le métabolisme énergétique individuel : tissus adipeux, foie ou muscle.

L'analyse du graphe d'influence permet de dégager une vingtaine de régulateurs pertinents en amont des variations transcriptionnelles expérimentalement observées entre les deux régimes et de prédire leur sens de variation. Un résumé de certains de ces facteurs est présenté dans le tableau 1 pour le tissu adipeux (Gondret *et al* 2016). Ces facteurs transcriptionnels peuvent être considérés comme les pilotes du comportement métabolique des cellules adipeuses, dans la

mesure où une variation même minime de leur niveau d'expression en réponse à la perturbation alimentaire peut avoir des conséquences diverses et variées sur les autres acteurs cellulaires. Ainsi, une large diversité de processus biologiques est prédite comme étant affectée par la substitution partielle des céréales par des fibres et des lipides ; certains étaient attendus comme le métabolisme des lipides et l'homéostasie glucidique, d'autres étaient moins intuitifs comme la modulation de l'apoptose, l'inflammation ou l'immunité.

Cet exemple illustre comment la modélisation par graphe d'influence peut permettre de *i*) prédire une variété de processus biologiques susceptibles d'être affectés par la perturbation étudiée *ii*) de comprendre plus finement l'orchestration de certaines réponses phénotypiques et *iii*) de dégager les principaux éléments dans l'adaptation et la robustesse du métabolisme énergétique au moins pour les tissus considérés. Il est ensuite possible d'étudier des sous-éléments de ce réseau biologique à d'autres échelles de mesure ou avec d'autres méthodes de modélisation afin de caractériser par exemple la cinétique des variations.

2.2 / Analyse des flux métaboliques à l'état stationnaire

À l'échelle des réactions enzymatiques (figure 3), l'étude du réseau de flux de métabolites peut être plutôt envisagée par un formalisme d'analyse de flux sous hypothèse stationnaire (Varma and Palsson 1994). Ce formalisme dénommé « Flux Balance Analysis » (FBA) se décline en fait en plusieurs dizaines de méthodes. Toutes sont basées sur l'hypothèse que les organismes ont évolué de manière à ce que leur réseau métabolique optimise la performance de production pour un système en équilibre

Tableau 1. Principaux facteurs transcriptionnels de contrôle des processus biologiques affectés dans les tissus adipeux de porc par une perturbation nutritionnelle.

| Facteurs de régulation | Variation | Processus biologiques impliqués |
|------------------------|-----------|---|
| MLXIPL | HL < BL | Homéostasie du glucose et des lipides, régulation des processus glycolytiques, régulation du cycle cellulaire |
| SREBF1 | HL < BL | Métabolisme lipidique, réponse au glucose, régulation de la stabilité protéique, adressage mitochondrial |
| RXRA | HL < BL | Métabolisme lipidique, métabolisme du cholestérol |
| PPARA | HL < BL | Métabolisme lipidique, métabolisme du cholestérol, régulation de l'appétit, différenciation cellulaire |
| PPARD | HL < BL | Apoptose, prolifération cellulaire métabolisme du glucose, catabolisme des acides gras, réponse à l'hypoxie |
| NRF1 | HL > BL | Réponse à l'hypoxie, stress oxydant, apoptose, réponse immunitaire |
| MEF2A | HL > BL | Apoptose, réponse immunitaire |
| PPARG | HL > BL | Réponse immunitaire, régulation de la réponse inflammatoire, homéostasie glucidique |

BL : régime pauvre en lipides mais riche en glucides ; HL : régime riche en lipides, mais pauvre en glucides. Les deux régimes sont rendus isocaloriques en utilisant l'apport de fibres peu digestibles comme diluant de l'énergie alimentaire dans le régime HL, et isoprotéiques (détail de la formulation disponible dans Gondret *et al* 2014).

avec les flux à l'état stationnaire (Goelzer *et al* 2011). L'approche FBA a été largement utilisée pour décrire la réponse métabolique des organismes simples comme les procaryotes ou les levures, où la croissance est la fonction principale généralement très optimisée. Elle peut être dans de nombreux cas modélisée sous une hypothèse traduite par une fonction « objectif » de maximisation de leur biomasse. Cette approche a été alors appliquée pour optimiser les productions des procaryotes et des levures en biotechnologie et améliorer les performances de productions industrielles. Ce formalisme a été également appliqué aux cellules des mammifères (Orman *et al* 2011) et récemment pour ce qui concerne l'efficacité des productions animales dans le cadre de l'analyse de la flexibilité métabolique de la glande mammaire de vache (Abdou-Arbi *et al* 2014).

a) Objectifs généraux

Le réseau biologique étudié par ce formalisme est défini comme l'ensemble des flux de métabolites (quantités par unité de temps) de toutes les voies métaboliques empruntées. Les connaissances minimales requises constituant les entrées du modèle sont les flux des métabolites utilisés et produits par le système, l'ensemble des voies métaboliques empruntées (stœchiométrie du réseau) et les contraintes thermodynamiques qui orientent le sens des réactions biochimiques (Trinh *et al* 2009). L'ensemble des flux du réseau respec-

tant la loi d'action de masse et la stœchiométrie. Ce réseau est étudié uniquement à l'état d'équilibre et non de façon dynamique. L'ensemble des flux parcourant les voies métaboliques est représenté par un polyèdre (ou hyperpolyèdre dans un cas d'espace supérieur à dimensions), c'est à dire un cône avec des bords infinis (sans base ; figure 6). Dans le cas général, les contraintes thermodynamiques peuvent permettre de borner le polyèdre.

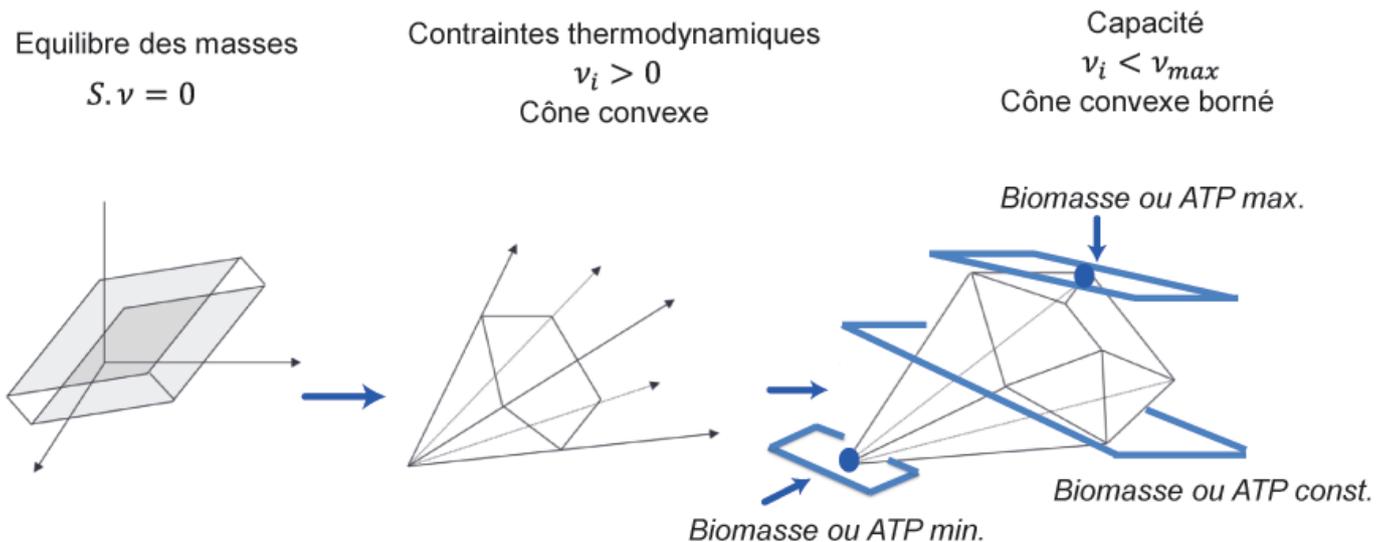
La détermination d'une solution particulière pour la valeur des flux dans le formalisme associé au FBA nécessite de définir une fonction « objectif » correspondante au fonctionnement de l'organisme étudié. Cette fonction « objectif » correspond à un plan transversal (ou dans un cas d'espace à dimension supérieur à 3, par un hyperplan) et l'optimiser revient à éloigner (ou à approcher) ce plan le plus possible de l'origine tout en gardant au moins une intersection avec le polyèdre des solutions possibles. Les simulations numériques à l'aide d'un logiciel approprié (par exemple COBRA toolbox Matlab) sont essentielles afin de visualiser les résultats (sorties) de ce modèle et correspondent à l'ensemble des voies métaboliques et les valeurs des flux, respectant la fonction objective d'optimisation. Ainsi les fonctions objectifs de maximisation de la biomasse, de la production d'ATP ou de CO₂ sont des fonctions couramment employées (den Besten *et al* 1991, Edwards *et al* 2001, Lemosquet *et al* 2010). Elles permettent de dégager une

propriété globale du système biologique étudié sans connaissance fine des régulations enzymatiques. Dans certains cas, l'intersection entre le polyèdre de solutions et le plan optimal consiste en un unique point du bord du polyèdre. C'est le cas dans la figure 6 où la pointe du cône représente la solution unique de minimisation de la biomasse ou de l'ATP. La maximisation de la biomasse peut correspondre soit à un autre sommet du polyèdre soit à une face complète du polyèdre (lorsque le plan transversal est parallèle à la face la plus élevée du polyèdre). Dans ce cadre, plusieurs ensembles de flux métaboliques permettent donc d'optimiser un même objectif, et c'est cet espace de solutions qui définit la zone de flexibilité métabolique.

b) Formalisme FBA et flexibilité métabolique

Le formalisme FBA permet d'aborder globalement la notion de robustesse en analysant l'effet de la délétion d'une réaction particulière comme dans le cas d'une mutation génétique sur la fonction « objectif » (Edwards et Palsson 2000, Orth *et al* 2010). Ce formalisme permet également d'aborder la notion de flexibilité métabolique. C'est en effet le cas quand la définition d'une fonction « objectif » aboutit à l'identification de différentes répartitions possibles de flux métaboliques permettant l'optimisation du système. Ceci indique les possibilités que présente le système pour développer une réponse à une perturbation extérieure sans modifier son efficacité de

Figure 6. Bases conceptuelles d'une modélisation sous contrainte avec le formalisme « Flux Balance Analysis ».



S représente la matrice stœchiométrique, v_i représente des vitesses ou flux de métabolites (en mmol/h par exemple). Les figures géométriques représentent l'espace des solutions possibles. Une solution se définit comme l'ensemble des flux correspondant à une répartition des métabolites dans les différentes voies biochimiques empruntées. Ces flux ne peuvent pas prendre des valeurs négatives, l'espace prend alors la forme d'un cône non borné. Ces flux ne peuvent pas prendre des valeurs supérieures aux vitesses enzymatiques maximales (v_{max}) ce qui borne le cône. Dans cet exemple, la pointe du cône représente la solution unique de minimisation de la biomasse (ou de l'ATP = 0). Le plan transversal représente l'ensemble des solutions pour une biomasse donnée ou à ATP constant. Le point sur le plan le plus haut symbolise les cas où la maximisation de la biomasse ou de l'ATP donne une solution unique.

production. De plus, le formalisme FBA peut être utilisé pour étudier l'ensemble des parcours métaboliques possibles constituant la surface de l'espace des solutions (arêtes et sommets du cône dans la figure 6). Ceci peut permettre une comparaison entre génotypes, ou une comparaison de réponse à deux situations nutritionnelles.

Le formalisme FBA semble donc particulièrement utile pour aborder les notions de flexibilité métabolique et d'efficacité chez les animaux d'intérêt agronomique. La question est alors de savoir comment une hypothèse de comportement optimal des réseaux métaboliques à l'état stationnaire s'applique aussi à des animaux sélectionnés sur leurs performances.

c) Exemple d'application de la théorie FBA pour raisonner l'efficacité d'utilisation des nutriments face à une contrainte nutritionnelle

Maximiser l'efficacité d'utilisation des nutriments par la glande mammaire pour la synthèse des constituants du lait est un exemple d'enjeu auquel se sont « attelés » depuis longtemps les nutritionnistes comme les généticiens. Nous présentons ici le cas particulier du métabolisme de la glande mammaire de la vache laitière en réponse à deux contextes nutritionnels (deux niveaux d'apport protéique). L'objectif est alors de réfléchir à des règles de répartition des nutriments dans la glande mammaire en connaissant à la fois les prélèvements mammaires de nutriments et la production des constituants majeurs du lait (volume et composition du lait). Il s'agit d'abord de déterminer si le métabolisme interne de la glande mammaire de la vache se comporte de manière optimale et peut être modélisé par une fonction de maximisation à l'état stationnaire, comme cela avait été démontré pour le comportement de bactéries. Il s'agit aussi de caractériser la flexibilité métabolique de la glande mammaire. En effet, dans la glande mammaire, les nutriments interagissent notamment par des échanges de squelettes de carbones conférant à l'organe une flexibilité métabolique importante (Lobley 2007). Cette flexibilité expliquerait pourquoi la glande mammaire de vache peut moduler la synthèse d'un des constituants du lait en réponse à des apports en nutriments très différents à l'animal. Par exemple, la synthèse d'un des constituants du lait peut varier à l'absence de l'augmentation du prélèvement mammaire de son principal précurseur. Ainsi, la production de lactose qui conditionne largement le volume de lait, augmente en réponse à l'accroissement de l'apport protéique à l'animal, alors même que le prélèvement mammaire de glucose, principal

Tableau 2. Plage de répartitions possibles de l'utilisation du glucose en réponse à deux contextes nutritionnels calculés par le formalisme « Flux balance Analysis » (Abdou-Arbi et al 2014).

| | Bas Niveau d'apport Protéique | Haut Niveau d'apport Protéique |
|---|-------------------------------|--------------------------------|
| Laït (kg/j) | 26,9 | 31,4 |
| Prélèvement mammaire | | |
| Glucose (mmol/h de carbone) | 2844 | 2784 |
| Production | | |
| Lactose (mmol/h de carbone) | 1784 | 2050 |
| Répartition (devenir) du glucose | | |
| % utilisé dans le lactose | 53 à 62% | 62 à 78% |
| % utilisé dans le CO ₂ | 29 à 40% | 18 à 29% |

précurseur du lactose, n'augmente pas (tableau 2 ; Raggio et al 2006, Lemosquet et al 2008, 2009). L'ampleur de cette flexibilité métabolique n'est cependant pas bien connue et une meilleure connaissance pourrait permettre d'améliorer la précision de prédiction des variations de composition du lait en réponse à des variations d'apports alimentaires. Un modèle basé sur le formalisme FBA a été développé pour répondre à ces deux questions. Une interface a été développée par Abdou-Arbi et al (2014) et est disponible sur le site <http://nutritionanalyzer.genouest.org/SupplementaryMaterial/wiki.php/Home>. Les données renseignées dans le modèle de métabolisme mammaire correspondaient à la fois aux flux de nutriments prélevés par la glande mammaire et aux flux des éléments produits dans le lait (lactose, protéines, les acides gras individuels synthétisés dans la glande et le glycérol des triglycérides du lait). L'ensemble des voies métaboliques impliquées dans la synthèse de ces constituants du lait était également renseigné, ainsi que les voies de catabolisme des nutriments produisant du CO₂. Le réseau métabolique étudié correspondait donc à l'ensemble des flux de métabolisme intermédiaire liés à la synthèse des constituants du lait ou à l'oxydation des nutriments. Il convient de signaler qu'aucune régulation enzymatique n'était prise en compte car l'analyse de la littérature a montré qu'il était impossible de décrire les vitesses maximales des nombreux flux dans les conditions étudiées. Cependant, les valeurs d'affinité et de vitesse maximale des flux issues de la littérature servaient à rejeter certaines solutions particulières.

Ce travail de modélisation du métabolisme mammaire utilisant le formalisme FBA a conduit à s'interroger sur des fonctions d'efficacité énergétiques liées à l'ATP. La fonction « objectif » de maximisation de la biomasse ne pouvait être retenue car les flux des éléments produits dans le lait étaient des données renseignées dans le modèle. Dans un premier temps, ce travail a permis de

réaliser que la fonction « objectif » implicitement admise par la plupart des chercheurs travaillant sur le métabolisme d'un organe correspondait à une fonction de maximisation de l'ATP produit pour soutenir les synthèses. Cette fonction est toujours celle retenue lorsque l'on calcule l'efficacité d'utilisation d'un nutriment comme le rendement de transformation du glucose en lactose. Cependant, dans le formalisme FBA, prendre en compte une telle fonction « objectif » conduit à une situation où tous les cycles de nutriments qui consomment de l'ATP (sans modifier la production d'un des constituants du lait) sont inactifs. Or, le métabolisme mammaire inclut nombre de ces cycles : entre 8 à 13 cycles consommant de l'ATP ont été observés dans ce travail de modélisation selon les situations nutritionnelles (Abdou-Arbi et al 2014). Par exemple, la glande mammaire présente un renouvellement protéique important (synthèse et dégradation) qui consomme beaucoup d'ATP (Raggio et al 2006). Cette consommation d'ATP pour le renouvellement protéique peut être interprétée comme le besoin d'ATP d'entretien nécessaire au niveau de la glande pour maintenir la fonction de lactation et le niveau de production de lait. La maximisation de l'ATP qui annule tout renouvellement protéique ne peut donc pas être retenue comme fonction « objectif ».

Dans un second temps, en analysant les flux en état stationnaire, la flexibilité métabolique de cet organe a été étudiée à un flux seuil d'ATP. Ce flux seuil correspondait à la production d'ATP nécessaire à d'autres fonctions que celles prises en compte par le réseau métabolique considéré (transports intracellulaires ATP dépendant, la synthèse d'acides nucléiques...). À ce flux seuil d'ATP constant, il n'existe pas une solution unique de fonctionnement métabolique de la glande mammaire, mais un espace de solution qui est délimité par 8 à 13 sommets (selon les jeux de données). Chacun de ces sommets était obtenu en

appliquant une fonction « objectif » de maximisation dans le formalisme FBA. Chacune de ces fonctions maximisait en fait les flux métaboliques correspondant aux cycles consommant de l'ATP décrit ci-dessus (8 à 13). Il s'est avéré qu'aucune de ces fonctions « objectif » ne correspondait à un fonctionnement plausible de la glande mammaire au vu des connaissances de la littérature sur les activités enzymatiques (Abdou-Arbi *et al* 2014). De plus, quelle que soit la fonction « objectif » linéaire choisie, la théorie montre que les solutions de maximisation correspondent à ces 8 à 13 sommets (Abdou-Arbi *et al* 2014). Cela signifie qu'il n'est pas possible de résumer le fonctionnement métabolique de la glande mammaire par une propriété globale et unique d'efficacité énergétique liée à l'ATP. La modélisation du fonctionnement du métabolisme interne à la glande mammaire par le formalisme FBA nécessiterait donc de combiner plusieurs fonctions objectifs.

Avant de pouvoir expliciter d'autres fonctions à combiner avec celle de l'efficacité de l'ATP, nous avons cherché à mieux caractériser l'ensemble de l'espace des solutions. Pour cela, deux développements méthodologiques ont été nécessaires. Le premier développement a consisté à effectuer un calcul de répartition de chaque nutriment utilisé vers les nutriments produits sur une base de carbone ou d'azote dans cadre du formalisme FBA. Ce calcul est disponible sur l'interface. Afin de décrire tout l'espace des solutions, le deuxième développement a consisté à calculer la plage de répartition possible de chaque nutriment utilisé par la glande mammaire vers les nutriments produits, comme le montre l'exemple du tableau 2 pour le glucose. Cette étude sur tout l'espace de solution a été développée en analysant des flux en état stationnaire (Abdou-Arbi *et al* 2014). À partir de cette étude globale du réseau, nous avons pu montrer qu'il y avait effectivement une grande flexibilité métabolique de la glande mammaire dans sa capacité à utiliser les nutriments énergétiques. Par exemple, l'importance de la plage de variation d'utilisation des carbones du glucose dans la production de lactose semble largement sous-estimée (75 à 85%), très peu d'études basées sur des isotopes du glucose ayant été réalisées. Nos résultats de simulations suggèrent une plage beaucoup plus large (53 à 78% ; tableau 2). De plus, la répartition des flux de glucose a été différente dans les deux contextes nutritionnels. En effet la proportion des carbones du glucose utilisée pour la synthèse de lactose était plus faible lorsque les vaches étaient alimentées à bas niveau d'apport protéique (53 à 62%) qu'à haut niveau d'apport protéique (62 à 78% ; tableau 2). Inversement, la proportion de carbones du glucose utilisée

pour la production de CO₂ était plus importante à bas niveau d'apport protéique qu'à haut niveau (29 à 40% vs 18 à 29%). Ces modifications de plages de répartition ont été observées pour d'autres nutriments que le glucose en particulier pour les acides aminés. Ainsi le comportement métabolique de la glande mammaire face à ces deux contextes nutritionnels conduit donc à deux états d'équilibres différents quant à la répartition des nutriments, ce qui traduit bien sa grande flexibilité métabolique.

Ce travail a permis de faire découvrir les modèles basés sur l'analyse des flux en état stationnaire à la communauté des nutritionnistes des ruminants cherchant à caractériser les flux de nutriments internes à l'animal. Les modèles utilisés jusqu'alors pour étudier le métabolisme à l'échelle d'organe tels que la glande mammaire ou le foie étaient des modèles dynamiques, certains présentant des problèmes de sur-paramétrisation (Hanigan et Baldwin, 1994). Un premier intérêt du formalisme FBA est qu'il oblige le modélisateur à expliciter des fonctions objectif (ATP, biomasse...) correspondant à une propriété émergente du fonctionnement métabolique du système considéré (la glande mammaire dans notre exemple). Un second intérêt de ce formalisme est de pouvoir appréhender la flexibilité métabolique par l'étude de l'espace des solutions (l'ensemble des sommets par le formalisme FBA, l'analyse des plages de répartition par la méthode développée par Abdou Arbi *et al*, 2014). La limite de cette étude globale du réseau métabolique est qu'elle surestime probablement la réelle flexibilité métabolique. La difficulté est liée au manque de données disponibles pour borner l'espace des solutions dans les conditions nutritionnelles étudiées. En effet, l'acquisition de telles données requièrent des mesures isotopiques pour tracer les carbones ou des mesures d'activités enzymatiques ou de vitesses maximales. Des approches de modélisation moins onéreuses pourraient cependant permettre d'affiner ces prédictions sur le métabolisme mammaire. En effet, combiner différentes fonctions objectifs au sein du formalisme FBA (Ghozlane *et al* 2012) comme combiner un modèle FBA et un modèle dynamique de cinétique d'apport de nutriments (dFBA) à l'organe (Krauss *et al* 2012) sont des méthodes qui sont actuellement explorées.

2.3 / Représentation de la cinétique des réactions biochimiques

a) Objectifs généraux

Les approches précédentes ne décrivent pas finement les cinétiques des variations des acteurs des réseaux dans la réponse

adaptative mise en œuvre en réponse à une perturbation. Or le métabolisme cellulaire est connu pour ses propriétés dynamiques fortes. De nombreux exemples de ces dynamiques ont été publiés et des ouvrages y sont largement consacrés. Parmi les nombreux exemples intéressants d'applications nous pouvons citer l'exploration et les simulations des oscillations de la voie glycolytique ou du cycle de Krebs (Selkov 1968, Giersch 1986).

La représentation des cinétiques des réactions biochimiques est la méthode la plus ancienne et la plus utilisée encore aujourd'hui en modélisation des systèmes biologiques pour représenter et prédire la dynamique du métabolisme cellulaire. Cette méthode permet d'analyser et prévoir l'évolution d'un système au cours du temps et appréhender ainsi des propriétés caractéristiques du système comme les points stationnaires, la multistabilité, les oscillations stationnaires et les chaos déterministes. Les principes mathématiques à la base de ces méthodes sont connus depuis longtemps (Lokta 1925, Andronov and Chaikin 1949, Scarborough 1955, Cunningham 1963) et leur champ application s'est rapidement développé au cours des dernières décennies au fur et à mesure des progrès de la puissance des calculateurs, elle-même liée à ceux de l'informatique. Différentes caractéristiques cellulaires peuvent être ainsi modélisées comme la régulation de la division cellulaire, de la différenciation des cellules, ou des signaux envoyés par les cellules, etc. (Ingalls 2014).

Les principes de la modélisation dynamique du métabolisme ont été expliqués dans plusieurs revues et ouvrages décrivant en détail les cinétiques enzymatiques (Jolivet 1983, Goldbeter 1990, Segel 1993). Les travaux d'A. Cornish-Bowden et R. Heinrich ont contribué à une meilleure compréhension des régulations enzymatiques, en caractérisant et formalisant la théorie du contrôle métabolique qui permet de révéler quelle enzyme d'une voie métabolique assure le contrôle de cette voie (Heinrich and Schuster 1998, de Atauri *et al* 1999, Cornish-Bowden *et al* 2004, Letelier *et al* 2006, Curien *et al* 2009). Ce type de formalisme a été largement utilisé pour représenter le métabolisme cellulaire pour les bactéries, mais aussi pour les êtres supérieurs, les animaux et les hommes, il convient en particulier de citer l'ouvrage de physiologie théorique de Chauvet (1990) qui a passé en revue de nombreux aspects liés à la modélisation des phénomènes physiologiques.

Pour les sciences animales, l'établissement de modèles dynamiques a notamment permis de représenter les

métabolismes d'organes entiers tels que le rumen (Lescoat et Sauvant 1995), le foie (Freetly *et al* 1993) et la glande mammaire (Hanigan et Baldwin 1994). Ces modèles ont aussi permis de représenter l'articulation entre les métabolismes et leurs systèmes de régulations d'homéostasie et d'homéorhèse au niveau des organismes entiers (Sauvant 1994). Ces représentations sont simplifiées, mais suffisantes pour que les principales variations métaboliques associées y soient inclues. Elles modélisent notamment les régulations d'homéostasie pour décrire la capacité d'adaptation et la robustesse (maintien de performances de croissance), de porcs (Lovatto et Sauvant 2003) et de dindes (Rivera-Torres *et al* 2011) à des variations de leurs régimes alimentaires.

Développer un modèle dynamique et mécaniste d'un réseau biochimique nécessite cependant une connaissance suffisamment précise des mécanismes de base qui régissent les phénomènes étudiés pour pouvoir ensuite les traduire en équations mathématiques. De plus, pour effectuer des simulations numériques, les valeurs initiales des variables du modèle ainsi que les valeurs des paramètres doivent être renseignées comme les entrées du modèle. Cela nécessite des mesures expérimentales (souvent coûteuses et parfois difficiles à réaliser) de façon dynamique. Pour ces raisons, contrairement au formalisme FBA qui peut représenter des systèmes de grande taille, la taille des (sous)-réseaux étudiés avec ce formalisme est souvent limitée (figure 4). Le modèle est basé sur un système d'équations différentielles couplées décrivant l'évolution des éléments du système (les métabolites ou la vitesse des réactions enzymatiques) dans le temps. La stœchiométrie des réactions enzymatiques, ainsi que les régulateurs clés des réactions biochimiques peuvent également être renseignés dans ce type de modèle. Les sorties (prédiction) du modèle sont les valeurs (quantitatives) de l'intensité des flux métaboliques et la concentration des substrats au cours du temps. Les simulations numériques pour résoudre le système d'équations différentielles et visualiser les résultats du modèle nécessitent l'utilisation des logiciels de calculs numériques (MATLAB, SCILAB...). La forme générale de ce type de modèle est

$$\frac{ds}{dt} = f(P, s, t) = v_{syn} - v_{cons}$$

où le vecteur s représente l'ensemble des substrats (ou des métabolites) dans le réseau métabolique étudié. Ce sont les variables d'état du système. L'ensemble P représente les paramètres du système qui sont fixes dans un contexte donné pour un modèle déterministe (et aléatoi-

res pour un modèle stochastique) et au cours des simulations et dépendent des caractéristiques intrinsèques et de la structure du système. Dans ce type de modèle, la variation de chaque substrat au cours de chaque intervalle de temps est la résultante de ses flux de synthèse (ou la production, v_{syn}) et de dégradation (ou consommation, v_{cons}). Contrairement aux modèles statiques qui étudient les propriétés d'un réseau à l'état d'équilibre, l'intérêt majeur des modèles dynamiques porte sur les trajectoires des substrats au cours du temps. À titre d'exemple, la figure 7 représente pour un réseau donné, le point du vue d'un modèle dynamique comparé à celui de FBA.

b) Modélisation dynamique et flexibilité métabolique

Une variation nulle des substrats dans le réseau métabolique correspond à un état stationnaire du système où la production des substrats est égale à leur consommation. Cet état est parfois désigné comme le « point d'équilibre ». Lorsqu'un système atteint un état stationnaire, il est censé y demeurer jusqu'à ce qu'une perturbation externe se produise. Le système peut alors rapidement retourner à cet état stationnaire (état d'équilibre) ou quitter cet état stationnaire. Des méthodes d'analyse mathématique existent pour trouver l'ensemble des états stationnaires d'un système dynamique et étudier leur stabilité, puis pour trouver le ou les éventuels bassins d'attraction (les zones grises dans figure 7), qui correspondent à l'ensemble des paramètres permettant au modèle de retourner à son équilibre (Ingalls 2014).

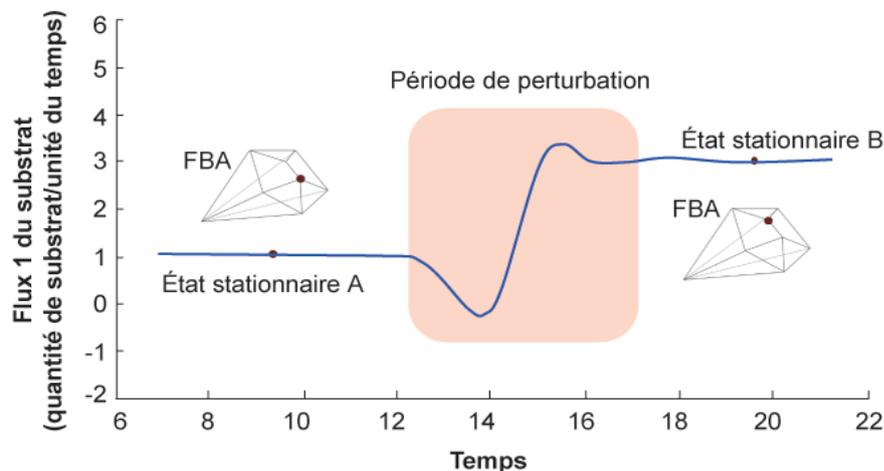
Un point d'équilibre stable correspond au maintien de l'expression d'un ou des

caractères face à des perturbations comme par exemple le maintien de la capacité homéostatique pour le métabolisme énergétique d'une cellule. Le schéma de la figure 8A représente différentes réponses possibles d'un système en état stationnaire à une perturbation. Le bassin d'attraction dans l'espace des paramètres du système, exprimant la robustesse du système, est représenté par des zones grises (Kitano 2007b, Sauvant et Martin 2010). Une perturbation peut aussi aboutir à une situation où le système dépasse les limites du bassin d'attraction premier, et se dirige vers un autre bassin d'attraction qui correspond à un autre état stationnaire (avec changement éventuel de caractéristiques physiologiques et d'efficacité). Le système peut aussi être dirigé vers un état non stable.

c) Exemples d'utilisation

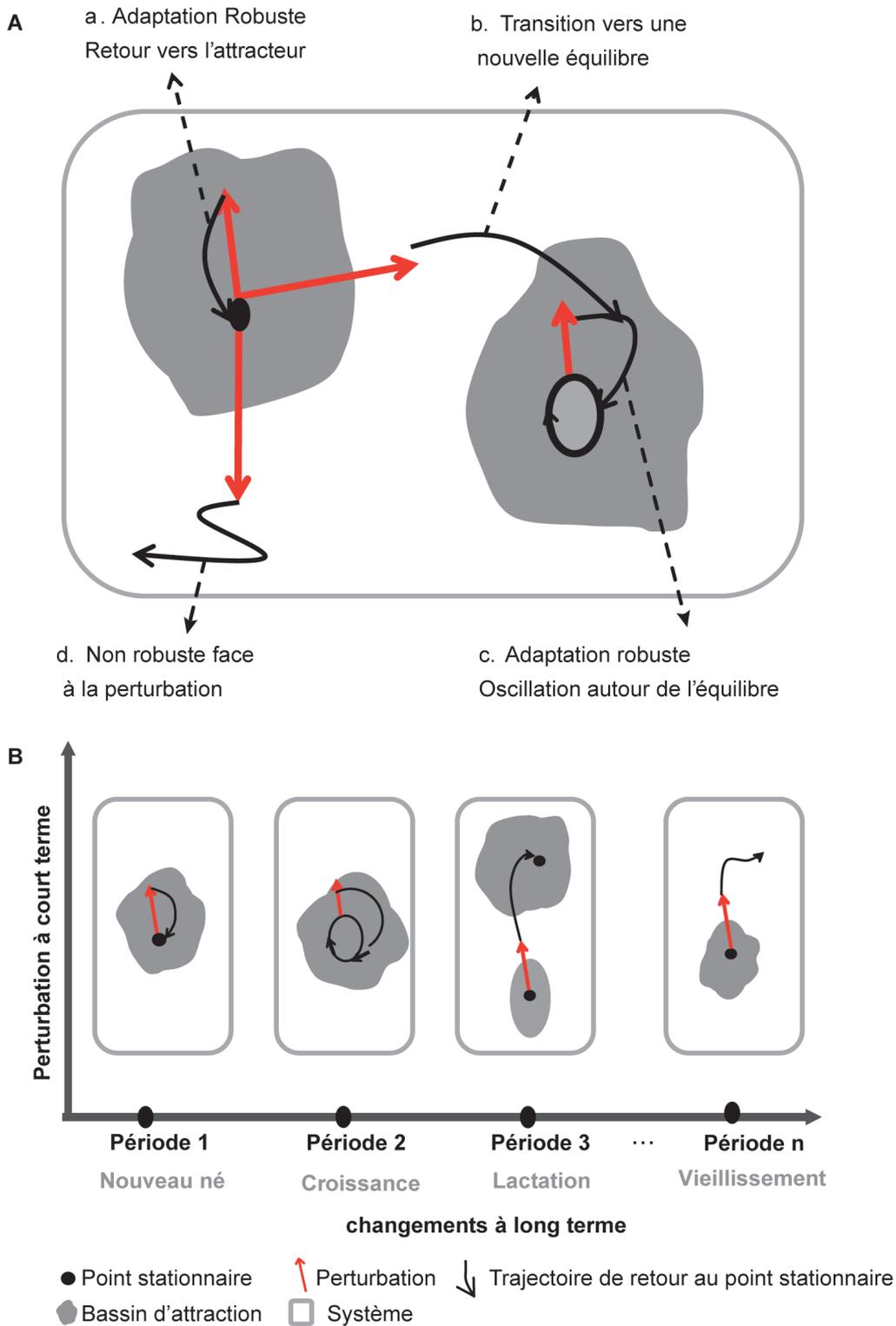
Si de nombreux modèles dynamiques (très complets et dans certains cas très détaillés) sont référencés dans la littérature, nous présentons dans cette section un exemple de modèle dynamique théorique dont l'objectif premier est d'étudier la flexibilité métabolique à l'échelle d'une cellule. L'énergie apportée par l'aliment peut être utilisée par la cellule pour son fonctionnement quotidien mais peut être aussi (transitoirement ou pas) mise en réserve, notamment sous forme de glycogène ou de lipides. Ces réserves énergétiques sont stockées dans des cellules spécialisées (cellule musculaire et hépatocyte pour le glycogène, adipocyte pour les lipides) ou peuvent coexister au sein d'une même cellule (lipides intramyocellulaires, glycogène adipocytaire). Ces réserves permettent à la cellule de gérer la discontinuité dans la fourniture, ou l'utilisation de nutriments par rapport

Figure 7. Comparaison des prédictions d'un modèle dynamique (courbe bleu) en présence d'une perturbation et d'un modèle construit selon le formalisme « Flux Balance Analysis » (FBA) (points sur la courbe).



Le modèle dynamique permet d'observer la trajectoire d'un flux (ici le Flux 1) durant la perturbation. Le formalisme FBA permet d'obtenir la valeur de tous les flux métaboliques aux états stationnaires du métabolisme.

Figure 8. Comportement d'un système dynamique face à 4 types de perturbations (A) et suite à des changements à court et à long terme (B).



A) Les perturbations sont représentées par l'amplitude de la flèche rouge. (a). Le système s'adapte à la perturbation et retourne à son point d'équilibre (élasticité) (b). Adaptation avec une transition, le système sort de son bassin primaire et passe dans un autre bassin d'attraction (état stationnaire) dans lequel il va présenter un nouvel équilibre (plasticité), dans le cas présenté le système peut adopter une nouvelle stratégie afin de garantir son fonctionnement. (c) Concrètement, le système s'adapte à la perturbation en oscillant, de façon amortie ou non, autour de son nouveau point d'équilibre. (d) Le système ne peut pas s'adapter à cette perturbation ou il est détruit.

B) Les flèches rouges représentent une perturbation de même amplitude que l'état de l'équilibre et les flèches noires, représentent le comportement du système face à cette perturbation. En gris, le bassin d'attraction, c'est-à-dire de l'ensemble de tous les points du plan à partir desquels la trajectoire tend vers ce point d'équilibre. Les différentes périodes représentent des évolutions/changements à long termes.

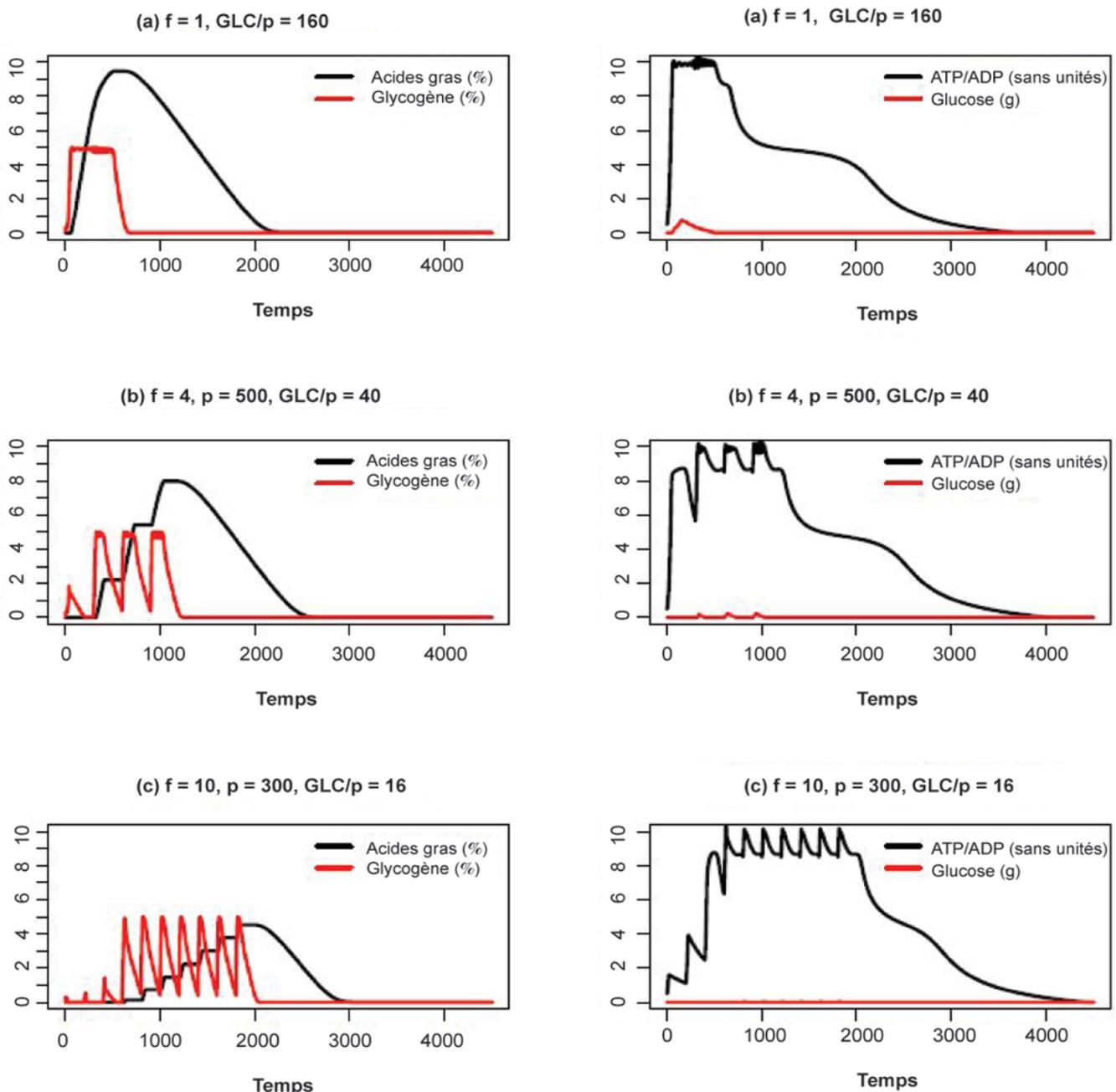
aux besoins énergétiques, mais avec éventuellement un coût métabolique associé non négligeable. Une cellule ou un tissu (ensemble plus ou moins hétérogène de cellules) peut être considéré comme un système dont le fonctionnement concerté dépend des entités en présence et des interactions qui les lient. Le modèle étant générique, il pourra aussi présenter un tissu ou un animal en le considérant comme une super cellule.

L'exemple présenté dans cette section représente le niveau cellulaire, car nos données correspondent à une cellule musculaire. Ces données obtenues dans la littérature nous ont permis de calibrer les paramètres du modèle et ainsi représenter une cellule musculaire.

Nous avons développé un modèle dynamique visant à intégrer les connaissances stœchiométriques et les régula-

tions sur les voies biochimiques cellulaires, pour comprendre la plasticité des réserves énergétiques chez l'animal en croissance, et en particulier les relations et les équilibres complexes entre stocks de glycogène et de lipides au sein d'une cellule musculaire (Taghipoor *et al* 2016). Dans ce but, un système d'équations différentielles ordinaires de production et de consommation de nutriments a été utilisé afin de représenter les

Figure 9. Illustration montrant que la flexibilité métabolique permet à la cellule de s'adapter à un nouveau type d'alimentation tout en respectant l'homéostasie cellulaire.



- a) Entrée de 160 unités de glucose dans la cellule pendant 160 unités du temps ;
 - b) Changement de fréquence d'entrée des nutriments dans la cellule. Les 160 unités du glucose entrent dans la cellule en 4 périodes successives.
 - c) Changement de fréquence d'entrée des nutriments dans la cellule. Les 160 unités du glucose entrent dans la cellule en 10 périodes successives.
- GLC : Glucose, f : fréquence d'entrée du glucose, p : période, GLC/p : quantité du GLC à chaque période du temps.

points essentiels du métabolisme cellulaire. Chaque équation représente une réaction biochimique unique ou rassemble les transformations successives de plusieurs métabolites intermédiaires lorsque chacune d'entre elles n'est pas soumise à une régulation essentielle pour le phénomène modélisé. La vitesse de ces réactions est régulée principalement par l'activité de l'enzyme impliquée dans la réaction. Nous identifions alors les inhibiteurs et les activateurs de chaque enzyme. Dans ce modèle, la cellule musculaire pour rester en homéostasie cherche à atteindre une valeur souhaitée en statut d'énergie. Dans le modèle considéré ce statut est défini par le rapport adénilyque (ratio d'ATP sur ADP, par exemple supposé égal à 10 quelle que soit la disponibilité en nutriments). Dans ce contexte, une solution possible est de mettre en réserve ou déstocker les réserves énergétiques.

La figure 9 illustre les variations des réserves en glycogène, l'éventuelle synthèse de lipides intracellulaires ou la diminution de ces stocks lipidiques en fonction d'une même quantité de glucose entrante au cours de la simulation mais distribuées à des intervalles à fréquences variables. Cela montre que, dans cette nouvelle situation, le métabolisme a activé d'autres voies métaboliques afin de garantir son équilibre. Dans la figure 9a, une quantité importante de glucose est fournie en une seule fois dans la cellule au départ, ce qui permet à la cellule d'atteindre rapidement son niveau souhaité d'énergie disponible (pour garantir son homéostasie) et par conséquent, les voies de stockage de nutriments sont activées afin de mettre le surplus en réserve sous forme de glycogène et de palmitate selon des cinétiques respectives légèrement décalées. Lors des séquences temporelles suivantes, la consommation du glucose libre disponible par la cellule, les stocks de glycogène, puis de lipides, sont mobilisés afin de produire l'énergie nécessaire. Des dynamiques comparables mais à un autre niveau ont été présentées par Sauvante et van Milgen (1995) pour les microbes du rumen qui se chargent transitoirement de « glycogène » en phase postprandiale. Dans la figure 9c, une fragmentation de l'entrée du glucose dans la cellule (quantité journalière également mais répartie à une fréquence plus importante) influence la quantité des nutriments mis en réserve. Si la cellule reste plus longtemps en homéostasie énergétique (ATP/ADP = 10), elle sollicite plus la dynamique de ses réserves en glycogène et met en réserves une quantité moins importante des lipides. C'est cette flexibilité métabolique qui permet à la cellule de s'adapter à ce nouveau type d'alimentation tout en gardant son énergie à une valeur souhaitée pour assurer l'homéostasie cellulaire.

Si l'on souhaite considérer des échelles de temps plus longues, les trajectoires d'adaptation à différentes périodes de la vie de l'individu doivent être abordées. En effet, l'objectif de l'organisme vivant est, d'une part, sa survie et, d'autre part, la pérennité de son espèce d'appartenance. Les paramètres du modèle de métabolisme sont alors définis en fonction des caractéristiques intrinsèques de l'animal et de son environnement et ils sont spécifiques à un statut physiologique de l'animal (croissance, lactation...). La figure 8B représente l'adaptation du système métabolique (les carrés) à un seul type de perturbation à court terme (flèche rouge) pendant différentes périodes de la vie du système (long terme). Nous observons que le comportement adapté pour la survie du système peut varier suite à des changements (comme changement de stade physiologique) à long terme. En effet, les zones grises (bassins d'attraction) correspondent à l'ensemble des paramètres du modèle garantissant son équilibre, et la variation de surface et de forme de ces zones dans les différentes périodes de la vie de l'animal est principalement liée à des modifications de l'ensemble des paramètres décrivant l'environnement extérieur au système. La trajectoire de ces points stationnaires (cercles gris) au cours du temps (différentes périodes de la vie de l'animal) correspond en effet à la trajectoire homéorhétic du système étudié (Martin et Sauvante 2010).

Conclusions et perspectives

Les notions de flexibilité et de robustesse ont toujours été implicitement présentes dans l'étude des réseaux biologiques. La modélisation est un outil mathématique qui peut nous aider à mieux les formaliser. Ainsi, dans les modèles basés sur la théorie des graphes d'influence entre molécules, la robustesse du système est évaluée par la capacité du graphe à supporter la perte d'un ou plusieurs sommets tout en maintenant ses propriétés principales. À l'inverse, ces modèles permettent aussi de déterminer les éléments de fragilité du système, par exemple lorsqu'une petite variation suite à une perturbation aura des conséquences fonctionnelles importantes sur un grand nombre d'acteurs. Le formalisme FBA basé sur l'analyse des flux permet d'identifier et quantifier la redistribution des flux métaboliques suite à une perturbation tout en conservant un même objectif fonctionnel par la cellule. Ces modèles statiques nécessitent très peu de détails sur les réactions enzymatiques et sont applicables à des situations contrastées correspondant chacune à des points d'équilibres métaboliques. Cependant, ces modèles ne

permettent pas d'observer la dynamique des phénomènes adaptatifs de la cellule. Pour cela, la modélisation dynamique est à privilégier car cette méthode permet de comprendre et prédire le comportement dynamique du système face à des perturbations. Les modèles dynamiques puisent leurs propriétés de flexibilité et de robustesse à travers leurs structures et les valeurs des paramètres pris en compte. Ces propriétés s'expriment à travers des régulations spécifiques d'homéostasie lorsqu'elles ont été prises en compte comme telles, ce qui correspond à des points d'équilibre dans les modèles dynamiques. Cependant, la nécessité des informations sur les régulations enzymatiques, nous oblige à réduire la taille de réseaux pour développer ce type de modèle.

Dans un cadre d'étude de l'adaptation et de la robustesse, il est intéressant de comprendre le fonctionnement d'un réseau biologique à différentes échelles organisationnelles, de manière à établir les phénotypes microscopiques ou macroscopiques intervenant dans le maintien ou la redéfinition des propriétés du réseau. Combiner différents niveaux d'échelles de l'information biologique permettra notamment de comprendre l'origine des mécanismes de compensation. Récemment, des progrès ont été faits pour coupler les méthodes statiques avec les méthodes dynamiques d'étude de réseaux biologiques associés au métabolisme. L'analyse de la structure cinétique (Steuer *et al* 2006, 2012) est une méthode pour étudier les caractères dynamiques des points stationnaires dans les modèles stœchiométriques du métabolisme énergétique. En utilisant cette approche, nous pouvons prédire le caractère dynamique au point d'équilibre d'un réseau métabolique donné, sans avoir besoin de ses équations de flux. Cette méthode permet d'identifier principalement le bassin d'attraction (cf. § 2.3) autour de ce point d'équilibre, et de déterminer le potentiel de retour à l'équilibre après des petites perturbations. Des mesures des métabolites énergétiques et les flux en équilibre sont les seules valeurs expérimentales nécessaires dans cette approche.

Un autre exemple de couplage des méthodes statiques et dynamiques consiste à rendre dynamique un graphe de causalité. Sur un ou plusieurs sous-ensembles du réseau dessiné sous la forme d'un graphe de causalité, il est possible d'appliquer une modélisation différentielle linéaire dite par morceaux qui permet d'aborder l'aspect dynamique. Elle attribue une équation différentielle pour chaque nœud ayant des arêtes entrantes au sein du morceau de réseau considéré. Ce type de modélisation est bien adapté pour des systèmes

de régulation comportant des seuils ; cependant, les équations d'équilibres ne sont généralement pas linéaires, d'où des difficultés à résoudre ce type de modèle pour prédire un comportement d'autant plus si on considère un grand nombre de variables (Baldazzi *et al* 2011).

Dans cet article nous nous sommes focalisés sur l'étude de la robustesse métabolique, et donc à une échelle infra animale. À l'échelle d'un animal entier, voire d'un lot d'animaux, d'autres facteurs interviennent dans la détermination de la robustesse individuelle (Brossard *et al* 2012).

Remerciement

Les auteurs souhaitent remercier Nicolas Friggens pour les discussions et les conseils avisés. Ils souhaitent également remercier Pierre Blavy et Oumarou Abdou-Arbi pour leurs contributions au développement des exemples.

Références

- Abdou-Arbi O., Lemosquet S., van Milgen J., Siegel A., Bourdon J., 2014. Exploring metabolism flexibility in complex organisms through quantitative study of precursor sets for system outputs. *BMC Syst. Biol.*, 8, 8. doi:10.1186/1752-0509-8-8
- Albert R., Jeong H., Barabási A., 2000. Error and attack tolerance of complex networks. *Nature*, 406, 378-382. doi:10.1038/35019019
- Andronov A.A., Chaikin C.E., 1949. Theory of oscillations. Vladimir I Zubov Editions, Princeton University Press, Etats-Unis, 412p.
- Arita M., 2004. The metabolic world of *Escherichia coli* is not small. *Proc. Nat. Acad. Sci. United States of America*, 101, 1543-1547. doi:10.1073/pnas.0306458101
- Baldazzi V., Ropers D., Geiselmann H., Kahn D., Jong H. De., 2011. Importance of metabolic coupling for the dynamics of gene expression following a diauxic shift in *E. coli*. In: *Proc. 18th IFAC World Congr.*, 14851-14856. Milan, Italy. <https://hal.inria.fr/hal-00793037>
- Blavy P., Gondret F., Lagarrigue S., van Milgen J., Siegel A., 2014. Using a large-scale knowledge database on reactions and regulations to propose key upstream regulators of various sets of molecules participating in cell metabolism. *BMC Syst. Biol.*, 8, 32. doi:10.1186/1752-0509-8-32
- Brossard L., Quiniou N., Dourmad J. Y., van Milgen J., 2012. Prise en compte de la variabilité individuelle dans la modélisation de la réponse des porcs en croissance aux apports alimentaires. *INRA Prod. Anim.*, 25, 17-28.
- Chauvet G., 1990. Traité de physiologie théorique. III: Physiologie intégrative, champ et organisation fonctionnelle. Editions Masson, Paris, France, 550p.
- Cornish-Bowden A., Cárdenas M. L., Letelier J.C., Soto-Andrade J., Abarzúa F.G., 2004. Understanding the parts in terms of the whole. *Biol. Cell*, 96, 713-717. doi:10.1016/j.biolcel.2004.06.006
- Cunningham, W.J., 1963. Analyse non linéaire. Editions Dunod. Paris, France.
- Curien G., Bastien O., Robert-Genthon M., Cornish-Bowden A., Cárdenas M.L., Dumas R., 2009. Understanding the regulation of aspartate metabolism using a model based on measured kinetic parameters. *Mol. Syst. Biol.*, 5. doi:10.1038/msb.2009.29
- de Atauri P., Curto R., Puigjaner J., Cornish-Bowden A., Cascante M., 1999. Advantages and disadvantages of aggregating fluxes into synthetic and degradative fluxes when modelling metabolic pathways. *Eur. J. Biochem.*, 265, 671-679. doi:10.1046/j.1432-1327.1999.00760.x
- den Besten C., Vet J.J., Besselink H.T., Kiel G.S., van Berkel B.J., Beems R., van Bladeren P.J., 1991. The liver, kidney, and thyroid toxicity of chlorinated benzenes. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 111, 69-81. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1949037>
- Edwards J., Palsson B., 2000. Robustness Analysis of the *Escherichia coli* Metabolic Network. *Biotechnol. Progr.*, 16, 927-939. doi:10.1021/bp0000712
- Edwards J.S., Ibarra R.U., Palsson B.O., 2001. In silico predictions of *Escherichia coli* metabolic capabilities are consistent with experimental data. *Nature Biotechnol.*, 19, 125-130. doi:10.1038/84379
- Freetly H.C., Knapp J.R., Calvert C.C., Baldwin R. L., 1993. Development of a mechanistic model of liver metabolism in the lactating cow. *Agricult. Syst.*, 41, 157-195. doi:10.1016/0308-521X(93)90038-4
- Friggens N.C., Sauvant D., Martin O., 2010. Vers des définitions opérationnelles de la robustesse s'appuyant sur des faits biologiques. L'exemple de la nutrition. In: *Robustesse, rusticité, flexibilité, plasticité, résilience*. Sauvant D., Perez J.M. (Eds). Dossier, INRA Prod. Anim., 23, 1-10.
- Ghosh S., Matsuoka Y., Asai Y., Hsin K.Y., Kitano H., 2011. Software for systems biology: from tools to integrated platforms. *Nature Rev. Genet.*, 12, 821-832. doi:10.1038/nrg3096
- Ghozlane A., Bringaud F., Soueidan H., Dutour I., Jourdan F., Thébaud P., 2012. Flux analysis of the trypanosoma brucei glycolysis based on a multiobjective-criteria bioinformatic approach. *Adv. Bioinformatics*, 1-16. doi:10.1155/2012/159423
- Giersch C., 1986. Oscillatory response of photosynthesis in leaves to environmental perturbations: A mathematical model. *Arch. Biochem. Biophys.*, 245, 263-270. doi:10.1016/0003-9861(86)90213-4
- Goelzer A., Fromion V., Scorletti G., 2011. Cell design in bacteria as a convex optimization problem. *Automatica*, 47, 1210-1218. doi:10.1016/j.automatica.2011.02.038
- Goldbeter A., 1990. Rythmes et Chaos dans les systèmes biochimiques et cellulaires. Elsevier Masson Editions, Paris, France, 304p.
- Gondret F., Louveau I., Mourot J., Duclos M.J., Lagarrigue S., Gilbert H., van Milgen J., 2014. Dietary energy sources affect the partition of body lipids and the hierarchy of energy metabolic pathways in growing pigs differing in feed efficiency. *J. Anim. Sci.*, 92, 4865-4877. doi:10.2527/jas.2014-7995
- Gondret F., Vincent A., Houee-Bigot M., Siegel A., Lagarrigue S., Louveau I., Causeur D., 2016. Molecular alterations induced by a high-fat high-fiber diet in porcine adipose tissues: variations according to the anatomical fat location. *BMC Genom.*, 17, 120.
- Grüning N.M., Lehrach H., Ralser M., 2010. Regulatory crosstalk of the metabolic network. *Trends Biochem. Sci.*, 35, 220-227. doi:10.1016/j.tibs.2009.12.001
- Guziolowski C., Gruel J., Radulescu O., Siegel A., 2009. Curating a large-scale regulatory network by evaluating its consistency with expression datasets. In: Masulli F., Tagliaferri R., Verkhivker G.M. (Eds), *Comput. Intell. Methods. Bioinf. Biostat.*, 5488, 144-155.
- Hanigan M.D., Baldwin R.L., 1994. A mechanistic model of mammary gland metabolism in the lactating cow. *Agricult. Syst.*, 45, 369-419. doi:10.1016/0308-521X(94)90132-Y
- Heinrich R., Schuster S., 1998. The modelling of metabolic systems. Structure, control and optimality. *BioSystems*, 47, 61-77.
- Ideker T., Thorsson V., Karp R., 2000. Discovery of Regulatory Interactions Through Perturbation: Inference and Experimental Design. In: *Proc. Pacific Symp. Biocomp.* Seattle, USA: World Scientific Press.
- Ideker T., Galitski T., Hood L., 2001. A new approach to decoding life: Systems biology. *Ann. Rev. Genom. Human Genet.*, 2, 343-372. doi:10.1146/annurev.genom.2.1.343
- Ingalls B., 2014. Mathematical Modelling in Systems Biology: An Introduction. 936p.
- Jeong H., Tombor B., Albert R., Oltvai Z.N., Barabási L., 2000. The large-scale organization of metabolic networks. *Nature*, 407, 651-654. doi:10.1038/35036627
- Jolivet E., 1983. Introduction aux modèles mathématiques en biologie. *Actualités Scientifiques et Agronomiques de l'INRA*, Paris, France, 151p.
- Kitano H., 2000. Perspectives on systems biology. *New Generat. Comput.*, 18, 199-216.
- Kitano H., 2007a. Towards a theory of biological robustness. *Mol. Syst. Biol.*, 3, 137. doi:10.1038/msb4100179
- Kitano H., 2007b. Biological robustness in complex host-pathogen systems. *Progr. Drug Res.*, 64, 239-263. doi:10.1007/978-3-7643-7567-6_10
- Klamt S., Saez-Rodriguez J., Lindquist J.A., Simeoni L., Gilles E.D., 2006. A methodology for the structural and functional analysis of signaling and regulatory networks. *BMC Bioinf.*, 7, 56. doi:10.1186/1471-2105-7-56

- Krauss M., Schaller S., Borchers S., Findeisen R., Lippert J., Kuepfer L., 2012. Integrating cellular metabolism into a multiscale whole-body model. *PLoS Comput. Biol.*, 8, e1002750. doi:10.1371/journal.pcbi.1002750
- Larhlmi A., Blachon S., Selbig J., Nikoloski Z., 2011. Robustness of metabolic networks: A review of existing definitions. *BioSystems*, 106, 1-8. doi:10.1016/j.biosystems.2011.06.002
- Lemosquet S., Guinard-Flament J., Raggio G., Lapiere H., Rulquin H., 2008. Comment les apports de protéines augmentent-ils le volume de lait et les matières utiles? *Renc. Rech. Rum.*, 271-274.
- Lemosquet S., Raggio G., Lobley G.E., Rulquin H., Guinard-Flament J., Lapiere H., 2009. Whole-body glucose metabolism and mammary energetic nutrient metabolism in lactating dairy cows receiving digestive infusions of casein and propionic acid. *J. Dairy Sci.*, 92, 6068-6082. doi:10.3168/jds.2009-2018
- Lemosquet S., Abdou-Arbi O., Siegel A., Guinard-Flament J., van Milgen J., Bourdon J., 2010. A generic stoichiometric model to analyse the metabolic flexibility of the mammary gland in lactating dairy cows. *Model. Nutr. Digest. Utilizat. Farm Anim.*, 1-9.
- Lescoat P., Sauvant D., 1995. Development of a mechanistic model for rumen digestion validated using the duodenal flux of amino acids. *Reprod. Nutr. Dev.*, 35, 45-70.
- Letelier J.C., Soto-Andrade J., Guíñez Abarzúa F., Cornish-Bowden A., Luz Cárdenas M., 2006. Organizational invariance and metabolic closure: Analysis in terms of systems. *J. Theor. Biol.*, 238, 949-961. doi:10.1016/j.jtbi.2005.07.007
- Lobley G.E., 2007. Protein-energy interaction: horizontal aspects. In: *Energy Protein Metab. Nutr.*, Academic W. (Ed). Wageningen, The Netherlands. EAAP publication, 445-461.
- Lokta A.J., 1925. *Elements of physiological biology*. Williams and Wilkins Company Editions. Baltimore, Etats-Unis, 495p.
- Lovatto P.A., Sauvant D., 2003. Modeling homeorhetic and homeostatic controls of pig growth. *J. Anim. Sci.*, 81, 683-696. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12661649>
- Martin O., Sauvant D., 2010. A teleonomic model describing performance (body, milk and intake) during growth and over repeated reproductive cycles throughout the lifespan of dairy cattle. 1. Trajectories of life function priorities and genetic scaling. *Animal: an Int. J. Anim. Biosc.*, 4, 2030-2047. doi:10.1017/S1751731110001357
- Nazare J., Disse E., Maitrepierre C., Chardon L., Cohen R., Laville M., 2009. Inflexibilité métabolique : implication dans les défauts de réponse métabolique postprandiale chez le diabétique de type 2. *Nutr. Clinique Métabolisme*, 35, 85.
- Orman M.A., Berthiaume F., Androulakis I.P., Ierapetritou M.G., 2011. Advanced stoichiometric analysis of metabolic networks of mammalian systems. Critical reviews in biomedical engineering, 39, 511-534. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22196224>
- Orth J.D., Thiele I., Palsson B.Ø., 2010. What is flux balance analysis? *Nature Biotechnology*, 28, 245-248. doi:10.1038/nbt.1614
- Peyraud J.L., Phocas F., 2014. Phénotypage des animaux d'élevage. Résumé. Dossier, INRA Prod. Anim., 27, 179-180.
- Phocas F., Bobe J., Bodin L., Charley B., Dourmad J.Y., Friggens N.C., Hocquette J.F., Le Bail P.Y., Le Bihan-Duval E., Mormède P., Quére P., Schelcher F., 2014. Des animaux plus robustes : un enjeu majeur pour le développement durable des productions animales nécessitant l'essor du phénotypage fin et à haut débit. In: *Phénotypage des animaux d'élevage*. Peyraud J.L., Phocas F. (Eds). Dossier, INRA Prod. Anim., 27, 181-194.
- Raggio G., Lemosquet S., Lobley G.E., Rulquin H., Lapiere H., 2006. Effect of casein and propionate supply on mammary protein metabolism in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 89, 4340-4351. doi:10.3168/jds.S0022-0302(06)72481-X
- Ravasz E., 2002. Hierarchical Organization of Modularity in Metabolic Networks. *Science*, 297, 1551-1555. doi:10.1126/science.1073374
- Rivera-Torres V., Ferket P.R., Sauvant D., 2011. Mechanistic modeling of turkey growth response to genotype and nutrition. *J. Anim. Sci.*, 89, 3170-3188. doi:10.2527/jas.2010-3504
- Saez-Rodriguez J., Alexopoulos L., Epperlein J., Samaga R., Lauffenburger D., Klamt S., Al E., 2009. Discrete logic modelling as a means to link protein signalling networks with functional analysis of mammalian signal transduction. *Mol. Syst. Biol.*, 5, 331.
- Sauvant D., 1992. Modélisation systémique en nutrition. *Prod.Nutr. Dev.*, 32, 217-230.
- Sauvant D., 1994. Modelling homeostatic and homeorhetic regulations in lactating animals. *Livest. Prod. Sci.*, 39, 105-113. doi:10.1016/0301-6226(94)90162-7
- Sauvant D., van Milgen J., 1995. Les conséquences de la dynamique de la digestion des aliments sur le métabolisme ruminal et les performances animales. *INRA Prod. Anim.*, 8, 353-357.
- Sauvant D., Martin O., 2010. Robustesse, rusticité, flexibilité, plasticité... les nouveaux critères de qualité des animaux et des systèmes d'élevage : définitions systémique et biologique des différents concepts. Dossier, INRA Prod. Anim., 23, 5-10.
- Scarborough J., 1955. *Numerical mathematical analysis*. John Hopki Editions. Baltimore, Etats-Unis.
- Segel I.H., 1993. *Enzyme Kinetics: Behavior and Analysis of Rapid Equilibrium and Steady-State Enzyme Systems*. Wiley-Interscience. <http://amazon.com/o/ASIN/0471303097/>
- Selkov E.E., 1968. Self-oscillations in glycolysis. *Europ. J. Biochem.*, 4, 79-86.
- Someren E. van, Wessels L., Backer E., Reinders M., 2002. Genetic network modeling. *Pharmacogenomics*, 3, 507-525. doi:10.1517/14622416.3.4.507
- Soussana J., 2013. *S'adapter au changement climatique, agriculture, écosystèmes et territoires*. Editions Quae, Versailles, France, 296p.
- Stelling J., Sauer U., Szallasi Z., Doyle F.J., Doyle J., 2004. Robustness of cellular functions. *Cell*, 118, 675-685. doi:10.1016/j.cell.2004.09.008
- Steuer R., Gross T., Selbig J., Blasius B., 2006. Structural kinetic modeling of metabolic networks. *Proc. Nat. Academy Sci. United States of America*, 103, 11868-11873. doi:10.1073/pnas.0600013103
- Steuer R., Knoop H., Machné R., 2012. Modelling cyanobacteria: from metabolism to integrative models of phototrophic growth. *J. Exp. Bot.*, 63, 2259-2274. doi:10.1093/jxb/ers018
- Sun S.S., Zhang L., Yang J., Zhou X., 2015. Role of runt-related transcription factor 2 in signal network of tumors as an inter-mediator. *Cancer Letters*, 361, 1-7. doi:10.1016/j.canlet.2015.02.042
- Taghipoor M., van Milgen, J., Gondret, F., 2016. A systemic approach to explore the flexibility of energy stores at the cellular scale: Examples from muscle cells. *J. Theor. Biol.*, 404, 331-341. doi:10.1016/j.jtbi.2016.06.014
- Thiele S., Cerone L., Saez-Rodriguez J., Siegel A., Guziolowski C., Klamt S., 2015. Extended notions of sign consistency to relate experimental data to signaling and regulatory network topologies. *BMC Bioinformatics*, 16, 345. doi:10.1186/s12859-015-0733-7
- Trinh C.T., Wlaschin A., Srien F., 2009. Elementary mode analysis: A useful metabolic pathway analysis tool for characterizing cellular metabolism. *Appl. Microb. Biotechnol.*, 81, 813-826. doi:10.1007/s00253-008-1770-1
- Varma A., Palsson B.O., 1994. *Metabolic Flux Balancing: Basic Concepts, Scientific and Practical Use*. *Bio/Technology*, 12, 994-998. doi:10.1038/nbt1094-994
- Veber P., Guziolowski C., Le Borgne M., Radulescu O., Siegel A., 2008. Inferring the role of transcription factors in regulatory networks. *BMC Bioinformatics*, 9, 228. doi:10.1186/1471-2105-9-228
- Videla S., Guziolowski C., Eduati F., Thiele S., Gebser M., Nicolas J., Saez-Rodriguez J., Schaub T., Siegel., 2015. Learning Boolean logic models of signaling networks with ASP. *Theor. Comp. Sci.*, 599, 79-101. doi:10.1016/j.tcs.2014.06.022

Résumé

Une production durable nécessite de disposer d'animaux capables de s'adapter à une diversité croissante de contraintes et perturbations environnementales pour maintenir leurs performances de production. La flexibilité métabolique est un des leviers importants pour la compréhension de l'adaptation individuelle aux perturbations externes. Les éléments du métabolisme sont organisés en un réseau biologique vaste et complexe, recouvrant différentes échelles d'organisations spatiales et temporelles. Cet article présente trois formalismes de modélisation permettant de décrire ce réseau et y associer trois exemples illustratifs du comportement de ce réseau face à des perturbations telles que rencontrées en production animale. Ces formalismes dépendent de la taille du (sous)-réseau que l'on souhaite considérer et du type de prédictions souhaitées (qualitatives, quantitatives) : *i*) la modélisation structurelle qui se base sur l'étude des propriétés topologiques d'un réseau de grande taille, *ii*) la modélisation stœchiométrique qui permet d'analyser les flux métaboliques dans un état stationnaire et *iii*) la modélisation dynamique qui permet d'observer l'évolution des acteurs d'un réseau biologique dans le temps.

Abstract

Modelling of metabolic flexibility: toward a better understanding of animal adaptive capacities

A sustainable production requires breeding animals that are able to adapt to a large variety of environmental constraints and perturbations to maintain their performance. Metabolic flexibility is a key element for a better understanding of individual adaptation to environmental challenges. Elements participating in metabolism are organized in a complex biological network with regulatory factors acting at different spatial and temporal scales. Three modeling formalisms are described to address network organization when facing perturbations. Examples are given to illustrate applications in animal production science. These formalisms depend on the size of the biological network to be studied and the type of predictions (qualitative, quantitative): 1) structural modeling based on large graph mining to find influential nodes in the network, 2) stoichiometric modeling to analyze metabolic fluxes in a stationary state, and 3) dynamic modeling to observe time-course evolution of a subset of elements.

TAGHIPOOR M., LEMOSQUET S., VAN MILGEN J., SIEGEL A., SAUVANT D., GONDRET F., 2016. Modélisation de la flexibilité métabolique : vers une meilleure compréhension des capacités adaptatives de l'animal. *INRA Prod. Anim.*, 29, 201-216.