HAL
open science

# Modélisation théorique du développement tumoral sous fenêtre dorsale : Vers un outil clinique d'individualisation et d'optimisation de la thérapie

Anne-Cécile Lesart

## To cite this version:

Anne-Cécile Lesart. Modélisation théorique du développement tumoral sous fenêtre dorsale : Vers un outil clinique d'individualisation et d'optimisation de la thérapie. Médecine humaine et pathologie. Université de Grenoble, 2013. Français. NNT : 2013GRENS032 . tel-01061838

**HAL Id: tel-01061838**

**https://theses.hal.science/tel-01061838v1**

Submitted on 8 Sep 2014

**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.

UNIVERSITÉ DE GRENOBLE

# THÈSE

Pour obtenir le grade de

## DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE GRENOBLE

Spécialité : **Modèles, méthodes et algorithmes pour la Biologie, la Santé et l'environnement (MBS)**

Arrêté ministériel : 7 août 2006

Présentée par


## Anne-Cécile LESART


Thèse dirigée par **Angélique STEPHANOU et François ESTEVE**

préparée au sein **du laboratoire TIMC-IMAG**
et de **l'École Doctorale Ingénierie Pour la Santé, la Cognition, et l'Environnement**

# Modélisation théorique du développement tumoral sous fenêtre dorsale

## Vers un outil clinique d'individualisation et d'optimisation de la thérapie.

Thèse soutenue publiquement le **13 novembre 2013**,
devant le jury composé de :

**Monsieur Benjamin RIBBA**
Chargé de recherche à l'INRIA de Grenoble, Président
**Monsieur Jean CLAIRAMBAULT**
Directeur de recherche à l'INRIA de Paris-Rocquencourt, Rapporteur
**Monsieur Thierry COLIN**
Professeur à l'Université de Bordeaux, Rapporteur
**Monsieur Samuel BERNARD**
Chargé de recherche au CNRS de Lyon, Examinateur
**Monsieur François ESTEVE**
Professeur à l'Université de Grenoble, Directeur de thèse
**Madame Angélique STEPHANOU**
Chargée de recherche au CNRS de Grenoble, Directrice de thèse
**Monsieur Boudewijn VAN DER SANDEN**
Chargé de recherche à l'INSERM de Grenoble, Invité

## *Resumé*

Le travail réalisé durant cette thèse a eu pour objectif de développer un modèle théorique spécifiquement dédié au contexte du développement tumoral tel qu'il peut être observé sous une fenêtre dorsale implantée sur une souris.

Le modèle développé est un modèle hybride multi-physique et multi-échelle qui couple deux modules principaux. Le premier module modélise la croissance tumorale par un automate cellulaire qui permet de différencier l'état de chaque cellule en fonction de son histoire (cycle cellulaire), et de son environnement (espace disponible pour proliférer, présence d'oxygène). Le second module modélise le réseau vasculaire et le flux sanguin et rend compte de l'angiogenèse (apparition de nouveaux vaisseaux) et de l'adaptation du diamètre des vaisseaux, en fonction de l'évolution des contraintes hémodynamiques, nettement visible sous la fenêtre dorsale. L'ensemble des processus diffusifs (diffusion de l'oxygène et des facteurs de croissance vasculaire) sont décrits par des équations aux dérivées partielles, couplées à des automates cellulaires qui permettent de localiser à chaque instant pour chaque équation les termes sources (production) et les termes puits (consommation) pour chaque entité diffusive.

Les simulations numériques réalisées montrent dans quelle mesure il est possible de rendre compte des observations expérimentales sur le plan qualitatif, qui nécessite la neutralisation des biais numériques ; et sur le plan quantitatif, pour reproduire la cinétique de croissance tumorale et l'évolution de la densité vasculaire.

Le modèle numérique de l'évolution tumorale sous fenêtre dorsale est ensuite utilisé pour tester les effets de deux types de molécules : cytotoxiques et anti-vasculaires. Les simulations numériques de ces deux types de traitement explorent différents protocoles, définis par le mode d'action de la molécule, la dose administrée et la fréquence d'administration. Les résultats montrent comment il est alors possible de définir un protocole optimum pour une tumeur donnée en direction d'une individualisation de la thérapie.

Ce modèle intégré a permis de poser de façon satisfaisante les bases d'un clone numérique du modèle expérimental d'évolution tumorale sous fenêtre dorsale même si certains aspects nécessitent encore quelques améliorations. La validation des aspects thérapeutiques restera encore à accomplir avant de pouvoir envisager à terme le remplacement (au moins partiel) de l'animal par l'ordinateur.

## *Remerciements*

Ce travail de thèse n'aurait jamais pu être réalisé sans la collaboration de nombreuses personnes que je tiens à remercier ici.

Ma gratitude va tout d'abord à mes directeurs de thèse. Merci donc à François ESTEVE pour la confiance qu'il m'a accordé tout au long de ce projet et pour ses suggestions, et à Angélique STEPHANOU pour son soutien et pour tout le temps qu'elle m'a consacré.

Je souhaite également exprimer ma reconnaissance envers les membres du jury. Merci particulièrement à Benjamin RIBBA d'avoir accepté d'être le président du Jury, et à mes rapporteurs Jean CLAIRAMBAULT et Thierry COLIN, dont les retours m'ont permis d'améliorer ma thèse et m'ont inspiré pour préparer ma soutenance. Le jury était également composé de Samuel BERNARD en qualité d'examinateur, de Boudewijn VAN DER SANDEN en tant qu'invité, ainsi que de mes directeurs de thèse. Je remercie le jury dans son ensemble de l'intérêt qu'il a porté à mon travail et d'avoir accepté de l'évaluer.

Merci également à Boudewijn VAN DER SANDEN et à son équipe du GIN, ainsi qu'à la société Ecrins Therapeutics, en particulier à Aurélie JUHEM et Andrei POPOV, de m'avoir fourni des résultats expérimentaux de croissance de tumeurs sous fenêtre dorsale et d'avoir répondu à mes questions concernant ces expériences.

Je tiens également à remercier les membres du laboratoire TIMC-IMAG dans lequel j'ai effectué cette thèse, et plus particulièrement les membres de l'équipe DyCTiM dont j'ai fait parti. Merci à tous pour votre accueil, votre gentillesse, vos suggestions... Merci également à mes compagnons de bureau successifs d'avoir su instaurer dans le bureau une ambiance à la fois conviviale et studieuse. J'aimerai aussi dire merci à Marianne FENECH de la Faculté de génie d'Ottawa et à toute son équipe pour leur accueil lors de mon déplacement de trois semaines au Canada.

Et enfin, je voudrais remercier ma famille et mes amis de m'avoir soutenu et encouragé tout au long de ces trois années.

# TABLE DES MATIÈRES

*Introduction* . . . . . 11

*partie I État de l'art* 13

*A. Les mécanismes de croissance vasculaire et tumorale* . . . . . 15
A.1 Le développement d'une tumeur . . . . . 15
A.2 Les principes de l'adaptation vasculaire . . . . . 16
A.2.1 Remodelage vasculaire . . . . . 16
A.2.2 Angiogenèse . . . . . 16
A.3 La croissance tumorale . . . . . 19
A.3.1 Le cycle cellulaire . . . . . 19
A.3.2 Le cas particulier des cellules tumorales . . . . . 21

*B. La modélisation du développement tumoral* . . . . . 23
B.1 Modélisation de la croissance tumorale . . . . . 23
B.1.1 Modélisation par des EDPs . . . . . 24
B.1.2 Modélisation par des lignes de niveau . . . . . 25
B.1.3 Modélisation par des automates cellulaires . . . . . 26
B.2 Modélisation de la vascularisation tumorale . . . . . 28
B.2.1 Hypoxie et VEGF . . . . . 28
B.2.2 Émission et consommation d'oxygène . . . . . 29
B.2.3 Modélisation de l'angiogenèse . . . . . 29
B.2.3.1 Les modèles continus . . . . . 30
B.2.3.2 Les modèles discrets . . . . . 31
B.2.4 L'adaptation vasculaire . . . . . 33

*C. Les thérapies* . . . . . 35
C.1 Le traitement des tumeurs solides . . . . . 35
C.1.1 La chirurgie . . . . . 35
C.1.2 La chimiothérapie . . . . . 36
C.1.2.1 Action sur les cellules tumorales . . . . . 36
C.1.2.2 Action sur le réseau vasculaire . . . . . 37
C.1.3 La radiothérapie . . . . . 39
C.1.4 L'immunothérapie . . . . . 41
C.1.5 Autres thérapies . . . . . 42
C.1.6 Conclusion . . . . . 43
C.2 Modélisation de la thérapie . . . . . 43
C.2.1 Cas du ciblage des cellules tumorales . . . . . 43

C.2.1.1 Modèles temporels . . . 43
C.2.1.2 Modèles spatio-temporels . . . 44
C.2.2 Cas du ciblage du réseau vasculaire . . . 46

*partie II Modèles et méthodes* 49

*D. Le modèle expérimental et le traitement des images* . . . 51
D.1 Présentation du modèle . . . 51
D.2 Protocole expérimental . . . 52
D.3 Segmentation des images . . . 54

*E. Le modèle computationnel* . . . 57
E.1 Les différents modules . . . 57
E.2 Le domaine de simulation . . . 58
E.2.1 Définition du domaine . . . 58
E.2.2 Discrétisation du domaine . . . 59
E.2.3 Le réseau vasculaire initial . . . 59
E.3 Le module de croissance tumorale . . . 62
E.3.1 Règles de l'automate cellulaire . . . 62
E.3.2 La division cellulaire . . . 64
E.3.3 La durée de cycle cellulaire . . . 65
E.4 Le module de croissance et d'adaptation vasculaire . . . 66
E.4.1 Adaptation vasculaire . . . 66
E.4.1.1 Dégradation des vaisseaux dans la tumeur . . . 66
E.4.1.2 Adaptation du rayon des vaisseaux . . . 68
E.4.2 Angiogenèse . . . 70
E.4.2.1 Germination des vaisseaux . . . 70
E.4.2.2 Croissance vasculaire . . . 70
E.5 Les phénomènes diffusifs . . . 73
E.5.1 Diffusion du VEGF par les cellules quiescentes . . . 73
E.5.2 Diffusion de l'oxygène . . . 74
E.5.2.1 Le transport de l'oxygène dans les vaisseaux . . . 74
E.5.2.2 Le transport de l'oxygène des vaisseaux jusqu'au tissu . . . 75
E.6 Modélisation de la thérapie . . . 76
E.6.1 Cytotoxiques . . . 76
E.6.2 VDAs . . . 76
E.7 Conclusion . . . 77

*partie III Résultats* 79

*F. Réseau sub-microvasculaire* . . . 81
F.1 Influence du réseau vasculaire sur la croissance tumorale . . . 81
F.1.1 Sans réseau sub-microvasculaire . . . 82
F.1.2 Avec réseau sub-microvasculaire régulier . . . 83
F.2 Comparaison des deux cas . . . 85
F.2.1 Vitesse de croissance tumorale . . . 85

F.2.2 Évolution des états tumoraux . . . 86
F.3 Impact de certains paramètres clés de la croissance tumorale . . . 86
F.3.1 Résistance des cellules à l'hypoxie . . . 87
F.3.2 Capacité de germination du réseau vasculaire . . . 89
F.4 Conclusion . . . 89

*G. Modélisation de la prolifération cellulaire* . . . 95
G.1 Détermination des paramètres . . . 95
G.2 Compétition cellulaire . . . 98

*H. Évolution tumorale sous fenêtre dorsale* . . . 103
H.1 Résultats expérimentaux . . . 103
H.2 Modélisation théorique . . . 108
H.2.1 Simulation de la croissance tumorale sous fenêtre dorsale . . . 109
H.2.1.1 Suivi sur 30 jours . . . 109
H.2.1.2 Adaptation de l'émission du VEGF . . . 113
H.2.2 Évolution de la population cellulaire . . . 116
H.2.3 Évolution du réseau vasculaire . . . 117
H.2.3.1 Angiogenèse . . . 117
H.2.3.2 Adaptation vasculaire . . . 117
H.2.4 Conclusion . . . 120

*I. Effets de la thérapie* . . . 125
I.1 Cas des cytotoxiques . . . 125
I.1.1 Variation du dosage . . . 126
I.1.2 Variation de la durée d'injection . . . 127
I.1.3 Variation de la fréquence des injections . . . 128
I.1.4 Choix du protocole pour l'injection d'une quantité fixée de molécules . . . 129
I.1.4.1 Variations dose-fréquence à durée d'injection fixée . . . 129
I.1.4.2 Variation dose-durée d'injection à fréquence fixée . . . 132
I.2 Effets des VDAs . . . 135
I.2.1 Adaptation vasculaire suite à une injection de VDAs . . . 138
I.2.2 Reprise de la croissance tumorale suite à l'injection . . . 139

*Conclusions et perspectives* 141

*Annexe* 145

*A. L'algorithme de gestion des aspects multi-échelles* . . . 147

*B. Détection des segments de vaisseaux non perfusés* . . . 151

*C. Extraction du chemin des vaisseaux à partir des images binaires* . . . 155

*D. Article : On the importance of the submicrovascular network in a computational model of tumour growth* . . . 159

# INTRODUCTION

Le cancer est une cause majeure de décès dans le monde. Ainsi, en France, il est la première cause de mortalité chez l'homme (33% des décès) et la deuxième chez la femme (24% des décès). De plus, cette maladie est également la première cause de décès (chez les moins de 65 ans) pour les deux sexes [1]. Selon le type et la localisation de la tumeur, les chances de survie du patient peuvent varier énormément. La survie peut également varier selon l'âge du patient ou le stade de la tumeur au moment du diagnostic. Pour mesurer ces chances, la survie nette, c'est à dire la survie fictive que l'on observerait si le décès des patients était forcément lié au cancer, est souvent utilisée. Le taux de survie net à 10 ans peut varier de 1 à 93% selon les types de cancer. Ainsi, pour ne citer que les cancers les plus courants, le taux de survie net à 10 ans entre 1989 et 2007 était de 76% pour le cancer du sein, de 70% pour le cancer de la prostate, de 52% pour les femmes et 48% pour les hommes pour le cancer du côlon-rectum, et de 12% pour les femmes et 9% pour les hommes pour le cancer du poumon. D'énormes progrès sont donc encore à faire pour comprendre et traiter cette maladie dont l'issue est trop souvent fatale.

La recherche contre le cancer a énormément progressé au cours de ces 10 dernières années. Cependant les découvertes les plus récentes montrent à quel point le développement tumoral peut devenir encore plus complexe lorsqu'une thérapie est appliquée. La capacité d'adaptation des cellules tumorales est en effet remarquable et les mécanismes que la cellule emploie pour échapper au traitement sont inattendus et continuent d'être largement sous-estimés. Ainsi, même si la panoplie des armes thérapeutiques n'a cessé de se diversifier, il reste difficile d'en faire un usage optimisé voir pertinent, c'est à dire qui anticipe et gère les conséquences du couplage de plusieurs thérapies et en particulier de plusieurs types de molécules. Une approche intégrée telle que l'autorise la modélisation théorique est plus que jamais nécessaire pour gérer la complexité du problème et pour rationaliser et optimiser l'utilisation et les couplages entre les différents moyens d'action thérapeutique.

Un modèle expérimental classiquement utilisé pour tester de nouvelles molécules est le dispositif de fenêtre dorsale fixé sur le dos d'une souris, dans laquelle est implantée une micro tumeur. Ce modèle permet d'observer par imagerie intravitale le développement de la tumeur et de sa vascularisation, ainsi que les effets d'une variété de molécules (cytostatiques, cytotoxiques, anti-angiogéniques ou antivasculaires).

L'objectif de cette thèse a été de construire un modèle conçu pour décrire l'évolution tumorale telle qu'observée sous une fenêtre dorsale sur la souris, dans le but de disposer d'un outil numérique suffisamment fiable pour tester les effets des thérapies. Le modèle doit donc intégrer les interactions entre la croissance tumorale et le développement vasculaire. Il doit par conséquent modéliser les effets des substances émises par la tumeur qui induisent le développement vasculaire, ainsi que la diffusion dans les tissus de l'oxygène et des agents thérapeutiques transportés par les vaisseaux. Ce travail s'inscrit dans le cadre du projet CATS pour « Computer-Assisted Therapeutic Strategy »

dont l'ambition est de développer une tumeur virtuelle, clone numérique d'un modèle expérimental, afin de tester et d'optimiser de nouveaux protocoles (couplages) thérapeutiques.

La thèse est articulée en trois parties. Dans la partie I, l'état de l'art de la discipline est présenté. Tout d'abord, chapitre A, les mécanismes biologiques de la croissance vasculaire et tumorale sont détaillés. Ce chapitre s'attarde en particulier sur les différents mécanismes de développement et de remodelage vasculaire qui ont lieu dans le tumeur. Le chapitre B présente les différents modèles mathématiques de développement vasculaire et tumoral. Plusieurs modèles allant du continu au discret et qui décrivent la croissance tumorale et l'évolution du réseau vasculaire y sont présentés et comparés. Le chapitre C expose les différentes thérapies existantes et différents modèles qui simulent les effets des molécules thérapeutiques.

Dans la partie II, les modèles et méthodes utilisés dans cette thèse sont présentés. D'abord, chapitre D, le modèle expérimental de la fenêtre dorsale est détaillé, ainsi que la technique de segmentation des réseaux vasculaires des images obtenues par ce procédé. Ensuite, chapitre E, notre modèle computationnel est présenté. Il s'agit d'un modèle multi-physique et multi-échelle couplant un module de croissance tumorale à un module d'évolution vasculaire présentés indépendamment.

Enfin, la partie III présente les résultats obtenus à partir du modèle. Dans le chapitre F, la question de la manière de prendre en compte dans le modèle le réseau submicrovasculaire (capillaires) est abordée. Puis, le chapitre G s'attarde sur différents aspects de la prolifération cellulaire dans notre modèle. Il explique le choix des paramètres pour la division cellulaire et aborde les aspects de compétitions entre cellules selon leur vitesse de prolifération. Le chapitre H présente des résultats expérimentaux du développement tumoral sous fenêtre dorsale, ainsi que des simulations numériques avec lesquelles ils sont mis en relation. Ce chapitre insiste sur l'adaptation vasculaire qui a lieu sous l'effet de la tumeur. Enfin, dans le chapitre I, différentes thérapies cytotoxiques et anti-vasculaires sont testées par la simulation numérique.

# Première partie

# ÉTAT DE L'ART

# A. LES MÉCANISMES DE CROISSANCE VASCULAIRE ET TUMORALE

## Sommaire


**A.1 Le développement d'une tumeur** . . . . . **15**
**A.2 Les principes de l'adaptation vasculaire** . . . . . **16**
A.2.1 Remodelage vasculaire . . . . . 16
A.2.2 Angiogenèse . . . . . 16
**A.3 La croissance tumorale** . . . . . **19**
A.3.1 Le cycle cellulaire . . . . . 19
A.3.2 Le cas particulier des cellules tumorales . . . . . 21


## *A.1 Le développement d'une tumeur*

Une tumeur se développe à partir de quelques cellules qui se divisent très rapidement (figure A.1a). Ces cellules sont en conséquence grandes consommatrices d'oxygène et de nutriments et vont alors rapidement manquer de ressources en se divisant. Elles entrent alors dans un état quiescent, où elles réduisent drastiquement leur métabolisme et ne se divisent plus. Ces cellules hypoxiques émettent des facteurs de croissance, tel que le VEGF, qui va induire le développement de nouveaux vaisseaux qui vont à nouveau les alimenter (figure A.1b)[2]. La tumeur est alors vascularisée. Certaines cellules retournent à l'état prolifératif où elles peuvent se diviser, et la tumeur peut continuer ainsi son développement (figure A.1c). On appelle ce processus de vascularisation l'angiogenèse, sans lequel la tumeur ne peut se développer au delà de quelques millimètres [3].

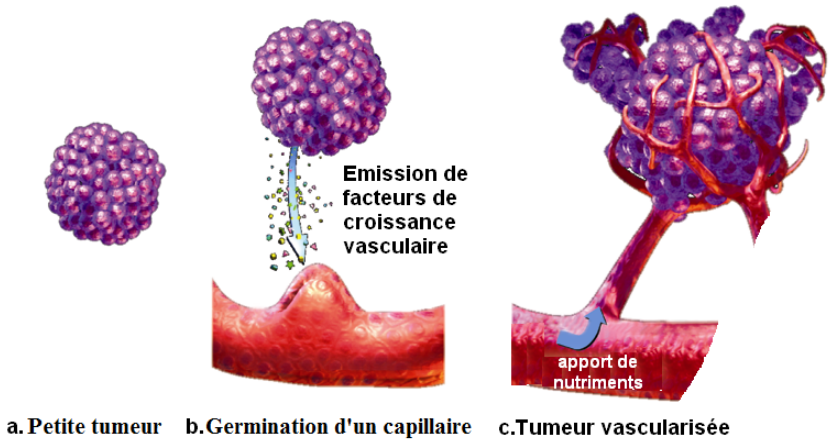



*Fig. A.1:* L'angiogenèse et la croissance tumorale qu'elle favorise (**Source :** wwww.angioworld.com)

## A.2 Les principes de l'adaptation vasculaire

### A.2.1 Remodelage vasculaire

Lorsqu'une tumeur se développe dans un tissu sain vascularisé, elle emprisonne les vaisseaux se trouvant dans ce tissu. Les vaisseaux cooptés dans la tumeur émettent une angiopoïétine, Ang2 [4–9]. Cette protéine entre en concurrence avec l'angiopoïétine émise par les cellules péri-endothéliales [10], Ang1, pour se lier avec le récepteur Tie2 des cellules endothéliales constituant la paroi des vaisseaux [4, 6, 10]. Contrairement à Ang1, la protéine Ang2 n'active pas le récepteur Tie2, et inhibe ainsi l'effet stabilisant de l'angiopoïétine Ang1 sur les vaisseaux [4, 10]. Les cellules péri-endothéliales (péricytes, cellules musculaires lisses...) et de la matrice extra-cellulaire se désolidarisent alors de l'endothélium et les liaisons entre les cellules endothéliales composant cette couche se délitent [10–13].

En conséquence, les différentes cellules des vaisseaux sont plus susceptibles de proliférer, de migrer, et de mourir par apoptose en réponse aux facteurs de croissance générés localement et aux différents stimuli hémodynamiques s'exerçant sur la paroi de ces vaisseaux [12, 14]. Certains vaisseaux régressent alors, et d'autres vont voir leur diamètre s'adapter (constriction ou dilatation). Ce mécanisme est appelé le remodelage vasculaire [15].

En particulier, lorsque des contraintes mécaniques comme la tension de cisaillement exercée par le flux sanguin sur les parois des vaisseaux sont faibles, cela diminue l'expression des molécules d'adhésion cellulaires. La déstabilisation et le délitement de l'endothélium sont alors favorisés, ce qui mène à l'effondrement des vaisseaux [16]. Les cellules vasculaires meurent alors par apoptose[17]. D'autre part, les vaisseaux se contractent ou se dilatent selon les variations des contraintes hémodynamiques que sont le flux sanguin, la tension de cisaillement et la pression transmurale [16–18]. Le VEGF favorise également le détachement des cellules péri-endothéliales (ou péricytes) et la croissance circonférentielle des vaisseaux grâce à l'incorporation de cellules tumorales dans la paroi vasculaire observée dans certains types de tumeurs (section A.2.2) [6, 13, 19].

### A.2.2 Angiogenèse

La tumeur, en se développant, détruit le réseau submicrovasculaire qui assure l'oxygénation physiologique et homogène du tissu. Les cellules tumorales qui prolifèrent anormalement sont rapidement à court de ressources et deviennent hypoxiques. Cet état d'hypoxie déclenche la production de protéines HiF, qui eux-mêmes vont stimuler la production de facteurs de croissances qui vont stimuler l'angiogenèse.

Le VEGF-A est généralement un des facteurs les plus importants dans la croissance vasculaire [20–22]. Son émission par les cellules tumorales est déclenchée par le manque d'oxygène (hypoxie), et le manque de nutriments, en particulier le manque de sucre (hypoglycémie) [23]. Cette protéine fait partie de la famille des VEGF (vascular endothelial growth factor) qui sont des facteurs de croissance de l'endothelium vasculaire. C'est la seule protéine de cette famille qui agit principalement dans l'angiogenèse tumorale. Les autres se distinguent surtout dans le développement fœtal (VEGF-B), la croissance des vaisseaux lymphatiques qui drainent le liquide interstitiel des tissus (VEGF-C et D) ou celle du placenta (PIGF). D'autres types de VEGF existent sous forme virale (VEGF-E), ou dans le venin des serpents (VEGF-F) [23, 24].

Le VEGF-A existe en 9 isoformes différents issus d'un même gène, dont la plus abondante est le VEGF-$A_{165}$ [23]. Elle se lie essentiellement aux récepteurs à activité tyrsosine kinase VEGFR-1 (appelé aussi Flt-1) et VEGFR-2 (ou KDR), présents entre autres sur les cellules endothéliales. Le VEGF a des affinités différentes avec le récepteur selon l'isoforme. Ainsi, par exemple, le VEGF-$A_{165}$ a une affinité dix fois plus grande avec le récepteur VEGFR-1 qu'avec le récepteur VEGFR-2 [23]. La régulation de la germination de nouveaux vaisseaux à partir des vaisseaux existants se fait essentiellement grâce au récepteur VEGFR-2 [23, 25].

Le VEGF-A va à la fois agir sur la perméabilité des vaisseaux et sur la prolifération et la migration des cellules endothéliales. Ainsi, il va distendre les liens entre les différentes cellules de la paroi endothéliale rendant cette paroi plus perméable [10, 23]. Pour cette raison, le VEGF-A est aussi parfois appelé VPF. Sous l'action de ce stimulus, les cellules endothéliales vont également sécréter des enzymes (les métalloprotéases) qui vont dégrader la membrane basale autour de l'endothélium constituée de différentes cellules péri-endothéliales telles que les péricytes [6, 10]. Cela facilite alors la germination de néovaisseaux à partir de cellules endothéliales issus de la prolifération ou de la migration de cellules des vaisseaux existants [6, 10, 23].

L'angiopoïétine2 a également une incidence sur les liens entre les cellules (section B.2.4). Sa présence dans la tumeur peut faciliter la germination vasculaire induite par le VEGF [4, 9, 10]. Toutefois, dans certaines tumeurs telles que les tumeurs cérébrales, l'action du VEGF permet une croissance circonférentielle des vaisseaux plutôt que leur germination. Ce changement de mode est induit par l'expression de molécules telles que le récepteur EphB4 et de son ligand ephrin2 par les cellules endothéliales de ces tumeurs [26].

Des cellules de vaisseaux existants peuvent alors devenir des germes initiateurs d'un nouveau vaisseau (figure A.2). Les cellules endothéliales qui forment les germes prolifèrent et migrent alors vers la source de VEGF pour former des vaisseaux qui pourront alimenter en oxygène et en nutriments les cellules émettrices [27]. La dégradation de la matrice extracellulaire par les métalloprotéase matricielles (MMP) influe également sur la formation de ces vaisseaux [28]. Ces protéases MMPs sont sécrétées par les cellules endothéliales et les cellules tumorales en migration. Les vaisseaux en formation ont en effet plus de facilité à poursuivre leur progression dans un environnement où les fibres de la matrice extra-cellulaire ne sont pas dégradées. Certaines MMPs peuvent également stimuler l'action du VEGF. Mazor et col. ont ainsi récemment mis en évidence qu'un des types de MMPs, MMP-1, augmentait la présence de récepteurs VEGR-2 sur les cellules traitées [29]

La néovascularisation par le VEGF aboutit à un réseau vasculaire désorganisé et très perméable. Il a longtemps été pensé que ces vaisseaux ne se stabilisaient pas car ils ne recrutaient pas de péricytes ou de cellules musculaires lisses (VSMCs) [30], car le VEGF n'agit que sur les cellules endothéliales. Cependant, le recrutement de ces cellules a bien été observé sur les néovaisseaux [13, 31, 32]. Celui-ci est induit par la présence de plusieurs facteurs de croissance tels que PDGF-B, S1P, Ang1, TGF-$\beta_1$ [33]. Il peut être facilité dans la tumeur grâce à l'action de métalloprotéases qui y sont produites [33, 34].

D'autres facteurs de croissance agissent sur le développement vasculaire tumoral comme le NOS, le PDGF ou le FGF [35]. Le facteur de croissance vasculaire FGF est une protéine sécrétée principalement par les fibroblastes présents dans les tissus, qui induit également l'angiogenèse. Le type de FGF présent dans les tumeurs est le FGF-2 (ou bFGF) [34–36]. Il est surtout sécrété dans

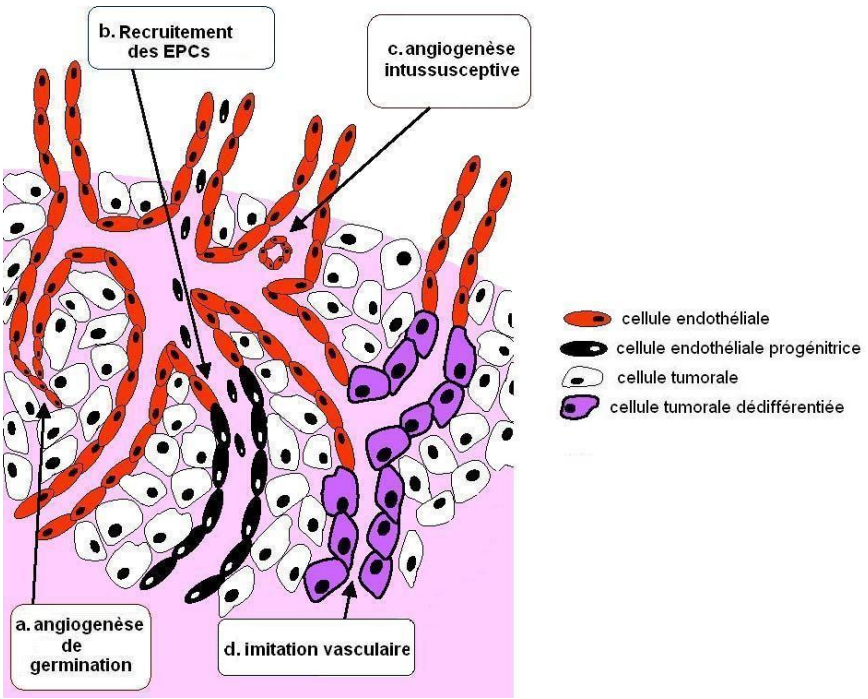



*Fig. A.2:* Schéma résumant les différents mécanismes de vascularisation indépendants. a. Angiogenèse grâce à la prolifération et la migration des cellules endothéliales des vaisseaux existants. b. Angiogenèse grâce au recrutement de cellules endothéliales progénitrices fabriquées par la moëlle osseuse. c. Intussusception de 2 vaisseaux pour n'en former qu'un seul. d. Vaisseau composé uniquement de cellules tumorales D'après Hillen et col.(2007)[8]

les tumeurs hautement vascularisées et à un stade avancé et induit un réseau vasculaire plus stable qu'avec le VEGF, car il agit également sur la prolifération des péricytes et des VSMCs [34, 37]. Bien que le PDGF-B est surtout un facteur de croissance des péricytes et des VSMCs, il peut également induire l'angiogenèse. Le PDGF-BB et le FGF-2 sont souvent coexprimés dans les mêmes tumeurs et agissent en synergie [34].

Des nouveaux vaisseaux peuvent également se développer en recrutant d'autres cellules que les cellules endothéliales des vaisseaux existants. Ainsi, depuis 1997 [38], il est généralement accepté que des néovaisseaux peuvent se former grâce au recrutement de cellules endothéliales progénitrices (EPC) dérivées de la moëlle osseuse et circulant dans le sang (figure A.2b). Ces cellules expriment alors un grand nombre des marqueurs spécifiques des cellules endothéliales comme VEGFR-2 ou Tie2 [8], bien qu'elles n'aient pas les mêmes marquages génétiques que les cellules endothéliales [39]. A l'intérieur de la tumeur, les cellules tumorales dédifférenciées en un phénotype endothélial peuvent également être recrutées pour la formation des néovaisseaux (figure A.2d). Les cellules tumorales peuvent constituer alors totalement (imitation vasculaire) ou partiellement (vaisseau mosaïque) la paroi du nouveau vaisseau [6, 8, 40]. Ce phénomène est surtout présent dans les tumeurs les plus agressives.

Enfin, de nouveaux vaisseaux peuvent être créés par intussusception (figure A.2c). Ce processus consiste en la réorganisation des cellules endothéliales d'un vaisseau pour former deux vaisseaux parallèles provenant et aboutissant aux mêmes nœuds. Il est engendré par le contact entre les parois intérieures d'un vaisseau [6, 8]. La double couche de la paroi endothéliale est alors perforée,

puis la colonne entre les deux vaisseaux est formée et est envahie par les péricytes et les fibroblastes pour former des vaisseaux distincts [6, 8].

## A.3 La croissance tumorale

Les tumeurs résultent d'une prolifération anormale de cellules, qui se divisent en suivant des cycles cellulaires rapides. Dans cette section, je vais d'abord présenter le cycle cellulaire et les mécanismes qui le régule. Puis, je vais m'attarder sur l'altération de ces mécanismes, et sur les différents facteurs qui influent sur le développement tumoral.

### A.3.1 Le cycle cellulaire

Les cellules de l'organisme qui peuvent se diviser suivent un cycle cellulaire constitué de différentes phases. Ce cycle aboutit généralement à la division de la cellule en deux cellules filles. La mort cellulaire peut cependant survenir en cas de lésion irréparable de la cellule ou de son ADN, de vieillesse, ou de division cellulaire impossible. Le cycle cellulaire est divisé en quatre phases [41, 42] :

- La phase $G_1$ est la première phase du cycle, pendant laquelle la cellule accroit sa taille. Une cellule a la possibilité de rentrer dans une phase de quiescence $G_0$ lors de cette phase, et ce jusqu'à la désactivation d'un point de restriction situé en phase $G_1$ [43–45]. Celle-ci est induite par les facteurs de croissance spécifiques (GFs) qui peuvent être synthétisés dans l'environnement extra-cellulaire suivant les conditions du milieu. En effet, ces facteurs de croissance induisent la production de cycline D par la cellule. Cette cycline se lie alors avec les protéines kinases CDK4 et 6 [44, 46]. Le complexe cycline D/CDK4-6 peut ensuite phosphoriler les protéines Rb qui gardent le point de réplication, ou les protéines Rb1/p107 et Rb2/p130 qui partagent les mêmes caractéristiques que Rb [44, 45, 47]. La phosphorilation est l'ajout d'un groupement phosphate à une protéine pour changer ses propriétés. Elle permet donc la désactivation du point de restriction. Les complexes cycline D/CDK4-6 peuvent aussi se lier aux protéines p27 qui les inhibent [46].
  Sous l'effet de la protéine Rb phosphorilée, la cellule émet de la cycline E qui se lie avec des protéines kinases CDK2, ce qui phosphorise également les protéines Rb et initie la réplication de l'ADN [44, 45, 48]. Ce complexe peut également se lier avec des protéines inhibitrices, comme la protéine p21 induite par l'action de la protéine p53 et qui inhibe le complexe [49]. De la cycline A est ensuite synthétisée pour permettre la réplication de l'ADN en phase S [44].
- La phase $S$ est donc la phase pendant laquelle l'ADN de la cellule se réplique, de façon à ce que les deux cellules filles possèdent une copie du génome quand la cellule se divise
- La phase $G_2$ est une phase courte durant laquelle la synthèses des protéines s'effectuent pour préparer la mitose. La cellule grossit encore et l'ADN finit de se répliquer.
- la phase $M$, ou mitose, est la phase ou s'opère la division cellulaire

Des points de contrôle, situés à chaque phase du cycle cellulaire, déterminent si la cellule peut continuer sa progression [41, 42, 44]. Par exemple, la croissance de la cellule est contrôlée, en particulier en phase $G_1$. Cela permet de s'assurer du doublement de sa taille. Cette vérification permet d'éviter que les cellules filles ne deviennent de plus en plus petites au fil des divisions [44]. Trois points de contrôle sont présents au cours du cycle cellulaire

- Le premier point de contrôle se situe en phase $G_1$ et vérifie qu'il n'y a pas d'anomalies dans les constituants cellulaires à dupliquer.

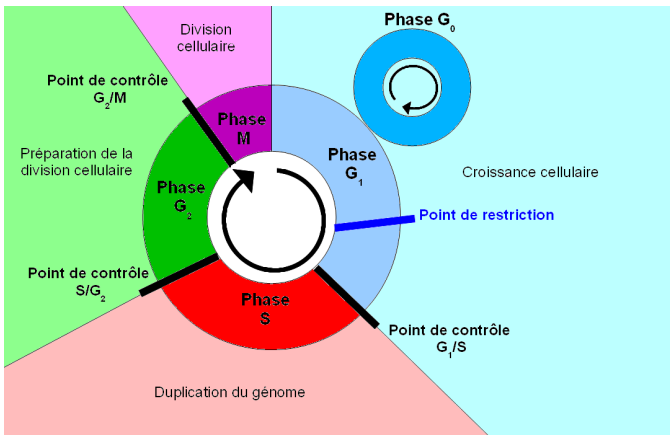



*Fig. A.3:* **Le cycle cellulaire et ses points de contrôle.** Les 4 phases du cycle cellulaire ($G_1$, $S$, $G_2$ et $M$) sont représentées, ainsi que la phase de quiescence $G_0$. L'utilité de chaque phase du cycle est rappelée et les différents points de contrôle à la fin des cycles $G_1$, $S$ et $M$, qui déterminent si la cellule est prête à continuer son cycle, sont positionnés. En phase $G_1$ se situe un point de restriction au delà duquel aucun passage en phase $G_0$ n'est possible.

- Le deuxième point de contrôle se situe en fin de la phase S. Il est activé quand des dommages de l'ADN sont détectés ou que la réplication de l'ADN est bloquée. L'arrêt du cycle cellulaire à ce point de contrôle peut n'être que temporaire, jusqu'à ce que les anomalies de réplication soient résolues. Dans le cas contraire, la protéine p53, exprimée par le gène du même nom peut provoquer la mort de la cellule par apoptose [41, 50].
- Le troisième point de contrôle se situe entre les phases G2 et M et permet de vérifier que la cellule est prête à rentrer en mitose [41, 42].

Quand une cellule rencontre un environnement peu favorable à sa survie (hypoxie, acidité du milieu), ou quand son ADN présente des dommages irréparables, elle meurt par apoptose ou par nécrose. Le mécanisme de l'apoptose, mis en évidence en 1972 par John Kerr et col. [51], est une autodestruction programmée de la cellule qui permet la destruction du noyau et la destructuration du cytosquelette de la cellule qui est ensuite éliminée par les macrophages. Cela permet d'éviter les risques de contamination du milieu par l'ADN du noyau non détruit qui peut être endommagé [41]. Au contraire, la nécrose se traduit par la libération des composants cellulaires dans le milieu extérieur. Les cellules nécrotiques peuvent par la suite se décomposer et perdre du volume, mais elles ne sont pas évacuées.

Au bout d'un certain nombre de divisions cellulaires, un mécanisme se met en place pour bloquer la duplication [52]. Ce mécanisme s'appelle la sénescence. Il bloque définitivement la cellule en phase G1 [41, 49]. En effet, les réplications successives de l'ADN cellulaire conduisent au raccourcissement progressif des télomères, c'est à dire des régions à l'extrémité des chromosomes [49, 53]. Cela aboutit à des erreurs de réplication de l'ADN après un certain nombre de cycles, ce qui peut engendrer la mort par apoptose. La sénescence dépend de la protéine p53 qui induit la surrégulation d'inhibiteurs de la protéine kinase CDK2, comme la protéine p21 [41, 49].

### A.3.2 Le cas particulier des cellules tumorales

Grâce à la régulation des mécanismes de prolifération cellulaire, le nombre de cellules dans un tissu sain reste constant pour maintenir l'homéostasie, c'est à dire l'équilibre des contraintes. En revanche, une tumeur active est un amas de cellules qui prolifèrent anormalement et perturbent l'équilibre du tissu dont elles font partie [41, 46]. Les cellules tumorales se sont pour cela affranchies (complètement ou partiellement) des mécanismes de régulation des cellules du tissu, comme la quiescence, l'apoptose, ou la sénescence.

Les cellules tumorales peuvent présenter des mutations de gènes régulateurs de la sénescence ou de l'apoptose, qui favorisent la prolifération cellulaire [41, 41, 53–57]. Ainsi, beaucoup de tumeurs présentent une mutation du gène p53 qui régule la mort par apoptose en fin de phase S ainsi que la sénescence [41, 53]. En effet, une erreur de réplication sur ce gène n'entraîne pas la mort par apoptose de la cellule car c'est ce gène qui est lui-même régulateur de ce mécanisme. Une dérégulation des protéines inhibitrices de l'apoptose (cIAPs), comme le BCL-2, peut aussi induire une tumeur [54, 55]. Une mutation du gène Rb est également présente dans la plupart des tumeurs pour inactiver le point de restriction [41, 56, 57].
D'autres protéines peuvent aussi favoriser la prolifération tumorale. Ainsi, dans les glioblastomes, la protéine WIF-1 (Wnt inhibitory factor-1) qui bloque les cellules en phase $G_1$ en inhibant la protéine Wnt qui agit sur la prolifération cellulaire en est un exemple [48, 58]. De même, des modifications de la céramide, un lipide qui prend part à la construction des membranes cellulaires, peut agir sur les mécanismes chimiques entraînant l'apoptose ou la quiescence de la cellule [45].
La reprogrammation de cellules pour lesquelles la sénescence est désactivée permet également d'induire des cellules souches pluripotentes et dédifférentiées qui peuvent se diviser indéfiniment grâce à l'action de télomérases qui allongent les télomères [59].

La croissance tumorale et l'invasion des tissus sains par les cellules malignes peut aussi être facilitée par une dérégulation des mécanismes d'adhésion entre les cellules. En effet, les cellules adhèrent entre elles et avec le milieu qui les entourent. L'adhésion est régulée par des récepteurs surfaciques des cellules comme les intégrines [60]. Ce mécanisme est indispensable à la formation, au maintien et au fonctionnement des tissus. En effet, il empêche le détachement et le déplacement des différentes cellules qui composent les organes. Cependant, dans certains tissus tumoraux, l'adhésion des cellules tumorales est compromise. Ces cellules peuvent alors migrer plus facilement vers des milieux plus favorables ou se déplacer pour favoriser la prolifération cellulaire.

Toutefois, des facteurs environnementaux ralentissent tout de même la croissance tumorale. Ainsi, des régions hypoxiques se forment dans les tumeurs quand la consommation des cellules en oxygène excède l'apport disponible par diffusion des vaisseaux sanguins [61]. Les cellules compensent alors ce manque d'oxygène par une consommation plus élevée de glucose (glycolyse), qui engendre une certaine acidification du milieu extra-cellulaire [62–64].
Les cellules en manque d'oxygène et de nutriments, ou se trouvant dans un milieu trop acide, peuvent temporairement arrêter de se diviser. Ces cellules sont alors en phase $G_0$ qui correspond à l'état quiescent. Si l'état de manque en oxygène et en nutriments est prolongé ou sévère, les cellules peuvent mourir par nécrose [65, 66]. Ce mécanisme est induit par la désintégration de la membrane cellulaire, qui entraîne le déversement du contenu de la cellule dans l'espace extra-cellulaire.
Au contraire, une acidité modérée peut avoir un effet proliératif, invasif, métastatique, et mutationnel sur les cellules tumorales [63, 67]. En effet, les cellules saines sont plus sensibles à l'acidité

que les cellules tumorales, ce qui donne à ces dernières un avantage sélectif. L'acidité peut également favoriser la rupture de la relation entre les cellules tumorales et leur tissu hôte (invasion tumorale). Ces cellules peuvent alors emprunter le réseau vasculaire et lymphatique pour migrer vers d'autres parties du corps et former des métastases.

| Abbréviation | Signification |
|---|---|
| Ang | **Ang**iopoïétine |
| BCL | **B**-**c**ell **l**ymphoma |
| cIAP | **c**ellular **I**nhibitor of **A**poptosis **P**rotein |
| EPC | **E**ndothelial **P**rogenitor **C**ells |
| Ephs | **Eph**rin receptors |
| FGF | **F**ibroblast **G**rowth **F**actor |
| Flt | **Fl**ight **T**racker |
| GF | **G**rowth **F**actor |
| HiF | **H**ypoxia **i**nducible **F**actor |
| KDR | **K**inase insert **D**omain-containing **R**eceptor |
| MMP | **M**atrix **M**etallo**p**roteinase |
| PDGF | **P**latelet **D**erived **G**rowth **F**actor |
| Rb gene | **R**etino**b**lastoma **gene** |
| S1P | **S**phingosine-1-**P**hosphate |
| TIE | **T**yrosine kinase with **I**mmunoglobulin and **E**GF homology domains |
| TGF | **T**umour **G**rowth **F**actor |
| VEGF | **V**ascular **E**ndothelial **G**rowth **F**actor |
| VEGFR | **V**ascular **E**ndothelial **G**rowth **F**actor **R**eceptor |
| VPF | **V**ascular **P**ermeability **F**actor |
| VSMC | **V**ascular **S**mooth **M**uscle **C**ells |
| WIF | **W**nt **I**nhibitory **F**actor |
| Wnt | **W**ingless i**nt**egration site |

*Fig. A.4:* Tableau des abbréviations

# B. LA MODÉLISATION DU DÉVELOPPEMENT TUMORAL

## Sommaire

**B.1 Modélisation de la croissance tumorale . . . . . 23**
B.1.1 Modélisation par des EDPs . . . . . 24
B.1.2 Modélisation par des lignes de niveau . . . . . 25
B.1.3 Modélisation par des automates cellulaires . . . . . 26
**B.2 Modélisation de la vascularisation tumorale . . . . . 28**
B.2.1 Hypoxie et VEGF . . . . . 28
B.2.2 Émission et consommation d'oxygène . . . . . 29
B.2.3 Modélisation de l'angiogenèse . . . . . 29
B.2.3.1 Les modèles continus . . . . . 30
B.2.3.2 Les modèles discrets . . . . . 31
B.2.4 L'adaptation vasculaire . . . . . 33

## *B.1 Modélisation de la croissance tumorale*

Dans les premiers modèles de croissance tumorale, l'évolution de la tumeur, qui dépend de la concentration en nutriments et autres agents dans le milieu, est considérée isotrope [68–73]. La tumeur croît ainsi pour devenir un sphéroïde dont on suit l'évolution du volume au cours du temps. Les concentrations des diverses substances dans le milieu sont mesurées par rapport au centre du sphéroïde selon des modèles simples qui prennent en compte leur émission, leur diffusion et leur consommation par les cellules (ou leur dégradation au cours du temps). Les cellules deviennent quiescentes ou nécrotiques lorsque la concentration des nutriments dans le milieu est faible. Ces premiers modèles mettent parfois en avant l'hypothèse de l'émission d'un agent inhibiteur de la mitose par les cellules tumorales ou nécrotiques [68, 70]. Ceci permet en effet de considérer un plus faible taux de prolifération cellulaire à l'intérieur de la tumeur par rapport à la périphérie. Cependant, cette hypothèse s'avérera par la suite erronée. En effet, les tumeurs sont au contraire souvent caractérisées par une inhibition de ces agents, favorisant ainsi la prolifération cellulaire incontrôlée.

Depuis, l'évolution des connaissances sur le processus de croissance tumorale et le développement de l'informatique ont permis la construction de modèles plus réalistes, qui rendent mieux compte de la complexité des phénomènes impliqués. Ainsi, la vitesse de la prolifération cellulaire peut dépendre dans certains modèles de la concentration en nutriments [65, 74–76]. Par exemple, chez Ribba et col. (2011) [76], les différentes populations de cellules tumorales (proliératives, hypoxiques, nécrotiques) sont représentées de façon compartimentale. L'évolution de la population dans les différents compartiments y est régulée par des taux de prolifération et de changement de type cellulaire qui varient en fonction de l'oxygénation. De tels modèles peuvent suffire pour analyser l'évolution globale des tumeurs de façon simple et pour y introduire la prise en compte

des thérapies, mais ne permettent pas de représenter l'organisation spatiale des cellules dans le tissu tumoral.

### *B.1.1 Modélisation par des EDPs*

Dans les modèles spatios-temporels, il est parfois considéré qu'une forte densité cellulaire est un obstacle à la division des cellules [77, 78]. Les cellules ont en effet moins de place pour se diviser quand la densité de cellules est forte. De plus, le contact entre les cellules peut avoir un effet inhibiteur sur la division cellulaire, comme c'est le cas pour les cellules saines [79]. Certains travaux prennent également en compte la compétition entre les différents types de cellules (sains, tumoraux, vasculaires ...) et les éléments de la matrice extracellulaire [78, 80–85]. Ces différentes composantes doivent en effet se partager le même espace.
La population des cellules tumorales peut également être divisées suivant les phases de cycle pour considérer l'impact du cycle sur l'évolution de la tumeur [83, 86, 87]. De plus, dans certains modèles, le passage à l'état quiescent de cellules proliératives n'est considéré qu'à un instant précis du cycle cellulaire, comme juste après la division [88–90] ou alors à un certain âge qui peut correspondre à la fin de la phase $G_1$ [83, 86, 87]. Dans quelques rares modèles comme chez Brikci et al. (2008) [46], le point de restriction est considéré explicitement dans la phase $G_1$. Dans ce modèle, la probabilité de passage en quiescence des cellules dépend de leur niveau de cycline D, et l'atteinte d'un certain seuil provoque le franchissement du point de restriction [91, 92]. Cela nécessite de modéliser explicitement ces niveaux en cycline, et comment ceux-ci sont affectés par l'environnement cellulaire.

Le déplacement des cellules dans l'espace est lui aussi parfois pris en compte [65, 77, 80–82]. Ce déplacement peut être représenté par un terme diffusif, qui permet l'uniformisation de la densité des cellules tumorales au cours du temps [77]. La population $P$ de ces cellules évolue alors de la façon suivante :

$$\frac{\partial P}{\partial t} - D\nabla^2 P = F(P) \tag{B.1}$$

où $D$ est le coefficient de diffusion et $F(P)$ est l'évolution de la population et traduit le bilan entre la prolifération et la mort cellulaire. Cette fonction peut donc dépendre de la concentration en nutriments et de la présence d'autres types cellulaires.

Le déplacement peut également être composé d'un terme convectif [65, 77, 80–82, 87, 93]. L'évolution de la population $P$ des cellules tumorales a alors la forme suivante :

$$\frac{\partial P}{\partial t} + \nabla(\vec{v}P) = F(P) \tag{B.2}$$

où $\vec{v}$ est la vitesse de déplacement des cellules tumorales. Un gradient de densité cellulaire ou matricielle dans le tissu, un gradient chimique (chimiotaxie), et la pression dans le milieu peuvent influer sur le déplacement des cellules. Une composante chimiotactique de la vitesse a alors la forme suivante :

$$\vec{v}_{chimio} = \gamma \nabla C \tag{B.3}$$

où $C$ est la concentration de molécules chimiques et $\gamma$ est un coefficient caractérisant la migration chimiotactique. La réponse au gradient chimiotactique est parfois accentuée pour les cellules quiescentes [65, 80]. En effet, la quiescence peut favoriser l'expression de certains gènes favorisant

la migration cellulaire, comme le gène COX-2 [94].

Ces modèles ont l'avantage de considérer à la fois l'impact de la densité cellulaire et de la migration des cellules sur l'évolution tumorale. Cependant, de part la complexité de ces modèles, la spatialisation est souvent limitée à une description unidimensionnelle par rapport à la distance au centre de la tumeur, et l'évolution spatiale de ces tumeurs est rarement représentée graphiquement.

### *B.1.2 Modélisation par des lignes de niveau*

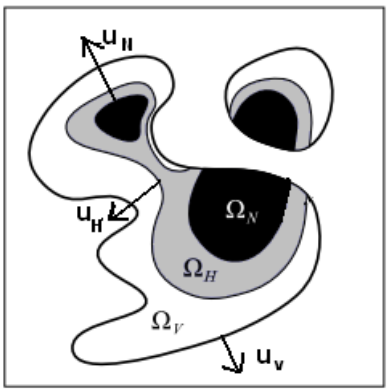



*Fig. B.1:* Tumeur modélisée par la méthode des lignes de niveaux. $\Omega_V$, $\Omega_H$ et $\Omega_N$ sont respectivement les domaines des cellules proliératives, quiescentes et nécrotiques. $u_V$, $u_H$ et $u_N$ sont les vitesses à un point de la limite de chacune de ces régions au temps considéré. Image adaptée de Macklin et col. [75].

La prolifération et la migration des cellules tumorales peuvent également être modélisées par la méthode dite des lignes de niveau (ou level-set) [74, 75, 95, 96]. Comme décrit figure B.1, la masse tumorale est alors divisée en plusieurs régions, une pour chaque état cellulaire (proliératif, quiescent, nécrotique...). Le mouvement cellulaire dans chacune de ces phases est assimilé à celui d'un fluide incompressible. Ainsi, le gradient de vitesse $\nabla\mathbf{u}$ en chaque point répond aux équations suivantes :

$$\begin{cases} \nabla\mathbf{u} = \lambda_M(C) - \lambda_A & \text{pour la région proliférative} \\ \nabla\mathbf{u} = 0 & \text{pour la région hypoxique éventuelle} \\ \nabla\mathbf{u} = -\lambda_N & \text{pour la région nécrotique} \end{cases} \tag{B.4}$$

avec $\lambda_M(C)$ est le taux de prolifération par rapport au temps qui dépend de la concentration $C$ en nutriments, $\lambda_A$ est le taux d'apoptose et $\lambda_N$ le taux de perte volumique des cellules nécrotiques. En effet, ces cellules se désintègrent et déversent leur contenu à l'extérieur de leur membrane, ce qui provoque cette perte de volume. L'interface $\sum$ entre la tumeur et le tissu sain est alors définie comme le niveau 0 d'une fonction lisse $\Phi$ au cours du temps ($\sum = \{\mathbf{x}|\Phi(\mathbf{x},t) = 0\}$). Cette fonction $\Phi$ vérifie en tout point de l'espace et du temps l'équation :

$$\frac{\partial\Phi}{\partial t} + \mathbf{u}\nabla\Phi = 0 \tag{B.5}$$

où $\mathbf{u}$ est la vitesse au point et au temps considéré et $\nabla\Phi$ est le gradient de $\Phi$, normal à l'interface. Les limites des régions de nécrose et d'hypoxie dans la tumeur évoluent quant à elles en

fonction de la distribution des nutriments dans l'espace. Elles délimitent ainsi les zones où les cellules de la tumeur ne peuvent pas être proliférations, ou viables, à cause du manque de nutriments. Les vitesses et les pressions tumorales dans l'ensemble du modèle sont ensuite déterminées grâce à des conditions fixées aux limites des régions tumorales ou de la zone de simulation. Ainsi par exemple, la vitesse est continue à travers les interfaces entre les différents états cellulaires sains ou tumoraux. Il en est de même pour la pression, excepté à l'interface entre la tumeur et le tissu sain.

Ces modèles permettent une modélisation assez précise de l'évolution tumorale. Toutefois, ils ne permettent pas de prendre en compte des variations de densité cellulaire dans la tumeur, ni de considérer chaque cellule dans son individualité (phénotype).

### *B.1.3 Modélisation par des automates cellulaires*

L'utilisation d'un automate cellulaire pour décrire la croissance tumorale fut introduite pour la première fois en 1980 par Düchting et Dehl [97], et permet de considérer individuellement chaque cellule, et donc de prendre en compte des paramètres qui lui sont propres comme son âge, sa résistance aux thérapies, la durée de son cycle cellulaire, ou la phase du cycle dans laquelle elle se trouve.

L'espace de simulation est alors partitionné en éléments, dans lesquels peuvent prendre place généralement une et parfois même plusieurs cellules. Cette partition peut être une grille, souvent hexagonale ou carrée [18, 66, 98–105] mais peut également être un diagramme de Voronoï généré à partir d'un nuage de points sources [106, 107]. Cette dernière partition consiste à associer chaque point de l'espace à l'élément correspondant au point source dont il est le plus proche, et présente l'avantage de permettre la création d'un espace de densité cellulaire non uniforme en choisissant en conséquence la loi de génération des points sources. La partition de Voronoi est fixée au cours du temps.

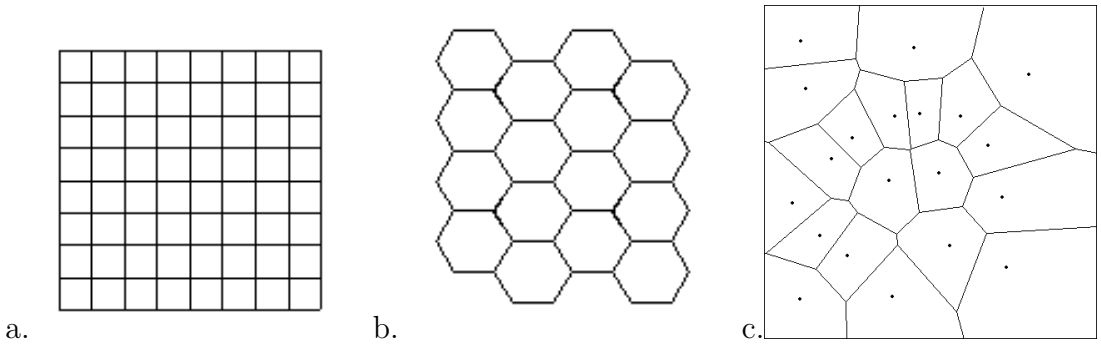



*Fig. B.2:* Partition de l'espace pour y positionner les différentes cellules. a. Grille carrée b. Grille hexagonale c. Diagramme de Voronoi.

La population de cellules évolue alors à partir d'un état initial suivant des lois prenant en compte des conditions environnementales (espace disponible, oxygénation...) ou spécifique à l'état de la cellule (phénotype, phase du cycle...). Ainsi, les cellules composant l'automate peuvent mourir par apoptose ou par nécrose lorsque la présence en nutriments dans le milieu est considérée comme trop faible [62, 66, 98, 103–105, 108]. La mise en état de quiescence des cellules quand le manque d'oxygène est modéré peut aussi être considérée [62, 66, 98, 103–105]. Dans cet état, les

cellules ne se divisent plus. Elles retournent dans un état prolifératif lorsque l'oxygénation du tissu s'améliore, ou meurent lorsque la teneur en oxygène s'appauvrit trop ou que l'état quiescent se prolonge [66, 98, 104, 105]. Un passage à l'état quiescent selon l'acidité du milieu peut aussi être considéré [62].

La prolifération des cellules dépend également du cycle cellulaire et de l'encombrement de l'espace environnant. Ainsi, dans de nombreux modèles d'automates cellulaires, chaque cellule évolue dans le cycle cellulaire et ne se divise qu'à la fin de ce cycle [98, 101, 103–105, 108]. Une des cellules filles prend alors la place de la cellule mère et l'autre occupe un élément libre adjacent dans la grille de l'automate. Lorsqu'aucun des éléments adjacents n'est libre, un déplacement d'un ensemble de quelques cellules peut parfois être considéré dans une direction donnée pour combler un espace vide proche et permettre la division de la cellule [106] (figure B.3). Ce déplacement se fait de façon à combler l'élément vide le plus proche, qui est recherché dans un rayon limité autour de la cellule qui se divise. S'il n'y en a pas, la cellule ne se divise pas et il est alors parfois considéré qu'elle acquiert un état quiescent [101, 109] ou qu'elle meurt par apoptose [98, 104, 105].

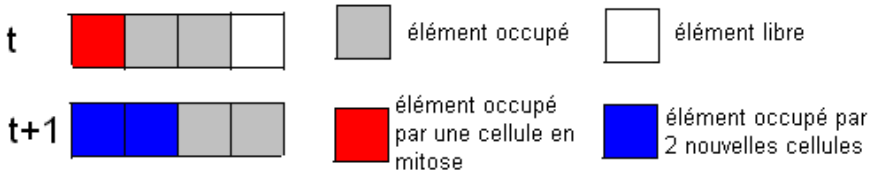



*Fig. B.3:* Déplacement de cellules pour permettre la division d'une autre cellule

Cependant, ces règles de division en fonction du cycle cellulaire et de l'espace disponible peuvent introduire des biais géométriques dans la croissance tumorale [97, 98]. En effet, les règles peuvent favoriser certaines directions dans l'espace ce qui peut induire des tumeurs de forme carrée ou hexagonale (section E.3). Ainsi, pour s'affranchir de ces règles, de nombreux modèles d'automates cellulaires récents ne considèrent pas le cycle cellulaire. Généralement, les éléments libres adjacents à des cellules tumorales proliferatives présentent alors une certaine probabilité de se retrouver occupés par une cellule de ce type au bout d'un pas de temps fixé [7, 18, 66, 110, 111]. Cette probabilité peut dépendre de l'oxygénation de l'élément ainsi que de contraintes mécaniques environnementales [111].

Dans de tels modèles d'automates cellulaires, les cellules peuvent également migrer dans des éléments vides adjacents, vers une zone à meilleurs apports nutritifs [103, 112] ou de façon aléatoire (par diffusion) [108]. Chez Jiao et Torquato (2012) [113], la dégradation de la matrice extracellulaire indispensable à la migration est considérée dans le modèle.

Différents types cellulaires peuvent coexister dans ce type de modèle. Ainsi, bien qu'un grand nombre de modèles ne considère les cellules saines que de façon implicite comme occupant les éléments dits "vides", certains travaux les prennent en compte explicitement [62, 102, 108, 109, 114, 115]. Les cellules saines et tumorales sont alors en compétition pour occuper l'espace. Dans ces modèles l'apoptose des cellules saines les moins oxygénées au voisinage de cellules tumorales augmente. Ceci est expliqué par la baisse du taux de protéines p53 nécessaires à l'apoptose des

cellules saines dans un environnement tumoral. En effet, cette protéine est présente en grande quantité dans les cellules hypoxiques [116], les rendant plus susceptibles de mourir par apoptose, tandis que la réaction des cellules tumorales face à p53 est inhibée. La présence dans un même modèle de cellules souches qui prolifèrent indéfiniment ainsi que d'autres cellules ne pouvant subir qu'un nombre fini de division peut aussi être considérée [112].

L'immense avantage des modèles utilisant des automates cellulaires pour modéliser la croissance tumorale est de considérer chaque cellule de manière individuelle, et de prendre ainsi en compte ses propres particularités. Ils sont par conséquent très utiles pour modéliser les premières étapes de la croissance tumorale, lorsque la tumeur à un rayon de quelques millimètres et ne comporte qu'un faible nombre de cellules. D'autres méthodes, comme celle des lignes de niveau, sont cependant préférées pour modéliser l'évolution tumorale à plus grande échelle, lorsque la population tumorale se compte en millions de cellules.

## B.2 Modélisation de la vascularisation tumorale

### B.2.1 Hypoxie et VEGF

Les cellules tumorales hypoxiques émettent un facteur de croissance pour induire le développement de nouveaux vaisseaux sanguins à partir de vaisseaux préexistants. Ce processus s'appelle l'angiogenèse. Ce facteur de croissance est souvent assimilé au VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor). Sa production par les cellules tumorales est déclenchée à partir d'un certain seuil d'hypoxie qui varie selon les types de cellules [7, 66, 90, 99, 100, 117]. Dans certains modèles, il est considéré que la cellule hypoxique doit être à l'état quiescent pour émettre ce facteur [90, 117]. Ainsi les cellules hypoxiques ne produisent pas instantanément du VEGF, ce qui laisse le temps aux cellules d'adapter leur fonctionnement aux nouvelles conditions environnementales. L'évolution de la concentration $V$ du VEGF dans le tissu se fait généralement en prenant en compte son émission par les cellules hypoxiques, sa diffusion dans le tissu, sa dégradation au cours du temps, et sa consommation par les cellules endothéliales du modèle [7, 74, 85, 107, 115, 117]. L'apport de VEGF par chaque cellule source est souvent considéré comme constant au cours du temps [115, 117, 118], mais peut décroître quand la concentration du VEGF dans le milieu est élevée [7, 75, 107, 119]. L'absorption par les cellules endothéliales est généralement linéaire et elle est parfois seuillée par la capacité d'absorption maximale des cellules endothéliales [115, 117]. Un terme de libération des récepteurs du VEGF sur les cellules endothéliales, constant au cours du temps, est parfois aussi considéré [7, 107].
Dans ces modèles, le VEGF diffuse dans le tissu quelque soit sa nature. Les phénomènes de rétention de molécules pouvant exister dans la tumeur à cause de l'absence de vaisseaux lymphatiques qui drainent le liquide interstitiel sont donc négligés.
Des modèles simplifiés considèrent enfin que chaque cellule émettrice affecte la concentration de facteur de croissance dans le tissu dans un certain rayon autour d'elle. Cette contribution est généralement linéaire en fonction de la distance entre le point du tissu considéré et la cellule source [18, 66, 110]. Ces modèles ont l'avantage d'être rapide à simuler mais ne prennent pas en compte les variations de consommation du facteur de croissance en fonction de l'hétérogénéité du tissu.

### B.2.2 Émission et consommation d'oxygène

Les nouveaux vaisseaux, ainsi que les vaisseaux préexistants, vont permettre d'alimenter la tumeur en oxygène. En effet, l'oxygène transporté dans le sang circulant dans les vaisseaux va diffuser dans les tissus environnants. L'apport en oxygène par les vaisseaux est proportionnel à la différence de pression partielle en oxygène entre l'intérieur du vaisseau et le tissu environnant [120–123]. La pression en oxygène $P$ dans les vaisseaux dépend de la saturation en oxygène $S(P)$ de l'hémoglobine du sang. L'hémoglobine est une protéine se trouvant dans les globules rouges et qui permet de fixer l'oxygène. $S(P)$ est modélisée par une fonction de Hill d'exposant $n$ :

$$S(P) = \frac{P^n}{P^n + P_{50}^n} \tag{B.6}$$

où $P_{50}$ est la pression en oxygène lorsque la saturation est de 50% [120–122]. Certains modèles prennent en compte l'évolution de cette saturation consécutive à la diffusion de l'oxygène vers le tissu et la baisse de la pression en oxygène dans le sang qui en résulte. D'autres considèrent la pression sanguine comme constante [124], ou du moins que le niveau d'oxygène dans le sang est constant dans tous les vaisseaux [66, 78, 96, 125]. Enfin, de nombreux travaux modélisent le niveau d'oxygène dans le sang comme proportionnel à l'hématocrite (c'est à dire au taux de globule rouge) [98, 104, 115]. Ce choix est cependant discutable car l'hématocrite n'influe que très indirectement sur la pression en oxygène dans les vaisseaux. En effet, la saturation en globules rouges à l'entrée d'un vaisseau ne dépend pas de l'hématocrite mais du chemin qu'ils ont empruntés avant d'atteindre cette entrée. Un hématocrite fort, tout comme un flux rapide, va seulement limiter, dans le vaisseau considéré, la désaturation des globules rouges consécutive à la diffusion de l'oxygène dans les tissus environnants.

La consommation d'oxygène par les cellules du tissu peut quant à elle être modélisée de façon linéaire [66, 80, 98, 104, 109, 125] ou par une équation de type Michaelis-Menten (équation B.7) [78, 120, 124, 126, 127] où la consommation d'oxygène dépend de sa pression locale $P$.

$$M(P) = P/(P_0 + P) \tag{B.7}$$

Cette consommation peut différer selon le type cellulaire. Enfin, il existe également des modèles qui approximent la contribution de chaque vaisseau à l'oxygénation du tissu par une fonction décroissante dépendant de la distance entre le vaisseau et le point considéré dans le tissu [18, 105, 110].

### B.2.3 Modélisation de l'angiogenèse

Les modèles d'angiogenèse sont variés (voir la thèse de Frédérique Billy en 2009) [128]. Parmi eux, certains étudient l'évolution de la densité endothéliale au cours du temps. Ces modèles permettent de prendre en compte les différents phénomènes de migration, de prolifération et de mort cellulaire que subissent les cellules endothéliales sous l'influence de la tumeur et des facteurs de croissance qu'elle émet. Cependant, il est nécessaire de considérer l'architecture vasculaire de façon explicite pour pouvoir modéliser les flux sanguins qui parcourent les vaisseaux si l'on souhaite étudier le cheminement de molécules thérapeutiques jusqu'à la tumeur. C'est pourquoi, les formulations discrètes ont été élaborées pour permettre de décrire explicitement le développement de l'arbre vasculaire. Les nouveaux vaisseaux s'y forment généralement en suivant les positions successives des cellules meneuses. Néanmoins, ces derniers modèles ne permettent pas de tenir

compte de l'impact de la prolifération et de la mort des cellules endothéliales sur la formation des nouveaux vaisseaux. Pour pouvoir considérer à la fois l'architecture vasculaire et la prolifération cellulaire, certains modèles couplent une formulation discrète et continue du réseau vasculaire. Le processus de formation des vaisseaux peut alors dépendre de la densité des cellules endothéliales [74].

#### *B.2.3.1 Les modèles continus*

Ces modèles étudient l'évolution de la densité des cellules endothéliales en fonction de la migration, de la prolifération et de la mort des cellules endothéliales au cours du temps.

La migration des cellules endothéliales se fait alors par diffusion des cellules dans l'espace, mais peut également être influencée par les facteurs de croissance (chimiotaxie) ou par la densité des fibres matricielles dans le tissu (haptotaxie). Ainsi, la modélisation de cette migration peut comporter une composante aléatoire traduisant le terme diffusif [77, 85, 128–131], une composante prenant en compte le gradient en facteur de croissance [128–130], et une autre traduisant l'influence de la densité des fibres matricielles sur la migration cellulaire.
La prolifération des cellules endothéliales peut tenir compte de plusieurs facteurs dans ces modèles. Par exemple, son inhibition dans les milieux où les cellules sont déjà présentes en forte densité est parfois considérée [77, 78, 129, 131]. De même, l'inhibition de la prolifération cellulaire causée par la compétition entre les différents types cellulaires dans le tissu est modélisée dans certains travaux [82, 85]. L'effet proliératif des facteurs de croissance sur les cellules endothéliales peut également être modélisé [85, 128, 129]. Chez d'Onofrio et Gandolfi (2010) [132] où le modèle de croissance tumorale n'est pas spatial et où aucun facteur de croissance n'est représenté explicitement, la quantité de cellules tumorales dans le modèle affecte directement la prolifération des cellules endothéliales.

La dégradation et/ou la nécrose des cellules endothéliales au cours du temps peut également y être modélisée. Elles peuvent être considérées comme simplement proportionnelles à la densité de cellules endothéliales [78, 129]. Dans certains modèles, la nécrose des cellules endothéliales peut être provoquée par la nécrose des cellules voisines [85].

Dans un même modèle, différents types de cellules endothéliales peuvent être distingués. Ainsi par exemple, les cellules sont parfois divisées en deux catégories, les matures et les immatures. La maturité des cellules endothéliales dépendent alors de la concentration d'angiopoiétines dans le modèle [10, 128].

Autre exemple, dans le modèle de Panovska et al. (2008) [78], le rôle particulier des cellules endothéliales qui mènent la croissance des nouveaux vaisseaux est considéré. Leur capacité à proliférer et à fusionner avec les cellules d'autres vaisseaux est prise en compte. Cette connexion entre les deux vaisseaux est appelée anastomose.

#### B.2.3.2 Les modèles discrets

Dans beaucoup de modèles discrets, les vaisseaux sont représentés par une suite de segments d'une longueur donnée, qui germent selon des probabilités qui dépendent de la concentration locale en facteur de croissance. Puis, les nouveaux vaisseaux se forment en suivant les positions successives occupées par les cellules meneuses situées à l'extrémité de ces néo-vaisseaux. Depuis Anderson et Chaplain (1998), ces positions sont souvent déterminées par la discrétisation d'une équation d'évolution de la densité endothéliale décrivant les déplacements cellulaires, [75, 104, 118, 133–141]. Dans cette équation, une composante aléatoire du déplacement est prise en compte, ainsi que l'impact du gradient de facteur de croissance (chimiotaxie) et du gradient en densité des fibres matricielles dans le tissu (haptotaxie). Les modèles les plus récents prennent également explicitement en compte la diffusion d'enzymes sécrétées par les cellules meneuses des vaisseaux en croissance et qui dégradent les fibres de la matrice extracellulaire pour migrer [75, 104, 118, 138–140]. Ces enzymes peuvent aussi être produites par les cellules tumorales [75]. Cependant, dans ces modèles, la prolifération et la mort des cellules endothéliales qui forment les vaisseaux sont tenues pour non limitantes pour la migration des cellules meneuses, et ne peuvent donc en rien influer sur la vitesse de formation des vaisseaux.

La discrétisation de l'équation de déplacement cellulaire permet d'obtenir les probabilités de déplacement de la cellule meneuse à l'extémité d'un vaisseau en formation dans toutes les directions de l'espace, ainsi que la probabilité qu'elle reste à la même place (figure B.4).

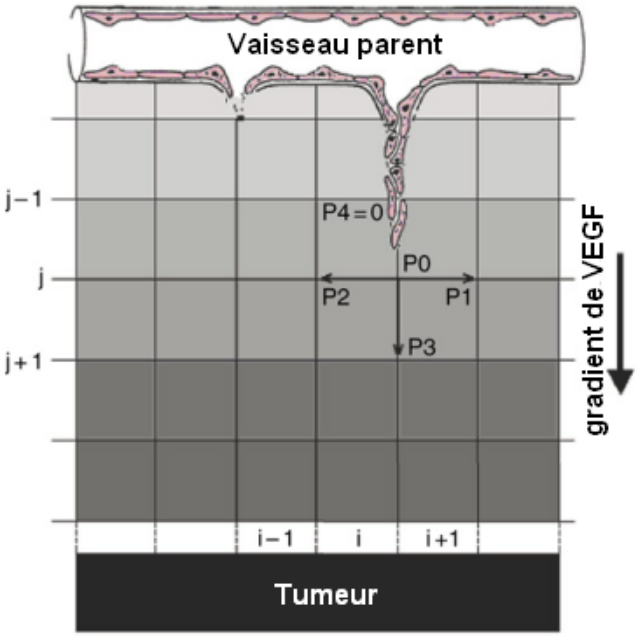



*Fig. B.4:* Probabilité de déplacement de l'extrémité d'un vaisseau en formation dans les différentes directions de l'espace en 2D. Tiré de Stéphanou et col.[138]

D'autres modèles probabilistes de germination de réseaux vasculaires ont été réalisés en s'affranchissant de toute grille qui restreint les choix de direction de migration pour les vaisseaux en formation [142–144]. Dans ces modèles, les vaisseaux se forment suivant une direction $\theta(t)$ qui

évolue au cours du temps (figure B.5). Cette direction est déterminée suivant une loi stochastique dépendante d'une direction de prédilection calculée en fonction des directions locales du gradient en facteur de croissance [142–144] et/ou en densité de fibres matricielles [144], et de la persistance de la direction de germination du vaisseau [142–144]. La probabilité de migration suivant un angle $\theta$ donné est plus faible quand cet angle est éloigné de cette direction de prédilection. La vitesse de formation du vaisseau $v(t)$ peut également dépendre de la concentration en facteur de croissance ou d'autres facteurs aléatoires ou de résistance au mouvement [142, 143]. A chaque pas de temps $\Delta t$, la migration de l'extrémité du vaisseau est donc de :

$$\begin{cases} \Delta x = v(t)cos(\theta(t))\Delta t \\ \Delta y = v(t)sin(\theta(t))\Delta t \end{cases} \tag{B.8}$$

*Fig. B.5:* Formation d'un vaisseau suivant un angle $\theta$ qui évolue au cours du temps. Cet angle est déterminé aléatoirement en fonction d'une direction de prédilection évaluée localement.

Ces modèles présentent l'avantage de former des réseaux vasculaires avec des angles de branchements et des tortuosités indépendants de la grille de discrétisation. Or, ces paramètres peuvent tenir un rôle dans l'écoulement du flux sanguin [145]. Cependant, ces modèles ne prennent en compte l'évolution spatiale de la concentration en facteur attractif que par la direction de son gradient. Cela ne permet pas par exemple de considérer l'existence éventuelle de directions multiples pour lesquelles ce facteur attractif augmente. Or ce cas de figure peut survenir entre autres en présence de plusieurs zones hypoxiques. La hausse de VEGF peut alors être forte selon plusieurs directions.

Enfin, pour rendre compte de réseaux vasculaires denses, certains travaux modélisent l'angiogenèse de façon plus simple. Ainsi, de nouveaux vaisseaux peuvent être créés de façon aléatoire dans le modèle, suivant des probabilités qui dépendent de la concentration en facteur de croissance [18, 99, 146, 147]. Dans certains travaux, ce nouveau vaisseau peut être issu de la germination d'un vaisseau existant et croître de façon rectiligne suivant le gradient en facteur de croissance jusqu'à rencontrer un autre vaisseau [18, 99, 147].

Chez Macklin et al. (2009), les enzymes qui dégradent la matrice extra-cellulaire contribuent également à la régression vasculaire [75]. La connexion de l'extrémité d'un vaisseau en formation

avec un autre vaisseau (anastomose) est également facilement prise en compte dans ces modèles.

### B.2.4 L'adaptation vasculaire

Le diamètre des vaisseaux qui alimentent la tumeur s'adaptent pour accompagner son évolution. La représentation explicite de la structure vasculaire permet ainsi de modéliser la dilatation et la constriction des vaisseaux au cours du temps sous l'effet des forces hémodynamiques. Cela permet aussi de rendre compte de la dégénérescence de certains vaisseaux consécutivement à leur co-option dans la tumeur (chapitre E, section E.4.1). Les vaisseaux non stimulés mécaniquement par le flux sanguin, c'est à dire ceux pour lesquels la tension de cisaillement exercée par le flux est faible, dégénèrent[18, 99, 104, 146].

Les forces hémodynamiques peuvent également influer sur l'évolution des diamètres des vaisseaux sans provoquer leur destruction. Pries et col. sont les pionniers sur les modèles d'adaptation de réseaux vasculaires denses. Ainsi, depuis Pries et col (1998), les différentes forces considérées sont la tension de cisaillement, la pression transmurale, un stimulus métabolique, et la constriction naturelle des vaisseaux [148]. Des informations complémentaires sur ces forces, et en particulier la formulation de la tension de cisaillement et de la force résultant de la pression transmurale sont détaillées chapitre E, section E.4.1. Ces deux forces sont toujours considérées de la même façon depuis ces premiers travaux.

La formulation du stimulus métabolique a quant à elle connu quelques modifications selon les modèles. Son influence sur le rayon vasculaire a en effet d'abord été modélisée par Pries en 1998 de la façon suivante :

$$S_m = k_m log_{10}(1 + Q_{ref}/(QH_D)) \tag{B.9}$$

où $k_m$ est une constante, $Q$ est le flux sanguin, $Q_{ref}$ est un flux de référence a priori prévu pour être plus grand que la plupart des autres flux, et $H_D$ est l'hématocrite. Ce stimulus a ensuite été souvent considéré sous cette forme [75, 115, 138, 140, 148, 149]. Cependant, dès 2001, Pries et col. ont modifié l'expression de ce terme pour le relier à la synthèse d'adénosine triphosphate (ATP), une molécule libérée par les globules rouges du sang en réponse à l'hypoxie. Le terme $S_m$ a alors pris la forme :

$$S_m = k_m log_{10}(J_m/(Q + Q_{ref2})) \tag{B.10}$$

où $Q_{ref2}$ est une constante et $J_m$ dépend de la quantité d'ATP libérée par les vaisseaux en amont [118, 150–154]. Ces modèles plus récents prennent également en compte un signal émis par les cellules de la paroi vasculaire selon leur état métabolique, et transmis par cette paroi. Celui-ci est propagé à travers les liaisons entre les cellules endothéliales et les cellules musculaires des vaisseaux. La transmission de ce signal est seulement considérée dans les modèles dans le sens opposé au flux sanguin. Il n'est que peu ou pas pris en compte dans la tumeur, car les liaisons entre les cellules de la paroi vasculaire y sont plus faibles.

| Abbréviation | Signification |
|---|---|
| COX-2 | **C**yclo**ox**ygenase-**2** |
| VEGF | **V**ascular **E**ndothelium **G**rowth **F**actor |

*Fig. B.6:* Tableau des abbréviations

# C. LES THÉRAPIES

## Sommaire

**C.1 Le traitement des tumeurs solides . . . . . 35**
C.1.1 La chirurgie . . . . . 35
C.1.2 La chimiothérapie . . . . . 36
C.1.2.1 Action sur les cellules tumorales . . . . . 36
C.1.2.2 Action sur le réseau vasculaire . . . . . 37
C.1.3 La radiothérapie . . . . . 39
C.1.4 L'immunothérapie . . . . . 41
C.1.5 Autres thérapies . . . . . 42
C.1.6 Conclusion . . . . . 43
**C.2 Modélisation de la thérapie . . . . . 43**
C.2.1 Cas du ciblage des cellules tumorales . . . . . 43
C.2.1.1 Modèles temporels . . . . . 43
C.2.1.2 Modèles spatio-temporels . . . . . 44
C.2.2 Cas du ciblage du réseau vasculaire . . . . . 46

## *C.1 Le traitement des tumeurs solides*

Il est très difficile de traiter les tumeurs cancéreuses. En effet, si les différentes avancées thérapeutiques permettent aujourd'hui un assez bon pronostic vital pour un certain nombre de tumeurs surtout quand elles sont détectées rapidement, il reste très sombre pour d'autres comme les glioblastomes [155]. En conséquence, des contrôles sont souvent recommandés à partir d'un certain âge pour favoriser le dépistage précoce des cancers les plus courants. Ces contrôles ont cependant été remis en cause récemment par des études statistiques qui ont montré qu'un nombre important de tumeurs ainsi détectées n'auraient jamais évolué jusqu'à un stade dangereux, en particulier pour les cancers du sein et de la prostate [156]. Les patients subissent alors des traitements lourds provoquant de nombreux effets secondaires alors qu'ils n'étaient peut-être pas nécessaires.

### *C.1.1 La chirurgie*

Ôter la tumeur par chirurgie a été historiquement l'un des premiers actes "thérapeutiques" et reste encore largement mis en œuvre actuellement en première ligne de traitement. La masse tumorale affecte en général le fonctionnement de l'organe dans lequel elle se développe et il est urgent de l'en extraire pour tenter de palier à la déficience de cet organe. L'exérèse de la tumeur se fait le plus complètement possible en prenant en compte les risques pour la survie du patient.

Cela permet en effet de limiter les risques de reprise de la croissance à partir des cellules résiduelles.

Cependant, une telle chirurgie ne peut pas toujours se faire en raison de l'âge ou de la fragilité du patient, ou de la localisation de la tumeur [78]. De plus, l'extraction d'une tumeur dans un tissu essentiel à l'organisme peut aussi être préjudiciable à la santé et à la survie du patient, car des cellules saines sont également extraites ou détruites par la chirurgie. Ainsi, une récente étude a avancé que l'extraction des carcinomes pulmonaires n'était bénéfique aux patients qu'au stade I ou II de la maladie [157]. D'autre part, l'extraction chirurgicale de la tumeur, même si la zone d'éxérèse est élargie au tissu sain, ne suffit bien souvent pas en elle-même au traitement. En effet, la présence de métastases, c'est à dire de tumeurs secondaires développées à partir des cellules s'étant détachées de la tumeur principale, ou l'existence de cellules tumorales ayant envahit le tissu sain environnant la tumeur extraite, peuvent engendrer la progression de la maladie. En conséquence, des traitement complémentaires à la chirurgie sont indispensables. If faut alors rechercher d'autres moyens de se débarrasser des cellules tumorales, si possible de façon ciblée.

### *C.1.2 La chimiothérapie*

La chimiothérapie consiste à traiter la tumeur en administrant des molécules chimiques au patient. Ces traitements consistent en une ou plusieurs molécules qui sont le plus souvent délivrées oralement ou par intraveineuse. Différentes sortes de traitement existent, qui ciblent les cellules tumorales ou les cellules des vaisseaux qui alimentent le tissu en oxygène [78].

#### *C.1.2.1 Action sur les cellules tumorales*

Ces molécules perturbent le processus de division. Elles agissent afin de bloquer ou de limiter la division des cellules tumorales, ou afin de les détruire. Ainsi, les molécules dites cytostatiques stoppent ou ralentissent le cycle cellulaire au niveau de la croissance (phase $G_1$), de la synthèse de l'ADN (phase $S$) ou de la mitose (phase $M$). Les molécules dites cytotoxiques quant à elles, comme le cisplatine, la fluorouracile et la doxorubicine, bloquent la réplication et la transcription de l'ADN en se fixant sur les brins d'ADN [158–160]. Ainsi, la fluorouracile inhibe la thymidylate synthase, une enzyme impliquée dans la biosynthèse de la thymidine qui permet la transcription de l'ADN [161]. La doxorubicine quant à elle inhibe la topo-isomérase qui provoque des coupures temporaires des brins d'ADN qui permettent leur désenroulement [162]. Les cellules affectées en phase $S$ sont bloquées au premier cycle $G_2$ suivant leur contamination, et peuvent alors soit s'auto-réparer, soit mourir par apoptose. D'autres molécules inhibent les protéasomes, des complexes enzymatiques présents dans le noyau et impliqués dans la formation de protéines tels que p53, les CDKs ou les cyclines (section A.3.1), qui agissent sur la division cellulaire [163]. Différents inhibiteurs de protéosomes existent (botezomib, carfilzomib, salinosporamide...). Enfin, certaines molécules agissent lors de la phase de mitose (phase $M$) des cellules, en visant les fibres constitutives du cytosquelette, les microtubules, qui sont essentiels au bon déroulement de cette phase qui se renouvellent rapidement (demi-vie de 10 minutes). Ainsi, la vincristine empêchent la polymération des microtubules alors que ceux-ci doivent s'allonger lors de la mitose [164]. Au contraire, les taxanes tels que le paclitaxel et le cabazitaxel rendent les microtubules plus stables, donc difficile à dépolymériser lors de la séparation de la cellule mère en deux cellules filles. D'autres pistes peuvent encore être exploitées pour éliminer les cellules tumorales comme le développement d'agents contrant le Bcl-2, une protéine inhibitrice de l'apoptose [55].

Cependant, certaines cellules tumorales peuvent résister aux traitements. Cette résistance peut être liée à l'hypoxie où les cellules ne se divisent plus (section A.1). En effet, les cellules quiescentes ne se divisent plus, et donc les agents cytotoxiques ne peuvent plus agir [165]. Certains agents comme le PMX464 peuvent cependant agir à faible doses sur les cellules hypoxiques en réduisant leur prolifération [166].
La résistance peut être également due à la spécificité de certaines cellules qui peut être soit innée [167], soit acquise. En effet, les cellules tumorales sont génétiquement instables, et l'emploi d'une molécule cytotoxique peut donc favoriser l'émergence d'un phénotype résistant à partir d'une mutation initiale [106, 107, 168]. Ces cellules résistantes peuvent se caractériser par exemple par une capacité à expulser les molécules cytotoxiques de leur cytoplasme, une amplification de l'expression de la protéine visée en réponse à l'attaque, ou une capacité accrue à réparer l'ADN endommagé, ou au contraire une incapacité à mourir par apoptose [168]. La prolifération de ces cellules chimio-résistantes accroît alors la difficulté pour combattre la tumeur, car leur résistance est transmise à leurs cellules filles. Pour éviter cela, une stratégie de thérapie adaptative est apparue ces dernières années. Elle consiste à adapter le dosage médicamenteux pour permettre la survie de cellules plus sensibles à la chimiothérapie, tout en stabilisant la taille de la tumeur [160, 169, 170]. En effet, un dosage médicamenteux plus faible peut permettre par exemple de préserver les cellules sensibles suffisamment éloignées des vaisseaux qui alimentant la tumeur, et également d'abaisser le niveau de résistance cellulaire requis pour la survie. La présence de cellules plus sensibles permet alors de limiter la prolifération des cellules les plus résistantes car elles rentrent en compétition avec elles. Or les cellules à phénotype plus résistant ont souvent une prolifération plus lente que les autres car elles ont besoin d'énergie pour maintenir cette résistance. La thérapie adaptative permet ainsi de maintenir le contrôle sur la tumeur sans l'éliminer. Dans certains cas, elle permet d'accroître le temps de survie du patient par rapport à une chimiothérapie qui privilégie la réduction rapide de la taille de la tumeur grâce à une chimiothérapie à plus haute dose.
Les cellules les plus résistantes peuvent aussi dans certains cas être éliminées en augmentant les doses de thérapie. Cependant, cela est souvent très difficile sans atteindre la dose létale pour le patient. Des techniques existent cependant pour limiter la toxicité des molécules sur les cellules saines, comme la prise en compte du rythme circadien. Ce rythme regroupe tous les processus biologiques qui régulent nos journées. Le considérer permet donc d'administrer les thérapies aux moments où les cellules saines du patient y sont le moins sensibles [159, 171, 172].

#### *C.1.2.2 Action sur le réseau vasculaire*

Des molécules peuvent également viser le réseau vasculaire tumoral et interférer sur son évolution. En 1971, Folkman théorisa que la suppression du réseau vasculaire tumoral pourrait permettre d'asphyxier la tumeur [2]. Cependant, il fallut attendre la fin des années 1990 pour que la première molécule anti-angiogénique, c'est à dire qui empêche la vascularisation tumorale de se développer, soit découverte et permette l'exploitation de son idée (section A.1). D'autres molécules découvertes par la suite agissent plus drastiquement et permettent de détruire les vaisseaux du réseau vasculaire. Ce sont les agents de destruction vasculaire (VDAs).

*Anti-angiogéniques*

Les anti-angiogéniques ont pour but de limiter la formation de nouveaux vaisseaux sous l'effet

de la stimulation des facteurs de croissance émis par les cellules tumorales hypoxiques. Les stratégies qui bloquent la formation du lien entre le VEGFA émis par les cellules et les récepteurs VEGFR-2 des cellules endothéliales sont les plus classiques et nombreuses. Le premier des agents de ce type à avoir été développé en 2004 est l'avastin (bevacizumab) [8, 173, 174] mais il est aujourd'hui très controversé à cause de nombreux effets indésirables (neurologiques, visuels...). Il a notamment été retiré du marché américain en 2011 pour le traitement des cancers du sein. D'autres molécules inhibent les récepteurs à tyrosine kinase du VEGF (SU11428, SU5416, BAY 43-9006, AZD2171) [8, 25, 175].
Certaines thérapies consistent quant à elle à viser la protéine prolylehydroxylase PHD2 sensible à l'oxygène qui régule la production des récepteurs VEGFR-1 solubles (libres) ou non solubles (attachés à la membrane), ainsi que la cadhérine VE qui assure les liens entre les cellules endothéliales. Une sous-régulation de la protéine PHD2 permet la sur-production de VEGFR-1 et de cadhérines, ce qui limite les liaisons entre le VEGF et les récepteurs des cellules endothéliales, et renforce les parois vasculaires [176, 177].

Toutefois, les anti-angiogéniques ne permettent pas d'empêcher totalement toute vascularisation tumorale. En effet, d'autres mécanismes que l'émission de VEGF peuvent permettre la vascularisation, comme la surrégulation d'autres molécules pro-angiogéniques ou le recrutement de cellules provenant de la moëlle osseuse (cellules endothéliales progénitrices...) [8, 175, 178, 179]. L'action de ces molécules peut cependant diminuer la vitesse de prolifération des cellules tumorales [25, 180]. Ainsi, l'action combinée des SU5416 agissant directement sur les récepteurs VEGFR et de la peptide RGD cyclique EMD270179 qui influe sur le cycle cellulaire des cellules endothéliales a un effet supérieur à l'utilisation de l'une ou l'autre de ces molécules seule sur la baisse de la densité vasculaire, de la perfusion, et de la vitesse des globules rouges dans les vaisseaux [25]. De même, la combinaison avec des agents cytotoxiques comme le paclitaxel peut permettre d'éviter au moins temporairement la reprise tumorale qui succède généralement à un traitement uniquement au paclitaxel [180]. Le risque de métastases est cependant accru par cette méthode. La raison de cela est peut être la surrégulation des facteurs angiogéniques induit par l'hypoxie ou la plus grande facilité pour les cellules tumorales à franchir les barrières des parois vasculaires [175, 181].

*Agents de destruction vasculaire*

D'autres traitements permettent quant à eux de détruire le réseau vasculaire dans la tumeur. Les cellules tumorales alimentées par ces vaisseaux meurent alors par hypoxie. Ces agents de destruction vasculaire (VDAs) déstructurent les vaisseaux qui s'effondrent alors sous l'effet des forces de pression mécanique exercées par la tumeur. Ils affectent principalement les vaisseaux immatures, et épargnent donc relativement les vaisseaux normaux, puisque ceux-ci sont constitués de cellules quiescentes alors que les VDAs ciblent les cellules proliératives.

Les combrestatines comme CA4-P, de l'OXI4503, du ZD6126, et les taxanes, font partie de ces agents [78, 174, 182, 183]. L'action de ces dernières peut être ciblée sur les cellules endothéliales grâce à une encapsulation dans des liposomes cationiques (EndoTAG-1). Ces liposomes se fixent sur les parois vasculaires. Leur affinité particulière pour les vaisseaux des tumeurs fut observée par Thurston et al [184]. Elle permet de limiter les effets secondaires induits par ces molécules [183].

Les cellules endothéliales des vaisseaux tumoraux peuvent aussi être détruites de façon sélective en visant les microtubules de leur cytosquelette [185, 186]. En effet, toutes les cellules de

l'organisme présentent des microfilaments d'actine dans leur cytosquelette, ce qui leur permet de préserver leur structure si leurs microtubules sont dégradés. Cependant, ces microfilaments ne sont pas suffisamment organisés dans les cellules endothéliales immatures des néo-vaisseaux. La molécule CDK-516 est un VDA qui a ce mode d'action [186].

La dévascularisation de la tumeur entraîne alors un déficit en oxygène et en nutriments pour la plupart des cellules qui la composent, ce qui provoque leur mort. Certaines tumeurs peuvent ainsi être éliminées. Malheureusement, l'unique action des VDAs ne suffit pas toujours à la régression tumorale. En effet, les vaisseaux en périphérie de la tumeur sont plus résistants aux thérapies car ces vaisseaux sont plus matures [187]. De plus, des cellules endothéliales progénitrices dérivées de la moëlle osseuse (CEPs) peuvent contrer les effets des VDAs en prenant la place des cellules endothéliales mortes par apoptose dans le réseau vasculaire [188]. Les VDAs peuvent cependant favoriser l'action d'autres traitements. En particulier, ils peuvent être utilisés en post-traitement pour éviter la reprise tumorale [105].

*Normalisation du réseau vasculaire*

Le réseau vasculaire dans la tumeur est très dense, tortueux et très perméable, ce qui est un obstacle au transport des nutriments mais aussi des molécules thérapeutiques jusqu'à la tumeur.

Cependant, il a été découvert accidentellement que certaines molécules thérapeutiques utilisées à l'encontre des vaisseaux de la tumeur avaient pour effet de réduire leur perméabilité et de rétablir une structure vasculaire similaire à un réseau sain. On parle alors de "normalisation" du réseau vasculaire qui optimise l'apport des nutriments et favorise la croissance tumorale [176]. Un tel cas peut alors être mis à profit pour acheminer de façon optimale des agents chimiothérapeutiques en rendant leur distribution au sein de la tumeur plus homogène. Parallèlement l'oxygénation des cellules tumorales se trouvent améliorée, ce qui les rend plus réceptives aux traitements [155].

Les traitements ayant un effet sur la perméabilité du réseau sont souvent des anti-angiogéniques. Ainsi, par exemple, des agents inhibiteurs de la protéine prolylehydroxylase PHD2 ont pour effet de réduire la perméabilité des vaisseaux grâce à leur action sur les cadhérines VE [177]. Le DC101 quant à lui augmente la couverture des péricytes et de la membrane basale autour des vaisseaux et empêche la fixation du VEGF sur les récepteurs VEGR-2 de ces vaisseaux, et le trastuzumab normalise le réseau tant au niveau de la perméabilité que des diamètres des vaisseaux [189]. Par contre, ce sont les VDAs qui ont une action normalisante sur la structure du réseau vasculaire, car ces molécules provoquent la destruction des vaisseaux qui nuisent à une distribution optimale du sang dans la tumeur.

Toutefois, une telle fenêtre de normalisation ne se maintient généralement que moins d'une semaine et le laps de temps disponible pour l'emploi d'autres thérapies est donc restreint. De plus l'utilisation des VDAs à des fins de normalisation ne permet pas toujours d'atteindre l'état optimum escompté.

### *C.1.3 La radiothérapie*

La radiothérapie est une technique qui consiste à endommager les cellules tumorales par des rayonnements ionisants. La pratique de radiothérapie la plus courante consiste à émettre des rayons

sur une zone localisée sur le patient à partir d'une source extérieure. Des techniques sont constamment développées pour améliorer le ciblage de la zone à traiter, comme l'emploi de l'imagerie 3D [78, 190]. La radiothérapie existe également sous forme de gélules ou d'injections contenant des atomes radiotoxiques (radiothérapie métabolique) [191]. Une source de rayonnement peut également être placée à l'intérieur du patient et à proximité immédiate de la tumeur à traiter de façon temporaire, juste après une résection chirurgicale par exemple, ou définitive (curiethérapie) [192].

La radiothérapie est utilisée chez plus de la moitié des patients atteints d'une tumeur, en combinaison ou non avec un autre traitement, et son efficacité n'est plus à prouver. Elle est particulièrement employée après les chirurgies pour détruire les dernières cellules cancéreuses ou pour combattre des tumeurs inopérables [78]. Les rayons ionisants peuvent détruire les cellules tumorales, et les cellules des vaisseaux qui alimentent la tumeur en oxygène, en détériorant leur ADN [193, 194]. Les cellules quiescentes sont moins réceptives à ce traitement. En conséquence, une normalisation préalable du réseau vasculaire peut optimiser le traitement, comme par exemple pour les glioblastomes [155]. Les cellules saines sont également affectées, mais elles ont une grande capacité à réparer les lésions de leur ADN. Le protocole radiothérapeutique curatif est souvent constitué de séries de séances très rapprochées afin de limiter la reprise tumorale entre les séances [195]. La fréquence rapprochée de ces séances est d'autant plus nécessaire que la prolifération cellulaire peut être accélérée lors de la radiothérapie. La combinaison de la radiothérapie avec un traitement anti-angiogénique peut permettre également de limiter cette recroissance [196]. La radiothérapie peut également être utilisée en combinaison avec des cytotoxiques [197].

Ce moyen thérapeutique provoque également des effets secondaires dans la région traitée. La radiothérapie entraîne en particulier des réactions inflammatoires et de prolifération des cellules saines qui entraînent la perte de couches superficielles de l'épiderme (desquamation), des ulcères et des mucites. De plus, des années après le traitement, le tissu peut encore présenter des difficultés à résorber les œdèmes et les blessures à causes des lésions induites par les radiations [198]. L'endommagement des cellules saines par les radiations augmente également les risques d'occurrence de nouveaux cancers dans le futur [199, 200]. Des techniques de dosages et de localisation du traitement en protégeant les parties du corps sensibles permettent toutefois de limiter ces risques. L'utilisation de mini-faisceaux sub-millimétriques augmente également la tolérance au traitement des tissus sains [201, 202].

### *C.1.4 L'immunothérapie*

L'immunothérapie a plus récemment commencé à être utilisée pour combattre les tumeurs. Elle consiste à utiliser les mécanismes immunitaires pour viser et détruire les tumeurs cancéreuses. La réponse anti-tumorale d'un tel traitement n'est évidente qu'après plusieurs semaines ou mois, et peut initialement se caractériser par une augmentation du volume de la tumeur causée par la forte infiltration des cellules immunitaires et inflammatoires. Les critères pour évaluer la réponse aux traitements diffèrent en conséquence de ceux utilisés pour les autres thérapies [203].

Différentes stratégies immunothérapeutiques existent. Certaines consistent à introduire dans la tumeur des cellules immunitaires spécifiques pour l'attaquer. On nomme cette technique le transfert adoptif de cellules. Ces cellules peuvent être cultivées ex-vivo à partir de cellules extraites de l'organisme du patient [204, 205]. Cette technique ne semble cependant n'être efficace que contre les mélanomes, peut-être parce qu'ils contiennent plus de mutations que les autres tumeurs [205]. Toutefois, de telles cellules peuvent également être obtenues par modifications génétiques. Les lymphocytes cytotoxiques à mémoire centrale (cellules $T_{CM}$) sont particulièrement aptes à combattre les tumeurs. Ces lymphocytes ont en effet une forte capacité de prolifération et peuvent reconnaître un antigène spécifique à la tumeur si ils y ont déjà été confrontés [204, 205].

Des substances émises par certaines cellules immunitaires peuvent également être introduites

dans l'organisme du patient pour lutter contre les cellules tumorales [205, 206]. C'est le cas par exemple des interleukines-2 (IL-2) qui stimulent la prolifération lymphocytaire, ou des interférons qui induisent la production de protéines anti-prolifératives. Des thérapies associant un apport d'interleukines-2 avec le transfert de cellules adoptives ont par exemple fait leurs preuves pour traiter les mélanomes métastatiques chez des patients jeunes et résistants [205]. Cependant, l'utilisation de cette substance provoque de lourds effets secondaires (fièvres, troubles cutanés et digestifs, dépression nerveuse...).

D'autres techniques visent à augmenter la quantité de certaines cellules du système immunitaire présentes dans l'organisme grâce à des agents stimulateurs ou inhibiteurs d'un des mécanismes régulateurs de ces cellules. L'ipilimunab par exemple est une molécule qui bloque l'action d'un mécanisme inhibiteur de la destruction des cellules tumorales par les lymphocytes T cytotoxiques [206]. Cette molécule est en particulier utilisée contre les mélanomes.

Enfin, l'utilisation de vaccins permet de stimuler la réaction immunitaire du patient contre des antigènes spécifiques des cellules tumorales [205, 207]. Cette technique est particulièrement efficace contre la récurrence tumorale car elle entraîne le système immunitaire à se défendre lui-même contre la tumeur.

### *C.1.5 Autres thérapies*

La thérapie génique est une thérapie récente qui consiste à introduire dans l'organisme du patient des molécules d'ARN ou d'ADN capables d'interférer avec les cellules tumorales, en assurant leur acheminement vers la tumeur. Des nanoparticules formées à partir de divers matériaux comme les lipides ou l'or peuvent permettre ce transport vers les cellules tumorales en se fixant spécifiquement sur celles-ci [168, 208]. Des virus peuvent également être modifiés à cette fin [209]. De récentes études ont montré que des cellules souches de l'organisme peuvent aussi servir de vecteur de transport. Ainsi, par exemple, dans les glioblastomes, les cellules souches neuronales et les cellules stromales multipotentes mésothéliales sont des vecteurs prometteurs car ils présentent l'avantage de pouvoir être prélevés facilement et d'être plus attirés par les cellules tumorales que par le tissu sain [210]. Cependant, la population des cellules souches neuronales est difficile à réguler, et les cellules stromales multipotentes ne peuvent migrer que sur des courtes distances.

Les thérapies thermiques consistent à éliminer les cellules tumorales par la chaleur ou le froid [211, 212]. Cependant, cette technique a une efficacité limitée, toujours à cause de cellules résiduelles qui peuvent provoquer la recroissance tumorale. Toutefois, l'hyperthermie modérée peut permettre d'améliorer l'apport de molécules thérapeutiques dans la tumeur en rendant les vaisseaux plus perméables [213].

Enfin, de plus en plus de chercheurs s'accordent aujourd'hui sur le fait qu'il est nécessaire de cibler les mécanismes qui régulent le microenvironnement des cellules tumorales plutôt que les cellules en elles-mêmes [214].

### C.1.6 Conclusion

Les techniques permettant de lutter contre les tumeurs sont nombreuses et variées. Malgré cela, les tumeurs restent difficiles à éradiquer. En effet, les thérapies épargnent souvent quelques cellules tumorales résiduelles qui peuvent produire une reprise tumorale. Ces cellules peuvent avoir été épargnées à cause d'un état quiescent au moment de la thérapie (chimiothérapie), ou en raison d'autres résistances innées ou acquises. Une réponse immunitaire peut également induire une résistance de la tumeur à la thérapie [181]. De plus, leurs effets secondaires sont nombreux, ce qui peut accélérer le décès des patients les plus faibles. En conséquence, l'emploi et le dosage des différentes thérapies doit être précautionneusement géré.

L'utilisation consécutive ou simultanée de différentes thérapies est souvent la meilleure stratégie à employer pour lutter contre les tumeurs. En particulier, diverses thérapies sont souvent appliquées préalablement ou consécutivement à une ablation tumorale totale ou partielle, pour réduire la tumeur avant l'opération ou éliminer les cellules tumorales résiduelles [157, 194]. De plus, les procédés chimiothérapeutiques contre les cellules vasculaires sont souvent utilisées simultanément à d'autres thérapies pour améliorer l'oxygénation tumorale ou la délivrance des molécules dans la tumeur [155, 176], ou au contraire pour empêcher sa revascularisation entre les différentes séances d'un traitement [180, 196].

## C.2 Modélisation de la thérapie

Il est aujourd'hui possible de tester par la simulation numérique certains aspects des thérapies à partir de modèles plus ou moins sophistiqués de croissance tumorale. Les modèles peuvent permettre de mieux comprendre par exemple les mécanismes d'action des thérapies et les éventuelles résistances au traitement de certaines cellules tumorales [158, 215, 216]. Ils permettent également de prédire le bénéfice éventuel d'un couplage thérapeutique [76, 105, 174].

### C.2.1 Cas du ciblage des cellules tumorales

#### C.2.1.1 Modèles temporels

Dans les modèles théoriques les plus simples, la tumeur est modélisée sans prendre en compte la répartition spatiale des cellules dans le tissu [132, 158, 215]. Dans ces modèles, les effets des molécules chimiothérapeutiques sur la tumeur sont alors considérés comme homogène sur les cellules cibles. Si différents types cellulaires sont représentés, le ciblage de la thérapie peut être spécifique. Ainsi, dans le modèle de Marcu et al. (2005) [158], la molécule cytotoxique cible les cellules proliératives. L'impact de la chimiothérapie sur la tumeur est alors étudié pour différentes probabilités d'affection des cellules proliératives par le cytotoxique. Chez d'Onofrio et al. [132], l'effet d'une dose d'agents thérapeutiques dépend de la proportion de cellules vasculaires dans la tumeur, car les vaisseaux permettent l'apport des molécules vers les cellules tumorales.

De tels modèles peuvent donner une approche globale de l'effet de la thérapie sur la croissance tumorale. La pharmacocinétique des molécules thérapeutiques, c'est à dire l'évolution de leur concentration au cours du temps dans le sang et le tissu, peut y être pris en compte. Ainsi par exemple, chez d'Onofrio et al. (2010) [132], la concentration de molécules dans le sang est considérée comme décroissant exponentiellement au cours du temps, et leur effet sur les cellules

est proportionnel à cette concentration. Chez Foo et al (2010) [215], c'est la concentration maximale de molécules dans le tissu $C_{tiss}$ qui décroit exponentiellement au cours du temps après une injection. Ainsi,

$$C_{tiss} = C_0 e^{-kt} \tag{C.1}$$

$k$ étant le taux de dégradation des molécules par unité de temps et $C_0$ étant la concentration de molécules injectées. Lorsque plusieurs injections ont lieu,

$$C_N = C_0 \frac{1 - e^{-Nk\tau}}{1 - e^{-k\tau}} \tag{C.2}$$

où $C_N$ est la concentration de molécules thérapeutiques à la $N^{ième}$ injection, $\tau$ étant le temps entre deux injections consécutives. $C_N$ atteint donc un pallier au bout d'un certain nombre d'injections.

La pharmacodynamique des molécules thérapeutiques, en particulier la décroissance tumorale qu'elles induisent, peut être aussi considérée. Dans un modèle computationnel où la tumeur est modélisée de façon discrète, cette décroissance tumorale peut être représentée par une probabilité de survie pour chaque cellule tumorale [217]. Elle peut également être modélisée de façon plus continue, comme chez Foo et al. [215], où le taux de prolifération cellulaire baisse sous l'effet du traitement alors que le taux de mort cellulaire reste constant. Des études considérant la résistance aux molécules thérapeutiques peuvent être réalisées sur ces modèles [158, 215]. Ainsi, deux populations de cellules ne répondant pas de manière identique à la thérapie peuvent être considérées [215]. Une résistance des cellules tumorales acquise suite à leur confrontation avec l'agent chimiothérapeutique peut aussi être étudiée [158]. Le couplage de différentes thérapies [132, 217] peut également être pris en compte. Ces modèles ont l'avantage de présenter un nombre assez réduit de variables et d'être rapide à simuler. Cela facilite leur utilisation par le corps médical.

Cependant, ces modèles n'intègrent pas la dimension spatiale qui joue cependant un rôle important. En effet, quand les molécules thérapeutiques sont transportées dans le sang, les cellules proches des vaisseaux sanguins reçoivent plus de molécules chimiothérapeutiques que les plus éloignées. Ceci ne peut pas être pris en compte quand la structure du réseau vasculaire n'est pas représentée. La présence de zones plus favorables à la prolifération des cellules survivantes (forte oxygénation, faible densité cellulaire) ne peut également pas être considérée.

#### *C.2.1.2 Modèles spatio-temporels*

Ces modèles permettent, entre autre, de considérer explicitement le réseau vasculaire comme vecteur de transport des molécules chimiothérapeutiques dans la tumeur. Certains modèles considèrent alors que les molécules diffusent simplement des vaisseaux sanguins vers le tissu environnant [90, 160, 218]. L'évolution de la concentration $C$ de molécules thérapeutiques dans le tissu peut alors se modéliser par l'équation :

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D\nabla^2 C - \nu C \tag{C.3}$$

où $D$ est le coefficient de diffusion des molécules et $\nu$ est la consommation ou dégradation de ces molécules au cours du temps. Les conditions aux parois vasculaires sont fixées par un flux

diffusif, généralement considéré comme proportionnel à la différence de concentration en molécules thérapeutiques entre l'intérieur du vaisseau et le tissu environnant. Donc à travers la paroi vasculaire :

$$D\nabla C\vec{n}_{vasc} = \gamma(C_v - C) \tag{C.4}$$

où $\gamma$ est la perméabilité de la paroi vasculaire, $C_v$ est la concentration de molécules dans le vaisseau et $\vec{n}_{vasc}$ est la normale à la paroi vasculaire. L'apport des molécules à travers la paroi est cependant parfois considéré comme constant dans certains modèles [90, 218].

D'autres modèles vont plus loin en prenant en compte les flux osmotiques entre le vaisseau et le tissu environnant, et les flux convectifs dans le tissu. En effet, un transfert de solvant $\vec{f}_{osmo}$ peut se mettre en place entre le liquide plasmatique dans le vaisseau et le liquide interstitiel dans le tissu environnant lorsque la différence de pression entre les deux milieux est forte [219]. Ce flux contient alors des molécules chimiothérapeutiques qui traversent la paroi vasculaire. Ce liquide est lui-même drainé par les vaisseaux lymphatiques par un flux $\vec{f}_{lymph}$. Ainsi,

$$\begin{array}{l} K\nabla P\vec{n}_{vasc} = f_{osmo} \text{ aux parois vasculaires} \\ K\nabla P\vec{n}_{lymph} = f_{lymph} \text{ aux parois lymphatiques} \end{array} \tag{C.5}$$

$P$ est la pression interstitielle dans le tissu, $K$ la conductivité hydraulique du tissu et $\vec{n}_{lymph}$ est la normale à la paroi lymphatique. Et, dans le tissu,

$$\frac{\partial P}{\partial t} = K\nabla^2 P \tag{C.6}$$

L'apport de molécules thérapeutiques dans le tissu par le flux osmotique se traduit quant à lui par l'équation :

$$D\phi\nabla C\vec{n}_{vasc} = (1-\sigma)C_v f_{osmo} \tag{C.7}$$

où $\phi$ est la fraction volumique de flux interstitiel et $\sigma$ est le coefficient de réflexion osmotique des molécules thérapeutiques.

Les vaisseaux lymphatiques sont généralement dégradés dans les tumeurs [220, 221]. Le mécanisme des flux osmotiques crée donc un flux convectif vers l'extérieur de la tumeur. En prenant en compte ces termes, l'équation de la concentration $C$ de molécules thérapeutiques dans le tissu a alors la forme :

$$\frac{\partial C}{\partial t} + \frac{1}{\rho}K\nabla P\nabla C = D\nabla^2 C - \nu C \tag{C.8}$$

$\rho$ la porosité du milieu, et $\frac{1}{\rho}K\nabla P\nabla C$ est le terme de flux convectif. Les conditions aux parois du vaisseaux prennent alors en compte, en plus du flux diffusif, un flux de molécules thérapeutiques résultant du flux osmotique. Ce dernier flux est proportionnel au flux osmotique, mais aussi à la concentration en molécules thérapeutiques dans le sang [219].

Dans certains modèles, la concentration de molécules thérapeutiques dans le sang est considérée comme une constante. Dans d'autres, elle est fixée à un certain seuil lors de la thérapie et est nulle pendant les périodes entre les séances de thérapie [90]. Elle peut encore décroître linéairement ou exponentiellement au cours du temps [219, 222], consécutivement à la diffusion, l'élimination et la dégradation des molécules. Certains modèles prennent également en compte que, lors d'une injection d'un produit chimiothérapeutique, les molécules injectées au même moment n'atteignent pas

en même temps la tumeur. Cela dépend en effet des vaisseaux sanguins qu'elles ont empruntées. Ainsi, les premières (et les dernières) molécules atteignant la tumeur sont fortement diluées dans le sang. L'essentiel de ce sang provient donc de vaisseaux ne transportant pas encore (ou plus) de molécules thérapeutiques [135], et la concentration sanguine en molécules est donc moindre. Cet effet peut être pris en compte en considérant les différents flux sanguins dans le réseau [135, 137, 149].

L'effet des thérapies sur chaque cellule dépend alors de la concentration de molécules thérapeutiques dans son environnement [90, 105], ainsi que de toute autre particularité de la cellule (phénotype, phase du cycle cellulaire) [90, 223]. Ainsi, dans certains modèles où la tumeur est représentée par un automate cellulaire, les cellules dans une phase donnée, qui correspond à la phase cible de la molécule, sont détruites par les agents chimiothérapeutiques quand la concentration de ces agents dépasse un seuil [105]. Dans d'autres, la probabilité de survie est une fonction décroissante de la concentration en molécules thérapeutiques. Ainsi, chez Ribba et al. (2005) par exemple [222], cette probabilité $p$ est de la forme :

$$p = a + \frac{1}{b + k_b C} \tag{C.9}$$

où $a$, $b$, et $k_b$ sont des constantes positives, et $C$ est la concentration de molécules thérapeutiques. Dans les modèles où la tumeur est considérée de façon plus continue, le taux de cellules tuées par la chimiothérapie en fonction du temps peut aussi dépendre de la concentration des molécules thérapeutiques. Ainsi, chez Lignet et al. (2012), le taux $\lambda_c(C)$ de cellules $c$ dans la phase spécifiée éliminées par unité de temps est de la forme :

$$\lambda_c(C) = \frac{E_{max,C} C}{C_{50} + C} \tag{C.10}$$

$E_{max,C}$ étant l'effet maximal de la chimiothérapie, $C_{50}$ étant la concentration en molécules chimiothérapeutiques nécessaire pour induire 50% de l'effet maximal, et $C$ est la concentration des molécules.

### *C.2.2 Cas du ciblage du réseau vasculaire*

Il existe des modèles permettant de simuler les effets des agents de destruction vasculaire comme des agents anti-angiogéniques.

Certaines molécules anti-angiogéniques agissent sur les récepteurs de la paroi vasculaire pour inhiber la germination des vaisseaux. Pour modéliser leurs effets, la germination des vaisseaux est parfois réduite en inhibant le terme de croissance vasculaire [76, 132]. L'importance de cette inhibition peut dépendre de la concentration de molécules anti-angiogéniques dans le sang [132]. Dans d'autres travaux [131], l'effet des anti-angiogéniques est modélisé par un terme inhibiteur de la croissance vasculaire de la forme :

$$\left.\frac{\partial V}{\partial t}\right|_{anti-angio} = -f(C)V \tag{C.11}$$

Le terme représentant l'action des anti-angiogéniques est ici le seul à être représenté. $V$ est la densité du réseau vasculaire et $f$ est une fonction croissante dépendant de la concentration $C$ en anti-angiogéniques. Dans ce dernier cas, il faut cependant s'assurer que le terme d'inhibition vasculaire n'est pas un impact plus fort que celui de croissance vasculaire, car cela entraînerait une

destruction du réseau. Or, les anti-angiogéniques permettent d'inhiber la croissance tumorale et non pas de détruire le réseau vasculaire existant.

D'autres molécules anti-angiogéniques inhibent la production de VEGF. Dans les modèles les plus simples, l'effet de ces molécules est modélisé en inhibant la production de VEGF lorsque la molécule thérapeutique est en action [174]. Cependant, ces modèles ne tiennent pas compte de la distribution spatiale des molécules thérapeutiques. Ainsi, dans d'autres modèles, l'anti-angiogénique diffuse dans le tissu de façon similaire aux agents chimiothérapeutiques visant les cellules tumorales (section C.2.1). Par exemple, chez Lignet et al (2012) [90], l'anti-angiogénique de concentration $C$ inhibe le VEGF suivant un taux $g(C)$ où $g$ est une fonction croissante. Les molécules anti-angiogéniques sont détruites à la même vitesse lors de la réaction chimique.

Quant aux agents de destruction vasculaire, ceux-ci peuvent être représentés par une dégradation du réseau vasculaire de la forme :

$$\left.\frac{dV}{dt}\right|_{destr} = -\lambda V \tag{C.12}$$

où le terme représentant l'action des agents destructeurs des vaisseaux est le seul à être représenté [76, 132]. $V$ est la densité vasculaire, ou représente le ravitaillement vasculaire dans les modèles sans dimension spatiale. $\lambda$ est le taux de dégradation vasculaire.

Les mécanismes qui rendent un vaisseau du réseau vasculaire tumoral plus sensible aux agents de destruction vasculaires qu'un autre sont encore mal connus. A ce jour, ces modèles de destruction vasculaire ont surtout permis d'étudier l'impact du choix des segments vasculaires dégradés sur la délivrance des molécules thérapeutiques dans la tumeur. Ce choix peut être complètement aléatoire [174], ou dépendre par exemple du flux sanguin dans les vaisseaux [137, 149].

| Abbréviation | Signification |
|---|---|
| ADN | **A**cide **D**ésoxyribo**n**ucléique |
| ARN | **A**cide **R**ibo**n**ucléique |
| AZD | **A**stra**Z**eneca (groupe pharmaceutique) **D**rug |
| BAY | **Bay**er |
| CA4-P | **C**ombrestatine **A-4** **P**hosphate |
| CDK | **C**ycline **D**ependent **K**inase |
| CEP | **C**irculating **E**ndothelial **P**recursor Cells |
| EMD | **EMD** Group (groupe pharmaceutique) |
| EndoTAG | **Endo**thelium **Targ**eting |
| IL | **I**nter**l**eukine |
| OXI (ou CA1P) | **C**ombretastatin **A1** di**P**hosphate |
| PMX | **P**el**m**ore**x** (groupe pharmaceutique) |
| PHD | **P**roly**hy**droxylase |
| SU | **SU** Group (groupe pharmaceutique) |
| peptide RGD | **Peptide** contenant la séquence **RGD** |
| VE | **V**ascular **E**ndothelium |
| VEGF | **V**ascular **E**ndothelial **G**rowth **F**actor |
| VEGFR | **V**ascular **E**ndothelial **G**rowth **F**actor **R**eceptor |
| VDA | **V**ascular **D**isrupting **A**gents |
| ZD (combrestatine) | **Z**eneca (groupe pharmaceutique) **D**rugs |

*Fig. C.1:* Tableau des abbréviations

# Deuxième partie

# MODÈLES ET MÉTHODES

# D. LE MODÈLE EXPÉRIMENTAL ET LE TRAITEMENT DES IMAGES

## Sommaire

**D.1 Présentation du modèle** . . . . . **51**
**D.2 Protocole expérimental** . . . . . **52**
**D.3 Segmentation des images** . . . . . **54**

## *D.1 Présentation du modèle*

Le dispositif de la fenêtre dorsale est connu depuis de nombreuses années [224, 225]. Il permet l'observation *in vivo* sur l'animal du développement de tumeurs implantées sur la peau de petits mammifères. Les cellules tumorales introduites peuvent être de différents types (pancréatique, prostatique, mammaire, pulmonaire, rénale, cérébrale...) et se développent généralement dans des organes difficilement observables.

La technique de la fenêtre dorsale consiste à fixer une chambre dotée d'une fenêtre d'observation sur un pli de peau (figure D.1). Ainsi, de nombreux processus liés à l'évolution tumorale sont rapidement accessibles à l'observation, comme par exemple l'angiogenèse et le remodelage vasculaire. Cependant, la croissance de la tumeur est souvent moins rapide que dans l'organe où elle se développe naturellement, et le nouvel environnement peut être défavorable au développement de métastases pour le type de tumeur étudié [226].

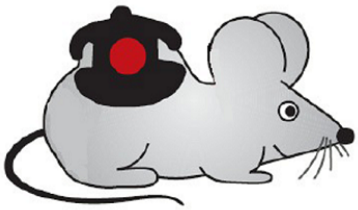


*Fig. D.1:* Image d'une fenêtre dorsale fixée sur une souris. Tirée de Lavigne et col. [227]

La littérature témoigne de l'utilisation de la fenêtre dorsale sur différents modèles animaux. Le hamster a particulièrement été utilisé car sa taille facilite la fixation des chambres dorsales [25, 183, 224, 228, 229]. Bien que techniquement plus exigeant, le modèle de la souris est également souvent choisi dans les modèles les plus récents de par l'existence de différentes lignées génétiquement modifiées [230–233]. En particulier, les souris nudes présentent une absence de poils et une immunodéficience qui rend ce modèle particulièrement adapté à l'observation du développement tumoral [123, 225, 234]. Le modèle du rat a également été utilisé [235, 236]. La microscopie

intravitale permet de visualiser à travers ces fenêtres dorsales l'évolution de paramètres rhéologiques liés au flux sanguin, en particulier grâce à des agents fluorescents et des microscopes adaptés.

Ainsi, l'utilisation de FITC-dextran, permet d'observer l'angiogenèse et le remodelage vasculaire grâce à des microscopes bi-photoniques [36, 183, 230, 237, 238]. En effet, ce marqueur est composé d'une molécule fluorescente, l'isothiocyanate de fluorescéine (FITC), associée à un polysaccharide, le dextran, qui permet une meilleure homogénéité de la fluorescence grâce à son poids moléculaire plus élevé. Des données telles que la densité du réseau vasculaire ou la tortuosité de ses vaisseaux peuvent ainsi être extraites des images [239].
Similairement, la rhodamine permet de visualiser les cellules sanguines de façon à déterminer le flux sanguin et la perméabilité des vaisseaux [183, 189, 237]. La concentration en oxygène dans les tissus peut être mesurée grâce à l'utilisation de colorants phosphorescents [230]. De même, la délivrance de molécules thérapeutiques peut être contrôlée grâce à leur fluorescence naturelle ou à des traceurs fluorescents [240]. Les pressions sanguines et tumorales peuvent être mesurées grâce à des cathéters [241].

Le dispositif de la fenêtre dorsale a déjà été utilisé pour valider des modèles théoriques qui décrivent la perméabilité des vaisseaux à l'oxygène [123, 183], ou la cicatrisation de blessures [238]. Cependant, ce dispositif n'a pas encore été utilisé pour valider un modèle théorique de croissance tumorale.

## D.2 Protocole expérimental

Les expériences sont réalisées par nos partenaires de la société Ecrins Therapeutics et de l'Institut des Neurosciences de Grenoble (GIN). Le modèle animal utilisé est la souris nude. Le protocole suivi est similaire à celui utilisé par de nombreuses équipes [238, 242, 243]. Les souris sont anesthésiées par inhalation d'un mélange de 1.5% d'isoflurane dans un mélange de 30% d'$O_2$ et 70% d'air durant la mise en place de la fenêtre dorsale et la réalisation des observations. Une dose de 250 $\mu l$ de buprecare, un anti-douleur, leur est également injecté avec 0.3 $mg/ml$. Pour fixer la fenêtre dorsale, un pli cutané est d'abord formé sur la peau du dos de la souris. Ce pli est encadré par 2 fenêtres symétriques en titane présentant chacune une ouverture centrale de 1 cm de diamètre. Au niveau de ces ouvertures, la peau est découpée sur une des couches du pli tissulaire pour permettre l'observation du tissu intérieur de la couche de peau opposée. Une chambre dorsale est alors mise en place sur l'ouverture pour permettre les observations au cours du temps. La figure D.2 illustre ce modèle expérimental.

Parallèlement, une tumeur rénale murine de type RENCA ($ATCC^{®}\ CRL-2947^{TM}$) est cultivée sur une souris nude "donneuse". Celle-ci est ensuite extraite de la souris et séparée en plusieurs morceaux de quelques millimètres de diamètres et de faible épaisseur. Chacun des ces fragments est alors implanté dans une chambre dorsale de souris "receveuse". La fenêtre d'observation est ensuite refermée par un verre. Puis, chaque fenêtre dorsale est régulièrement photographiée avec un appareil photo couleur 12 bits à capteur CCD à 5 millions de pixels de taille 3.5 microns dans la quinzaine de jours qui suivent la mise en place des morceaux de tumeurs. Les souris sont inspectées régulièrement et sont euthanasiées dans chacun des cas suivants :

- si elles montrent des signes de souffrance (prostration, perte de poids, gêne à la mobilité...)

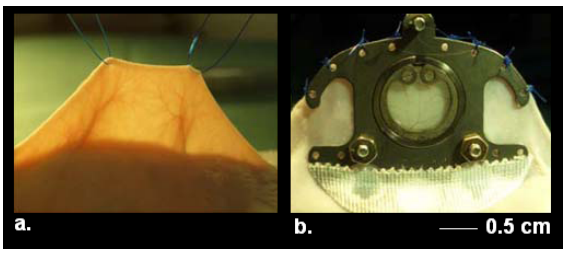



*Fig. D.2:* La mise en place d'une fenêtre dorsale. La peau est d'abord étirée sur la souris anesthésiée à l'aide d'un fil (a), puis la fenêtre dorsale y est fixée par trois attaches et en suturant la partie supérieure (b). Images tirées de [230]

- si la fenêtre se détache
- si la greffe ne prend pas
- ou si la zone d'observation est contaminée par des champignons.

Les photos mettent en évidence la croissance tumorale, et l'adaptation vasculaire (angiogenèse et remodelage des vaisseaux) qui ont lieu au cours du temps (figure D.3).

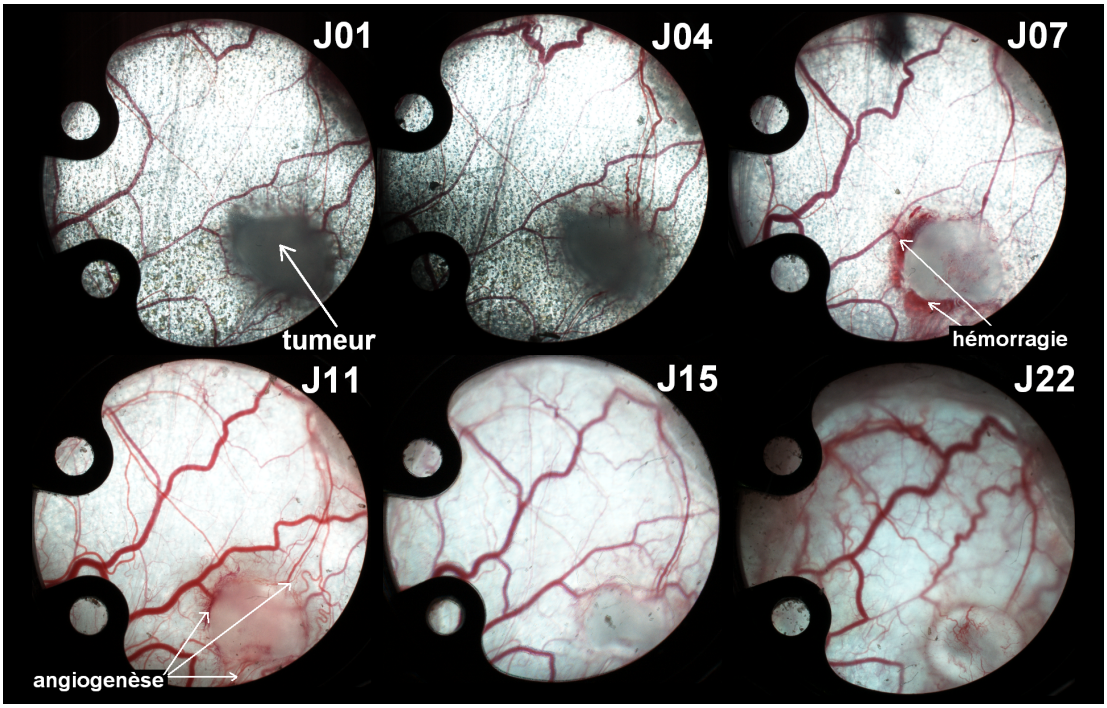



*Fig. D.3:* Série d'images représentant le développement tumoral (croissance tumorale et adaptation vasculaire). Le VEGF perméabilise les vaisseaux et induit une hémorragie (à 7 jours). Cette hémorragie se résorbe rapidement pour laisser place à l'angiogenèse (à partir de 11 jours). De plus la tumeur devient progressivement moins opaque au fur et à mesure qu'elle "s'enracine" dans le tissu hôte. Cela indique que la greffe a bien pris.

## D.3 Segmentation des images

Les séries d'images peuvent être très hétérogènes en termes de qualité. En particulier, figure D.3, les images des jours 1 et 4 sont de mauvaise qualité, sombres et granuleuses alors que l'image du jour 11 est en revanche de très bonne qualité en terme de netteté, de contraste et de luminosité. C'est pourquoi, la binarisation des images pour extraire les vaisseaux d'intérêt est réalisée manuellement.

Les images sont binarisées en ne retenant que les vaisseaux dont le diamètre est au dessus d'une trentaine de micromètres ou dont le diamètre va évoluer au dessus de ce seuil à un moment dans la série d'images.

Lors du processus de binarisation, les embranchements entre les vaisseaux sont distingués des croisements de vaisseaux appartenant à différents plans dans le tissu. Cette distinction est difficile à automatiser, mais elle est relativement aisée à l'oeil (figure D.4).

*Fig. D.4:* Exemple de croisement (sans contact physique) entre vaisseaux

Par soucis de simplification pour le post-traitement des images binaires, si deux vaisseaux se croisent, ils sont alors représentés sur des images binaires différentes tout en restant associés à la même image initiale. Plusieurs images binaires peuvent donc être nécessaires pour représenter tous les vaisseaux d'intérêt d'une même image (figure D.5).

Les images binaires sont par la suite traitées de façon automatique pour y extraire les chemins empruntés par les vaisseaux (annexe C).

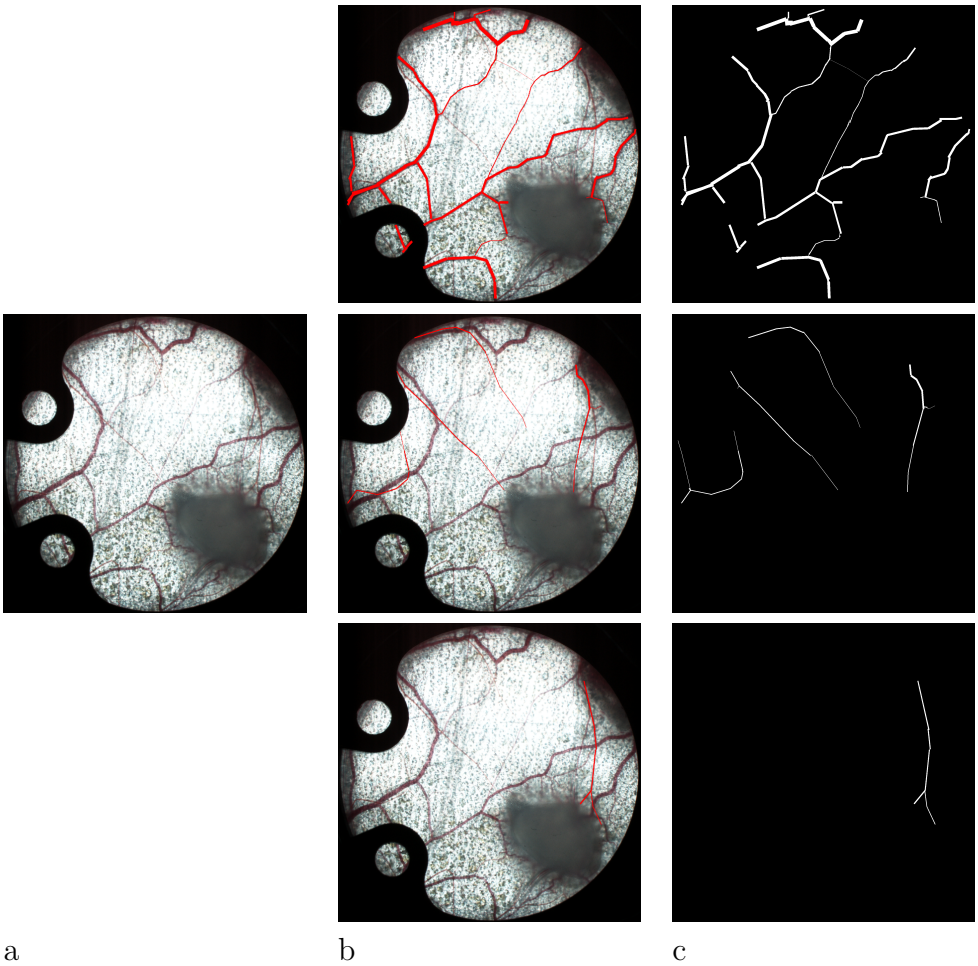



*Fig. D.5:* a. Image d'origine, b. Sélection des vaisseaux au dessus du seuil d'une trentaine de micromètres. Afin d'éviter la représentation des croisements de vaisseaux sur une même image (qui poserait un problème lors de l'analyse automatique des vaisseaux) plusieurs plans sont nécessaires. La représentation de l'ensemble des vaisseaux de l'image nécessite ici 3 plans. Les vaisseaux sont extraits par ordre d'importance dans les plans successifs, jusqu'à ce que tous les vaisseaux dont le diamètre est au dessus de seuil soient représentés. c. Image binarisée des vaisseaux sélectionnés

# E. LE MODÈLE COMPUTATIONNEL

## Sommaire


**E.1 Les différents modules . . . 57**
**E.2 Le domaine de simulation . . . 58**
E.2.1 Définition du domaine . . . 58
E.2.2 Discrétisation du domaine . . . 59
E.2.3 Le réseau vasculaire initial . . . 59
**E.3 Le module de croissance tumorale . . . 62**
E.3.1 Règles de l'automate cellulaire . . . 62
E.3.2 La division cellulaire . . . 64
E.3.3 La durée de cycle cellulaire . . . 65
**E.4 Le module de croissance et d'adaptation vasculaire . . . 66**
E.4.1 Adaptation vasculaire . . . 66
E.4.1.1 Dégradation des vaisseaux dans la tumeur . . . 66
E.4.1.2 Adaptation du rayon des vaisseaux . . . 68
E.4.2 Angiogenèse . . . 70
E.4.2.1 Germination des vaisseaux . . . 70
E.4.2.2 Croissance vasculaire . . . 70
**E.5 Les phénomènes diffusifs . . . 73**
E.5.1 Diffusion du VEGF par les cellules quiescentes . . . 73
E.5.2 Diffusion de l'oxygène . . . 74
E.5.2.1 Le transport de l'oxygène dans les vaisseaux . . . 74
E.5.2.2 Le transport de l'oxygène des vaisseaux jusqu'au tissu . . . 75
**E.6 Modélisation de la thérapie . . . 76**
E.6.1 Cytotoxiques . . . 76
E.6.2 VDAs . . . 76
**E.7 Conclusion . . . 77**


## *E.1 Les différents modules*

Le modèle computationnel a été développé de façon à reproduire les observations expérimentales sous fenêtre dorsale. Il vise à décrire les phases successives de l'évolution tumorale c'est à dire :

- la phase initiale de croissance tumorale avasculaire,
- le passage à l'état hypoxique de cellules tumorales qui mène à la diffusion de facteurs de croissance vasculaire (VEGF)
- les phases d'adaptation vasculaire (remodelage puis angiogenèse) qui en résultent

- la phase de croissance tumorale dépendante de l'angiogenèse

Le modèle est basé sur le couplage de deux modules principaux pour décrire les événements jusqu'à l'échelle sub-cellulaire. Le premier module décrit l'évolution tumorale et intègre le cycle cellulaire et le métabolisme (consommation en oxygène, hypoxie, prolifération et mort cellulaire) pour décrire le passage des cellules à l'état quiescent et l'émission de VEGF. Le second module décrit l'évolution vasculaire induite par le VEGF et par la croissance tumorale, et l'évolution de la distribution d'oxygène dans le tissu qui en résulte. En effet, les vaisseaux germent sous l'effet du VEGF et s'effondrent dans la tumeur lorsque les contrainte hémodynamiques exercées sur leurs parois sont faibles. Cette évolution du réseau vasculaire contribue à modifier les différentes contraintes qui s'exercent sur les vaisseaux, y compris les liens d'adhésions entre les cellules de la paroi vasculaire. Le rayon des vaisseaux s'adapte alors suivant les différentes contraintes. L'évolution vasculaire impacte l'apport d'oxygène dans la tumeur et donc sa croissance.

Les deux modules et leurs relations sont représentés dans le diagramme figure E.1.

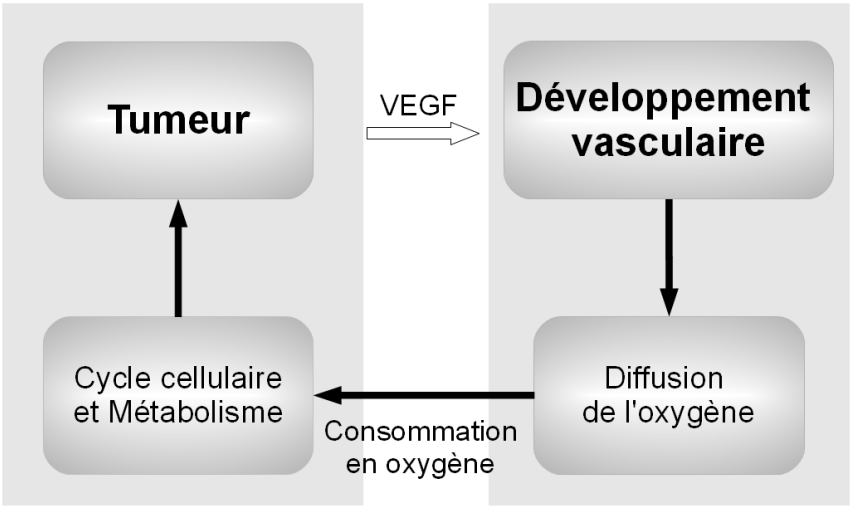



*Fig. E.1:* Diagramme d'inter-relation entre les modules du modèle. La tumeur émet du VEGF qui influe sur la structure vasculaire environnante. Les vaisseaux acheminent des nutriments et en particulier de l'oxygène vers la tumeur, ce qui influe sur l'état (prolifératif ou quiescent) de ses cellules et donc sur la croissance tumorale.

## E.2 Le domaine de simulation

### E.2.1 Définition du domaine

A travers une fenêtre dorsale, les évolutions vasculaires et tumorales ne sont facilement observables que sur la couche tissulaire sur laquelle a été implantée la tumeur. En conséquence, nous nous sommes limités à une modélisation en 2D, ce qui réduit les temps de calcul. Il est cependant clair que la croissance tumorale s'effectue également dans l'épaisseur du tissu et que cela implique

une interaction avec le verre (pression de la tumeur sur la vitre). Le choix 2D fait que nous n'avons pas abordé ce problème et que nous sous-entendons que ses conséquences sur la croissance tumorale sont négligeables.

Les simulations sont réalisées à partir d'une fenêtre carrée de 5 mm de côté. Cette taille de fenêtre est adaptée pour pouvoir simuler l'évolution des vaisseaux environnants sous une vingtaine de jours. En effet, sur 20 jours, la tumeur reste suffisamment petite pour pouvoir être observée entièrement sur cette zone.

### *E.2.2 Discrétisation du domaine*

La zone de simulation est discrétisée par une grille régulière composée d'éléments carrés de 25 $\mu m$ de côté, ce qui correspond à la surface d'une cellule tumorale en adhérence sur un substrat 2D. Les cellules occupent les éléments de la grille $e(i, j)$ et les vaisseaux prennent place sur les arêtes et les diagonales de ces éléments. La figure E.2 représente le domaine de simulation, où les vaisseaux sont discrétisés entre les nœuds $N(i, j)$.

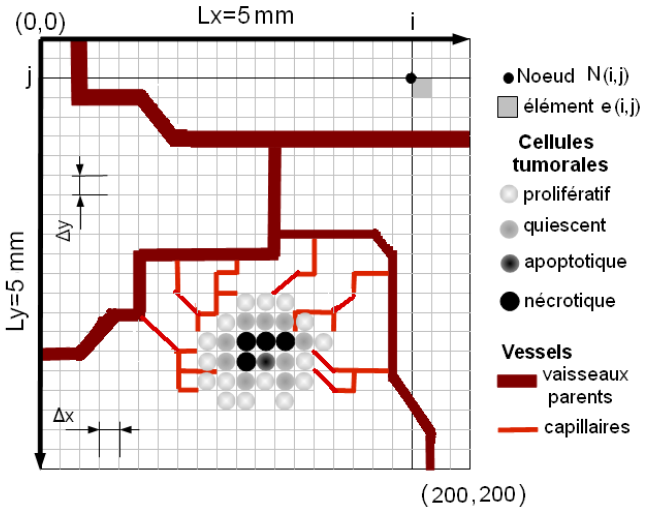



*Fig. E.2:* Domaine de simulation de la croissance tumorale en 2D. Ce domaine est une grille carrée de 200x200 éléments, soit une surface de 5 mm x 5 mm. Les différents types de cellules tumorales sont positionnés dans les éléments, alors que les vaisseaux se trouvent sur leurs bords ou leurs diagonales. Tiré de Lesart et col. (2012) [104]

### *E.2.3 Le réseau vasculaire initial*

Les vaisseaux principaux du réseau initial sont extraits de l'image du réseau vasculaire réel prise peu de temps après l'implantation des cellules tumorales (chapitre D, section D.3).

L'observation du réseau vasculaire du tissu cutané révèle l'existence d'un réseau dense et régulier de vaisseaux de faible diamètre s'étendant sur toute la zone (figure E.4). Nous nommons ce réseau, "réseau submicrovasculaire" (RSMV) pour le distinguer du réseau microvasculaire "visible".

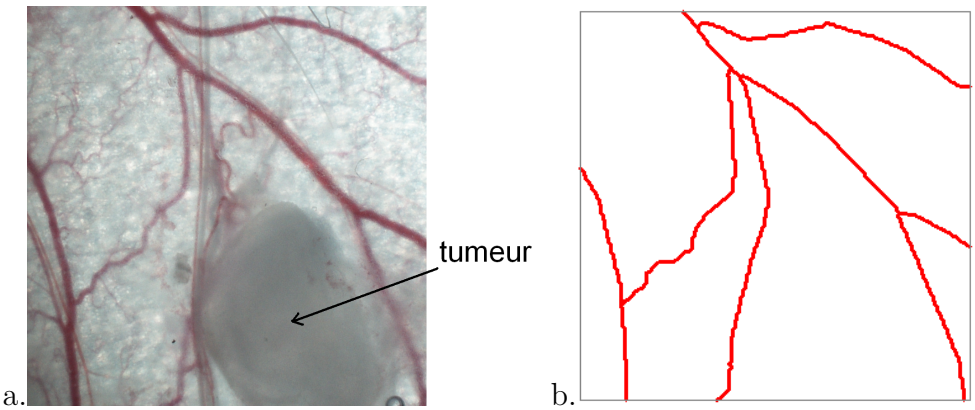



*Fig. E.3:* a. Un réseau vasculaire sous fenêtre dorsale et une tumeur fraîchement implantée b. Segmentation des vaisseaux principaux dans une zone de simulation 2D

Ce réseau alimente uniformément le tissu en oxygène et peut potentiellement être utilisé par les molécules thérapeutiques pour atteindre la tumeur. Il peut également influer sur l'évolution tumorale, en particulier au stade initial après lequel l'essentiel de ce réseau est dégradé par la tumeur. En effet, suite à la co-option des vaisseaux dans la tumeur, le réseau vasculaire est fragilisé. Les faibles stimulations hémodynamiques (tension de cisaillement) exercées sur les vaisseaux de faible diamètre induisent une perte de leur tonicité et en conséquence leur désagrégation.

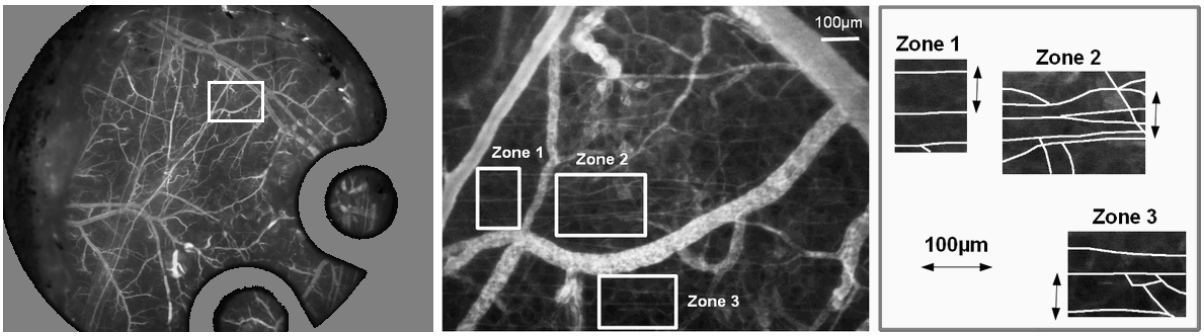



*Fig. E.4:* Visualisation du tissu sain d'une souris à différentes échelles. L'image de gauche montre une vue macroscopique du réseau vasculaire (le diamètre de la fenêtre est de 1 cm). La région sélectionnée dans l'image est montrée à plus fort grossissement (image du milieu). Les capillaires du RSMV deviennent visibles. Trois zones sont sélectionnées et les capillaires sont mis en évidence dans chaque zone dans le panneau de droite. La distance moyenne entre les capillaires est de 100 $\mu m$.

La représentation à 2D de ce réseau "submicrovasculaire" est difficile dans la mesure ou les vaisseaux denses se croisent dans une faible épaisseur de tissu sans qu'il y ait nécessairement de connexions entre eux ou avec le réseau microvasculaire (figure E.5). La prise en compte de ce réseau doit donc se faire de manière plus ou moins explicite. Nous avons par conséquent recherché le meilleur moyen de représenter ce réseau sub-microvasculaire sans que cela néglige les mécanismes importants du développement vasculaire et tumoral.

Comme ce réseau vasculaire est relativement régulier, nous avons effectué des simulations en le

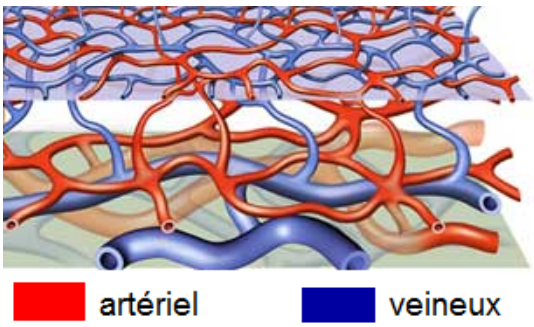



*Fig. E.5:* Réseau sub-microvasculaire avec vaisseaux entrecroisés. Vision d'artiste tirée de http ://www.laser-couperose.com

modélisant sous la forme d'une grille régulière carrée de vaisseaux de faible diamètre (figure E.7). Le pas du maillage choisi pour la grille est celui de l'interdistance moyenne des vaisseaux dans un réseau vasculaire sain, c'est à dire 100 $\mu m$ (figure E.4) et le diamètre des vaisseaux est 8 $\mu m$. Cela permet de considérer l'angiogenèse et le remodelage du réseau sub-microvasculaire au voisinage direct de la tumeur sur la croissance tumorale, et son impact sur l'oxygénation de celle-ci. Nous avons également testé le cas où ce réseau vasculaire n'est pas représenté, ce qui nécessite une adaptation des paramètres qui gèrent la résistance cellulaire à l'hypoxie (le tissu étant hypoxié en l'absence des microvaisseaux). Les résultats de simulation obtenus à partir de ces 2 cas sont comparés en détail chapitre F.1. Il résulte de cette comparaison qu'aucun de ces deux cas ne représente de façon totalement satisfaisante la croissance tumorale. En effet, représenter explicitement le réseau sub-microvasculaire ne permet pas aux vaisseaux parents de contribuer à la néovascularisation de la tumeur. D'autre part, l'absence de ce réseau ne tient pas compte de l'oxygénation physiologique initiale du tissu au voisinage de la tumeur.

Une solution intermédiaire a donc été adoptée par la suite. Celle-ci représente le réseau sub-microvasculaire par un champ de vaisseaux $E$ exprimé dans chaque élément de la grille. Ce champ est considéré comme initialement uniforme et de valeur $E_0$, et est dégradé par la tumeur au cours du temps. Ainsi, à chaque pas de temps $\Delta t$ le champ a une probabilité $\Delta t/t_{survie}$ de se dégrader pour les éléments sur lesquels une cellule tumorale est présente. Le champ dans cet élément prend alors la valeur nulle (figure E.6).
La valeur initiale du champ est calculée de façon à correspondre à l'occupation moyenne par élément de la grille qu'occuperait le réseau sub-microvasculaire représenté explicitement. Ainsi, pour que la densité moyenne du champ soit la même que dans une grille carrée de maillage 100 $\mu m$, cette valeur $E_0$ est de 25/2 $\mu m$. En effet, dans la figure E.7, 8 segments (arête d'un élément) de 25 $\mu m$ sont présents sur une grille carrée de côté et de maillage 100$\mu m$ (c'est à dire un maillage de vaisseaux qui circonscrit 16 éléments). Le choix qui consiste à intégrer le réseau vasculaire sous la forme d'un champ permet de considérer le réseau préexistant de petits vaisseaux (qui assurent l'oxygénation physiologique du tissu) sans qu'il interfère avec l'angiogenèse provenant des vaisseaux principaux. Une solution similaire avait déjà été adoptée en 2009 par Macklin et col. [75].

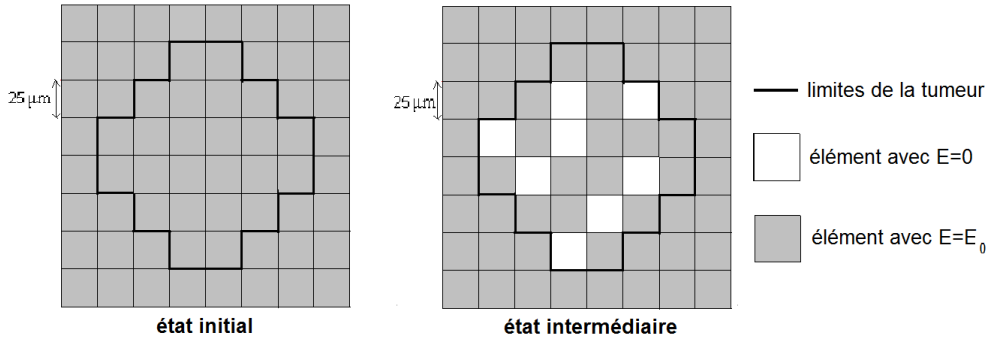



*Fig. E.6:* La dégradation du réseau vasculaire implicite dans la tumeur. Les éléments où le réseau vasculaire est dégradé sont à $E = 0$, alors que ceux où ce réseau n'est pas encore dégradés sont à $E = E_0$

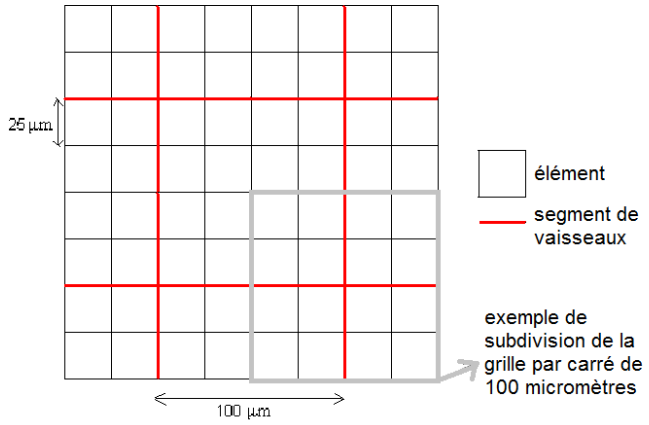



*Fig. E.7:* Le positionnement des segments de vaisseaux pour créer une grille sub-microvasculaire régulière d'interdistance moyenne 100 $\mu m$.

## E.3 Le module de croissance tumorale

### E.3.1 Règles de l'automate cellulaire

La croissance tumorale dans le modèle est basée sur un automate cellulaire [98]. Ce choix permet de décrire la transition des cellules tumorales entre différents états (prolifératif, quiescent, apoptotique ou nécrotique). De plus, notre modèle prend en compte le cycle cellulaire en attribuant à chaque cellule individuelle un compteur de temps. La phase de la cellule ($G_1$, $S$, $G_2$ ou $M$) peut être ainsi déterminée à partir du temps écoulé depuis la division d'une cellule mère.

Dans le modèle, les cellules saines ne sont pas représentées explicitement. Chaque élément de la grille de simulation peut ainsi être occupé par des cellules tumorales, ou être libre, c'est à dire qu'on sous entend une occupation par une cellule saine.

Les règles suivies par l'automate sont présentées dans le diagramme figure E.8. Les transitions entre les différents types cellulaires sont conditionnées par le cycle cellulaire et les conditions environnementales. Plus spécifiquement, l'oxygène disponible dans le tissu et l'espace disponible

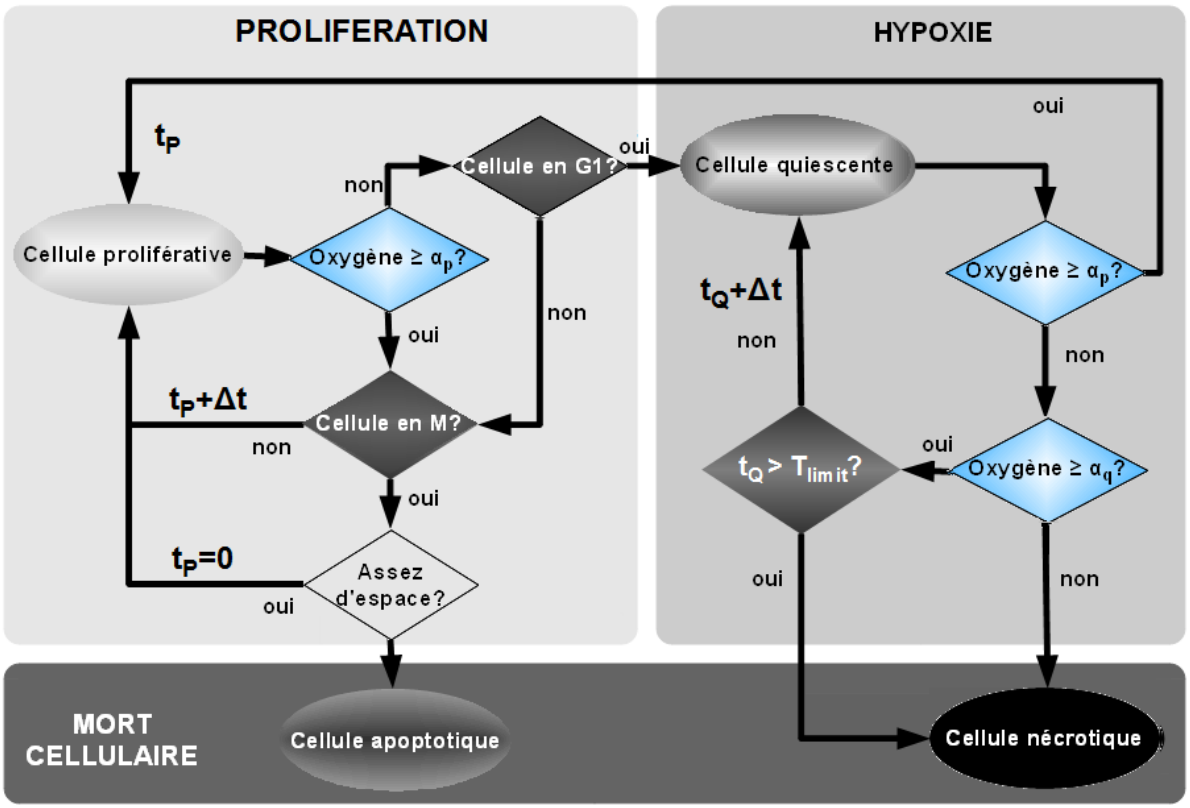



*Fig. E.8:* Diagramme d'inférence qui régit l'automate cellulaire de la croissance tumorale. $\alpha_p$ est le seuil limite en oxygène sous lequel les cellules proliératives en phase $G_1$ deviennent quiescentes et à l'inverse les cellules quiescentes retournent dans un état proliératif. $\alpha_q$ est le seuil limite en oxygène pour que les cellules restent dans un état quiescent et ne meurent pas par nécrose par hypoxie sévère. Les ellipses représentent les différents états cellulaires et les losanges représentent des tests logiques qui déterminent l'évolution de la cellule. Les losanges bleus représentent des tests relatifs au niveau d'oxygène, alors que les losanges gris foncés sont des tests relatifs à des phases du cycle, et qu'un dernier losange représente un test quant à l'espace disponible aux alentours de la cellule.

vont déterminer si la cellule va proliférer ou mourir. Voici les règles qui régissent la prolifération cellulaire en fonction de l'oxygène disponible :

- Si l'oxygène disponible est en dessous d'un seuil $\alpha_p$ et que la cellule est en phase $G_1$, elle devient quiescente. En effet, le point de restriction et la transition entre les phase $G_1$ et $S$ sont considérés comme confondus dans ce modèle. Étant donné que les phases $G_2$, $S$ et $M$ sont moins consommatrices d'énergie que la phase $G_1$, nous faisons l'hypothèse qu'elles peuvent s'accomplir même si l'apport en oxygène est limité. Seule la phase $G_1$ très consommatrice d'énergie peut se trouver perturbée par le manque d'oxygène et rester en suspens (ou se ralentir).

- Une cellule quiescente peut retourner à un état proliératif si les conditions d'oxygénation redeviennent satisfaisantes (au dessus du seuil $\alpha_p$). Toutefois, si la cellule reste dans un état quiescent pendant trop longtemps ($t > T_{limit}$) ou si les conditions d'hypoxie sont trop sévères

(disponibilité en oxygène en dessous d'un seuil $\alpha_q$), la cellule devient nécrotique. Dans le cas de la mort par nécrose, la place de la cellule dans l'automate n'est pas libérée.

### *E.3.2 La division cellulaire*

En phase $M$, la cellule peut se diviser en 2 cellules filles si elle a suffisamment d'espace pour cela. C'est le cas uniquement si un élément adjacent est vide ou qu'une cellule adjacente peut libérer un espace en se déplaçant dans un élément voisin libre.

Si un ou plusieurs éléments adjacents sont libres, alors l'une des deux cellules filles peut venir l'occuper tandis que l'autre remplace la cellule mère. Cette sélection se fait par un processus aléatoire (figure E.9a) dans lequel les éléments adjacents peuvent avoir une probabilité différente d'être sélectionnés selon qu'ils sont voisins de l'élément considéré par une arête (probabilité $a$) ou un sommet (probabilité $p = \gamma a$ avec $\gamma \leq 1$). Les probabilités sont normalisées.

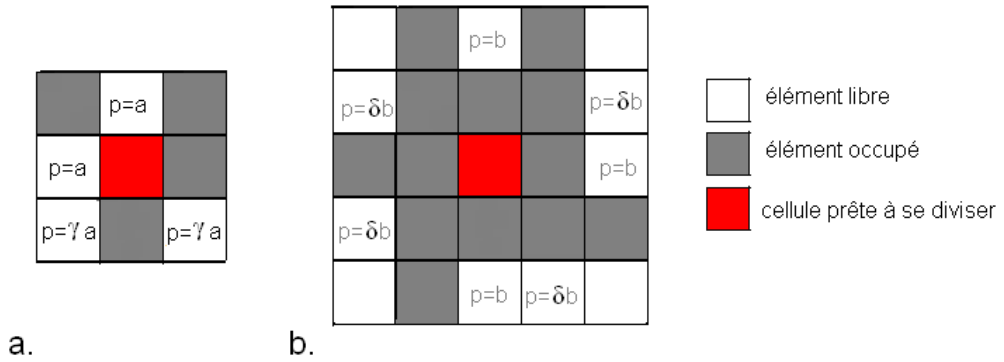



*Fig. E.9:* Probabilités $p$ d'occupation d'un élément libre successivement à la division d'une cellule. a. Lorsqu'une cellule adjacente est libre ($\gamma \leq 1$) b. Lorsque toutes les cellules adjacentes sont occupées mais qu'une des cellules se trouvant dans un élément transverse à la cellule qui se divise peut se déplacer vers un de ses éléments adjacents libres ($\delta \leq 1$). La somme des probabilités est ramenée à 1

Au cours de cette thèse, nous avons utilisé plusieurs modèles de division cellulaire. Dans le **modèle 1**, la cellule en phase $M$ ne meurt par apoptose que s'il n'y a pas d'élément libre adjacent. Si la cellule peut se diviser, l'une des cellules filles occupe un des éléments adjacents libres. Chaque élément transverse a une probabilité $a$ d'être sélectionné, alors que les éléments diagonaux ont une probabilité $\gamma a$ d'accueillir une des cellules filles.

Le **modèle 2** reprend le modèle 1 si un élément adjacent à la cellule en phase mitotique est libre. Cependant, si aucun élément adjacent n'est libre mais qu'au moins une des cellules occupant un de ces éléments peut se déplacer vers un élément libre, alors elle se déplace pour permettre de laisser la place à une des cellules filles. La surface de contact d'une cellule avec les cellules adjacentes de façon transverse étant plus grande qu'avec celles adjacentes de façon diagonale, nous considérons que seules les cellules transverses peuvent se déplacer ainsi. Ce déplacement peut être

transverse, dans la direction de la poussée exercée pour laisser de la place à une des cellules filles, ou diagonale dans une des deux directions adjacentes à celle-ci (figure E.10). Dans le cas ou plusieurs déplacements sont possibles, l'un d'entre eux est sélectionné selon un processus aléatoire similaire au précédent. Comme le montre la figure E.9b, la probabilité qu'un déplacement soit sélectionné est encore une fois différente selon qu'il soit transverse (probabilité $p = b$) ou diagonal (probabilité $p = \delta b$ avec $\delta \leq 1$). Si un tel déplacement d'une cellules transverse à la cellule en mitose est également exclu, la cellule entre en apoptose, ce qui aboutit à son élimination au bout d'un temps $t_{apopt}$. L'élément de la grille est alors libéré.

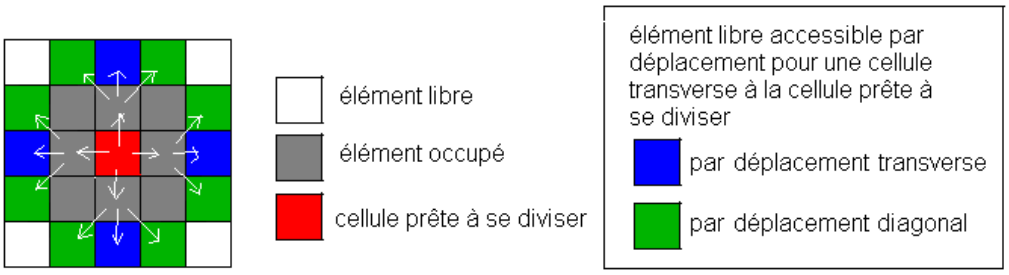



*Fig. E.10:* Éléments libres accessibles par déplacement pour une cellule transverse à une cellule prête à se diviser.

Les paramètres $\gamma$ et $\delta$ qui régissent la division cellulaire sont déterminés de façon à ce que la tumeur croisse de manière isotrope dans un environnement uniformément oxygéné. Le chapitre G section G.1 explique plus en détail la façon dont ces paramètres sont déterminés.

### *E.3.3 La durée de cycle cellulaire*

La façon de déterminer la durée du cycle cellulaire d'une cellule fille a elle aussi évolué au cours de cette thèse. Au départ, dans le **modèle 1**, la durée du cycle cellulaire de chaque cellule était considérée aléatoirement à 20, 21, 22 ou 23 heures. La durée de la phase $G_1$ est quant à elle toujours de 10 heures.

Puis, nous avons pris en considération que la durée du cycle d'une cellule dépendait de certains facteurs génétiques ou épigénétiques hérités de sa cellule mère [244], et que des cellules issues d'un même cellule mère ne pouvaient pas avoir une durée de cycle cellulaire trop différente. Ainsi, dans le **modèle 2**, la durée du cycle cellulaire d'une cellule fille est la même que sa cellule mère. Ce modèle nous a permis d'étudier la compétition entre des populations cellulaires de durée de cycle différente.

Cependant, des faibles variations dans la durée du cycle cellulaire dans une population issue d'une même cellule mère existent. Ceux-ci peuvent être dus aux conditions environnementales, mais aussi à des facteurs génétiques et épigénétiques qui peuvent être modifiés lors de la division cellulaire. Ces différents paramètres sont cependant difficiles de découpler les uns des autres [244]. Dans le **modèle 3**, nous avons fait l'hypothèse de réguler la durée de cycle d'une cellule fille suivant une loi aléatoire dépendant de la durée de cycle de la cellule mère. Ainsi, la durée du cycle de chaque cellule fille est déterminée selon une loi normale centrée sur la durée de cycle de la cellule mère et réduite sur un intervalle d'une heure fixé tout au long de la simulation pour éviter de trop grands écarts de durée de cycle dans la population (figure E.11). Dans ce modèle, c'est

la durée de la phase $G_1$ qui est modifiée suivant les cellules. En effet, cette phase est celle dont la durée varie le plus entre cellules de même souche [43, 44]. Les durées des phases $S$, $G_2$ et $M$ ont une variabilité moindre. Leurs durées sont donc considérées comme fixes dans le modèle. Nous attribuons respectivement à chacune de ces phases les durées de $8h$, $5h$ et $1h$. L'écart-type de la loi reste également toujours le même.

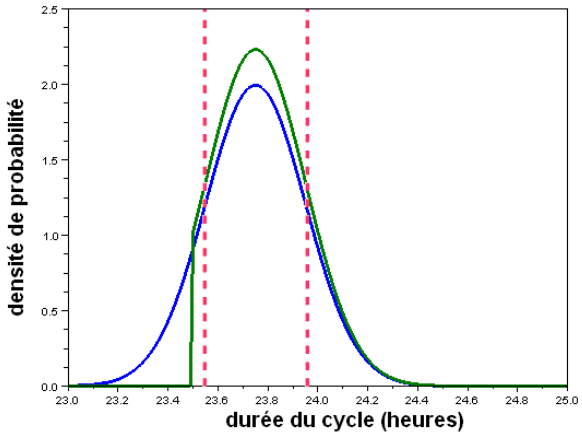



*Fig. E.11:* Densité de probabilité de la loi normale centrée sur $m = 23.75$ h, d'écart type $\sigma = 0.2$ (en bleu). Les durées de $\sigma$ et $m$ ne sont ici fixées qu'à titre d'exemple pour l'illustration. Les pointillés rouges délimitent la zone $[m - \sigma, m + \sigma]$. Loi réduite sur $[23.5, 24.5]$ h (en vert).

Pour effectuer le tirage aléatoire d'une durée de cycle cellulaire suivant une loi normale tronquée, nous utilisons la forme cartésienne de la méthode de Box-Muller en rejetant les éléments extérieurs à l'intervalle de troncature.

## E.4 Le module de croissance et d'adaptation vasculaire

Sous l'effet de la tumeur et du VEGF qu'elle émet, le réseau vasculaire s'adapte et se développe. Les expérimentations *in vivo* sous fenêtre dorsale montrent que, dans un premier temps, les vaisseaux voient leurs rayons changer (se contracter ou se dilater). La croissance de nouveaux vaisseaux (c'est à dire l'angiogenèse) n'est quant à elle clairement observable qu'au bout de quelques jours.

### E.4.1 Adaptation vasculaire

#### E.4.1.1 Dégradation des vaisseaux dans la tumeur

Il est connu que l'absence de stimulation mécanique, en particulier de la tension de cisaillement, sur les vaisseaux cooptés dans la tumeur induit une perte de tonicité dans ces vaisseaux qui se désagrègent (chapitre B, section B.2.4). Ainsi dans le modèle, les vaisseaux dont la tension de cisaillement $\tau_{wss}$ est en dessous d'un certain seuil $\tau_{coll}$, ont un temps de survie moyen de $t_{survie}$. Les autres vaisseaux ne peuvent pas être dégradés par la tumeur. Ce même choix a été fait dans

d'autres modèles [18, 99, 146]. La tension de cisaillement $\tau_{wss}$ est fonction du flux sanguin $Q$, du rayon du vaisseau $R$ et de la viscosité du sang $\mu(H_D, R)$, $H_D$ étant l'hématocrite dans le vaisseau :

$$\tau_{wss} = \frac{4\mu(H_D, R)}{\pi R^3}|Q| \tag{E.1}$$

Le champ $E$ qui représente le réseau submicrovasculaire présent dans le tissu à l'état initial se dégrade selon la même probabilité que les vaisseaux représentés explicitement qui ont une faible tension de cisaillement (section E.2.3).

La viscosité apparente du sang est calculée suivant une expression déterminée par Pries et col. (1996) à partir de l'interpolation de mesures expérimentales du flux sanguin [245]. Cette expression fut énormément utilisée par la suite dans d'autres modèles [98, 115, 138, 140, 149, 246]. Voici sa formulation :

$$\mu(H_D, R) = \left[1 + (\mu_{0.45} - 1)\frac{(1 - H_D)^C - 1}{(1 - 0.45)^C - 1}\left(\frac{2R}{2R - 1.1}\right)^2\right]\left(\frac{2R}{2R - 1.1}\right)^2 \mu_{plasma} \tag{E.2}$$

avec $\mu_{plasma}$ la viscosité du plasma et

$$C = (0.8 + e^{-0.15R})\left(-1 + \frac{1}{1 + 10^{-11}(2R)^{12}}\right) + \left(\frac{1}{1 + 10^{-11}(2R)^{12}}\right) \tag{E.3}$$

$$\mu_{0.45} = 6e^{-0.17R} + 3.2 - 2.44e^{-0.06(2R)^{0.0645}} \tag{E.4}$$

Dans les équations E.2, E.3 et E.4, le rayon $R$ est exprimé en micromètres. La viscosité apparente pour différents hématocrites est représentée figure E.12.

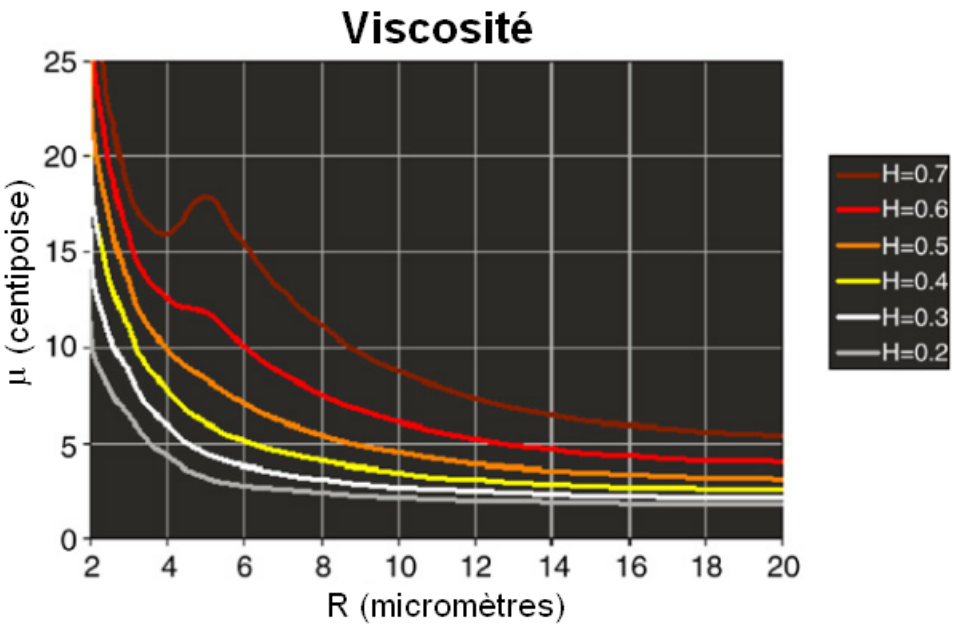



*Fig. E.12:* Viscosité du sang en fonction du rayon des vaisseaux et de l'hématocrite. Tiré de Stéphanou et col. [138].

Le flux sanguin est quant à lui donné par la loi de Poiseuille :

$$Q = \frac{\pi R^4}{8L} \frac{\Delta P}{\mu(H_D, R)} \tag{E.5}$$

$L$ étant la longueur du vaisseau considéré et $\Delta P$ étant la perte de pression sanguine entre l'entrée et la sortie du vaisseau. Les pressions sanguines sont calculées grâce au principe de conservation de masse pour chaque nœud du réseau. Cela signifie que la somme des flux en chaque noeud $(i, j)$ de la grille est égal à 0. Cette procédure mène à un système d'équations linéaires qui sont résolues numériquement grâce à la méthode de surrelaxation successive. Les pressions sanguines sont fixées aux bornes du domaine de simulation.

#### *E.4.1.2 Adaptation du rayon des vaisseaux*

Les vaisseaux se dilatent ou se contractent (chapitre B , section B.2.4) sous l'effet des forces hémodynamiques qui s'exercent sur eux. Parmi les diverses forces que nous prenons en compte pour l'adaptation des rayons vasculaires figurent celles identifiées et modélisées par Pries et col. en 1998 [148]. Il s'agit de la tension de cisaillement $S_{wss}$, de la pression transmurale $S_p$, et d'un stimulus métabolique $S_m$. A celles-ci s'ajoutent la constriction naturelle des vaisseaux $S_k$, modélisée par une constante chez Pries en col. [148, 150] mais dont nous avons ici modifié l'expression pour prendre en compte l'influence du VEGF et du rayon vasculaire sur cette constriction. Ainsi, à chaque pas de temps, le rayon vasculaire évolue suivant :

$$\Delta R = S_{tot} R \Delta t = (S_{wss} - S_p + S_m - S_k) R \Delta t \tag{E.6}$$

*Les stimuli classiques de l'adaptation vasculaire*

Le stimulus lié à la tension de cisaillement $S_{wss}$ est tel que :

$$S_{wss} = log_{10}(10\tau_{wss} + \tau_{ref}) \tag{E.7}$$

où $\tau_{wss}$ est la tension de cisaillement et $\tau_{ref}$ est une constante qui permet d'éviter un stimulus trop faible quand la tension de cisaillement est petite. Ce stimulus tend à ce que les vaisseaux de même flux sanguin soit de même rayon (figure E.13a).

Le stimulus lié à la pression transmurale quant à lui répond à la formulation suivante, dérivée de mesures effectuées sur le réseau mésentérique du rat :

$$S_p(P) = k_p log_{10}(100 - 86exp(-5000(log_{10}(log_{10}(P)))^{5.4})) \tag{E.8}$$

où $k_p$ est une constante et $P$ est la pression intravasculaire en mmHg. Ce terme permet de refléter la différence de rayons entre les vaisseaux artériels et veineux pour un même flux (figure E.13b). En effet, les vaisseaux artériels à pression intravasculaire plus forte sont plus fins.

Le stimulus métabolique garde la forme considérée chez Pries et col. (1998) :

$$S_m = k_m log_{10}(1 + Q_{ref}/(QH_D)) \tag{E.9}$$

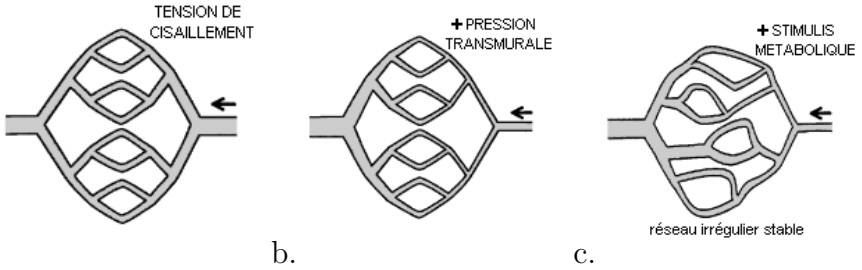



*Fig. E.13:* Effet des différents stimuli a. Stimulus de tension de cisaillement uniquement b. Stimulus de pression transmurale ajouté à celui de tension de cisaillement c. Stimulus métabolique ajouté aux 2 précédents. Tiré de Pries et col. [148]

où $k_m$ est une constante, et $Q_{ref}$ est un flux de référence *a priori* prévu pour être plus grand que la plupart des autres flux, et $H_D$ est l'hématocrite. Le choix de cette formulation a été fait pour ne pas multiplier l'utilisation de paramètres inconnus. Ce terme permet d'équilibrer les flux dans les boucles (figure E.13c). En effet, lorsque deux vaisseaux forment une boucle, le gradient de pression est plus faible dans la branche la plus longue, ce qui, en l'absence du stimulus métabolique, conduit à son affaissement en faveur de l'autre branche.

*Introduction d'une contrainte élastique pour les vaisseaux*

La nouveauté de notre modèle concernant l'adaptation vasculaire se trouve dans la façon de prendre en compte la tendance naturelle des vaisseaux à se contracter. En effet, ce terme a toujours été considéré comme une constante. Or, il semblerait naturel que ce terme de contraction soit une réponse à la déformation élastique de la paroi vasculaire consécutive aux divers stimuli qu'elle subit. Le VEGF ($V$) a également un impact sur ce terme. En effet, cette molécule libère les cellules endothéliales des contraintes qui s'exercent sur elles car elle contribue au détachement des péricytes et des cellules musculaires lisses qui entourent la paroi vasculaire et agit sur les cadhérines VE qui assurent les liens d'adhésion entre les cellules endothéliales. Dans notre modèle, nous considérons que le rayon de tous les vaisseaux lorsqu'aucun stimulus n'est exercé sur eux est de la même valeur $R_0$, et n'évolue pas au cours du temps. Nous considérons donc que la contrainte élastique $\tau_e$ des vaisseaux est de la forme :

$$\tau_e(V, R) = K_0 \frac{V_0}{(V + V_0)}(R - R_0) \tag{E.10}$$

où $V_0$ est la concentration de VEGF pour laquelle la contrainte élastique est la moitié de la contrainte en absence de VEGF et $K_0$ est la constante d'élasticité de la paroi microvasculaire en l'absence de VEGF.
Ainsi, comme le montre la figure E.14, l'intensité de la contrainte des déformations élastiques varie inversement à la concentration de VEGF dans le milieu pour un rayon donné. De plus, dans un milieu à concentration de VEGF donnée, la contrainte varie linéairement en fonction du rayon du vaisseau.

Le stimulus associé est quant à lui de la forme :

$$S_k = k_e log_{10}\Big(\frac{\tau_e(V, R)}{\tau_c} + 1\Big) \tag{E.11}$$

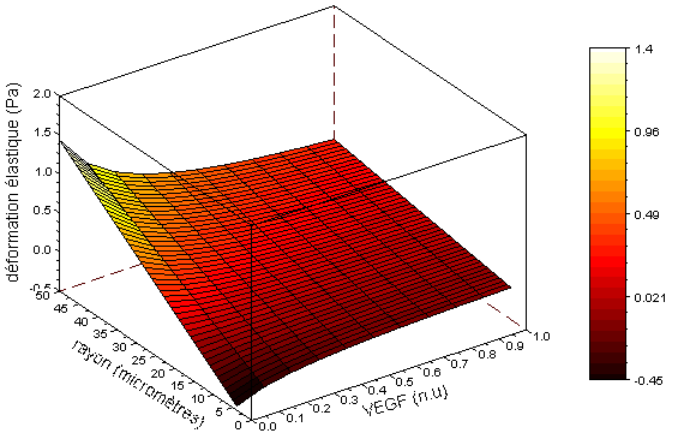



*Fig. E.14:* Contrainte des déformations élastiques en fonction du rayon du vaisseau et de la concentration de VEGF dans le milieu. $V_0 = 0.25$, $R_0 = 15\ \mu m$ et $K_0 = 41 \times 10^3\ N/m^3$

où $k_e$ est une constante et $\tau_c$ une contrainte de référence choisie de façon à ce que le vaisseau de référence soit stable à sa sortie.

### *E.4.2 Angiogenèse*

#### *E.4.2.1 Germination des vaisseaux*

Comme dans [75, 104, 118, 138–140], nous supposons dans notre modèle que la probabilité de germination des vaisseaux augmente avec la concentration locale de VEGF. De plus, nous considérons que la formation d'un germe inhibe toute nouvelle germination sur une longueur $l_{inhib}$ de vaisseau autour du point de germination [100, 115, 247]. Un nouveau germe ne peut non plus se former sur une longueur $l_{extrem}$ à l'extrémité d'un germe en formation car le vaisseau n'est pas encore assez formé pour permettre sa germination [138].

La production de molécules peut être induite par les vaisseaux intra-tumoraux pour limiter la germination dans la tumeur [248]. C'est le cas par exemple de l'EphB4 et de son ligand ephrinB2 principalement exprimés dans les tumeurs cérébrales [26]. Pour cette raison, la germination des vaisseaux dans la tumeur est inhibée par la présence de la tumeur après un temps $t_{EC}^{switch}$ [100].

#### *E.4.2.2 Croissance vasculaire*

Les cellules à l'extrémité des vaisseaux en formation migrent alors en remontant le gradient de VEGF, noté $\nabla V$ (chimiotaxie), et en prenant appui sur les fibres de la matrice extra-cellulaire (haptotaxie). Comme dans l'immense majorité des modèles où l'architecture vasculaire est considérée explicitement, la prolifération cellulaire à l'extrémité des vaisseaux en formation est considérée comme suffisante pour ne pas limiter la migration. Cela résulte en la formation de nouveaux vaisseaux de rayon $r_{sprout}$. La migration de ces cellules est déterminée par l'équation proposée par Anderson et Chaplain (1998) [133], décrite ci-après :

$$\frac{\partial n}{\partial t} = \overbrace{D\nabla^2 n}^{migration\ aléatoire} - \overbrace{\nabla.(\chi(V)n\nabla V)}^{chimiotaxie} - \overbrace{\rho\nabla.(n\nabla f)}^{haptotaxie} \tag{E.12}$$

où $n(x, y, t)$ est la densité de cellules endothéliales par unité de volume. La migration chimiotactique est caractérisée par la fonction $\chi(V) = \chi/(1+\alpha V)$ qui reflète la décroissance de la sensibilité chimiotactique quand la concentration en VEGF augmente. Les paramètres $D_m$, $\chi$ et $\rho$ caractérisent respectivement les modes de migration aléatoire, chimiotactique et haptotactique.

Le VEGF $V$ est produit par les cellules tumorales quiescentes tel que décrit par l'équation E.17 dans la section E.5.1. L'évolution des fibres matricielles $f$ est donnée par les équations aux dérivées partielles suivantes [138] :

$$\frac{\partial f}{\partial t} = \beta n_{i,j} - \gamma m f, \tag{E.13}$$

$$\frac{\partial m}{\partial t} = \alpha_m n_{i,j} + D_m \nabla^2 m - \nu m, \tag{E.14}$$

$\beta$ est le taux de production de fibres matricielles par un germe $n_{i,j}$ ($n_{i,j}$ est une variable booléenne ayant pour valeur 0 ou 1 et qui matérialise l'existence ou l'absence d'un germe sur le noeud de la grille correspondant). Les cellules endothéliales produisent simultanément une enzyme qui dégrade la matrice extra-cellulaire $m(x, y, t)$ (métalloprotéase) à un taux $\alpha$, pour faciliter la migration à travers le tissu. La matrice est dégradée par ces enzymes à un taux $\gamma$. L'enzyme diffuse dans le tissu avec un coefficient de diffusion $D_m$ et se dégrade au taux $\nu$. La distribution initiale de fibres matricielles dans le tissu avant le début de l'angiogenèse est considérée comme homogène.

Le déplacement des cellules localisées à l'extrémité de chaque vaisseau est obtenue en discrétisant l'équation E.12 dans toutes les directions de l'espace autorisées pour la migration. Les directions autorisées varient selon les modèles successifs utilisés dans cette thèse. Soit $\Delta x = \Delta y$ la taille d'un côté d'un élément et $\Delta t$ un pas de temps. La discrétisation se fait suivant un repère orthonormé transverse avec $\Delta x$ pour pas spatial et $\Delta t$ pour pas temporel dans le **modèle 1**. Par la suite, dans le **modèle 2**, deux repères orthonormés sont utilisés, l'un transverse avec $\Delta x$ pour pas spatial et $\Delta t$ pour pas temporel, et l'autre diagonal avec $\sqrt{2}\Delta x$ pour pas spatial et $\Delta t$ pour pas temporel. On obtient alors :

$$\begin{aligned} n_{i,j}^{q+1} = \; & n_{i,j}^q P_0 + n_{i+1,j}^q P_1 + n_{i-1,j}^q P_2 + n_{i,j+1}^q P_3 + n_{i,j-1}^q P_4 \\ & + n_{i+1,j+1}^q P_5 + n_{i-1,j-1}^q P_6 + n_{i+1,j-1}^q P_7 + n_{i-1,j+1}^q P_8 \end{aligned} \tag{E.15}$$

où $i$ et $j$ sont les coordonnées de la position qui spécifient la position d'une cellule endothéliale sur la grille de simulation, i.e $x = i\Delta x$ et $y = j\Delta y$. La discrétisation temporelle est représentée par $t = q\Delta t$. La migration de la cellule endothéliale à l'extrémité du vaisseau en formation positionnée en $(i, j)$ est donc déterminée par les coefficients $P_k$ qui se rapportent aux probabilités que la cellule reste stationnaire ($P_0$), ou qu'elle bouge de façon transverse vers la gauche ($P_1$), la droite ($P_2$), le haut ($P_3$), ou le bas ($P_4$) ou de façon diagonale en haut à gauche ($P_5$), en bas à droite ($P_6$), en bas à gauche ($P_7$) ou en haut à droite ($P_8$) dans la grille de discrétisation (figure E.15). Ces coefficients incorporent donc les effets des mouvements aléatoires, chimiotactiques, et haptotactiques. Le coefficient $P_0$ représente la probabilité que la cellule ne se déplace pas.

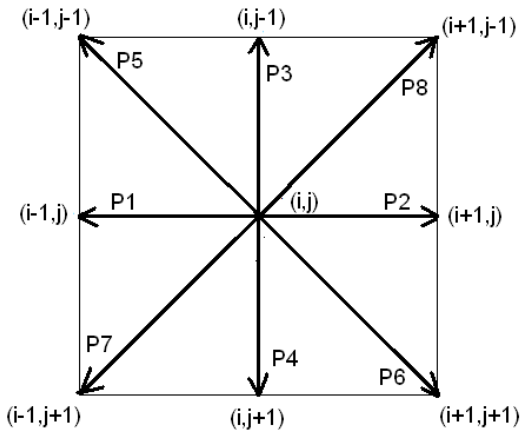



*Fig. E.15:* Les différentes directions de migration. Il s'agit de 4 directions transverses (P1, P2, P3, P4) et 4 directions diagonales (P5, P6, P7, P8)

$$
\begin{aligned}
P_0 &= 2 - 6rD - \chi(V^q_{i,j})\Big((V^q_{i+1,j+1} + V^q_{i-1,j+1} + V^q_{i+1,j-1} + V^q_{i-1,j-1} - 4V^q_{i,j})r/2 \\
&\quad +(V^q_{i+1,j} + V^q_{i-1,j} + V^q_{i,j+1} + V^q_{i,j-1} - 4V^q_{i,j})r\Big) \\
&\quad +\alpha\chi(V^q_{i,j})/(1+\alpha V^q_{i,j})\Big[\Big((V^q_{i+1,j+1} - V^q_{i-1,j-1})^2 + (V^q_{i-1,j+1} - V^q_{i+1,j-1})^2\Big)r/8 \\
&\quad +\Big((V^q_{i+1,j} - V^q_{i-1,j})^2 + (V^q_{i,j+1} - V^q_{i,j-1})^2\Big)r/4\Big] \\
&\quad -\rho\Big((f^q_{i+1,j+1} + f^q_{i-1,j+1} + f^q_{i+1,j-1} + f^q_{i-1,j-1} - 4f^q_{i,j})r/2 \\
&\quad +(f^q_{i+1,j} + f^q_{i-1,j} + f^q_{i,j+1} + f^q_{i,j-1} - 4f^q_{i,j})r\Big) \\
P_1 &= rD - \chi(V^q_{i,j})\Big(V^q_{i+1,j} - V^q_{i-1,j}\Big)r/4 - \rho\Big(f^q_{i+1,j} - f^q_{i-1,j}\Big)r/4 \\
P_2 &= rD + \chi(V^q_{i,j})\Big(V^q_{i+1,j} - V^q_{i-1,j}\Big)r/4 + \rho\Big(f^q_{i+1,j} - f^q_{i-1,j}\Big)r/4 \\
P_3 &= rD - \chi(V^q_{i,j})\Big(V^q_{i,j+1} - V^q_{i,j-1}\Big)r/4 - \rho\Big(f^q_{i,j+1} - f^q_{i,j-1}\Big)r/4 \\
P_4 &= rD + \chi(V^q_{i,j})\Big(V^q_{i,j+1} - V^q_{i,j-1}\Big)r/4 + \rho\Big(f^q_{i,j+1} - f^q_{i,j-1}\Big)r/4
\end{aligned}
\tag{E.16}
$$

et dans le modèle 1

$$
\begin{aligned}
P_5 &= 0 \\
P_6 &= 0 \\
P_7 &= 0 \\
P_8 &= 0
\end{aligned}
$$

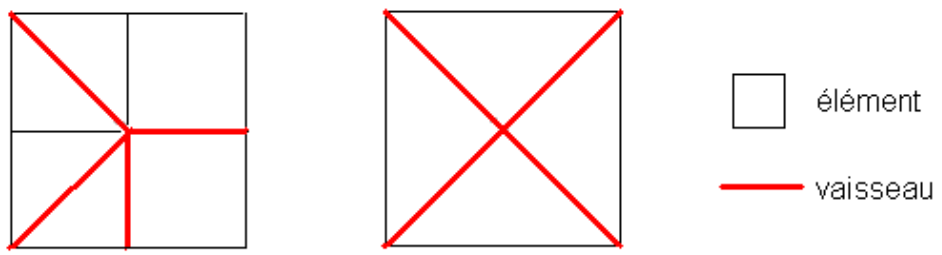
tandis que dans le modèle 2

$$
\begin{aligned}
P_5 &= rD/2 - \chi(V^q_{i,j})\Big(V^q_{i+1,j+1} - V^q_{i-1,j-1}\Big)r/8 - \rho\Big(f^q_{i+1,j+1} - f^q_{i-1,j-1}\Big)r/8 \\
P_6 &= rD/2 + \chi(V^q_{i,j})\Big(V^q_{i+1,j+1} - V^q_{i-1,j-1}\Big)r/8 + \rho\Big(f^q_{i+1,j+1} - f^q_{i-1,j-1}\Big)r/8 \\
P_7 &= rD/2 - \chi(V^q_{i,j})\Big(V^q_{i+1,j-1} - V^q_{i-1,j+1}\Big)r/8 - \rho\Big(f^q_{i+1,j-1} - f^q_{i-1,j+1}\Big)r/8 \\
P_8 &= rD/2 + \chi(V^q_{i,j})\Big(V^q_{i+1,j-1} - V^q_{i-1,j+1}\Big)r/8 + \rho\Big(f^q_{i+1,j-1} - f^q_{i-1,j+1}\Big)r/8
\end{aligned}
$$

avec $r = \Delta t/\Delta x^2$.

Un germe d'extrémité $(i, j)$ occupe un des segments aboutissant à cette extrémité, et le germe ne peut donc pas se déplacer selon cette direction. Des directions sont également interdites en frontière du domaine pour éviter que les nouveaux vaisseaux ne sortent du domaine. Dans le **modèle 1**, lorsque le segment emprunté est déjà occupé par un vaisseau, le germe forme un nœud par anastomose avec ce vaisseau, alors que dans le **modèle 2**, les directions déjà occupées sont interdites et un nœud se forme par anastomose si 2 segments sont déjà occupés à cette extrémité. De plus, dans les deux modèles, deux extrémités de vaisseaux en formation qui se rencontrent fusionnent pour ne former qu'un seul germe.

Dans le **modèle 2**, des directions sont également proscrites pour empêcher la formation de nœuds de 4 branches (figure E.16a). Cela implique que les vaisseaux occupant des segments diagonaux ne peuvent pas se croiser (figure E.16b). Dans le **modèle 1**, les probabilités associées aux directions interdites sont mises à 0 et les autres probabilités sont ensuite calculées proportionnellement aux coefficients $P_k$. Le **modèle 2** suit une hypothèse plus réaliste. En effet, l'interdiction d'une direction n'affecte pas les probabilités de déplacement dans les autres directions, et seule la probabilité que l'extrémité du germe reste à la même place est accrue.




a. b.

*Fig. E.16:* Différentes dispositions interdites de vaisseaux a. Nœud sur lequel 4 branches se joignent b. Segments diagonaux qui se croisent dans un élément

## *E.5 Les phénomènes diffusifs*

### *E.5.1 Diffusion du VEGF par les cellules quiescentes*

Les cellules tumorales émettent un facteur de croissance, le VEGF, auquel les cellules endothéliales qui forment les vaisseaux sanguins sont sensibles. Ainsi, sous l'effet de ce facteur, les cellules endothéliales, jusque là quiescentes, perdent leur cohésion pour migrer et proliférer. Cela induit la dilatation des vaisseaux (dans un premier temps) et leur germination, c'est à dire l'angiogenèse (dans un second temps).

Dans notre modèle, la concentration en VEGF est décrite par la variable $V(x, y, t)$ à la position $(x, y)$ et au temps $t$. Les cellules tumorales rendues quiescentes par le manque d'oxygène émettent ce facteur de croissance à un taux $\tilde{V}_{emit}$ constant, comme chez Bauer et col. (2007) et Lignet et col. [90, 117] (section B.2.1). Cette molécule diffuse dans le tissu sain et tumoral et se dégrade au cours

du temps à un taux $\lambda_V$ et est captée par les cellules endothéliales. Les phénomènes de rétention de molécules dans la tumeur sont donc négligés comme dans la plupart des modèles (section B.2.1). Ainsi, l'équation d'évolution spatio-temporelle du VEGF est classiquement décrite par :

$$\frac{\partial V}{\partial t} = D_V \nabla^2 V + S_{x,y}(V) - \lambda_V V - B_{x,y}(V) \tag{E.17}$$

où $D_V$ est le coefficient de diffusion du VEGF. $S_{x,y}(V)$ est la production du VEGF par les cellules quiescentes. Soit $Q$ l'ensemble des cellules tumorales quiescentes, alors :

$$S_{x,y}(V) = \begin{cases} \tilde{V}_{emit} \text{ si } (x,y) \in Q \\ 0 \text{ si } (x,y) \notin Q \end{cases} \tag{E.18}$$

$B_{x,y}(V)$ résulte de la consommation du VEGF par les cellules endothéliales. Ainsi,

$$B_{x,y}(V) = \nu \Big[ \sum_{v \in Vois(x,y)} L(v) + E(x,y) \Big] min(V, V_{max}) \tag{E.19}$$

avec $\nu$ le taux de consommation du VEGF par les cellules endothéliales par unité de longueur de vaisseaux, $V_{max}$ est la concentration maximum de VEGF qui peut être fixée par les cellules et qui correspond à la saturation de tous les récepteurs et $E(x,y)$ le champ de vaisseaux pré-existants. Soit $(x,y)$ appartenant à un élément du modèle, $Vois(x,y)$ est l'ensemble des segments de vaisseaux qui lui sont associés (figure E.17). $L(v)$ est la longueur du segment de vaisseau $v$ associé au voisinage de $(x,y)$. Lorsqu'un segment borde un élément (segment transverse), $L(v)$ a pour valeur la moitié de sa longueur car il est pris en compte dans 2 éléments.

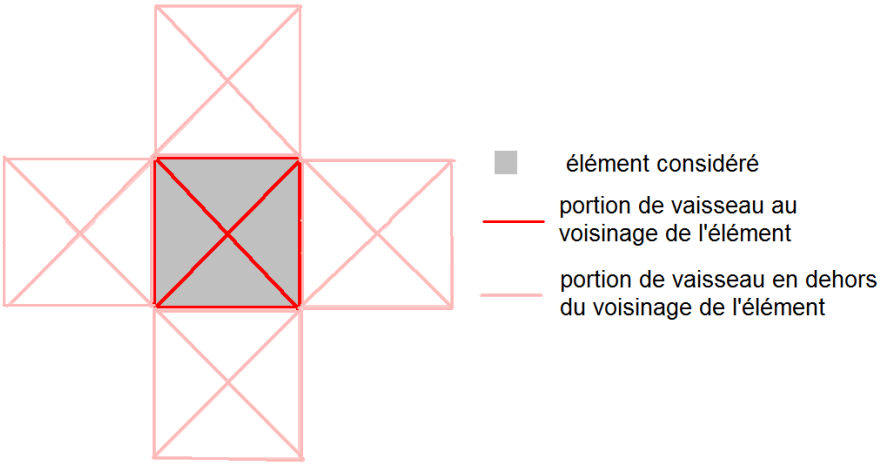



*Fig. E.17:* Les segments de vaisseaux au voisinage d'un élément. Les segments de vaisseaux sur les côtés de l'élément font à moitié partie du voisinage, et les vaisseaux diagonaux sont dans le voisinage.

### *E.5.2 Diffusion de l'oxygène*

#### *E.5.2.1 Le transport de l'oxygène dans les vaisseaux*

La distribution de l'oxygène dans la tumeur impacte fortement les cellules tumorales en affectant les états cellulaires (prolifératif, quiescent, nécrotique). Les molécules d'oxygène sont transportées

dans les vaisseaux par les globules rouges dont la taille de 7 $\mu m$ est voisine du diamètre des plus petits vaisseaux. Ces cellules circulent dans les vaisseaux perfusés grâce au flux sanguin. Cependant, un trop faible rayon vasculaire peut bloquer la circulation des globules rouges. De plus, la répartition des cellules sanguines entre les branches de sorties aux nœuds du réseau peut varier suivant le rayon des vaisseaux, ou leur angle de jonction au nœud.

Nous distinguons deux types de vaisseaux dans notre modèle. Les vaisseaux perfusés transportant de l'oxygène et les vaisseaux non perfusés. Un vaisseau est dit perfusé si le flux sanguin peut l'emprunter pour s'écouler d'une entrée à une sortie du réseau sans passer deux fois par le même nœud. Dans les vaisseaux non perfusés, le flux sanguin est nul. L'oxygène ne s'y renouvelle donc pas et l'oxygène éventuellement présent dans ces vaisseaux à un instant donné diffuse rapidement dans le tissu. Nous considérons donc que ces vaisseaux ne diffusent pas d'oxygène dans le milieu. Les vaisseaux perfusés sont détectés grâce à l'algorithme présenté en annexe B.

#### *E.5.2.2 Le transport de l'oxygène des vaisseaux jusqu'au tissu*

Les molécules d'oxygène diffusent à travers les parois des vaisseaux perfusés jusque dans le tissu où elles sont consommées par les cellules du tissu. Le profil spatial de la concentration en oxygène est donné par l'équation aux dérivées partielles suivante :

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D_{O_2}\nabla^2 C + \tilde{C}_{emit_{x,y}} - \tilde{C}_{cons_{x,y}} \tag{E.20}$$

où $C$ est la concentration en oxygène dans le tissu, $\tilde{C}_{emit_{x,y}}$ et le taux d'oxygène passant à travers les parois des vaisseaux et $\tilde{C}_{cons_{x,y}}$ est le taux d'oxygène consommé par les cellules du tissu.

$\tilde{C}_{emit_{x,y}}$ dépend de la différence du niveau d'oxygène entre l'intérieur $C_v$ (fixé comme une constante), et l'extérieur $C(e)$ du vaisseau [98]. Il dépend également de la perméabilité des parois des vaisseaux $\gamma_p$. Pour chaque élément $e$ de la grille de simulation, la contribution des $n$ vaisseaux sanguins $v$ adjacents à $e$ est ajoutée en quantité relative à leur longueur. $\tilde{C}_{emit_{x,y}}$ est donc évalué par :

$$\tilde{C}_{emit_{x,y}} = \gamma_p\Big[\sum_{v\in Vois(x,y)} L(v) + E(x,y)\Big](C_v - C) \tag{E.21}$$

$L(v)$ est la longueur du segment vasculaire $v$, définie comme dans la section E.5.1 et $E(x,y)$ la valeur du champ de microvaisseaux en $(x,y)$. Le voisinage $Vois(x,y)$ du point $(x,y)$ est également défini comme dans la section E.5.1 (figure E.17). Bien que l'oxygène présent dans les vaisseaux tende à décroître au fur et à mesure qu'il est distribué à travers le réseau vasculaire [121], nous considérons ici que ce phénomène est négligeable. Il est donc supposé que la quantité totale d'oxygène transportée par les vaisseaux n'est pas altérée. Le taux de consommation de l'oxygène par les cellules du tissu dépend linéairement de l'oxygène $C$ comme dans [98, 115] :

$$\tilde{C}_{cons_{x,y}} = \begin{cases} k_N C & \text{si } (x,y) \text{ est occupé par une cellule normale} \\ k_P C & \text{si } (x,y) \text{ est occupé par une cellule proliférative} \\ k_Q C & \text{si } (x,y) \text{ est occupé par une cellule quiescente} \\ 0 & \text{si } (x,y) \text{ est occupé par une cellule nécrotique ou apoptotique} \end{cases} \tag{E.22}$$

avec $k_P \leq k_N \leq k_Q$.

## E.6 Modélisation de la thérapie

Pendant la durée de la thérapie, des molécules thérapeutiques sont injectées à une certaine concentration dans un vaisseau entrant. Ces molécules s'écoulent dans les vaisseaux à la vitesse du flux sanguin. Lorsque qu'il y a deux branches sortantes à un nœud du réseau vasculaire, chacune des molécules emprunte l'une ou l'autre des branches avec une probabilité proportionnelle au flux.

### E.6.1 Cytotoxiques

Les molécules cytotoxiques diffusent des vaisseaux dans le tissu selon un modèle très similaire à celui de l'oxygène. Ainsi, soit $T$ la concentration de molécules thérapeutiques dans le tissu :

$$\frac{\partial T}{\partial t} = D_T \nabla^2 T + \tilde{T}_{emit_{x,y}} - \lambda_T T \tag{E.23}$$

où $\tilde{T}_{emit_{x,y}}$ et le taux de molécules passant à travers les parois des vaisseaux et $\lambda_T$ est le taux de molécules dégradées dans le tissu au cours du temps.

$\tilde{T}_{emit_{x,y}}$ dépend de la différence de concentration de molécules thérapeutiques entre le sang (concentration $T_v$) et le tissu extérieur, ainsi que de la perméabilité $\gamma_t$ des parois des vaisseaux. Comme les molécules thérapeutiques sont grosses, nous considérons que seuls les néovaisseaux y sont perméables. Les vaisseaux principaux du modèle ainsi que les vaisseaux du réseau vasculaire implicite ne laissent donc pas passer ces molécules. Pour chaque élément $e$ de la grille de simulation, la contribution des $n$ vaisseaux sanguins perfusés $v$ adjacents à $e$ est ajoutée en quantité relative à leur longueur. $\tilde{T}_{emit_{x,y}}$ est donc évalué par :

$$\tilde{T}_{emit_{x,y}} = \gamma_t \Big( \sum_{v \in Vois(x,y)} L(v) \Big) (T_v - T) \tag{E.24}$$

où $L(v)$ est la longueur du segment vasculaire. $v$ et le voisinage $Vois(x, y)$ du point $(x, y)$ est défini comme dans E.5.1 (figure E.17).

Les molécules thérapeutiques affectent les cellules tumorales de façon létale si et seulement si la concentration de molécules dans le tissu est au dessus d'une concentration $C_0$. La sensibilité à une molécule cytotoxique est donc la même pour toutes les cellules tumorales dans une phase donnée. Comme la concentration de molécules cytotoxiques est hétérogène dans le milieu, la proportion de cellules dans la phase spécifique qui reçoivent une dose de molécules cytotoxiques les menant à mourir par apoptose varie suivant la dose injectée. Deux types de molécules cytotoxiques ont été testés. L'un altère la réplication de l'ADN dans les cellules en phase de réplication $S$. Comme chez Altinok et al (2007) [249], les anomalies dans la réplication chromosomiques sont alors détectées en phase $G_2$, où elles meurent par apoptose. En effet, les lésions entraînées par une dose létale de molécules sont considérées comme trop graves pour qu'une réparation de l'ADN soit possible. L'autre type de molécule cytotoxique vise les cellules en phase de mitose $M$. Les cellules atteintes meurent alors par apoptose et ne se divisent pas.

### E.6.2 VDAs

Les molécules destructrices du réseau vasculaire ne peuvent détruire que les vaisseaux les plus fragiles du réseau vasculaire. Deux types de VDAs sont donc testés dans le modèle. L'un cible

uniquement les néovaisseaux, alors que l'autre cible un panel plus large de vaisseaux composés des néovaisseaux et des vaisseaux parents mais excluant le vaisseau de référence. En effet, ce vaisseau supporte par définition l'essentiel du flux sanguin, et nous considérons donc qu'il est plus robuste. La probabilité $p_{destr.VDA}$ de dégradation d'un segment vasculaire au cours d'un pas de temps $\tau = 1\ s$ varie linéairement en fonction de la concentration. Elle est donc de :

$$p_{destr.VDA} = \frac{C_{VDA}}{C_0} \frac{\tau}{t_{destr.VDA}} \tag{E.25}$$

$C_0$ étant une concentration de référence et $t_{destr.VDA}$ le temps de dégradation d'un segment. Les vaisseaux ne peuvent être dégradés en dessous d'une concentration $C_{VDA.min}$.
De plus, comme les molécules anti-vasculaires ne diffusent pas à l'extérieur des vaisseaux, nous considérons que la concentration de molécules dans ces vaisseaux n'évolue pas suite à leur non-perfusion et qu'un vaisseau non-perfusé se dégrade suivant les mêmes conditions qu'un vaisseau perfusé.

## E.7 Conclusion

Notre modèle présente de façon complète la croissance tumorale, l'évolution de sa vascularisation, et les différentes interactions entre le réseau vasculaire et la tumeur. L'effet de thérapie est également pris en compte. La croissance tumorale est modélisée par un automate cellulaire qui permet de différencier l'état de chaque cellule en fonction de son histoire (cycle cellulaire), et de son environnement (espace disponible pour proliférer, présence d'oxygène). La modélisation du développement vasculaire tient compte de la dégradation de vaisseaux dans la tumeur, de l'adaptation de leurs diamètres en fonction des contraintes hémodynamiques, et de l'angiogenèse. L'ensemble des processus diffusifs (diffusion de l'oxygène, des facteurs de croissance vasculaire et des molécules cytotoxiques) sont décrits par des équations aux dérivées partielles, couplées à des automates cellulaires qui permettent de localiser à chaque instant pour chaque équation les termes sources (production) et les termes puits (consommation) pour chaque entité diffusive. Le flux sanguin dans les vaisseaux est également modélisé, ce qui permet de représenter l'écoulement des molécules thérapeutiques dans les vaisseaux sanguins. Le schéma figure E.18 présente le modèle de façon complète et synthétique.

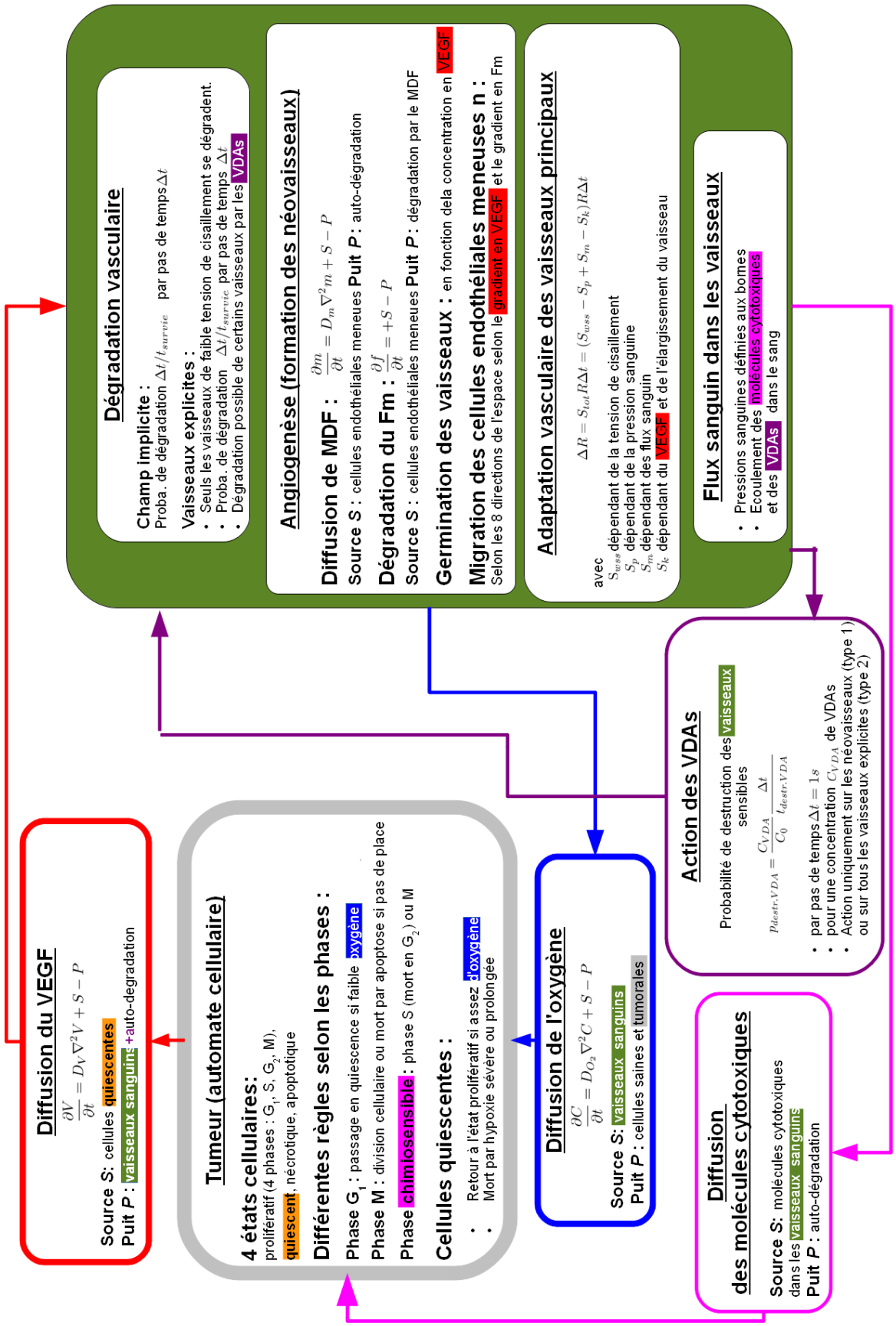



*Fig. E.18*: Diagramme de synthèse entre les modules du modèle. Les différentes règles de changement d'état des cellules tumorales sont rappelés ainsi que les divers mécanismes de développement vasculaire pris en compte. Les processus diffusifs permettant l'interaction entre le réseau vasculaire et la tumeur (diffusion de l'oxygène, du VEGF et des molécules cytotoxiques), sont également exposés.

# Troisième partie

# RÉSULTATS

# F. RÉSEAU SUB-MICROVASCULAIRE

## Sommaire

**F.1 Influence du réseau vasculaire sur la croissance tumorale . . . . . 81**
F.1.1 Sans réseau sub-microvasculaire . . . . . 82
F.1.2 Avec réseau sub-microvasculaire régulier . . . . . 83
**F.2 Comparaison des deux cas . . . . . 85**
F.2.1 Vitesse de croissance tumorale . . . . . 85
F.2.2 Évolution des états tumoraux . . . . . 86
**F.3 Impact de certains paramètres clés de la croissance tumorale . . . . . 86**
F.3.1 Résistance des cellules à l'hypoxie . . . . . 87
F.3.2 Capacité de germination du réseau vasculaire . . . . . 89
**F.4 Conclusion . . . . . 89**

## *F.1 Influence du réseau vasculaire sur la croissance tumorale*

Le réseau vasculaire de la souris est composé de vaisseaux principaux ainsi que d'un réseau des vaisseaux fins et de diamètre inférieur à 8 $\mu m$, visible qu'à fort grossissement par microscopie. Les vaisseaux sont organisés en un maillage régulier avec un espacement intervaisseaux d'environ 100 $\mu m$ (figure E.4 chapitre E section E.2.2). Nous appelons ici ce réseau invisible à l'œil nu qui correspond au réseau de capillaires le réseau sub-microvasculaire (RSMV).

L'oxygène d'un vaisseau sanguin ne diffuse dans le tissu que sur une distance limitée (de 20 à 100 $\mu m$) car l'oxygène est rapidement consommé par les cellules du tissu [121]. De plus, les plus gros vaisseaux ont une perméabilité plus faible que les capillaires lorsque leur structure n'est pas altérée par le VEGF sécrété par la tumeur, car la présence de péricytes et de cellules musculaires lisses sur la paroi réduit la perméabilité du vaisseau [6, 10]. En conséquence, c'est le RSMV qui assure l'oxygénation physiologique du tissu.

Dans la littérature de ces dernières années, différents modèles ont été proposés pour prendre plus ou moins explicitement en compte le RSMV. Ainsi, dans certains modèles, ce réseau sub-microvasculaire n'est pas pris en compte [95, 96]. Il est alors généralement considéré que le tissu ne consomme pas d'oxygène, ce qui permet de reproduire un gradient d'oxygène de la périphérie au cœur de la tumeur. Ces modèles ne représentent alors pas la réalité de la consommation d'oxygène, en particulier dans le tissu sain. Dans d'autres modèles, le RSMV est considéré implicitement par un champ de vaisseaux [75]. Celui-ci n'est pas présent à l'intérieur de la tumeur car il est dégradé par des enzymes qui attaquent la matrice extra-cellulaire. Enfin, d'autres modèles intègrent explicitement le RSMV grâce à une grille régulière formée par des vaisseaux de même rayon. Ces modèles peuvent intégrer le RSMV comme une grille régulière carrée [18, 110, 146], ou encore

hexagonale [66, 99, 100], ce qui permet de mieux considérer l'action de ce réseau, et en particulier son angiogenèse.

Nous nous sommes donc nous-mêmes interrogés sur la meilleure façon de représenter ce RSMV pour pouvoir rendre compte des évolutions vasculaire et tumorale telles que nous les observons sous la fenêtre dorsale. Pour cela, nous avons effectué des simulations en considérant ou non ce réseau de petits vaisseaux. Dans les simulations où le RSMV n'est pas pris en compte, l'oxygène disponible dans le tissu pour assurer la survie des cellules tumorales est faible. On remédie à cela en fixant un seuil très bas de résistance à l'hypoxie sévère conduisant à la nécrose ($\alpha_q = 0$). Lorsque le RSMV est intégré, il est représenté par une grille régulière carrée de maille 100 $\mu m$ et constituée de vaisseaux de diamètre 8 $\mu m$. Cette prise en compte permet de fixer des seuils de résistance à l'hypoxie plus réalistes.

Ce chapitre présente les différents résultats de ces simulations, qui ont fait l'objet d'un article dans le journal *Microvascular Research*. La croissance tumorale est donc modélisée comme décrit dans cet article. Les paramètres de division cellulaire et le modèle d'angiogenèse utilisés dans le chapitre E(modèle 1 des sections E.3.3 et E.4.2.2 respectivement). L'adaptation vasculaire n'est pas prise en compte dans ces simulations. Les paramètres du modèle sont présentés dans le tableau F.1.

Notons également que dans le modèle qui a servi pour ces simulations, la perméabilité des vaisseaux est la même quelque soit leur rayon.

### *F.1.1 Sans réseau sub-microvasculaire*

La figure F.1 présente la simulation de la croissance tumorale quand seuls les vaisseaux principaux, extraits des images expérimentales, sont considérés. Le RSMV qui assure l'oxygénation physiologique du tissu n'est donc pas pris en compte. En conséquence, le tissu qui n'est pas à proximité immédiate d'un vaisseau parent n'est pas oxygéné. Par conséquence, le seuil d'oxygène nécessaire à la survie des cellules tumorales à l'état quiescent est mis à 0 ($\alpha_q = 0$), ce qui signifie que les cellules ne peuvent pas mourir d'un manque sévère d'oxygène.

Dans cette simulation, l'angiogenèse et les différents états des cellules tumorales (figure F.1, ligne 1), le niveau d'oxygène (figure F.1, ligne 2), la densité en fibres matricielles (figure F.1, ligne 3) et la concentration en VEGF(figure F.1, ligne 4) sont suivis pendant 70 jours.

Après 10 jours, nous observons que la tumeur est déjà vascularisée grâce à l'angiogenèse. Dû à l'absence du RSMV, le tissu de départ est pauvrement oxygéné. En conséquence, les cellules tumorales, initialement prolifératives, deviennent rapidement quiescentes et libèrent du VEGF. Les vaisseaux principaux localisés le plus près de la tumeur sont les plus rapidement touchés par le VEGF et commencent à germer et à dégrader les fibres de la matrice extra-cellulaire dans le processsus migratoire pour rapidement atteindre la tumeur.

Après 30 jours, un corps nécrotique est visible, entouré par des cellules quiescentes et proliférates qui consomment de l'oxygène. Quelques vaisseaux perfusant la masse tumorale se dégradent, mais certains ont une tension de cisaillement assez élevée pour rester stable. Cela mène à l'apparition d'amas nécrotiques isolés et d'une distribution hétérogène d'oxygène dans la masse tumorale visible au bout de 70 jours.

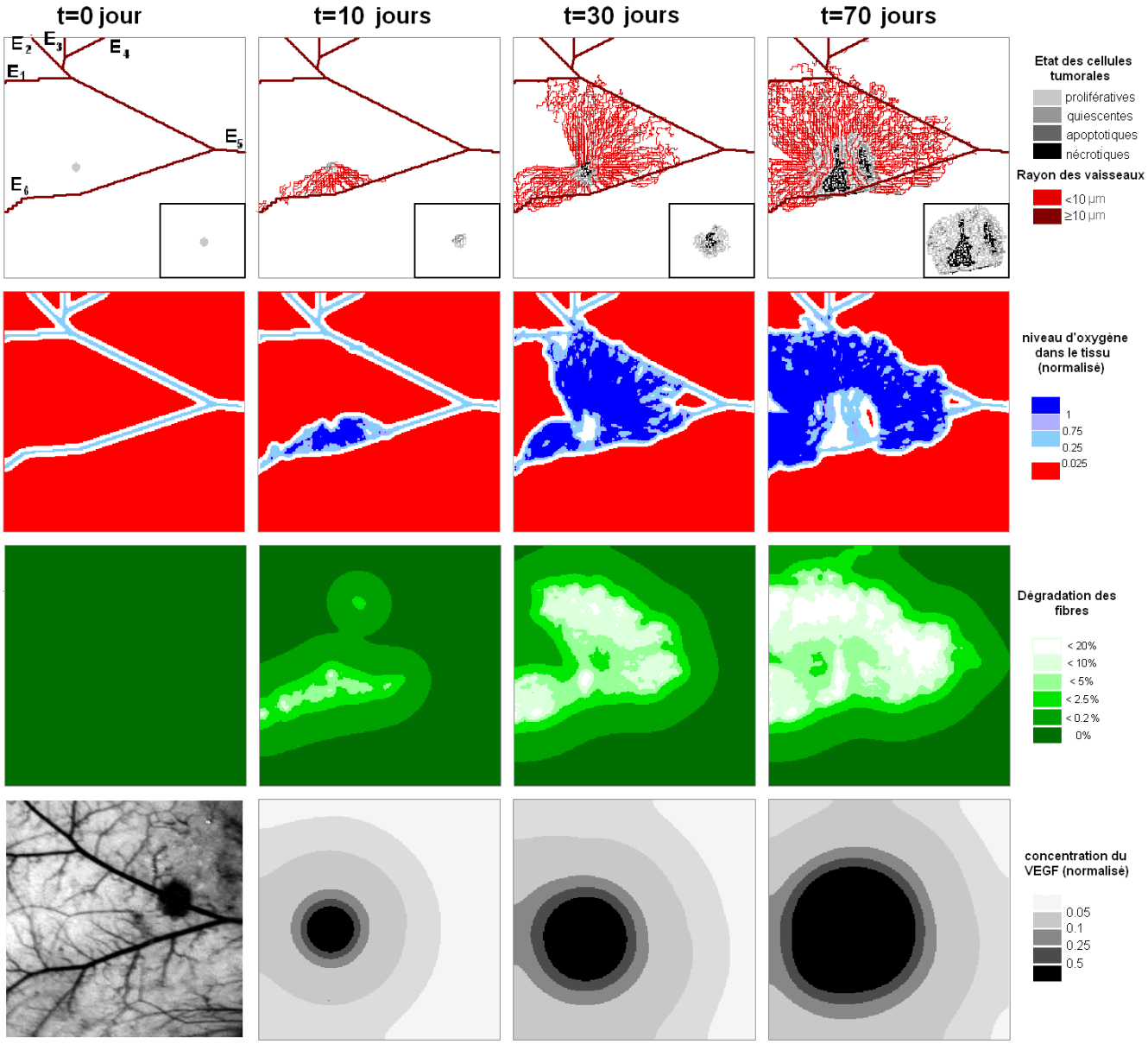



*Fig. F.1:* Résultat de simulations du développement tumoral dans la chambre dorsale sans le RSMV. L'évolution tumorale est suivie sur 70 jours. De haut en bas : le réseau vasculaire et la tumeur, le niveau d'oxygène, la dégradation des fibres matricielles, la concentration en VEGF, le réseau vasculaire correspondant (image de la dernière ligne)

### *F.1.2 Avec réseau sub-microvasculaire régulier*

Le RSMV est maintenant introduit dans la simulation comme une grille régulière de maille 100 $\mu m$ et de diamètre vasculaire 8 $\mu m$ qui permet l'oxygénation uniforme du tissu. En conséquence, le seuil d'oxygène en dessous duquel l'hypoxie sévère cause la nécrose des cellules peut être ramené à une valeur plus réaliste. Le choix de ce paramètre est alors $\alpha_q = \alpha_p/10$. Tout comme sur les autres vaisseaux, des néovaisseaux peuvent se former sur les vaisseaux constituant le RSMV. De plus, ces vaisseaux peuvent être dégradés dans la tumeur si la tension de cisaillement qui s'exerce sur eux est assez faible.

Comme précédemment, l'angiogenèse et l'état des cellules tumorales (figure F.2, ligne 1), le niveau d'oxygène (figure F.2, ligne 2), la densité en fibres matricielles (figure F.2, ligne 3), et la concentration en VEGF (figure F.2, ligne 4) sont suivis pendant 70 jours.

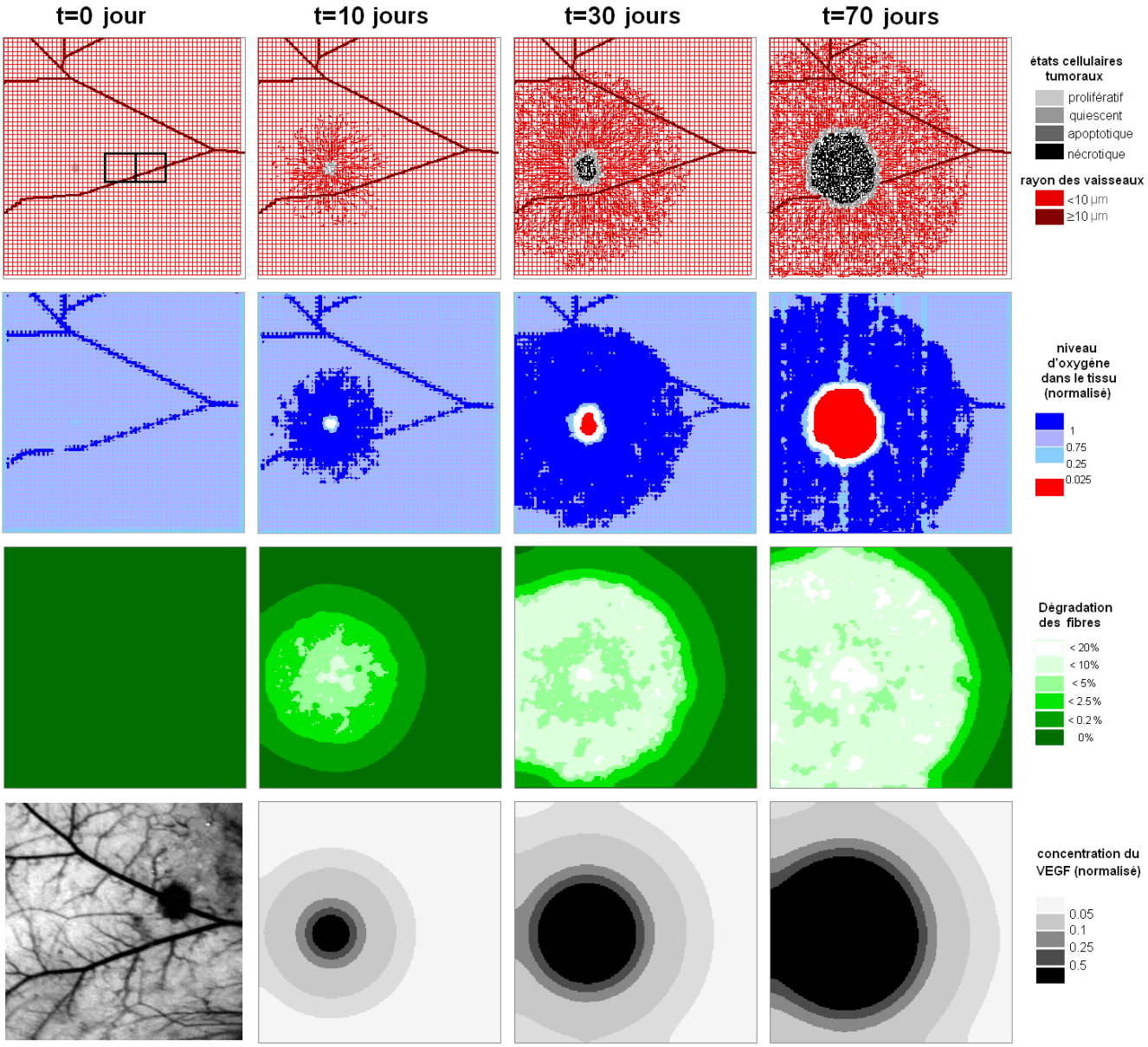



*Fig. F.2:* Résultat de simulations du développement tumoral dans la chambre dorsale avec le RSMV. L'évolution tumorale est suivie sur 70 jours. De haut en bas : le réseau vasculaire et la tumeur, le niveau d'oxygène, la dégradation des fibres matricielles, la concentration en VEGF, le réseau vasculaire correspondant (image de la dernière ligne). Deux petites zones sont définies pour suivre l'évolution de la densité vasculaire. De gauche à droite : zone1 et zone2.

La présence du RSMV permet au tissu d'être oxygéné de façon homogène. En conséquence, les cellules tumorales proliférative introduites ne deviennent pas immédiatement quiescentes comme

dans le cas précédent, mais peuvent se dupliquer. Néanmoins, la petite masse tumorale provoque la dégradation rapide du RSMV de la tumeur, dont la tension de cisaillement est faible, au fur et à mesure que croit la tumeur. Les premières cellules quiescentes apparaissent et produisent le signal de VEGF qui induit l'angiogenèse. Les nouveaux vaisseaux germent d'abord à partir du réseau sub-microvasculaire. Un anneau angiogénique s'étend au cours du temps en fonction de la croissance tumorale et maintient ainsi un fort champ d'oxygène autour de la tumeur. Un faible anneau proliferatif à la périphérie de la tumeur suffit pour assurer la croissance tumorale. Les cellules quiescentes forment un second anneau plus large localisé sous l'anneau proliferatif et assure la diffusion du VEGF. Un coeur nécrotique large est visible au centre de la tumeur après 30 jours. Ce coeur nécrotique représente la plus grande partie de la masse tumorale après 70 jours. La dégradation des fibre matricielles est due à la migration des cellules endothéliales pour former de nouveaux vaisseaux. La carte de cette dégradation donne une indication sur la vitesse du processus angiogénique car une plus forte dégradation correspond à une invasion lente des cellules qui ont plus de temps pour dégrader la matrice.

## F.2 Comparaison des deux cas

Étudions maintenant ces différences de façon plus quantitative avec les comparaisons de la vitesse de croissance tumorale, de l'évolution des états cellulaires, et de l'évolution de la concentration en VEGF.

### F.2.1 Vitesse de croissance tumorale

Les figures F.3a et b comparent respectivement l'évolution au cours du temps des quantités de cellules tumorales et du rayon tumoral avec et sans la prise en compte du RSMV.

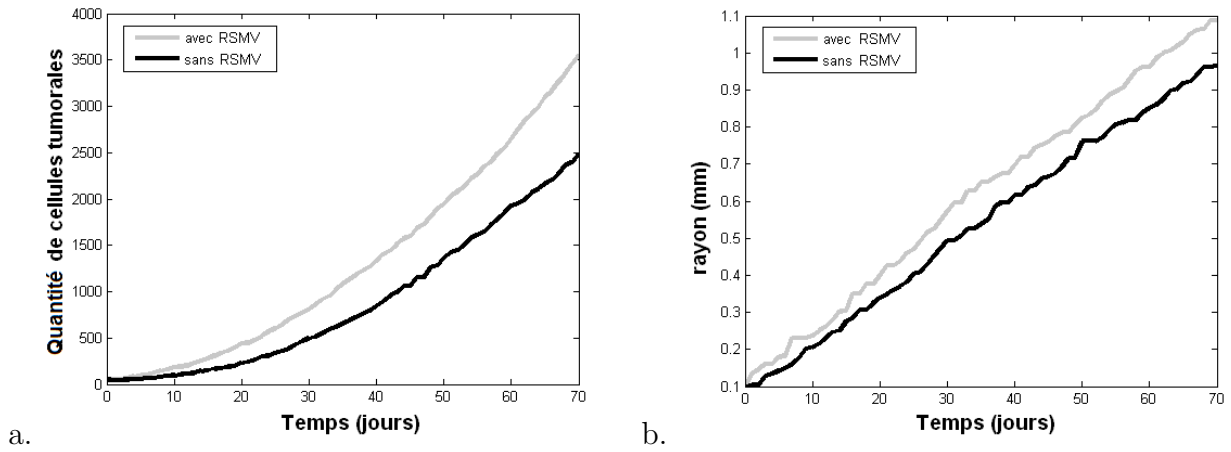



*Fig. F.3:* Évolution de la quantité de cellules tumorales (a) et du rayon tumoral (b) au cours du temps

La croissance tumorale est quadratique (figure F.3a). Elle est plus rapide quand le RSMV est considéré avec 40% de cellules en plus après 70 jours. Les vitesses de croissance mesurées pour l'expansion du rayon tumoral sont de 12 $\mu m/jour$ pour le cas sans RSMV et 14 $\mu m/jour$ pour le cas avec RSMV. La croissance la plus rapide est directement due à la présence d'oxygène délivrée par le RSMV qui maintient une prolifération soutenue.

### F.2.2 Évolution des états tumoraux

La figure F.4 compare l'évolution au cours du temps de la quantité de cellules tumorales dans chaque état avec (figure F.4b) et sans RSMV (figure F.4a).

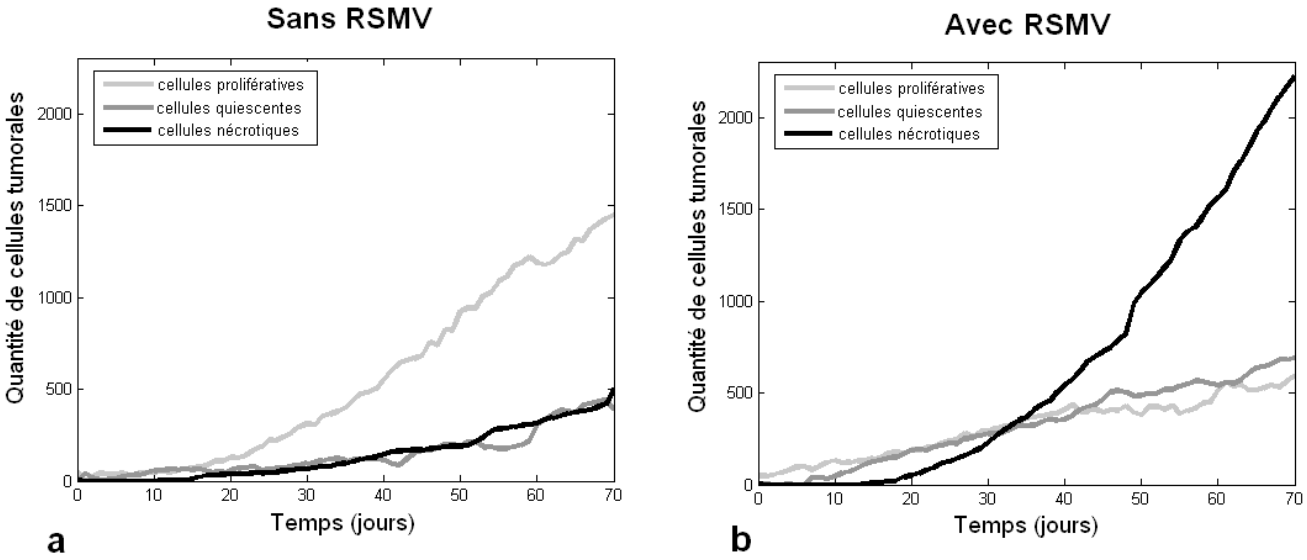



*Fig. F.4:* Évolution de la quantité de cellules au cours du temps pour chaque état de cellules tumorales sans (a) et avec (b) RSMV

Dans le cas sans RSMV (figure F.4a), la population des cellules prolifératives domine par rapport aux autres types cellulaires. Après 70 jours, il y a trois fois plus de cellules prolifératives que de cellules quiescentes ou nécrotiques. La quantité de cellules prolifératives augmente proportionnellement à la surface (de façon quadratique) contrairement aux autres types de cellules qui augmente proportionnellement au rayon (linéairement).

Dans le cas avec RSMV (figure F.4b), l'apparition de cellules quiescentes ou nécrotiques est retardée car il faut environ une semaine pour que le RSMV se dégrade et n'apporte plus en conséquence de l'oxygène aux cellules et une autre semaine pour que les cellules quiescentes meurent par nécrose à cause d'une hypoxie sévère ou prolongée. Les cellules nécrotiques deviennent rapidement majoritaires après 30 jours. Contrairement au premier cas (sans RSMV), la quantité de cellules prolifératives évolue linéairement alors que la quantité de cellules nécrotiques évolue quadratiquement pour devenir trois fois plus grande que les quantités de cellules prolifératives et quiescentes après 30 jours.

## F.3 Impact de certains paramètres clés de la croissance tumorale

Les paramètres pris pour effectuer ces simulations ne sont pas spécifiques d'un type particulier de tumeur. Parmi les paramètres qui définissent un type de tumeur, il y a la capacité des tumeurs à résister au manque d'oxygène. Dans cette section, l'impact de ce paramètre clé pour l'évolution tumorale est évalué de façon à explorer un spectre large de comportements tumoraux qui peuvent

être rencontrés. Cela peut être utile pour adapter le modèle à un comportement spécifique par la suite.

Nous évaluons également un paramètre relié au réseau vasculaire, qui est sa capacité de germination. L'idée est de déterminer si une augmentation de la capacité de germination dans le cas sans RSMV peut compenser son absence pour la croissance tumorale.

### *F.3.1 Résistance des cellules à l'hypoxie*

Les cellules tumorales ont une capacité de survie pour de faibles niveaux d'oxygène. Lorsque le niveau d'oxygène est en dessous d'un seuil dit "prolifératif" $\alpha_p$, les cellules proliferatives en phase $G_1$ deviennent quiescentes. Leur métabolisme et par conséquent leur consommation en oxygène est alors réduit. Si le niveau en oxygène est encore plus bas, sous le seuil dit de "quiescence" $\alpha_q$, les cellules quiescentes meurent par hypoxie sévère. Néanmoins, ces seuils varient en fonction du phénotype tumoral. Les phénotypes les plus agressifs sont caractérisés par une plus forte résistance à l'hypoxie, où les cellules peuvent survivre à un niveau d'oxygène très bas.

Pour tester l'impact de la résistance cellulaire sur la croissance tumorale, nous avons effectué plusieurs simulations pour différents seuils de prolifération $\alpha_p$. Les différents seuils $\alpha_p$ considérés sont présentés sur la figure F.5, en utilisant le même code de couleur pour l'oxygène que dans les premières simulations. Le seuil $\alpha_q$ en dessous duquel les cellules meurent par nécrose est de $\alpha_p/10$ quand le RSMV est considéré, et est nul sinon. La figure F.5a-b montre l'évolution au cours du temps de la quantité de cellules tumorales vivantes (proliferatives ou quiescentes) avec et sans le RSMV. Les proportions de chaque état cellulaire dans la population totale sont représentées séparément figures F.5c-d, e-f et g-h.

Lorsque $\alpha_p$ est très haut (supérieur à 2.5), c'est à dire lorsque les cellules tumorales ont besoin de beaucoup d'oxygène pour rester proliferatives, la population de cellules vivantes peut être totalement éradiquée (figures F.5a-b). En effet, quelque soit la prise en compte du RSMV, les cellules proliferatives deviennent immédiatement quiescentes (figures F.5c-d). Elles peuvent survivre dans cet état pendant un temps limité de 10 jours avant de mourir par nécrose (figures F.5e-h). En dix jours, le réseau vasculaire recruté par angiogenèse ne peut pas couvrir le besoin en oxygène de la population quiescente pour lui permettre de retourner à l'état proliferatif et les cellules finissent par mourir. Nous notons que ce seuil proliferatif est ici délibéremment choisi pour être au dessus de la capacité d'apport d'oxygène du réseau vasculaire pour illustrer cette situation extrême.

A l'autre extrême, quand $\alpha_p$ est très bas ($\alpha_p = 0.0025$), ce qui correspond à des cellules très résistantes et capables de proliférer sous de faibles conditions d'oxygène, aucune nécrose n'est observée (figures F.5g-h). En présence du RSMV, les cellules ne deviennent même jamais quiescentes, elles restent proliferatives et peuvent seulement mourir par apoptose quand l'espace manque pour la division cellulaire (figures F.5d).

Pour un seuil proliferatif intermédiaire ($\alpha_p = 0.25$), qui correspond à un niveau d'oxygène proche de la quantité délivrée par les néovaisseaux, des transitions entre les différents états cellulaires ont lieux quelque soit la prise en compte du RSMV.

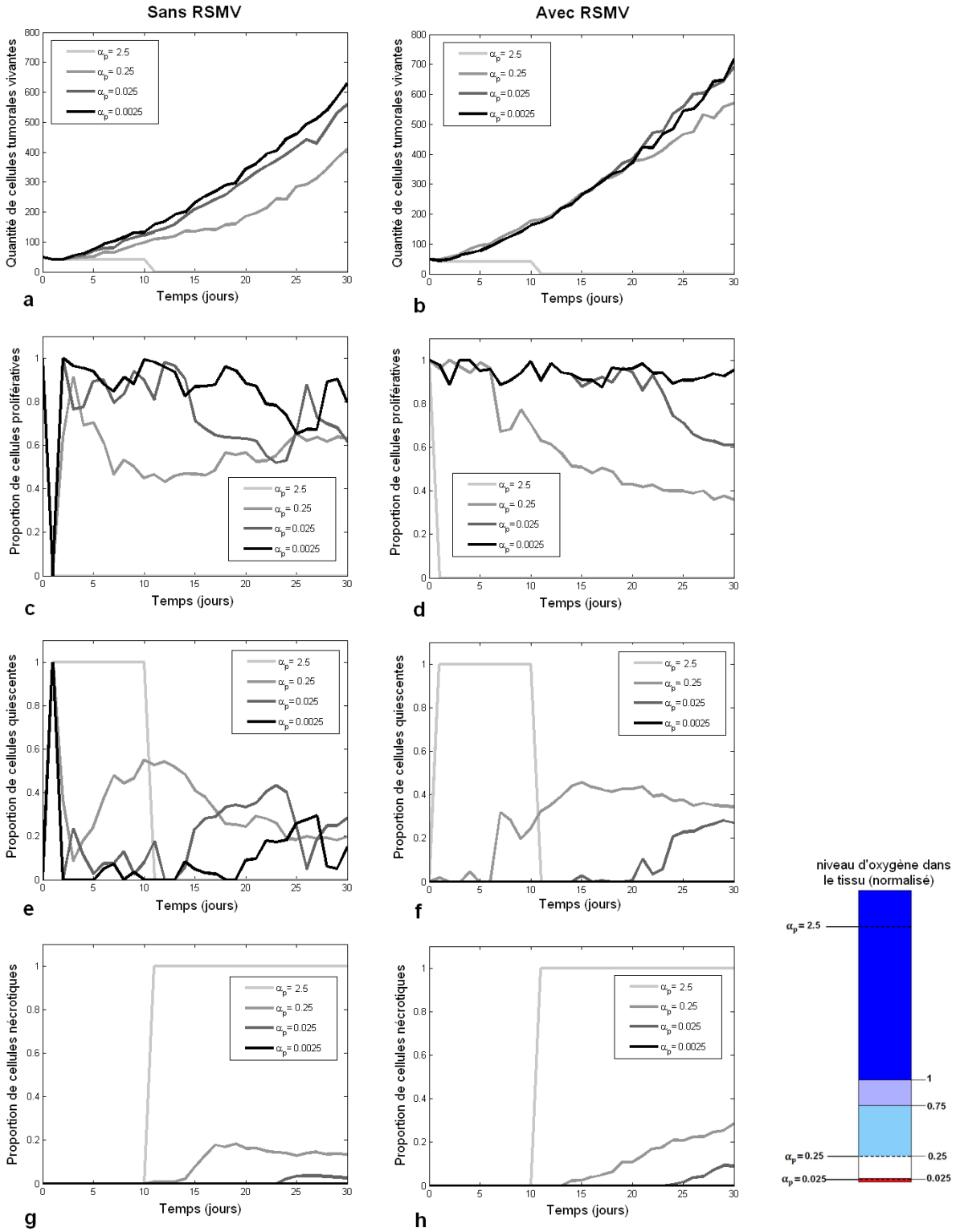



*Fig. F.5:* Évolution des états cellulaires au cours du temps pour différentes valeurs du seuil d'oxygène $\alpha_p$ en dessous duquel les cellules ne peuvent rester proliératives : Évolution de la population de cellules tumorales vivantes (a,b). Proportion de cellules proliératives (c,d), quiescentes (e,f), et nécrotiques (g,h) respectivement sans et avec RSMV. L'échelle est normalisée à partir du niveau maximal d'oxygène mesuré dans le tissu avant que l'angiogenèse ne commence.

### F.3.2 Capacité de germination du réseau vasculaire

Les cellules endothéliales qui forment la paroi vasculaire se détachent et migrent pour former des germes sous l'effet du VEGF. Nous supposons donc dans ce modèle que les vaisseaux germent avec une probabilité qui dépend de la concentration en VEGF. La probabilité de référence pour la germination se situe entre 0.0025 et 0.025 par jour pour des concentration de VEGF variant de 0.005 à 0.5 $un.jour^{-1}$ (voir tableau F.2). Nous étudions ici l'impact des changements de probabilité en les augmentant et en les diminuant par un facteur 10.

On s'attend à ce que l'augmentation de la probabilité de germination des vaisseaux entraîne une croissance tumorale plus rapide et une densité vasculaire plus forte. Pour mesurer ces deux effets, nous définissons (figure F.2) une fenêtre d'observation adjacente à la tumeur (au temps $t = 30$ jours). La longueur cumulée de vaisseaux mesurée dans cette fenêtre au cours du temps donne l'évolution de la densité vasculaire. Le déplacement de la fenêtre d'observation plus loin de la tumeur, nous permet d'évaluer le temps nécessaire aux néo-vaisseaux pour se développer dans cette zone. Nous pouvons alors estimer la vitesse de propagation de l'angiogenèse.

La figure F.6 compare les cas avec et sans RSMV. Quand le RSMV est présent, l'angiogenèse est retardée. Au contraire, les premiers germes apparaissent dans les premiers jours quand le RSMV n'est pas pris en compte. Au bout de 30 jours, le réseau n'est pas encore saturé dans la zone 2 dans les deux cas, même pour la plus haute probabilité de germination. La vitesse de propagation de l'angiogenèse, que nous espérons plus rapide sans le RSMV, n'est pas significativement différente entre les deux cas. Lorsqu'il n'y a pas de RSMV, l'angiogenèse commence même à se développer plus tard que lorsqu'il est présent. Ce développement peut même commencer après plus de 10 jours pour la plus petite probabilité de germination ($f = 0.1$ et $f = 1$). De plus, en absence de RSMV, l'angiogenèse à lieu plus rapidement si et uniquement si la probabilité de germination est très grande ($f = 10$).

La probabilité de germination est uniquement exprimée quand il y a du VEGF, c'est à dire quand des cellules tumorales sont quiescentes. Or, il faut plus de temps pour atteindre l'hypoxie quand le RSMV est présent. Néanmoins, lorsque l'hypoxie commence, le RSMV qui a une plus grande longueur cumulée de vaisseau à partir desquels les germes peuvent se former, peut croître rapidement. En résumé, le signal hypoxique est long à apparaître, mais la réponse du tissu est rapide grâce au RSMV existant. Dans le cas où il n'y a pas de RSMV, le signal hypoxique se déclenche presque immédiatement, mais la réponse du tissu est lente, à cause du temps nécessaire pour que de nouveaux vaisseaux croissent à partir des vaisseaux existants.

La conséquence de cet effet sur l'évolution de la quantité de cellules vivantes est visible figure F.7. Quand le RSMV est présent (figure F.7b), la probabilité de germination du réseau vasculaire n'a pas d'influence sur l'évolution de la quantité de cellules tumorales, alors qu'une plus forte probabilité de germination mène à une croissance plus rapide des cellules tumorales (figure F.7a).

## F.4 Conclusion

Nos résultats montrent que prendre en compte le RSMV dans les simulations mène à une tumeur bien structurée avec un large cœur nécrotique, encerclé par un anneau de cellules quiescentes et un autre plus large de cellules prolifératives. Cette structure hiérarchique mène à une croissance

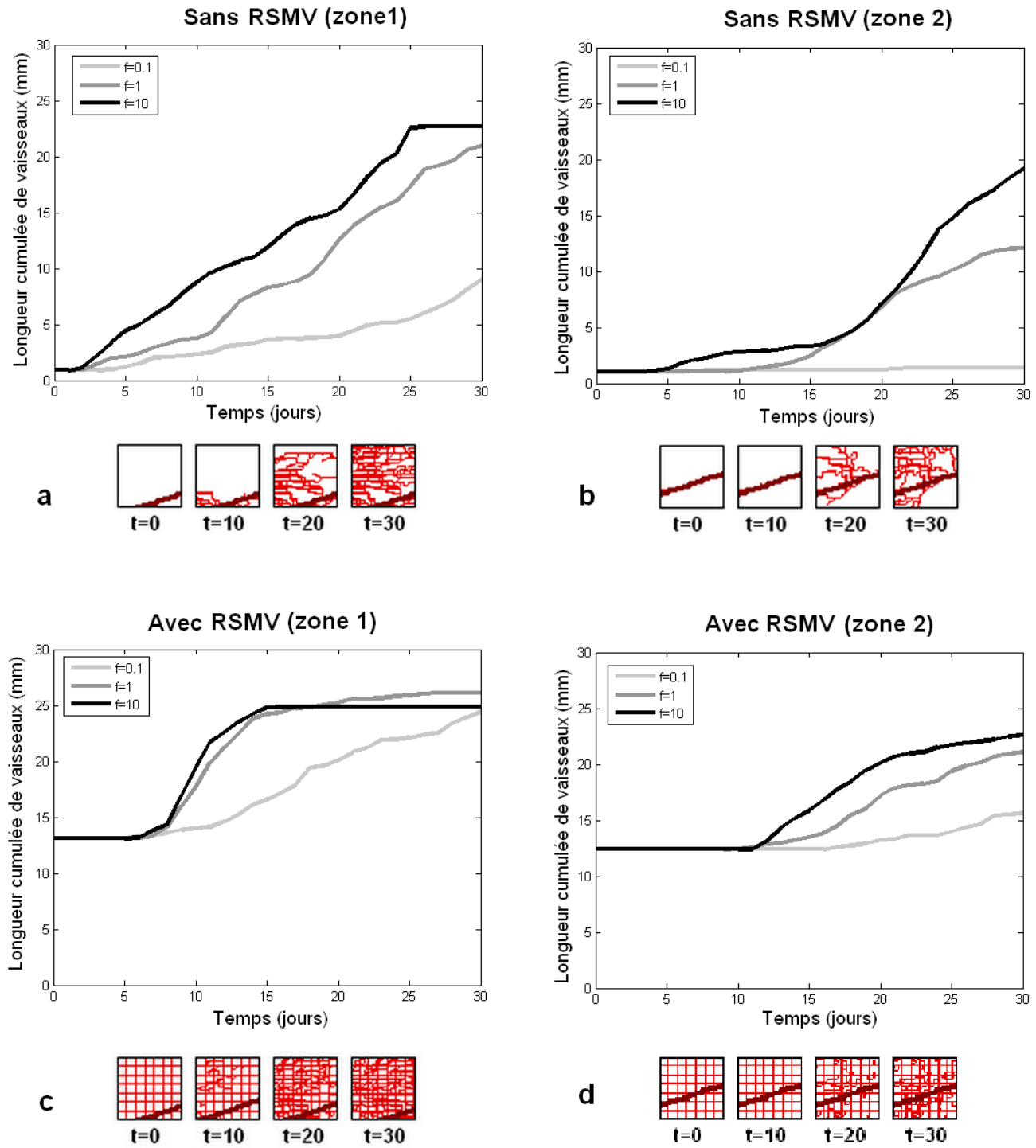



*Fig. F.6:* Évolution de la longueur cumulée de vaisseaux au cours du temps pour différentes valeurs de probabilités de germination du réseau vasculaire modulées par un facteur $f$. Les différentes zones d'étude sont définies figure F.2. Cas sans RSMV dans la zone1 (a) et la zone2 (b). Cas avec RSMV dans la zone1 (c) et la zone2 (d).

tumorale efficace grâce à l'alimentation des cellules périphériques de la tumeur par le RSMV et

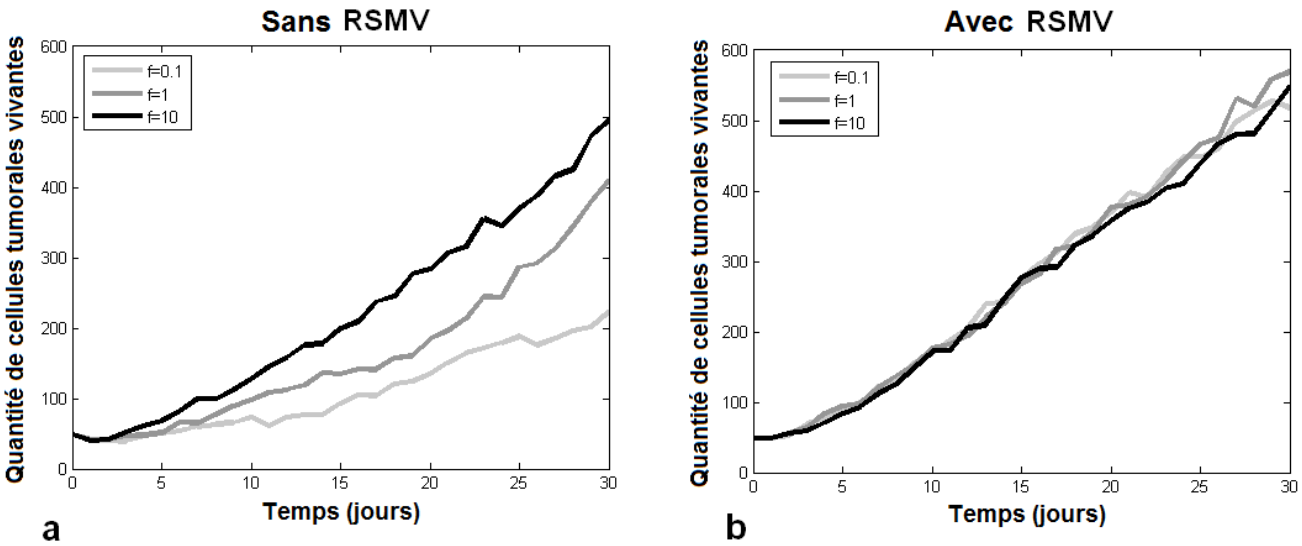



*Fig. F.7:* Évolution au cours du temps de la population de cellules tumorales prolifératives et quiescentes sans (a) et avec (b) RSMV, en variant la probabilité de germination du réseau vasculaire par un facteur $f$.

les néovaisseaux. Dans le cas sans le RSMV, un autre scénario est observé. Le manque d'oxygénation du tissu à l'état initial entraîne un retard du développement tumoral. La distribution plus hétérogène de l'oxygène dans le tissu mène ensuite à un développement tumoral plus anarchique. La tumeur est alors caractérisée par la présence d'amas nécrotiques isolés plus petits que le grand cœur nécrotique présent dans le cas précédent. Bien que la tumeur évolue moins rapidement dans le cas sans le RSMV, l'état prolifératif y est dominant. La tumeur est donc plus active dans ce cas. Il serait intéressant de pouvoir vérifier expérimentalement ces résultats en comparant le développement tumoral dans deux tissus très différents d'un point de vue vasculaire. Mais cela n'est pas réalisable avec le modèle de fenêtre dorsale puisque seule le tissu cutané est accessible à l'observation.

Dans une seconde partie, des paramètres qui sont connus pour influer fortement sur l'évolution tumorale ont été testés dans les deux cas. Le premier paramètre est la capacité des cellules à résister à l'hypoxie. Ce paramètre est lié au phénotype cellulaire et nous autorise à considérer un plus large spectre de comportements tumoraux pouvant être rencontrés. Nous observons qu'une plus grande résistance à l'hypoxie favorise la croissance tumorale, que l'on prenne en compte le RSMV ou non. Nous avons ensuite testé le paramètre qui régule la capacité de germination du réseau vasculaire, en faisant l'hypothèse qu'augmenter cette probabilité lorsque nous ne considérons pas le RSMV pourrait compenser l'absence de ce réseau. La vitesse de croissance tumorale fut en effet augmentée. Cependant, l'altération de cette capacité de germination n'a aucune incidence quand le RSMV est présent car le réseau vasculaire assure l'oxygénation de la tumeur de façon similaire quelque que soit sa capacité de germination. Ce paramètre n'influe donc pas sur la survie des cellules périphériques de la tumeur et de la nécrose des cellules au cœur de celle-ci.

Les tissus comme le tissu cutané sont très consommateurs d'oxygène. En conséquence, le rôle du RSMV est essentiel dans son oxygénation physiologique. C'est pourquoi la présence du RSMV

dans le modèle est au moins implicitement requis. Cependant nous remarquons que son intégration explicite dans le modèle lui donne un rôle dominant dans l'angiogenèse, puisque c'est ce réseau submicrovasculaire qui deviendra la source principale des nouveaux germes qui atteignent la tumeur. Or l'observation montre que ce sont principalement les vaisseaux parents qui sont mis à contribution dans la néovascularisation de tumeur de type RENCA ($ATCC^{®}\ CRL - 2947^{TM}$) sous fenêtre dorsale (figure F.8).

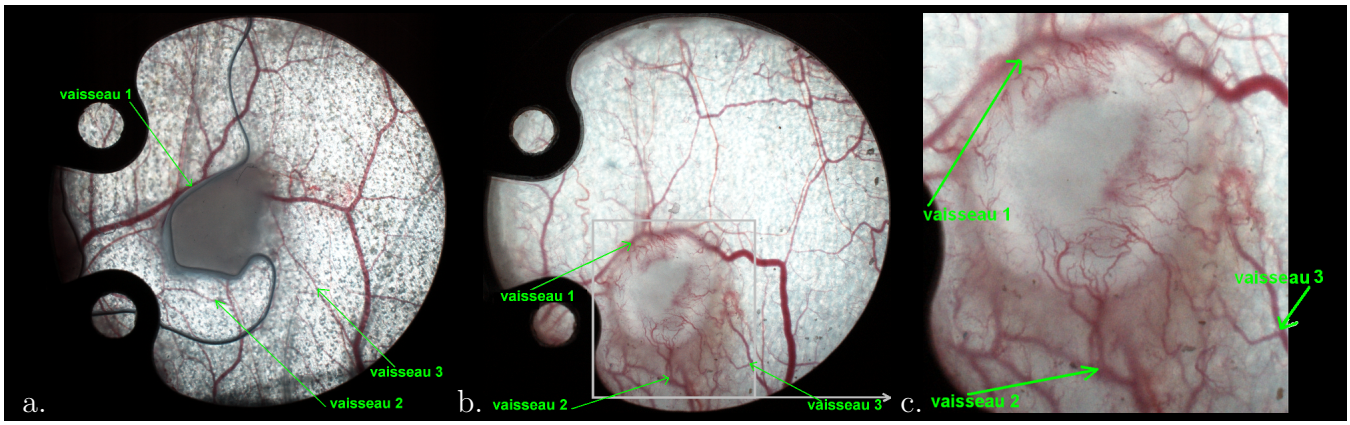



*Fig. F.8:* Exemple de tumeur vascularisée sous fenêtre dorsale où l'angiogenèse des vaisseaux parents est clairement visible. Trois vaisseaux qui germent sont mis en évidence. a. Juste après la mise en place de la fenêtre et l'implantation de la tumeur. b. Après 15 jours c. Zoom. Images fournies par *Ecrins Therapeutics*.

En conclusion, nous avons choisi d'adopter une modélisation implicite du RSMV dans la suite de nos travaux, de façon similaire à [75]. Ce réseau est représenté par un scalaire qui représente la densité du RSMV sur chaque élément. Ce scalaire est appelé champ vasculaire, il est uniforme à l'extérieur de la tumeur, et il décroit au cours du temps dans la tumeur pour traduire la dégradation des microvaisseaux. Seuls les vaisseaux parents peuvent donc contribuer à l'angiogenèse. Cette modélisation implicite de RSMV permet de prendre en compte une croissance initiale avasculaire de la tumeur puis de la transition avec la phase angiogénique pour permettre à la tumeur de continuer de croître.

## Réseau vasculaire et pression sanguine

| Paramètre | Unité | Valeur | Signification | Source |
|---|---|---|---|---|
| $r_{sprout}$ | $\mu m$ | 6 | Rayon des germes | [138] |
| $t_{EC}^{(switch)}$ | $h$ | 24 | Temps limite pour la germination d'un vaisseau dans la tumeur | [100] |
| $t_{(survie)}$ | $h$ | 60 | Temps de survie moyen d'un segment instable | (1) |
| $\tau^{(coll)}$ | $Pa$ | 4 | Seuil de tension de cisaillement pour l'effondrement des vaisseaux | (1) |
| $l_{inhib}$ | $\mu m$ | 50 | Inhibition de la germination autour d'un point où un vaisseau a germé | |
| $l_{extrem}$ | $\mu m$ | 50 | Inhibition de la germination autour de l'extrémité d'un germe | |
| $P_{E_1}$ | $Pa$ | 10000 | Pression au nœud $E_1$ | (2) |
| $P_{E_2}$ | $Pa$ | 10000 | Pression au nœud $E_2$ | (3) |
| $P_{E_3}$ | $Pa$ | 9000 | Pression au nœud $E_3$ | (3) |
| $P_{E_4}$ | $Pa$ | 8500 | Pression au nœud $E_4$ | (3) |
| $P_{E_5}$ | $Pa$ | 4000 | Pression au nœud $E_5$ | (3) |
| $P_{E_6}$ | $Pa$ | 100 | Pression au nœud $E_6$ | (2) |
| $\mu_{plasma}$ | $cp$ | 1.2 | Viscosité du plasma | [138] |

## Fibre matricielle et enzyme dégradante de la matrice

| Paramètre | Unité | Valeur | Signification | Source |
|---|---|---|---|---|
| $D_m$ | $mm^2 \cdot h^{-1}$ | $10.4 \times 10^{-3}$ | Coefficient de diffusion de l'enzyme | (4) |
| $\beta$ | $h^{-1}$ | 0 | Taux de production des fibres par les cellules endothéliales | (4) |
| $\gamma$ | $h^{-1}$ | $2.61 \times 10^{-4}$ | Taux de dégradation des fibres par les enzymes | (4) |
| $\alpha_m$ | $h^{-1}$ | 130 | Taux de production des enzymes par l'extrémité du germe | (4) |
| $\nu$ | $h^{-1}$ | 1.30 | Taux de dégradation spontanée des enzymes | (4) |

## Migration des cellules endothéliales

| Paramètre | Unité | Valeur | Signification | Source |
|---|---|---|---|---|
| $D$ | $mm^2 \cdot h^{-1}$ | $8.8 \times 10^{-4}$ | Migration aléatoire | [138] |
| $\alpha$ | $nu^{-1}$ | 0.6 | Paramètre intrinsèque à la chimiotaxie | [138] |
| $\chi$ | $mm^2 s^{-1}$ | $1 \times 10^{-5}$ | Décroissance de sensibilité chimiotactique | [138] |
| $\rho$ | $mm^2 s^{-1}$ | $2.9 \times 10^{-6}$ | Taux de production des enzymes par l'extrémité du germe | [138] |

## VEGF

| Paramètre | Unité | Valeur | Signification | Source |
|---|---|---|---|---|
| $D_V$ | $mm^2 \cdot h^{-1}$ | 0.104 | Coefficient de diffusion du VEGF | [137] |
| $\lambda_V$ | $h^{-1}$ | 0.650 | Dégradation spontanée du VEGF | [117] |
| $\nu$ | $h^{-1}$ | 1 | Consommation de VEGF par les cellules endothéliales | [117] |
| $V_{max}$ | $h^{-1}$ | 0.06 | Absorption maximale du VEGF par une portion de vaisseaux | [117] |
| $\tilde{V}_{emit}$ | $n.u \cdot s^{-1}$ | 0.0145 | Taux d'émission du VEGF par une cellule quiescente | - |

## Oxygène

| Paramètre | Unité | Valeur | Signification | Source |
|---|---|---|---|---|
| $D_{O_2}$ | $mm^2 \cdot s^{-1}$ | $2.41 \times 10^{-3}$ | Coefficient de diffusion de l'oxygène | [250] |
| $\gamma_p$ | $mm^{-1} s^{-1}$ | $6 \times 10^{-6}$ | Perméabilité de l'oxygène à travers la paroi vasculaire | |
| $k_Q$ | $s^{-1}$ | 1 | Taux de consommation d'oxygène pour les cellules tumorales quiescentes | [104] |
| $k_P$ | $s^{-1}$ | $2k_Q$ | Taux de consommation d'oxygène pour les cellules proliférative s | [104] |
| $k_N$ | $s^{-1}$ | $1.57k_Q$ | Taux de consommation d'oxygène pour les cellules normales | (5) |

## Cellules tumorales

| Paramètre | Unité | Valeur | Signification | Source |
|---|---|---|---|---|
| $\alpha_p$ | | 0.25 | Seuil d'oxygène pour la quiescence | (6) |
| $T_{limit}$ | $days$ | 10 | Temps après lequel les cellules quiescentes meurent par nécrose | [105] |
| $t_{apop}$ | $h$ | 5 | Temps pour le nettoyage des cellules apoptotiques par les macrophages | [105] |
| $t_{G_1}$ | $h$ | 10 | Durée de la phase $G_1$ | [251] |
| $t_{cycle}$ | $h$ | $[20 - 23]$ | Durée du cycle cellulaire | [42] |

*Tab. F.1:* Tableau des différentes paramètres

1. Valeurs choisies pour favoriser la dégradation sélective des vaisseaux dans la tumeur
2. Chute de pression dans le vaisseau parent (autour de 10000 Pa)
3. Pressions déduites de la localisation des nœuds relativement au vaisseau principal
4. Évaluées de Stephanou et al. (2006) pour obtenir une dégradation de la fibre matricielle plus significative.
5. Fixées de façon à ce que l'oxygène diffuse uniquement sur la distance limitée de 100 $\mu m$
6. Correspond au niveau d'oxygène dans un voisinage de 50 $\mu m$ du vaisseau.

| quantité de VEGF (n.u) | probabilité de germination (par $100^{ième}$ de jour) |
|---|---|
| $]\ 0.005 - 0.1\ ]$ | 0.001 |
| $]\ 0.1 - 0.25\ ]$ | 0.003 |
| $]\ 0.25 - 0.5\ ]$ | 0.006 |
| $> 0.5$ | 0.01 |

*Tab. F.2:* Probabilité de germination des vaisseaux

# G. MODÉLISATION DE LA PROLIFÉRATION CELLULAIRE

## Sommaire

**G.1 Détermination des paramètres** . . . . . **95**
**G.2 Compétition cellulaire** . . . . . **98**

## *G.1 Détermination des paramètres*

La croissance d'une tumeur est isotrope dans un environnement homogène et non limité en oxygène. Cependant, lorsque la croissance tumorale est modélisée par un automate cellulaire dans une grille, des biais géométriques peuvent apparaître [97, 98]. Lors de l'élaboration de notre modèle de croissance tumorale, nous nous sommes donc tout d'abord interrogés sur la façon de limiter ces biais par un choix adapté des paramètres déterminant les éléments occupés par les cellules après une division cellulaire.

En effet, comme expliqué dans la section E.3 du chapitre E, le choix de l'élément libre de la grille de simulation qui va être occupé après la division d'un cellule en phase mitotique est déterminé par deux paramètres $\gamma$ et $\delta$ (figure E.9). Lorsqu'un ou plusieurs éléments adjacents à la cellule qui se divise sont libres, le paramètre $\gamma$ détermine la probabilité qu'un élément libre adjacent par un sommet soit choisi pour accueillir une des cellules filles, plutôt qu'un élément libre transverse (figure E.9a). Lorsqu'au contraire aucun des éléments adjacent à la cellule en phase mitotique n'est libre, le paramètre $\delta$ détermine la probabilité qu'une cellule transverse à la cellule mitotique se déplace vers un élément libre qui partage un sommet plutôt qu'un côté avec son emplacement initial (figure E.9b). La cellule qui se déplace laisse alors un élément libre adjacent à la cellule qui se divise pour une des cellules filles (figure E.10). Ces paramètres servent à adapter les règles de division cellulaire pour que la croissance tumorale soit la plus isotrope dans un environnement uniformément oxygéné.

Ainsi, le paramètre $\gamma$ est tout d'abord choisi pour permettre une croissance tumorale isotrope sans déplacement cellulaire (**modèle 1** de la section E.3 du chapitre E). A l'état initial, l'avancement dans le cycle de chaque cellule est choisi aléatoirement suivant une loi uniforme. La durée du cycle cellulaire est quant à elle déterminée suivant le **modèle 2** de division cellulaire (chapitre E, section E.3.3). La figure G.1 montre que pour $\gamma = 1$, ce qui correspond à l'équibrobabilité d'occupation dans le voisinage de Moore (ensemble des voisins diagonaux et transverses), la tumeur croît avec une forme carrée. Pour corriger ce biais, il est donc nécessaire que la probabilité de division dans les directions diagonales soit moindre par rapport aux directions transverses.

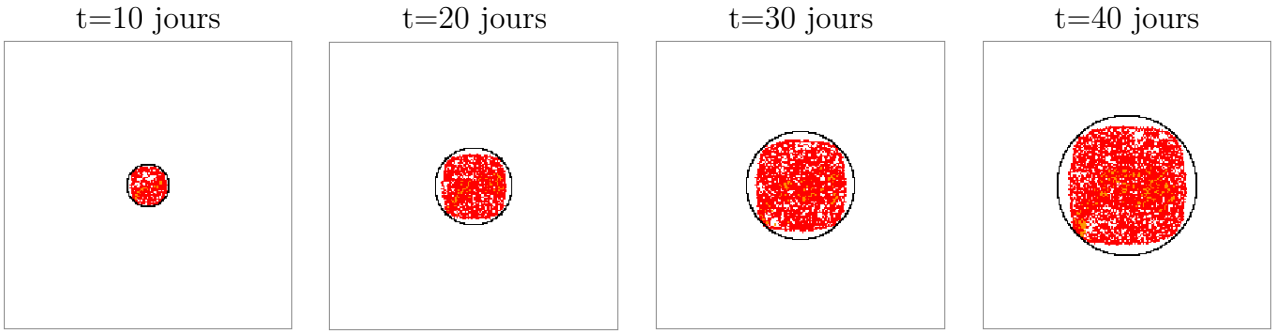



*Fig. G.1:* Croissance tumorale sans déplacement cellulaire pour une durée de cycle fixée à 24h avec $\gamma = 1$. Les cellules prolifératives sont en rouge et les cellules apoptotiques en jaune. Le cercle noir est le plus petit cercle qui englobe la tumeur.

La pondération par rapport à la distance entre cellule mère et cellule fille ($\gamma = \sqrt{2}/2$) semble dans un premier temps naturelle. Cependant, les simulations montrent que cette pondération n'est pas satisfaisante (figure G.2). Cette pondération ne permet effectivement pas une croissance isotrope, mais plutôt une croissance carrée similaire à celle observée pour $\gamma = 1$.

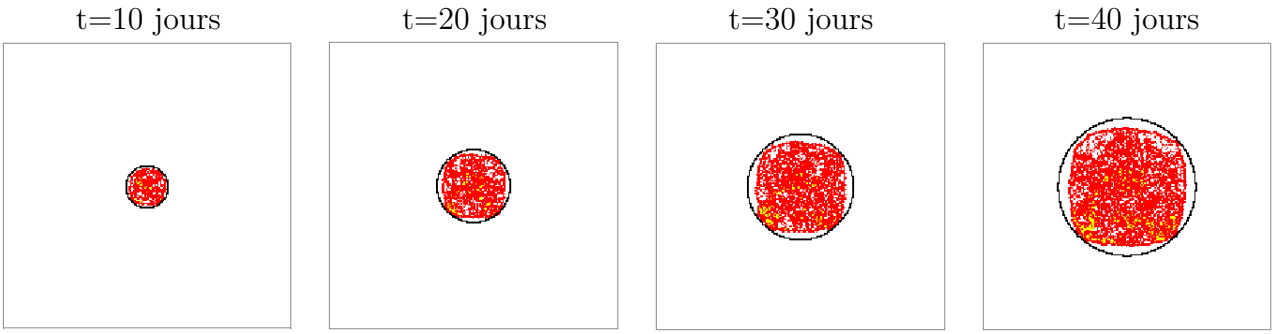



*Fig. G.2:* Croissance tumorale sans déplacement cellulaire pour une durée de cycle fixée à 24h avec $\gamma = \sqrt{2}/2$. Les cellules prolifératives sont en rouge et les cellules apoptotiques en jaune. Le cercle noir est le plus petit cercle qui englobe la tumeur.

En effet, lorsqu'une seule cellule est présente à l'état initial dans la zone de simulation, l'ensemble des éléments ayant une probabilité non nulles d'être occupés au bout d'un certain nombre de cycles de division forme un carré autour de l'élément initial (figure G.3). En conséquence, un élément peut avoir une probabilité non nulle d'être occupé au bout d'un temps fixé alors qu'il est plus éloigné de la cellule initiale qu'un autre élément plus proche dont la probabilité d'occupation au bout du même temps est nulle.

Le coefficient de pondération $\gamma$ pour une croissance isotrope peut dépendre de la durée du cycle cellulaire. En effet, la proportion moyenne de cellules libres autour d'une cellule mitotique, pour une même durée $T_{apop}$ avant l'élimination d'une cellule apoptotique peut différer selon la durée du cycle. Finalement, une valeur de $\gamma$ de 0.065 a été retenue car elle permet une croissance tumorale isotrope pour des durées de cycle cellulaire aussi variables que 10, 24, ou 48 heures, et une durée

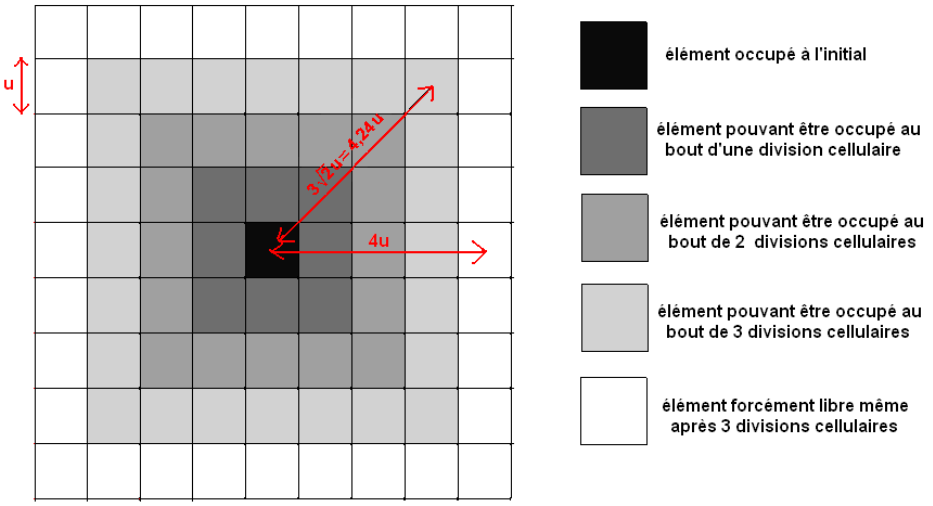



*Fig. G.3:* Éléments pouvant être occupés au bout d'un certain nombre de division cellulaire à partir d'une cellule centrale initialement unique. cette figure montre que certains éléments à distance $3\sqrt{2}u > 4u$ de la cellule centrale ont une probabilité plus grande d'être occupés au bout de 3 cycles que d'autres distant de $4u$ (pour lesquelles la probabilité est nulle).

de dégradation d'une cellule apoptotique $T_{apop}$ de 5 heures. La figure G.4 montre cette croissance isotrope pour une durée de cycle de 24h.

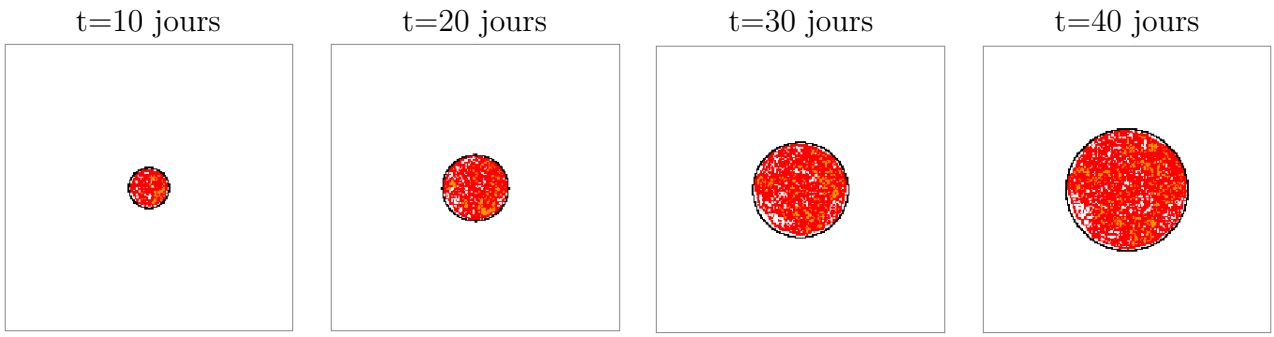



*Fig. G.4:* Croissance tumorale sans déplacement cellulaire pour une durée de cycle fixée à 24h avec $\gamma = 0.065$. Les cellules proliférative sont en rouge et les cellules apoptotiques en jaune. Le cercle noir est le plus petit cercle qui englobe la tumeur

Puis, nous avons fixé de même la valeur de $\delta$ associée à la probabilité d'occupation d'un élément dans le cas où il y a déplacement d'une cellule pour permettre, en libérant de l'espace, la division cellulaire (**modèle 2** de la section E.3, chapitre E). La figure G.5 montre que pour $\gamma = 0.065$ et $\delta = 0$, la croissance tumorale est anisotrope. Pour rétablir l'isotropie, il est nécessaire d'autoriser les cellules tumorales à se déplacer vers un de ses éléments adjacents par un sommet pour laisser la place à une des cellules filles, afin de permettre une croissance isotrope de la tumeur. La valeur retenue pour $\delta$ est 0.20. La circularité de la tumeur avec cette valeur de paramètre a été testée pour différentes durées du cycle cellulaire.

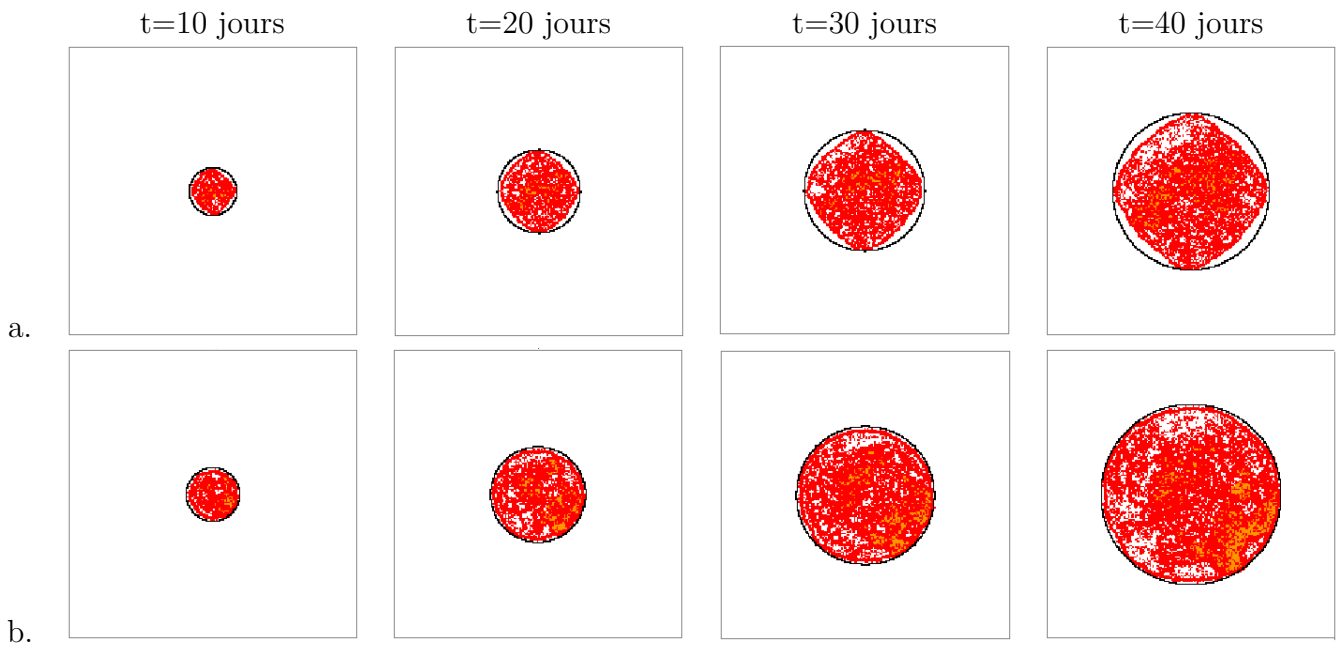



*Fig. G.5:* Croissance tumorale avec déplacement cellulaire pour une durée de cycle fixée à 24h. Les cellules rouges sont proliférative et les jaunes quiescentes. Le cercle noir est le plus petit cercle qui englobe la tumeur a. $\gamma = 0.065$, $\delta = 0$ b. $\gamma = 0.065$, $\delta = 0.2$

## G.2 Compétition cellulaire

Dans ce paragraphe, nous mettons en évidence la compétition pour la conquête de l'espace disponible qui a lieu entre diverses populations cellulaires ne différant que par la durée de leur cycle.

Soit deux populations cellulaires de durée de cycle distinctes $d_1$ et $d_2$. A l'état initial, les cellules d'une tumeur de rayon 100 $\mu m$ sont réparties dans l'une ou l'autre des populations de façon équiprobable. La figure G.6 montre l'évolution spatiale de ces populations pour différentes valeurs initiales de $d_1$, telles que $d_1 < d_2$ et $d_2 = 24h$, dans un environnement homogène non limité en oxygène. Au stade initial, l'avancement du cycle pour chaque cellule est déterminé suivant une loi aléatoire uniforme.

Nous remarquons que la tumeur croît d'autant plus vite que la durée de cycle de la population 1 est rapide. De plus, lorsque la durée du cycle cellulaire dans la population 1 est faible ($d_1 = 8$, 12, 16, ou $20h$), nous observons que les cellules de la population 2 (de durée de cycle $24h$) occupent le cœur de la tumeur et que cette population se stabilise, voire même disparait, alors que la population 1 occupe la périphérie. En effet, comme les cellules de la population 1 prolifèrent plus rapidement, elles colonisent plus vite la périphérie de la tumeur et encerclent ainsi les cellules de la population 2. Lorsque la durée du cycle cellulaire de la population 1 est plus grande ($d_1 = 22h$), certaines cellules de cette population atteignent la périphérie de la tumeur. Cela permet à cette population de continuer à croître tout au long du développement tumoral, car les cellules à l'extrême périphérie de la tumeur ont toujours assez d'espace pour se diviser et ne meurent donc pas par apoptose.

Nous observons également que les cellules tumorales d'une même population tendent à être groupées dans une ou plusieurs zones. Cela s'explique facilement car, d'une part, toutes les cellules sont issues d'un nombre restreint de cellules mères, et les cellules d'une même lignée sont facilement regroupées. D'autre part, les cellules regroupées sont plus aptes à faire front face à la compétition, car les cellules au centre d'un groupe ne risquent pas de laisser la place à des cellules d'une autre population lorsqu'elles meurent par apoptose. Au contraire, si une cellule isolée meurt par apoptose par manque d'espace, la cellule qui la remplacera appartiendra forcément à l'autre population.

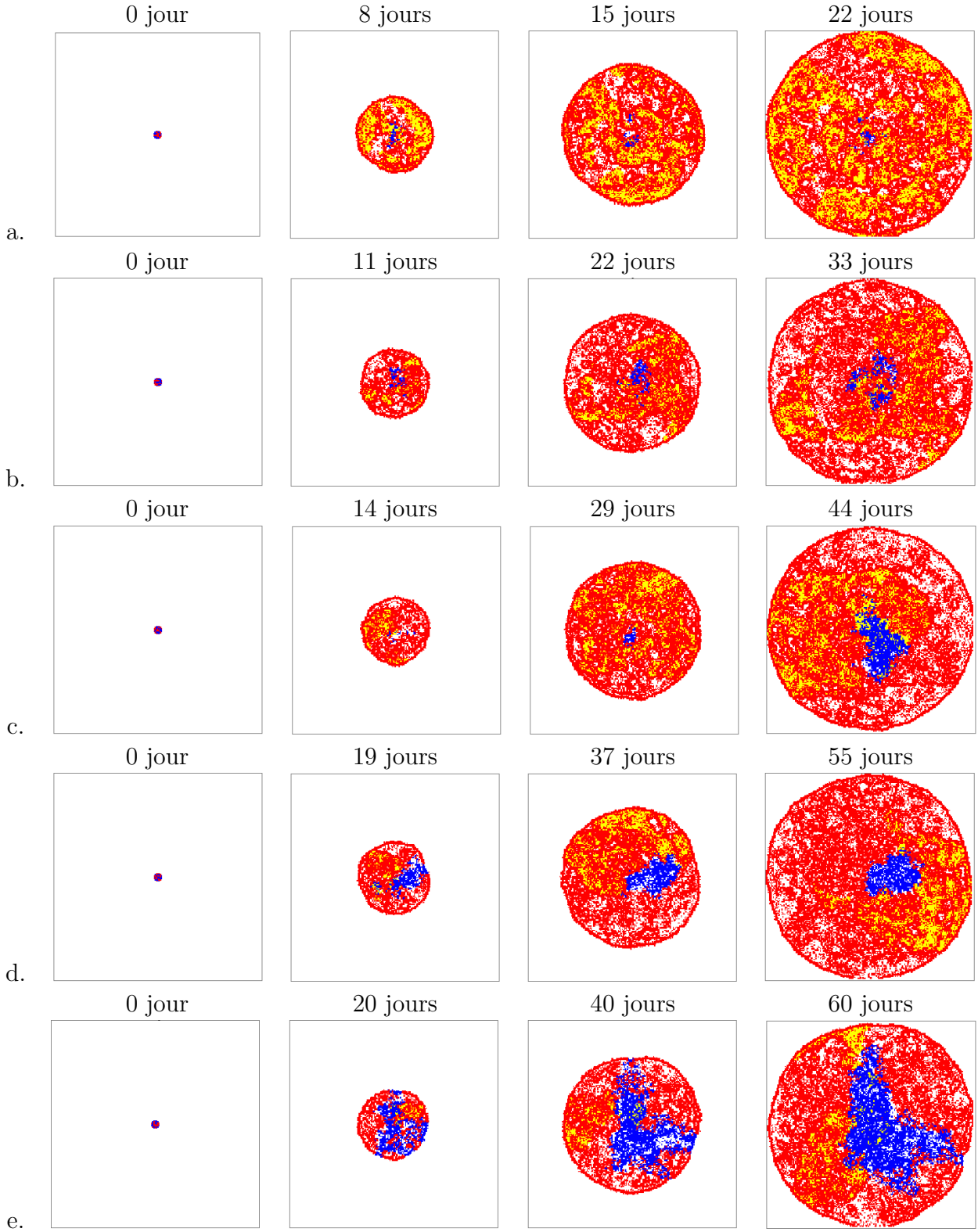



*Fig. G.6:* Évolution d'une tumeur composée de 2 populations tumorales de durées de cycle différentes. La durée de cycle de la population 1 (en rouge) diffère selon les simulations, et celle de la population 2 (en bleu) est de 24h. Les cellules apoptotiques sont en jaune. a. $d_1 = 8h$ b. $d_1 = 12h$ c. $d_1 = 16h$ d.$d_1 = 20h$ e. $d_1 = 22h$. Les simulations sont arrêtées lorsque la tumeur atteint les bornes du domaine. Les simulations représentées ici ont été choisies pour leur représentativité vis à vis des caractéristiques émergentes (quantité moyenne de cellules par population, distribution spatiale des populations) obtenues à partir de 100 simulations.

La figure G.7a montre l'évolution de la quantité de cellules dans la population 2 de durée de cycle $24h$ au cours de la croissance tumorale. La figure G.7b quant à elle montre l'évolution du rapport entre les quantités de cellules dans les populations 2 et 1 au cours du temps.
Nous remarquons (figure G.7a) que la population 2 (de durée de cycle 24h) évolue peu lorsque le

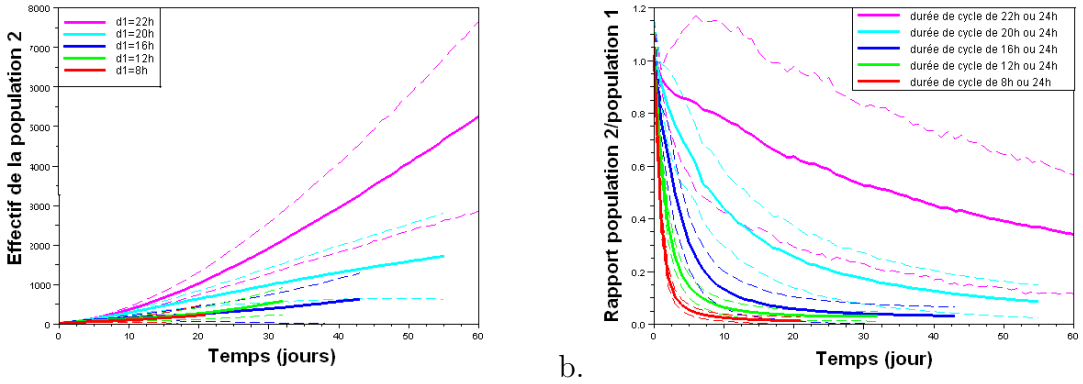



*Fig. G.7:* a. Évolution du nombre moyen de cellules dans la population 2 (de durée de cycle $d_2 = 24h$) pour différentes durées de cycle cellulaire $d_1$ pour la population 1 , sur 100 simulations. b. Évolution du rapport moyen entre les populations, sur 100 simulations. L'intervalle de largeur 2 fois l'écart-type des données autour de la moyenne est également représenté comme indicateur de dispersion.

cycle cellulaire de la population 1 est rapide ($d_1 = 8$, 12 ou $16h$) et croît plus fortement lorsque la population 1 à un cycle plus lent. Nous constatons également qu'une réduction de l'écart entre les durées de cycles des deux populations augmente la dispersion des données. Cela s'explique en partie par le fait que l'apoptose d'une cellule a un impact d'autant plus grand sur la population globale que la chance qu'une population importante de cellules filles en soit issue par divisions successives est grande. Cependant, la quantité moyenne de cellules n'évolue pas toujours aussi vite que la dispersion. En particulier, d'après les intervalles de dispersions représentés, la disparition de la population 2 est plus probable à 30 jours pour une durée de cycle $d_1$ de $16h$ que de $12h$.
Sur la figure G.7b, nous observons l'évolution de la quantité de cellules de la population 2 par rapport à la quantité de cellules dans la population 1. Ce rapport décroît d'autant plus rapidement que le cycle $d_1$ est rapide. Ainsi, alors que ce rapport est négligeable après 10 à 20 jours lorsque $d_1 = 8h$ , $12h$ ou $16h$, il reste respectivement de 0.1 et de 0.4 lorsque $d_1 = 20h$ et $d_1 = 22h$ après 50 jours.

En conclusion, les populations qui ont des durées de cycle cellulaire faible peuvent survivre voire se développer de manière localisée dans la tumeur malgré la compétition avec des cellules qui ont une durée de cycle plus rapide. Cette survie est plus élevée lorsque l'écart entre les durées de cycle des cellules est faible. Ces populations peuvent être plus résistantes à certaines thérapies qu'une population plus compétitive dans des conditions sans thérapie. En effet, une thérapie peut par exemple cibler une phase de cycle de même durée dans les deux populations, mais dont la fréquence dans un laps de temps donné est forcément plus élevée lorsque la prolifération est rapide. Ainsi, les cellules à prolifération plus lente vont rendre plus difficile l'élimination complète de la tumeur.

# H. ÉVOLUTION TUMORALE SOUS FENÊTRE DORSALE

## Sommaire

**H.1 Résultats expérimentaux . . . . . 103**
**H.2 Modélisation théorique . . . . . 108**
H.2.1 Simulation de la croissance tumorale sous fenêtre dorsale . . . . . 109
H.2.1.1 Suivi sur 30 jours . . . . . 109
H.2.1.2 Adaptation de l'émission du VEGF . . . . . 113
H.2.2 Évolution de la population cellulaire . . . . . 116
H.2.3 Évolution du réseau vasculaire . . . . . 117
H.2.3.1 Angiogenèse . . . . . 117
H.2.3.2 Adaptation vasculaire . . . . . 117
H.2.4 Conclusion . . . . . 120

## *H.1 Résultats expérimentaux*

L'évolution vasculaire observée suite à l'implantation des tumeurs murines de types RENCA peut différer suivant les expériences. Ainsi, figure H.1a montre un cas expérimental où le processus angiogénique ne s'est pas produit suite à l'implantation de la tumeur, et l'adaptation vasculaire est faible. La germination de vaisseaux est cependant observée dans la plupart des expériences. L'angiogenèse se produit essentiellement à partir des vaisseaux les plus à la surface du tissu. C'est le cas sur les figures H.1b et H.2. Nous observons que l'adaptation vasculaire est plus forte dans ces deux expériences que dans celle présentée dans la figure H.1a. Enfin, nous remarquons que, sur la figure H.2, l'angiogenèse est issue de vaisseaux à peine visibles dans les premiers jours de l'expérience.

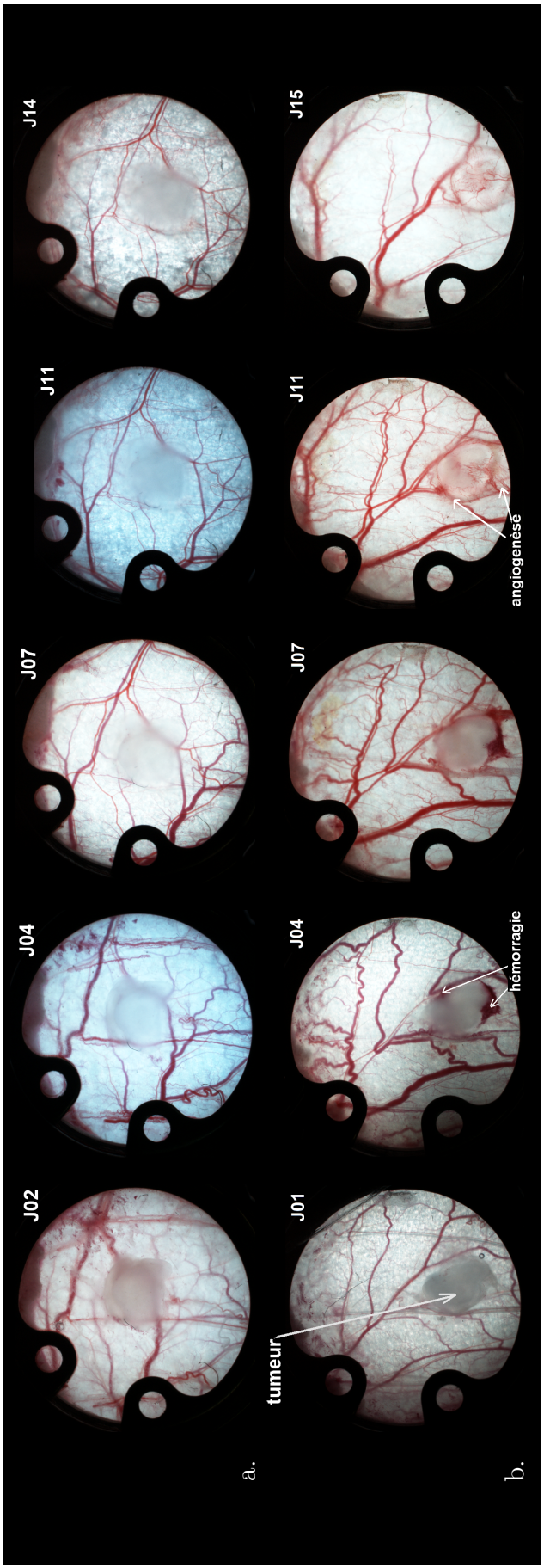



*Fig. H.1:* Deux cas caractéristiques d'évolution de tumeurs murines rénales de type RENCA sous fenêtre dorsale. a : La tumeur s'enracine dans le tissu hôte (elle devient moins opaque) mais aucune angiogenèse n'est observée et l'adaptation vasculaire est réduite. b : Une hémorragie (J04) , puis l'angiogenèse (à partir de J07) sont observées. L'adaptation vasculaire est plus forte.

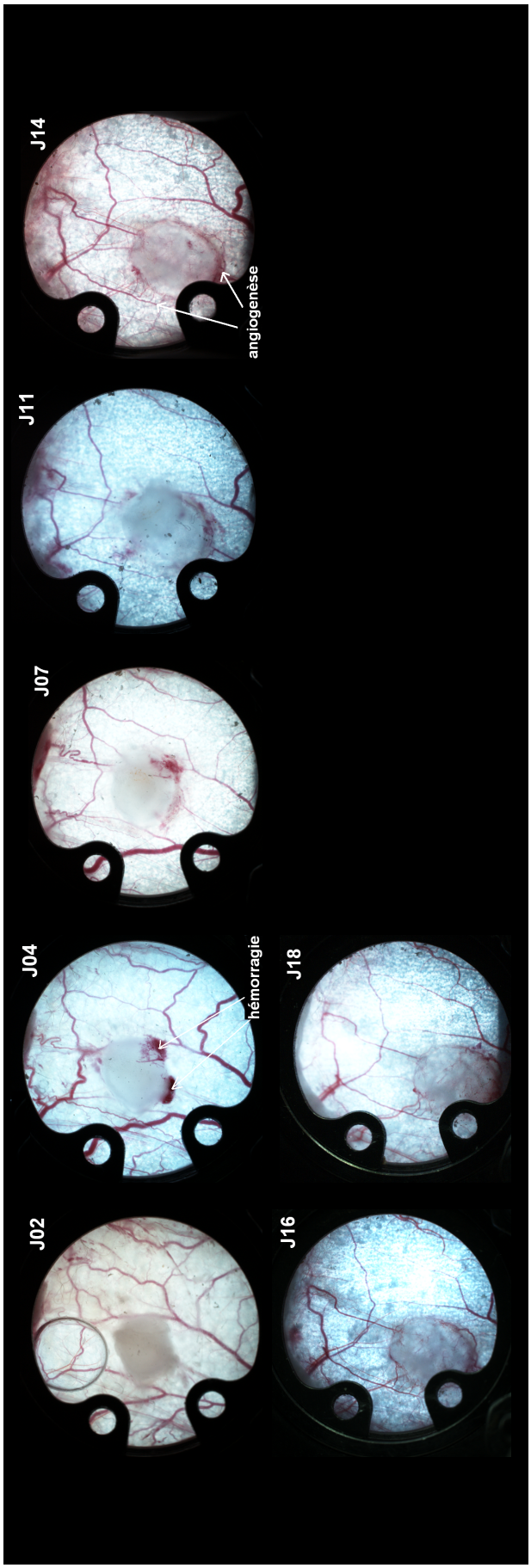



*Fig. H.2:* Cas caractéristique d'évolution de tumeurs murines rénales de type RENCA sous fenêtre dorsale. b : Une hémorragie (J04) , puis l'angiogenèse (à partir de J07) sont observées comme en H.1b. Cependant, les vaisseaux qui germent pour former les néovaisseaux sont des vaisseaux secondaires, à peine visibles sur les premières images.

La figure H.3 présente l'évolution des rayons des vaisseaux dans les expériences présentées sur les figures H.1 et H.2. Les vaisseaux d'intérêts des images sont sélectionnés comme expliqué dans le chapitre D, section D.3. Dans l'expérience représentée sur la figure H.1b, les vaisseaux qui ne sont pas présents sur l'une ou l'autre des images à cause du glissement de la fenêtre dorsale ont été exclus de la sélection. Ce glissement est négligeable pour les expériences représentées figure H.1a et c.

Les histogrammes révèlent que, quelque soit l'ampleur de l'adaptation vasculaire, celle-ci se déroule en deux temps. Dans un premier temps, les vaisseaux se dilatent sous l'effet du VEGF et leurs rayons deviennent plus hétérogènes. Sur les figures H.3b et c, nous remarquons également qu'un plus grand nombre de vaisseaux ont un rayon de 10 à 20 micromètres à 4 jours qu'au début de l'expérience. Cela est essentiellement dû à la dilatation des vaisseaux les plus fins.

Puis, après 7 jours, le réseau vasculaire se contracte à nouveau et les rayons des vaisseaux deviennent généralement plus fins qu'au début de l'expérience.

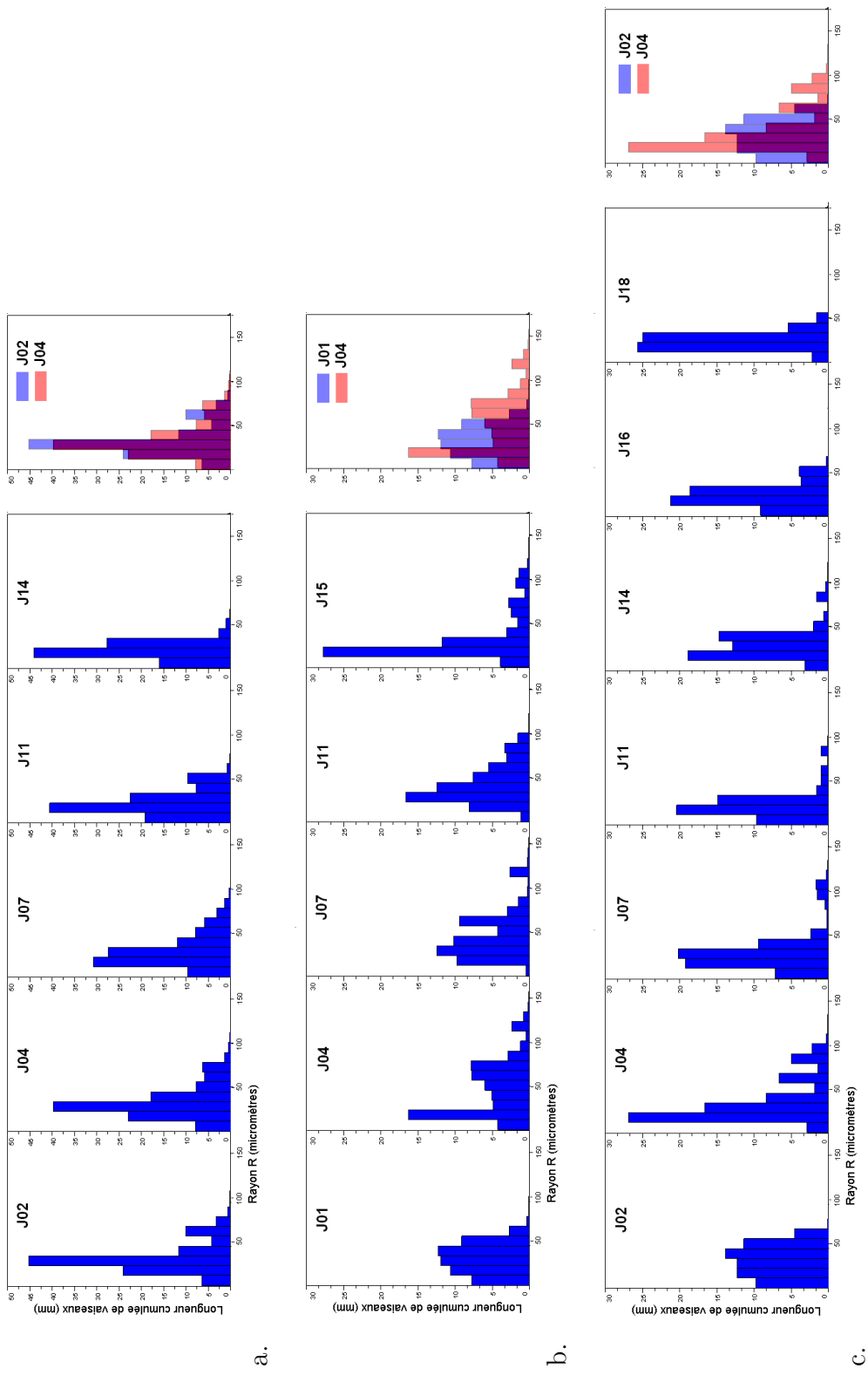



*Fig. H.3:* Diagrammes des longueurs cumulées de vaisseaux pour chacune des images associées aux expériences présentées sur les figures H.1 et H.2. Les deux premiers diagrammes sont représentés sur un même graphe en fin de chaque ligne pour mettre en évidence l'adaptation vasculaire sur les premiers jours.

## H.2 Modélisation théorique

Dans cette section, le modèle complet est simulé de façon à étudier l'évolution tumorale et sa vascularisation dans des conditions similaires à celles observées sous fenêtre dorsale sur la souris. Ces simulations sont faites avec le **modèle 2** de croissance tumorale (chapitre E, section E.3), le **modèle 3** de division cellulaire et le **modèle 2** d'angiogenèse (chapitre E, section E.4.2.2). L'expérience choisie comme référence est celle représentée sur la figure H.1b. Ce choix a été réalisé car l'essentiel des vaisseaux de ce cas expérimental peuvent être représentés sur un plan 2D.

Les vaisseaux principaux sont extraits de l'image du réseau vasculaire sous fenêtre dorsale prise peu de temps après l'implantation d'un morceau de tumeur, et sont retranscrits à l'état initial du modèle, comme expliqué dans la section E.2.3 du chapitre E. Les rayons de ces vaisseaux sont fixés à la valeur qu'ils prennent lorsqu'aucun stimulus n'est exercé sur leurs parois, c'est à dire à 15 $\mu m$ à l'exception d'un vaisseau de référence qui est montré figure H.4. Le rayon de ce vaisseau référent est fixé à 40 $\mu m$, ce qui correspond à la mesure réalisée dans le cas expérimental et son rayon n'évolue pas tout au long de la simulation. On simule alors l'adaptation des vaisseaux soumis aux contraintes hémodynamiques en fixant les pressions des vaisseaux aux bornes du domaine. La simulation est interrompue lorsqu'un état stable est atteint pour l'ensemble du réseau vasculaire, c'est à dire lorsque les diamètres des vaisseaux n'évoluent plus. La stabilité du vaisseau de référence, qui est le seul comportant une borne entrante, permet de maîtriser la quantité de sang circulant dans l'ensemble des vaisseaux. La pression sanguine est identique à toutes les autres bornes du modèle, car des pressions plus variées ne permettraient pas le contrôle des flux. En effet, une ou des bornes de vaisseaux autre que celui de référence pourraient alors être entrants dès l'état initial, ou le devenir suite à l'adaptation vasculaire. Les rayons des vaisseaux entrants qui peuvent s'adapter pourraient alors se dilater de façon incontrôlée, et donc provoquer une entrée de sang massive dans le réseau, ce qui influerait sur le flux des autres vaisseaux, et donc sur leurs rayons. Les vaisseaux issus de l'angiogenèse quant à eux, gardent toujours un rayon de 6 $\mu m$ dans le modèle.

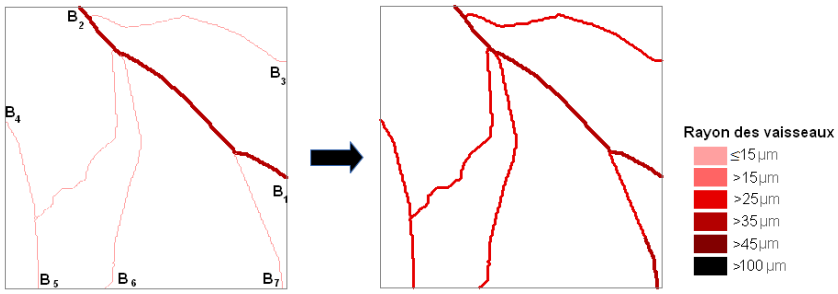



*Fig. H.4:* Le réseau vasculaire avec les rayons utilisés pour paramétrer le modèle, puis après stabilisation. Les bornes $B_i$ sont numérotées sur la première image. La pression sanguine est à 13000 $Pa$ à la borne $B_1$, et à 2000 $Pa$ aux autres bornes. Le diamètre du vaisseau principal sur cette première image est maintenu constant tout au long de la simulation.

A l'état initial, le tissu est oxygéné par le réseau de microvaisseaux représenté implicitement par un champ uniforme sur toute la zone de simulation. De plus, les rayons des vaisseaux principaux été soumis aux contraintes hémodynamiques de façon à rendre le réseau vasculaire fonctionnellement réaliste. La tumeur quant à elle présente un rayon de 1.5 $mm$ de diamètre et sa position correspond

à celle de la tumeur dans l'image expérimentale. Chacune de ses cellules est à l'état proliératif, avec un état d'avancement dans le cycle déterminé suivant une loi uniforme. La durée du cycle est fixée aléatoirement suivant une loi normale centrée sur $24h$, d'écart-type $0.1h$, et tronquée entre $23.5h$ et $24.5h$ déterminée comme dans le **modèle 3** de division cellulaire. Le choix de l'écart-type permet que plus de 80 % des cellules filles aient une durée de cycle à moins de 8 minutes de leur cellule mère. Les paramètres du modèle sont présentés dans les tableaux H.1 et H.2.

### *H.2.1 Simulation de la croissance tumorale sous fenêtre dorsale*

#### *H.2.1.1 Suivi sur 30 jours*

Les figures H.5 et H.6 montrent la simulation de l'évolution vasculaire et tumorale sous 30 jours. Cette évolution est comparée au cas expérimental d'où est extrait le réseau initial sur les 15 premiers jours (figure H.5). Cependant, cette comparaison ne peut se poursuivre sur 30 jours car les expériences de croissance tumorale sous fenêtre dorsale sont rarement poursuivies au delà de 15 à 20 jours avant que la souris ne montrent des signes de souffrance dues à la taille de la tumeur. Les résultats de simulations au delà de 15 jours sont donc présentés sans comparaison à l'expérience (figure H.6). L'évolution de la distribution en oxygène, en VEGF, et en fibres de la matrice extra-cellulaire sont également suivies par la simulation numérique.

A l'état initial (figure H.5), la distribution en oxygène dans la tumeur est plus faible que dans le tissu sain. Cela est dû à la plus grande consommation en oxygène des cellules tumorales proliératives par rapport au cellules saines. Les rayons des vaisseaux parents sont assez homogènes, tout comme c'est le cas au premier jour dans le modèle expérimental. Les fibres du tissu ne sont pas dégradées, et la tumeur n'a pas encore émis de VEGF.

Le champ implicite de vaisseaux se dégrade ensuite lentement sous l'effet de la tumeur et les cellules tumorales initiales deviennent hypoxiques et entrent en état de quiescence durant lequel elles produisent du VEGF. Comme la contrainte de déformation élastique s'affaiblit sous l'effet du VEGF, nous observons en conséquence une adaptation des rayons des vaisseaux parents dans les premiers jours. Cela donne lieu à une plus grande hétérogénéité des rayons vasculaires. Cependant, les vaisseaux se contractant et se dilatant ne sont pas les mêmes dans la simulation et dans le modèle expérimental. Cela est dû aux fait que les conditions de pressions aux bornes sont différentes dans les simulations et dans le modèles, ce qui modifie les différents stimuli qui s'exercent sur les vaisseaux.

La distribution en VEGF n'évolue que lentement dans les jours qui suivent (après 4 jours sur les images). Cela entraîne une adaptation vasculaire moindre après les premiers jours, alors qu'elle est bien présente dans le cas expérimental. Les néovaisseaux quant à eux vascularisent rapidement la tumeur les 11 premiers jours. Leur présence est observable dès 4 jours, alors que dans le cas expérimental de référence, la vascularisation n'a pas encore commencé à ce stade. Ces néovaisseaux n'atteignent pas le centre de la tumeur comme c'est le cas dans l'expérience, car nous reproduisons l'évolution vasculaire à l'intérieur de la tumeur, alors que des vaisseaux qui se développent au dessus de la tumeur sont observables sur l'image. Les fibres se dégradent lentement sous l'effet de l'angiogenèse, et les zones de plus forte dégradation correspondent à celles où l'extrémité des germes migrent très lentement, voire restent stationnaires, avant d'être dégradés ou de fusionner par anastomose avec un autre vaisseau. Les néovaisseaux permettent l'alimentation de la tumeur

en oxygène et favorisent donc la croissance tumorale. Cependant, la prolifération cellulaire est ponctuellement présente dans une moindre mesure sur la périphérie tumorale non vascularisée.

La vascularisation se développe peu après 11 jours, et, en conséquence, la dégradation des fibres matricielles évolue également peu après ce stade. Au contraire, le réseau vasculaire se dégrade sous l'effet de la tumeur aux alentours de 20 jours (figure H.6). Les premières cellules nécrotiques apparaissent aux alentours de 11 jours à cause de l'hypoxie sévère due à la dégradation de plus en plus complète des vaisseaux du champ implicite.

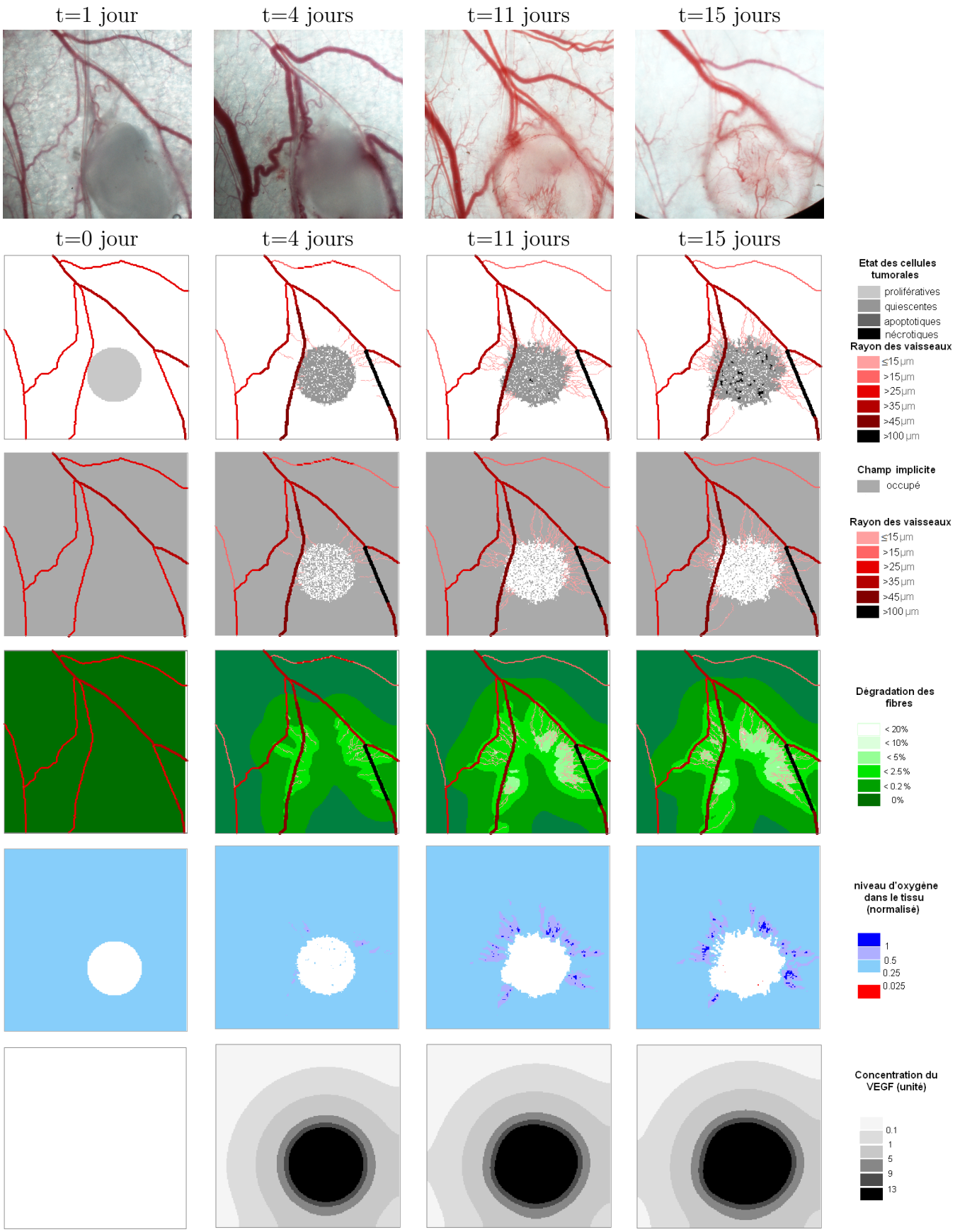



*Fig. H.5:* Simulation du développement tumoral sous 15 jours et comparaison avec le cas expérimental (1ère ligne). Les cellules quiescentes émettent ici immédiatement du VEGF. De haut en bas : tumeur et vaisseaux (2ème ligne), champ vasculaire implicite et vaisseaux (3ème ligne), fibres de la matrice extra-cellulaire (4ème ligne), oxygène (5ème ligne) et VEGF(6ème ligne).

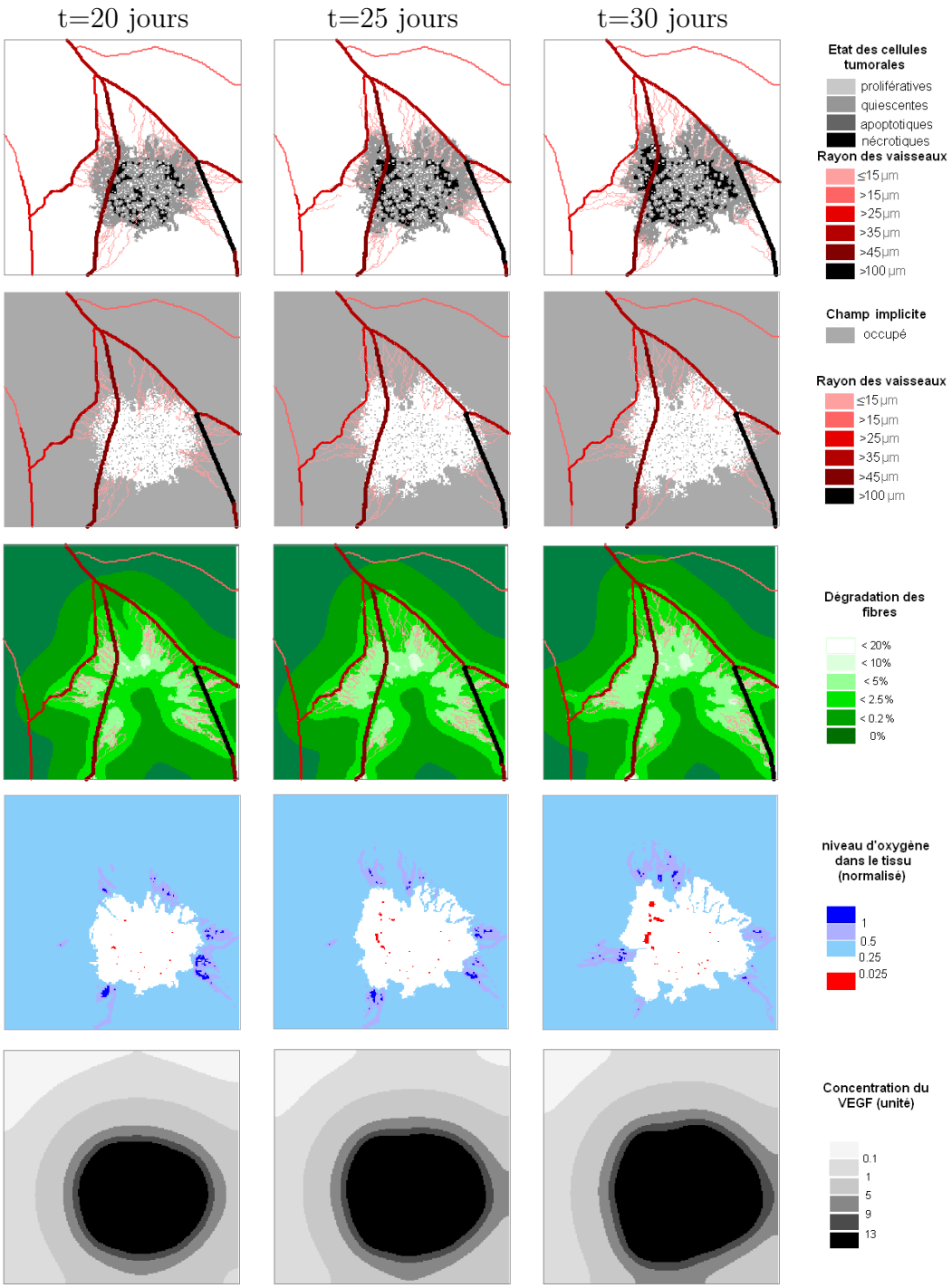



*Fig. H.6:* Simulation du développement tumoral jusqu'à 30 jours. Les cellules quiescentes émettent ici immédiatement du VEGF. De haut en bas : tumeur et vaisseaux (1ère ligne), champ vasculaire implicite et vaisseaux (2ème ligne), fibres de la matrice extra-cellulaire (3ème ligne), oxygène (4ème ligne), et VEGF (5ème ligne)

#### H.2.1.2 Adaptation de l'émission du VEGF

Les cellules peuvent prendre un certain temps pour passer de l'état prolifératif à l'état quiescent, ce qui pourrait retarder le remodelage vasculaire. Dans la simulation suivante, un temps de latence de deux jours a donc été introduit entre leur passage à l'état quiescent dans l'automate cellulaire et leur émission de VEGF. Les figures H.7 et H.8 montrent l'évolution vasculaire et tumorale, ainsi que l'évolution de la distribution d'oxygène, de fibres matricielles, et de VEGF au cours du temps avec ce temps de latence. L'évolution est également comparée avec le cas expérimental sur les 15 premiers jours (figure H.7).

Au premier jour, le champ implicite de vaisseaux est déjà partiellement dégradé. Le niveau d'oxygène dans le tissu tumoral est cependant par endroit plus élevé que dans les conditions initiales. Cela s'explique par la présence au bout d'une journée de cellules quiescentes, moins consommatrices d'oxygène que les cellules proliératives, et par la mort par apoptose de certaines des cellules proliératives. Aucune cellule n'a encore émis de VEGF à ce stade, et aucune adaptation vasculaire, angiogenèse ou dégradation de fibres matricielles n'est donc observée.

Au bout de 4 jours, le développement vasculaire a à peine commencé alors que les rayons des vaisseaux se sont déjà adaptés suite à l'émission du VEGF. Cela correspond aux observations expérimentales. La vascularisation de la tumeur se développe par la suite et se poursuit jusqu'à 15 jours, et les fibres matricielles se dégradent en conséquence. La dégradation des néovaisseaux par la tumeur a surtout lieu après le vingtième jour.

La croissance tumorale est quant à elle similaire à celle observée dans la simulation précédente. Les cellules nécrotiques sont toutefois plus présentes à 30 jours (figure H.8), en particulier dans les zones colonisées par la tumeur au cours de la simulation. La localisation des cellules nécrotiques s'explique par la plus forte dégradation du champ implicite de vaisseaux en ces lieux. Cela est dû au fait que certains éléments au centre de la tumeur n'ont pas été longuement occupés par une cellule tumorale, et ont en conséquence eu une faible probabilité de se dégrader. En effet, les cellules tumorales présentes à l'état initial avaient déjà entamé leur cycle cellulaire, et certains éléments laissés libres suite à la mort de cellules par apoptose n'ont pas été recolonisés car l'hypoxie a très rapidement réduit la prolifération au centre de la tumeur.

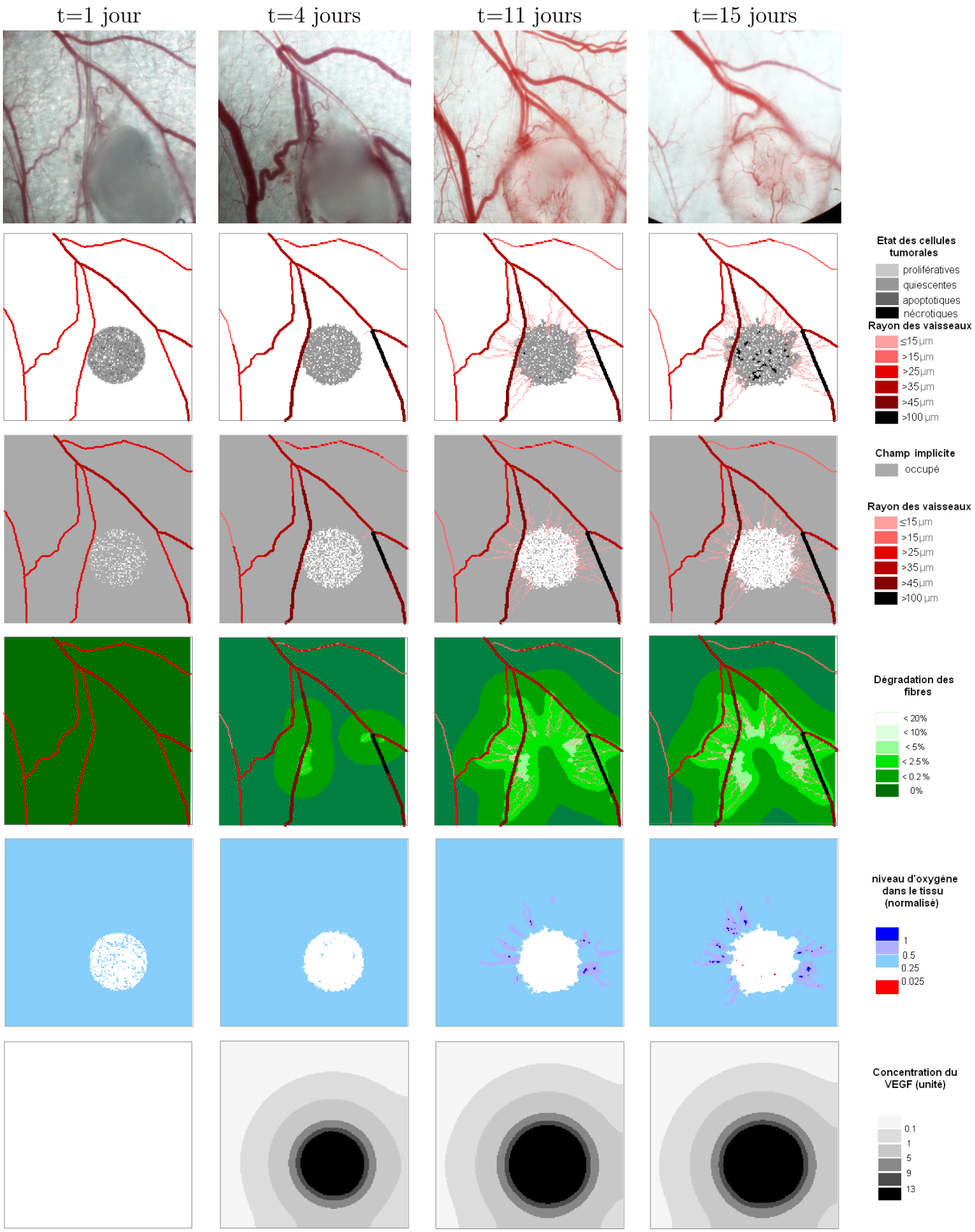



*Fig. H.7:* Simulation du développement tumoral sous 15 jours et comparaison avec le cas expérimental (1ère ligne). Les cellules quiescentes émettent du VEGF au bout de 2 jours. De haut en bas : tumeur et vaisseaux (2ème ligne), champ vasculaire implicite et vaisseaux (3ème ligne), fibres de la matrice extra-cellulaire (4ème ligne), oxygène (5ème ligne), et VEGF (6ème ligne).

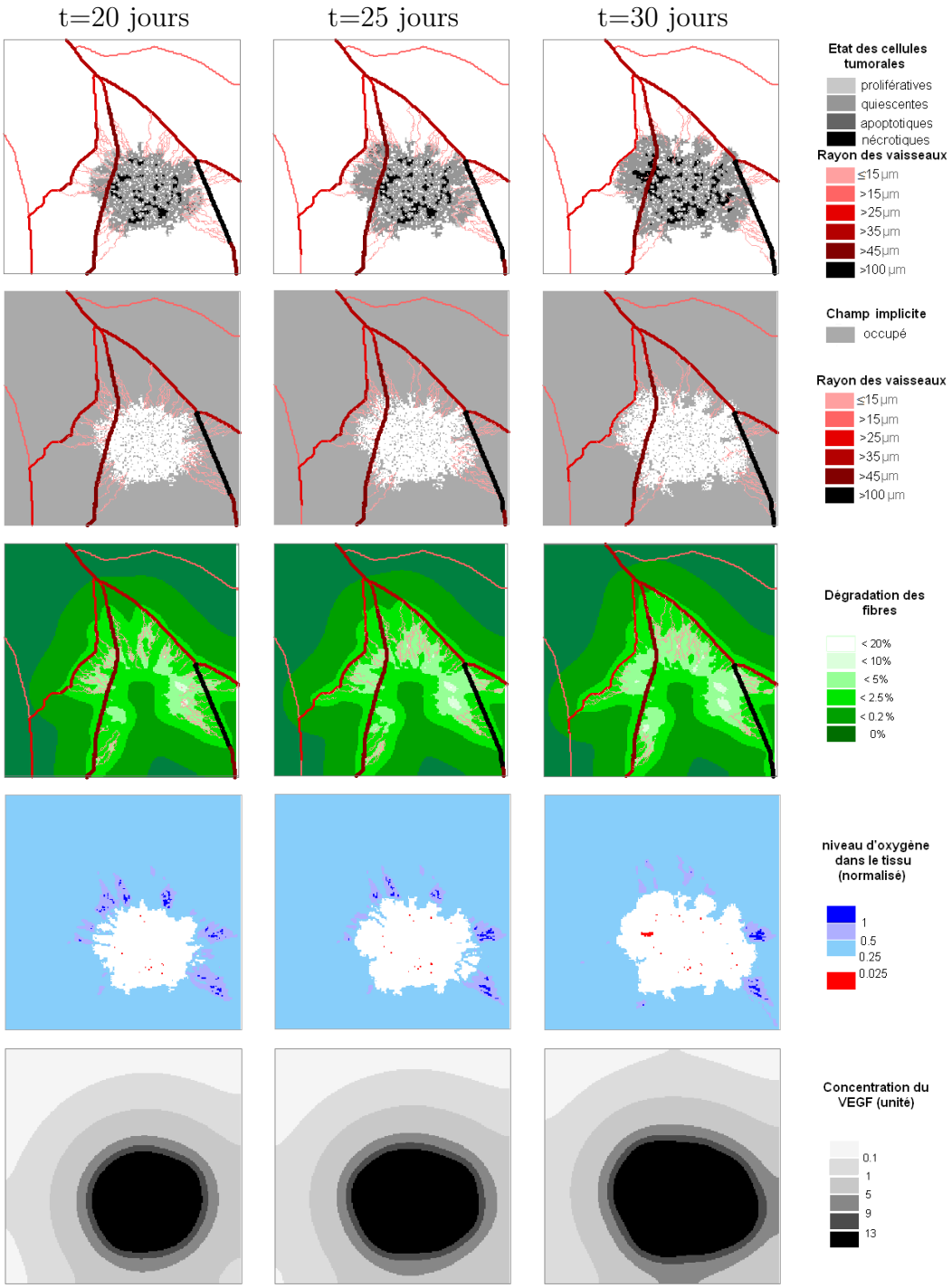


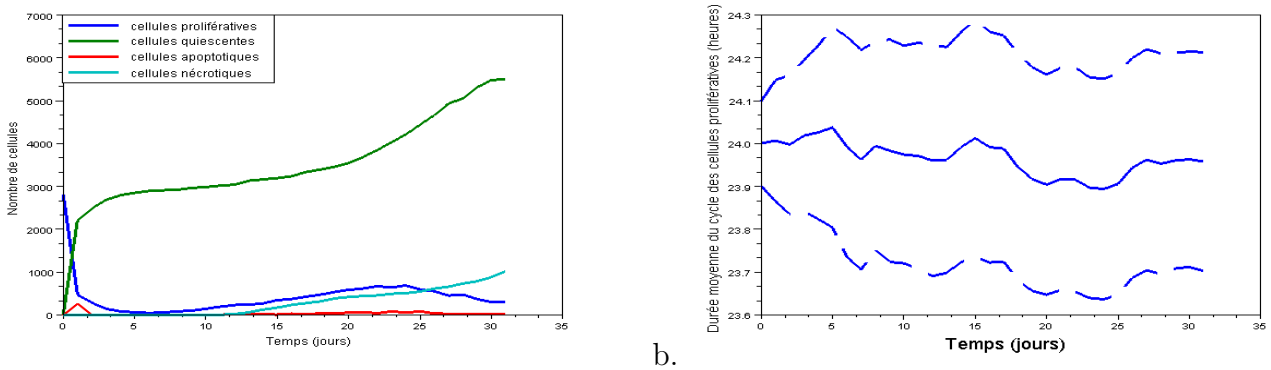

*Fig. H.8:* Simulation du développement tumoral jusqu'à 30 jours. Les cellules quiescentes émettent du VEGF au bout de 2 jours. De haut en bas : tumeur et vaisseaux (1ère ligne), champ vasculaire implicite et vaisseaux (2ème ligne), fibres de la matrice extra-cellulaire (3ème ligne), oxygène (4ème ligne), et VEGF (5ème ligne).

### H.2.2 Évolution de la population cellulaire

Dans ce paragraphe, nous allons étudier l'évolution de la quantité de cellules dans les différents états cellulaires et de la durée moyenne du cycle des cellules proliférratives au cours du temps. Ces évolutions sont extrêmement similaires lorsqu'un délai de latence de deux jours entre le passage des cellules à l'état quiescent et leur émission de VEGF est pris en compte ou non, ce qui nous permet de confirmer que la tumeur n'est pas affectée par ce délai. En conséquence, seules les évolutions obtenues avec un délai de 2 jours dans l'émission du VEGF sont présentées ici.

La figure H.9a montre l'évolution des quantités de cellules dans les différents états cellulaires sur un trentaine de jours. Le premier jour, nous pouvons observer une forte augmentation de la quantité de cellules quiescentes et apoptotiques, et une baisse simultanée de la quantité de cellules proliférratives. En effet, la dégradation des vaisseaux qui alimentent le tissu à l'état initial provoque la quiescence des cellules en phase $G_0$, et les cellules en phase de mitose manquent de place pour se diviser ce qui les fait entrer dans un état apoptotique.

Par la suite, entre 5 et 20 jours, les quantités de cellules proliférratives et de cellules quiescentes augmentent légèrement. La faible variation de la quantité de cellules quiescentes explique la faible variation de la quantité de VEGF entre 4, 11 et 15 jours sur la figure H.5, et entre 11 et 15 jours sur la figure H.7. Après 25 jours, la quantité de cellules proliférratives décroit légèrement alors que celle des cellules quiescentes augmentent plus fortement. La quantité de cellules apoptotiques quant à elle reste négligeable par rapport à celle des autres cellules. La mort de cellules par nécrose, causée par une hypoxie sévère, n'apparait qu'entre 10 et 15 jours et cette quantité augmente au cours du temps.




a. b.

*Fig. H.9:* a. Évolution de la quantité de cellules tumorales au cours du temps dans les différents états. b. Évolution de la durée moyenne des cycles cellulaires au cours du temps. La durée de cycle des cellules appartient à l'intervalle compris entre $23.5h$ et $24.5h$. L'intervalle de largeur 2 fois l'écart-type des données autour de la moyenne est également représenté comme indicateur de dispersion.

La figure H.9b montre l'évolution de la durée moyenne de cycle cellulaire des cellules proliférratives sur une trentaine de jours. Nous remarquons que cette durée oscille entre 23.9 et $24.05h$. La hausse rapide de la durée moyenne du cycle de $23.9h$ à plus de $23.95h$ qui a lieu à 25 jours correspond à une entrée en quiescence massive de cellules. L'explication de ce phénomène se trouve dans la plus grande résistance à l'hypoxie des cellules à prolifération lente. L'écart type entre les

durée de cycle cellulaire, qui est à $0.1h$ en début de simulation, fait plus que doubler en 5 jours.

### H.2.3 Évolution du réseau vasculaire

#### H.2.3.1 Angiogenèse

Nous allons maintenant nous attarder sur le développement des néovaisseaux dans les simulations. Pour cela, nous allons étudier l'évolution de la densité vasculaire dans les simulations sur une zone présentée figure H.10.

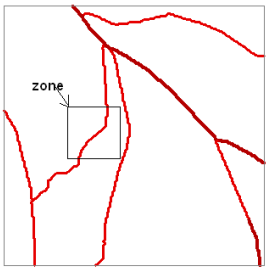



*Fig. H.10:* Zone des simulations dans laquelle l'angiogenèse est quantifié

La figure H.11 compare l'évolution de la longueur cumulée de néovaisseaux dans cette zone selon que l'émission de VEGF par les cellules quiescentes est immédiate ou non. Ce paramètre permet d'estimer la densité de néovaisseaux au cours du temps.

Le développement des néovaisseaux commence dès le deuxième jour lorsque l'émission de VEGF est immédiate, alors qu'elle est retardée à 4 jours dans le cas contraire. Puis, dans les deux cas, la longueur vasculaire commence par croître pour atteindre une valeur cumulée de 7 mm, pour ensuite décroître. Cette décroissance est cependant retardée à 25 jours si un délai est introduit pour l'émission de VEGF, alors qu'elle est a lieu au bout de 15 jours dans le cas contraire. Le délai d'émission permet donc un processus angiogénique initialement plus lent, mais une dégradation moins rapide des vaisseaux sous l'effet de la tumeur.

#### H.2.3.2 Adaptation vasculaire

Étudions maintenant l'évolution des rayons vasculaires des vaisseaux principaux au cours du temps et comparons les aux résultats expérimentaux. Le diagramme représenté dans la figure H.12 étudie l'évolution des rayons des vaisseaux présents à l'état initial du modèle dans les deux cas de simulations, et les compare à l'évolution de ces mêmes vaisseaux dans le cas expérimental.

Les diagrammes présentés des figures H.12a et b mettent en évidence que les rayons des vaisseaux deviennent hétérogènes dans les premiers jours de simulation, ce qui correspond aux observations expérimentales (figure H.12c). Cette adaptation vasculaire se fait immédiatement au premier jour de la simulation dans le cas où l'émission de VEGF est immédiate, mais est retardée dans le cas contraire, ce qui correspond mieux aux données expérimentales.

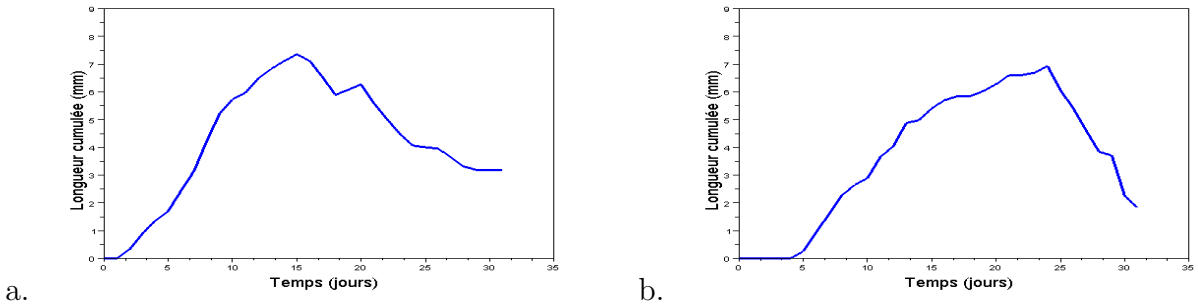



*Fig. H.11:* Évolution de la longueur cumulée de vaisseaux dans la zone définie sur la première image de simulation figure H.5 a. avec émission immédiate de VEGF par les cellules quiescentes b. avec émission de VEGF par les cellules quiescentes au bout de 2 jours.

Dans les jours qui suivent, certains vaisseaux du réseau vasculaire s'affinent dans les simulations tout comme dans l'expérience pour atteindre un rayon inférieur à 20 $\mu m$. Toutefois, d'autres vaisseaux se dilatent encore dans les simulations, ce qui n'est pas le cas dans l'expérience, où les diamètres des vaisseaux rétrécissent lentement après 4 jours. En effet, les vaisseaux principaux dans la tumeur se dégradent plus facilement dans l'expérience que dans les simulations et la dégradation de vaisseaux induit la contraction des vaisseaux qu'ils alimentent. De plus, les vaisseaux principaux présents au bout de 15 jours dans la tumeur sont plus rares dans les simulations que dans l'expérience à cause de déplacement de vaisseaux qui ne sont pas modélisés ici.

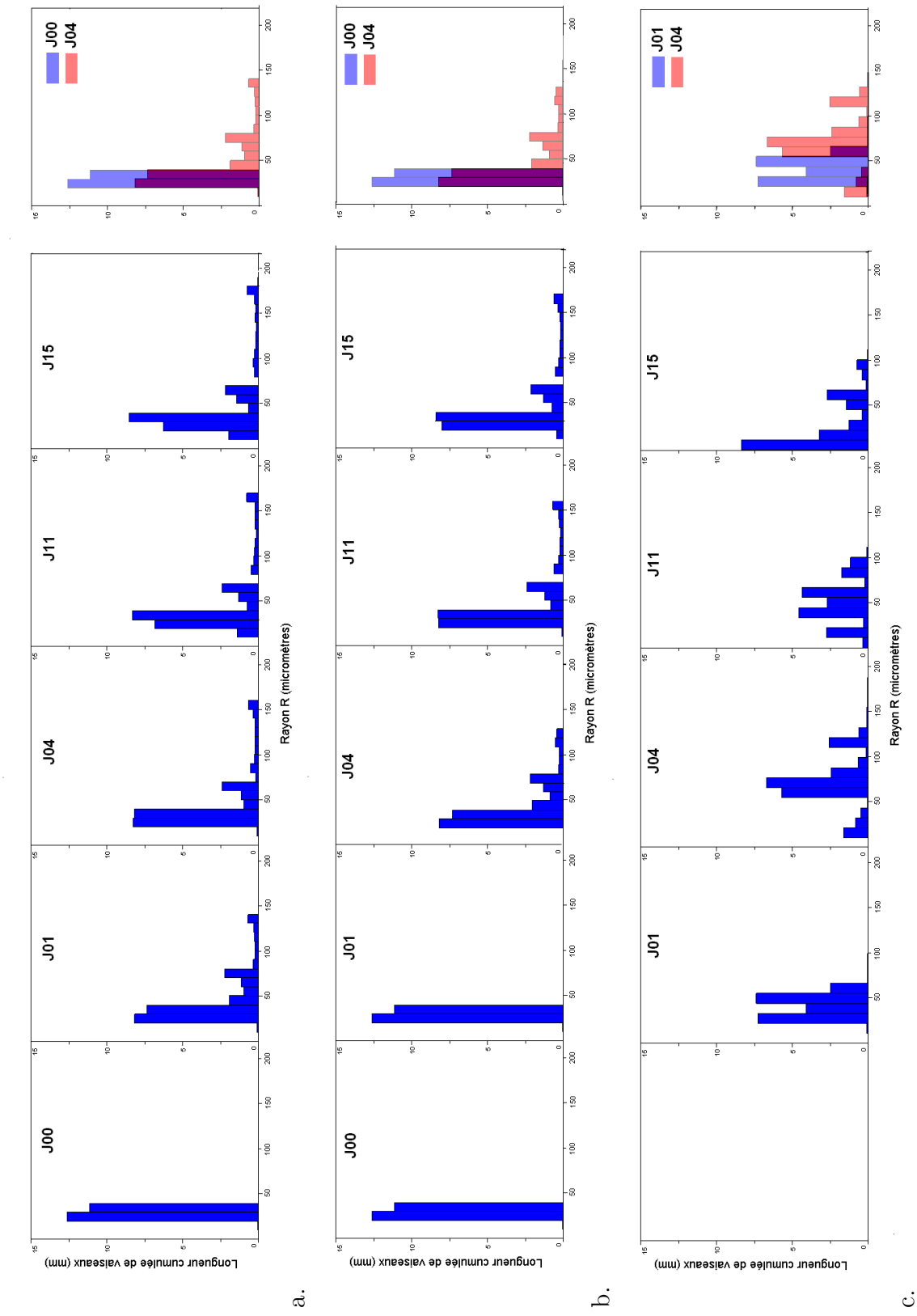



*Fig. H.12:* Diagrammes des longueurs cumulées de vaisseaux. a. Avec émission immédiate de VEGF par les cellules quiescentes. b. Avec un délai de 2 jours entre le passage d'une cellule à l'état quiescent et son émission de VEGF c. Cas expérimental

La figure H.13 présentent les mêmes résultats que la figure H.12 mais sous la forme de courbes représentant la longueur cumulée de vaisseaux en dessous d'un certains rayon $R$ en fonction de ce rayon $R$. Cette façon de présenter les résultats n'est pas courante, mais comporte l'avantage de pouvoir rendre compte de variations plus infimes des rayons vasculaires. En effet, la méthode des diagrammes ne permet que d'étudier l'évolution de la longueur cumulée de vaisseaux dans des plages de rayons assez large (ici 10 $\mu m$). Un échantillonnage trop fin provoquerait des biais dans les diagrammes. Cette technique permet de plus de comparer plus aisément les différentes données. Ainsi, nous pouvons remarquer facilement que, dans un réseau vasculaire adapté par la simulation, environ un tiers des vaisseaux présentent un rayon inférieur à 25 $\mu m$ et que la proportion des vaisseaux qui continuent à se dilater au cours de la simulation ne correspond qu'à un sixième du total. Nous observons également que la longueur cumulée de vaisseaux inférieurs à 50$\mu m$ à 4 jours est 4 fois plus faible dans l'expérience que dans les simulations, mais que cette même longueur quadruple de 4 à 15 jours dans l'expérience alors que'elle reste stable dans les simulations.

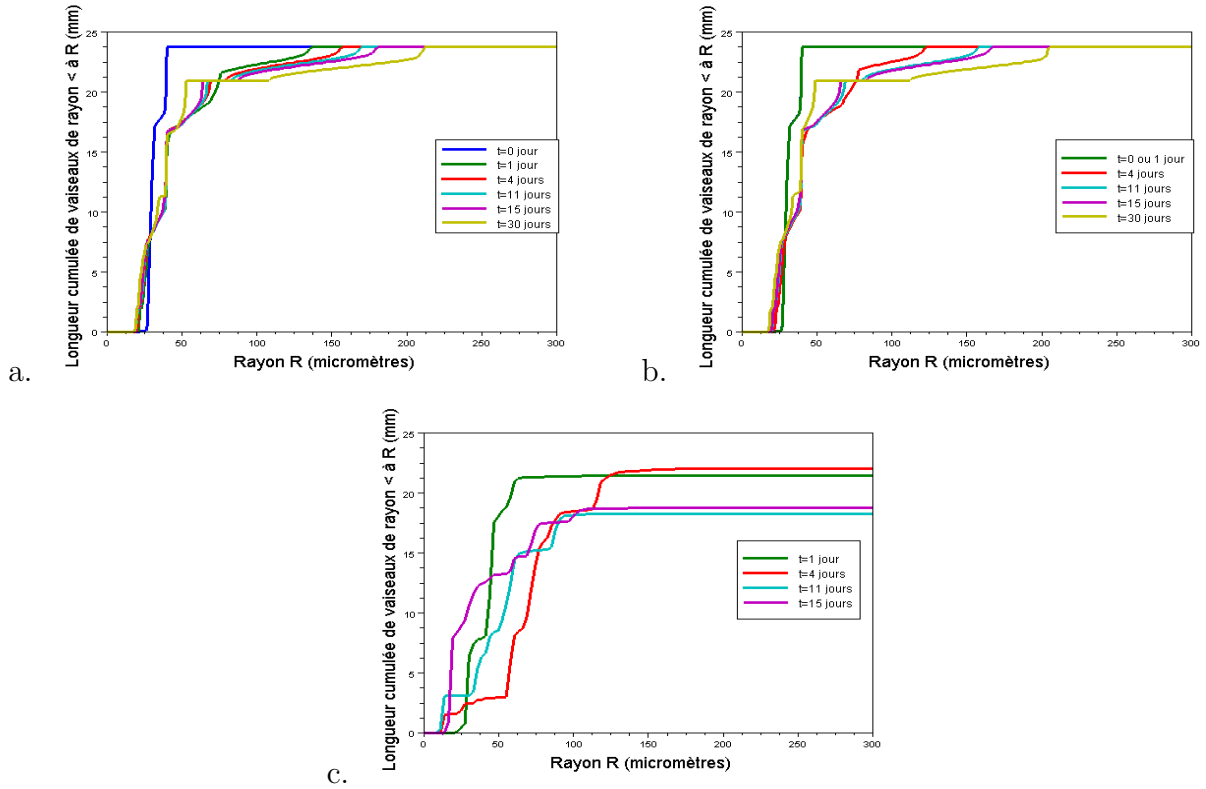



*Fig. H.13:* Évolution de la longueur cumulée de vaisseaux dans la zone définie sur la première image de simulation figure H.5 a. Avec émission immédiate de VEGF par les cellules quiescentes b. Avec émission de VEGF par les cellules quiescentes au bout de 2 jours. c. Cas expérimental

### *H.2.4 Conclusion*

Nos simulations permettent de reproduire l'adaptation des rayons vasculaires sous l'effet du VEGF, ainsi que le développement des néovaisseaux. Le tableau H.14 met en évidence que l'introduction d'un délai avant l'émission du VEGF permet de retarder l'adaptation vasculaire et l'angiogenèse pour un résultat plus conforme à l'expérience. En effet, grâce à ce délai, le réseau

vasculaire n'évolue pas le premier jour de simulation, et l'angiogenèse est retardée à 4 jours, ce qui correspond aux observations expérimentales.

| | Début de l'adaptation vasculaire | Début de l'angiogenèse |
|---|---|---|
| Observations expérimentales | $> 1^{er}$ jour et $< 4^{ème}$ jour | $> 4^{ème}$ jour et $< 11^{ème}$ jours |
| Simulation sans délai pour l'émission du VEGF | $1^{er}$ jour | $< 4^{ème}$ jour |
| Simulation avec délai de 2 jours pour l'émission du VEGF | $> 1^{er}$ jour et $< 4^{ème}$ jour | au $< 4^{ème}$ jours |

*Fig. H.14:* Tableau récapitulatif du remodelage vasculaire dans les simulations et comparaisons avec l'expérience

Cependant, le modèle peine à reproduire la recontraction des rayons des vaisseaux qui s'observe sur l'expérience au bout de quelques jours. La prise en compte du glissement des vaisseaux principaux vers la tumeur pourrait faciliter leur dégradation, et provoquer ainsi une baisse de l'alimentation d'autres vaisseaux et par conséquent leur contraction. Autoriser l'adaptation des rayons des néovaisseaux pourrait également permettre d'affaiblir les forces hémodynamiques s'exerçant sur les vaisseaux principaux en faveur de certains néovaisseaux. Le paramètre $R_0$ qui représente le rayon des vaisseaux lorsqu'aucune force n'est exercée sur eux devrait alors être adapté à la taille des néovaisseaux.

## Réseau vasculaire et adaptation

| Paramètre | Unité | Valeur | Signification | Source |
|---|---|---|---|---|
| $R_{min}$ | $\mu m$ | 4 | Rayon considéré pour les vaisseaux du réseau implicite | sect. E.2.3 |
| $R_{neo}$ | $\mu m$ | 6 | Rayon d'un néovaisseau | [138] |
| $R_0$ | $\mu m$ | 15 | Rayon d'un vaisseau parent lorsqu'aucun stimulus n'est exercé | |
| $R_{min}$ | $\mu m$ | 4 | Rayon minimal des vaisseaux | |
| $R_{max}$ | $\mu m$ | 500 | Rayon maximal des vaisseaux | |
| $t_{(survie)}$ | $h$ | 60 | Temps de survie moyen d'un segment instable | - |
| $t_{EC}^{(switch)}$ | $h$ | 24 | Temps limite pour la germination d'un vaisseau dans la tumeur | [100] |
| $l_{inhib}$ | $\mu m$ | 100 | Inhibition de la germination autour d'un point où un vaisseau a germé | |
| $l_{extrem}$ | $\mu m$ | 100 | Inhibition de la germination autour de l'extrémité d'un germe | |
| $\tau^{(coll)}$ | $Pa$ | 0.05 | Seuil de tension de cisaillement pour l'effondrement des vaisseaux | (1) |
| $\mu_{plasma}$ | $cp$ | 1.2 | Viscosité du plasma | [138] |
| $k_p$ | $s^{-1}$ | 1 | Coefficient du stimulus lié à la pression transmurale | [148] |
| $k_m$ | $s^{-1}$ | 0.4 | Coefficient du stimulus métabolique | - |
| $k_e$ | $s^{-1}$ | 5 | Coefficient du stimulus de la contrainte élastique | (7) |
| $Q_{ref}$ | $m^3/s$ | $5.424 \times 10^{-10}$ | Flux de référence pour le stimulus métabolique | |
| $\tau_{ref}$ | $dynes/cm^2$ | 0.103 | Contrainte de référence pour la tension de cisaillement | [138] |
| $K_0/\tau_c$ | $\mu m^{-1}$ | 0.0416 | Constante d'élasticité de la contrainte élastique / contrainte de réf. | (8) |
| $V_0$ | $nu$ | 0.125 | Concentration de VEGF de référence pour la contrainte élastique | (7) |

## Migration des cellules endothéliales

| Paramètre | Unité | Valeur | Signification | Source |
|---|---|---|---|---|
| $D$ | $mm^2 \cdot h^{-1}$ | $8.8 \times 10^{-4}$ | Migration aléatoire | [138] |
| $\alpha$ | $nu^{-1}$ | 0.6 | Paramètre intrinsèque à la chimiotaxie | [138] |
| $\chi$ | $mm^2 s^{-1}$ | $1 \times 10^{-5}$ | Décroissance de sensibilité chimiotactique | [138] |
| $\rho$ | $mm^2 s^{-1}$ | $2.9 \times 10^{-6}$ | Taux de production des enzymes par l'extrémité du germe | [138] |

## Fibre matricielle et enzyme dégradante de la matrice

| Paramètre | Unité | Valeur | Signification | Source |
|---|---|---|---|---|
| $D_m$ | $mm^2 \cdot h^{-1}$ | $10.4 \times 10^{-3}$ | Coefficient de diffusion de l'enzyme | (4) |
| $\beta$ | $h^{-1}$ | 0 | Taux de production des fibres par les cellules endothéliales | (4) |
| $\gamma$ | $h^{-1}$ | $2.61 \times 10^{-4}$ | Taux de dégradation des fibres par les enzymes | (4) |
| $\alpha$ | $h^{-1}$ | 130 | Taux de production des enzymes par l'extrémité du germe | (4) |
| $\nu$ | $h^{-1}$ | 1.30 | Taux de dégradation spontanée des enzymes | (4) |

## VEGF

| Paramètre | Unité | Valeur | Signification | Source |
|---|---|---|---|---|
| $D_V$ | $mm^2 \cdot h^{-1}$ | 0.104 | Coefficient de diffusion du VEGF | [137] |
| $\lambda_V$ | $h^{-1}$ | 0.650 | Dégradation spontanée du VEGF | [117] |
| $\nu$ | $h^{-1}$ | 1 | Consommation de VEGF par les cellules endothéliales | [117] |
| $V_{max}$ | $h^{-1}$ | 0.06 | Absorption maximale du VEGF par une portion de vaisseaux | [117] |
| $\tilde{V}_{emit}$ | $n.u \cdot s^{-1}$ | 0.0145 | Taux d'émission du VEGF par une cellule quiescente | - |

## Oxygène

| Paramètre | Unité | Valeur | Signification | Source |
|---|---|---|---|---|
| $D_{O_2}$ | $mm^2 \cdot s^{-1}$ | $2.41 \times 10^{-3}$ | Coefficient de diffusion de l'oxygène | [250] |
| $\gamma_p$ | $mm^{-1} s^{-1}$ | $4.8 \times R/R_{min}$ | Perméabilité de l'oxygène à travers la paroi vasculaire | [98] |
| $k_Q$ | $s^{-1}$ | $k_N$ | Taux de consommation d'oxygène pour les cellules tumorales quiescentes | (5) |
| $k_P$ | $s^{-1}$ | $2k_N$ | Taux de consommation d'oxygène pour les cellules prolifératives | [66] |
| $k_N$ | $s^{-1}$ | 2.4 | Taux de consommation d'oxygène pour les cellules normales | (5) |

## Cellules tumorales

| Paramètre | Unité | Valeur | Signification | Source |
|---|---|---|---|---|
| $\alpha_p$ | | 0.25 | Seuil d'oxygène pour la quiescence | (5) |
| $T_{limit}$ | $jours$ | $> 35$ | Temps après lequel les cellules quiescentes meurent par nécrose | - |
| $t_{apop}$ | $h$ | 5 | Temps pour le nettoyage des cellules apoptotiques par les macrophages | [105] |

*Tab. H.1:* Tableau des différentes paramètres

1. Valeurs choisies pour favoriser la dégradation sélective des vaisseaux dans la tumeur
2. Chute de pression dans le vaisseau parent (autour de 10000 Pa)
3. Pressions déduites de la localisation des nœuds relativement au vaisseau principal
4. Évaluées de Stephanou et al. (2006) pour obtenir une dégradation de la fibre matricielle plus significative.
5. Fixés pour permettre un stade initial de croissance avasculaire sans nécrose, mais limité à 1 et 2 mm de diamètre
6. Fixés pour une consommation moindre des cellules quiescentes que des cellules prolifératives comme dans Macklin (2009) [75]
7. Fixés pour permettre la présence de vaisseaux de rayon 150 $\mu m$ à 4 jours dans les simulations
8. Fixé pour que le segment de sortie du vaisseau de référence soit stable à l'état initial

| quantité de VEGF (n.u) | Probabilité de germination (par 0.006 jour) |
|---|---|
| $]\ 1-5\ ]$ | 0.001 |
| $]\ 5-9\ ]$ | 0.003 |
| $]\ 9-13\ ]$ | 0.006 |
| $> 13$ | 0.01 |

*Tab. H.2:* Probabilité de germination des vaisseaux

# I. EFFETS DE LA THÉRAPIE

## Sommaire


**I.1 Cas des cytotoxiques . . . . . 125**
I.1.1 Variation du dosage . . . . . 126
I.1.2 Variation de la durée d'injection . . . . . 127
I.1.3 Variation de la fréquence des injections . . . . . 128
I.1.4 Choix du protocole pour l'injection d'une quantité fixée de molécules . . . 129
I.1.4.1 Variations dose-fréquence à durée d'injection fixée . . . . . 129
I.1.4.2 Variation dose-durée d'injection à fréquence fixée . . . . . 132
**I.2 Effets des VDAs . . . . . 135**
I.2.1 Adaptation vasculaire suite à une injection de VDAs . . . . . 138
I.2.2 Reprise de la croissance tumorale suite à l'injection . . . . . 139


Dans ce chapitre, différents protocoles thérapeutiques sont testés par la simulation numérique. Le modèle est paramétré comme dans le chapitre H, section H.2.1.2. Les paramètres relatifs aux thérapies sont présentées dans le tableau I.1. Les thérapies sont appliquées sur une tumeur implantée depuis 15 jours sous la fenêtre, c'est à dire sur une tumeur déjà bien vascularisée (figure I.1).

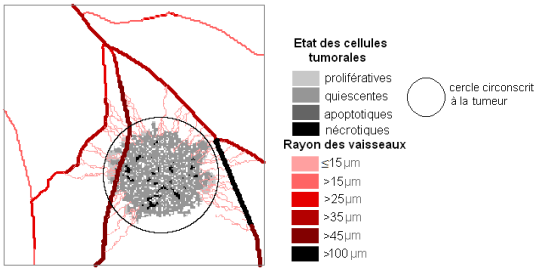



*Fig. I.1:* Tumeur vascularisée à 15 jours, qui sert d'état initial pour la thérapie

## *I.1 Cas des cytotoxiques*

Dans cette section, nous allons étudier l'impact des molécules cytotoxiques qui visent une phase spécifique du cycle cellulaire, en testant différentes posologies, c'est à dire en faisant varier :

- **Le dosage de chaque injection.** Le dosage du cytotoxique administré, c'est à dire la concentration des molécules, est exprimé en fonction de $C_0$, qui correspond à la dose létale pour les cellules ciblées.

- **La fréquence des injections.** Les fréquences testées varient entre 3 et 7 jours. La limite de 3 jours correspond à la durée minimale autorisée entre deux anesthésies sur la souris (les injections longues nécessitent une immobilisation totale de l'animal).
- **La durée des injections.** Différentes durées variant de 1 et 4 heures sont testées.

Deux types de cytotoxiques sont considérés. L'un, tel la fluorouracile ou la doxorubicine, altère la réplication de l'ADN. Il vise donc les cellules en phase $S$, qui sont détruites par apoptose au cours de la phase $G_2$. L'autre empêche la mitose des cellules en phase $M$ de se produire. Les cellules atteintes en phase $M$ meurent alors également par apoptose.

### *I.1.1 Variation du dosage*

La figure I.2 représente l'évolution de la quantité de cellules proliératives (figure I.2a) et quiescentes (figure I.2b), lorsque des molécules cytotoxiques visant les cellules en phase $S$ sont administrées tous les 3 jours pendant une durée de 2 heures. Différents dosages de la molécule sont testés.

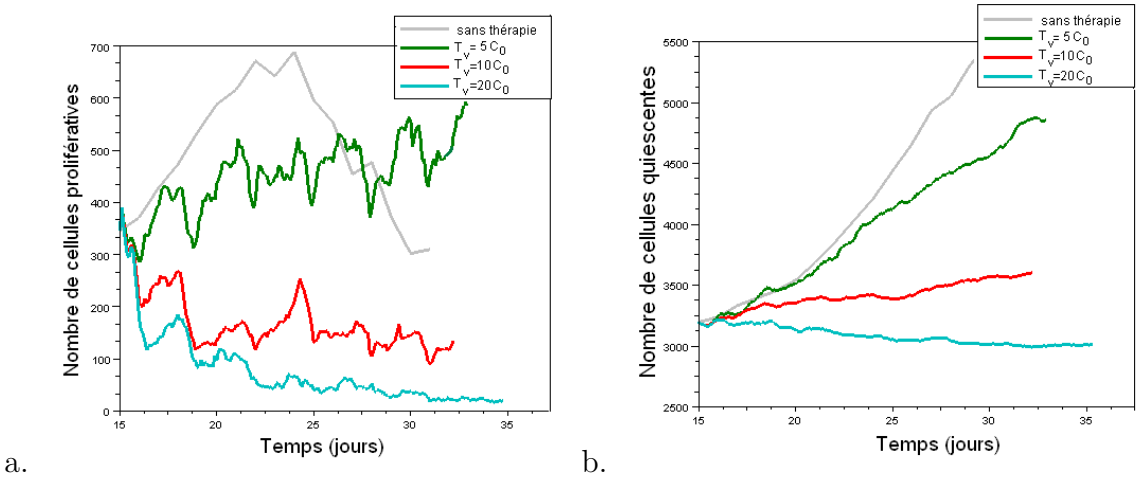



*Fig. I.2:* Effets de molécules cytotoxiques ciblant les cellules en phase $S$, administrées en perfusion de 2h tous les 3 jours. Le jour 15 est le jour de la première injection de cytotoxiques. Différents dosages sont testés ($C_0$ représente la dose létale pour les cellules ciblées) a. évolution du nombre de cellules proliératives b. évolution du nombre de cellules quiescentes

Nous remarquons que, lorsque le dosage est faible ($T_v = 5C_0$), La quantité de cellules proliératives ne décroit que faiblement à chaque administration de molécules cytotoxiques (figure I.2a). Cette quantité est même plus grande qu'en absence de thérapie à 30 jours. En effet, elle baisse en l'absence de thérapie à cause de la dégradation du réseau vasculaire causée par la perte de tonicité des vaisseaux dans la tumeur. Cependant, cette thérapie à faible dose a l'avantage de limiter l'augmentation de la quantité de cellules quiescentes (par rapport à leur nombre initial juste avant que débute la thérapie) à un peu plus de 7% (figure I.2b). La tumeur devient donc plus proliférative sous l'effet d'une thérapie dont le dosage est trop faible, mais la conversion à l'état proliératif d'un grand nombre de ses cellules la rend plus sensible à la thérapie qu'en absence de traitement.

Un dosage de thérapie un peu plus élevé ($T_v = 10C_0$), permet de stabiliser la quantité de cellules proliératives (figure I.2a). Elle permet aussi de limiter l'augmentation de la quantité de

cellules quiescentes à un peu plus de 7% entre 15 et 30 jours, alors que cette augmentation est de 70% sans thérapie (figure I.2b).

Lorsque la dose de thérapie est plus forte ($T_v = 20C_0$), la quantité de cellules prolifératives est divisée par 10, 7 jours après le début de la thérapie et suite à 3 injections (figure I.2a). La quantité de cellules quiescentes subit elle aussi une légère diminution (figure I.2b). En effet, du fait de la baisse du nombre de cellules prolifératives, le niveau d'oxygène dans certaines zones du tissu augmente, ce qui permet à quelques cellules quiescentes de retourner à l'état prolifératif.

### *I.1.2 Variation de la durée d'injection*

**Cytotoxiques ciblant la phase $S$**

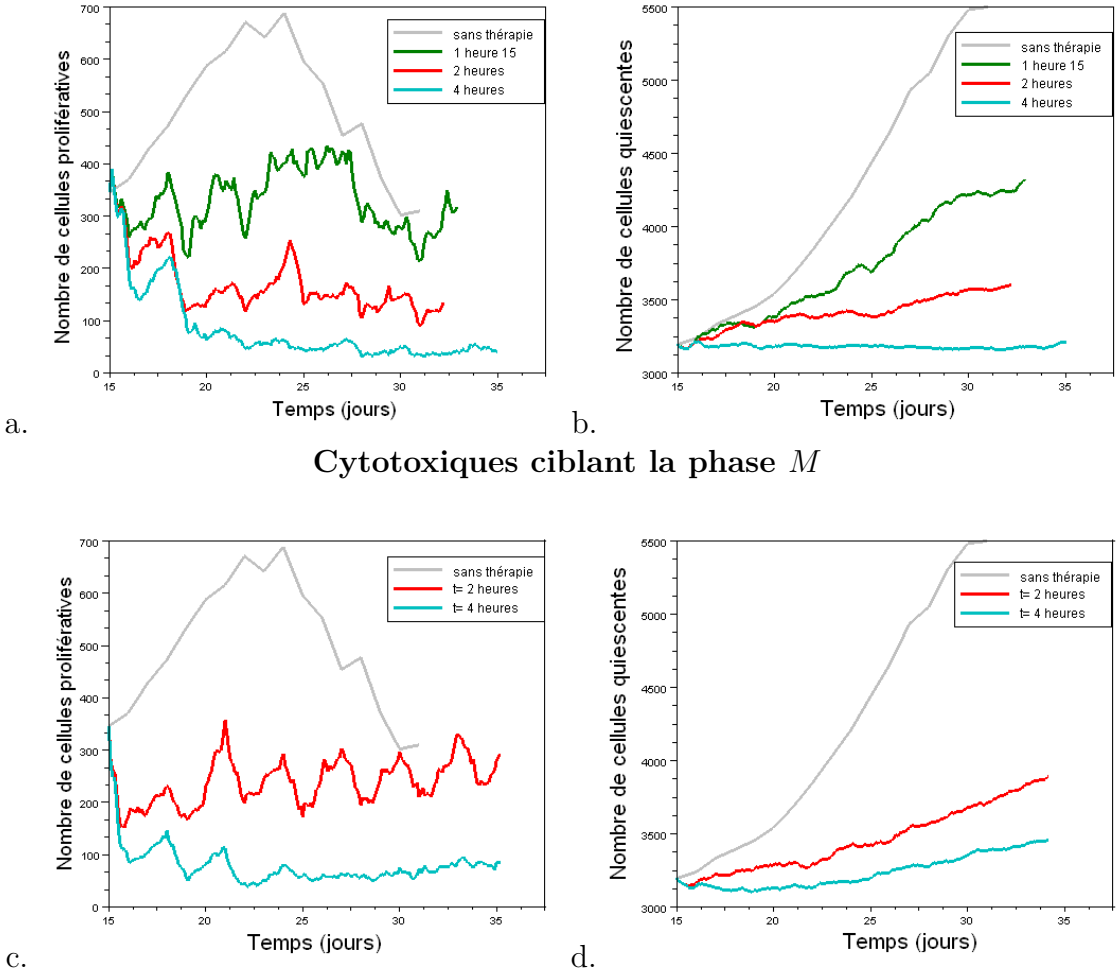



*Fig. I.3:* Effets de molécules cytotoxiques injectées avec le dosage $C = 10C_0$ tous les 3 jours pour différentes durées d'injection. Le jour 15 est le jour de la première injection de cytotoxiques. Quantité de cellules prolifératives et quiescentes si la thérapie cible la phase $S$ (respectivement a. et b.) ou la phase $M$ (respectivement c. et d.)

La figure I.3 présente l'évolution de la quantité de cellules prolifératives et quiescentes lorsque des molécules cytotoxiques sont administrées tous les 3 jours pendant une durée plus ou moins

longue. Sur les figures I.3a et b, les molécules ciblent la phase $S$ (de 8 heures), et sur les figures I.3c et d, les molécules ciblent la phase $M$ (d'une heure).

Nous remarquons d'une part que, quelque soit la phase ciblée par les cytotoxiques, la thérapie est plus efficace lorsque la durée d'injection est longue. Ainsi, une injection de 4 heures d'un cytotoxique visant la phase $S$ tous les 3 jours permet de diviser par 10 la quantité initiale de cellules prolifératives au bout de 2 injections (figure I.3a), et de stabiliser la quantité de cellules quiescentes (figure I.3b). Or, une injection d'1 heure 15 de ce cytotoxique permet seulement de réguler le nombre de cellules prolifératives et de limiter l'augmentation de la quantité de cellules quiescentes.

Des observations similaires peuvent être réalisées lorsque le cytotoxique ciblent la phase $M$ (figure I.3c et d). Cependant, ces thérapies sont moins efficaces pour une même concentration de cytotoxiques administrée. Cela s'explique par le fait que la phase $M$ est plus courte que la phase $S$.

### *I.1.3 Variation de la fréquence des injections*

La figure I.4 présente les variations de la quantité de cellules tumorales pour différentes fréquences d'injection pour une molécule thérapeutique agissant sur la phase $S$. Les injections sont de 4 heures au dosage $T_v = 10C_0$.

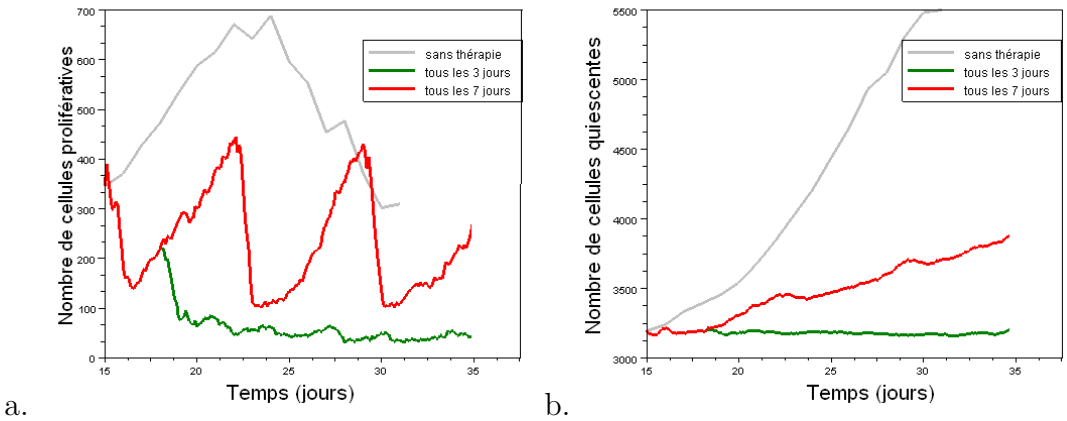



*Fig. I.4:* Effets de cytotoxiques qui ciblent la phase $S$, injectés pendant 4 heures à concentration $C = 10C_0$, à des fréquences de 3 et de 7 jours. Le jour 15 est le jour de la première injection de cytotoxiques. a. quantité de cellules prolifératives b. quantité de cellules quiescentes

Nous remarquons que les injections rapprochées évitent la reprise de la croissance tumorale et rendent donc la thérapie plus efficace. En effet, lorsque les molécules cytotoxiques sont injectées tous les 3 jours, la quantité de cellules prolifératives est divisée par 10, dix jours après le début du traitement(figure I.4a), et la quantité de cellules quiescentes reste stable (figure I.4b). En revanche, lorsque les injections se font tous les 7 jours, la quantité de cellules prolifératives atteint à nouveau son niveau initial entre les injections, et la quantité de cellules quiescentes augmente également,

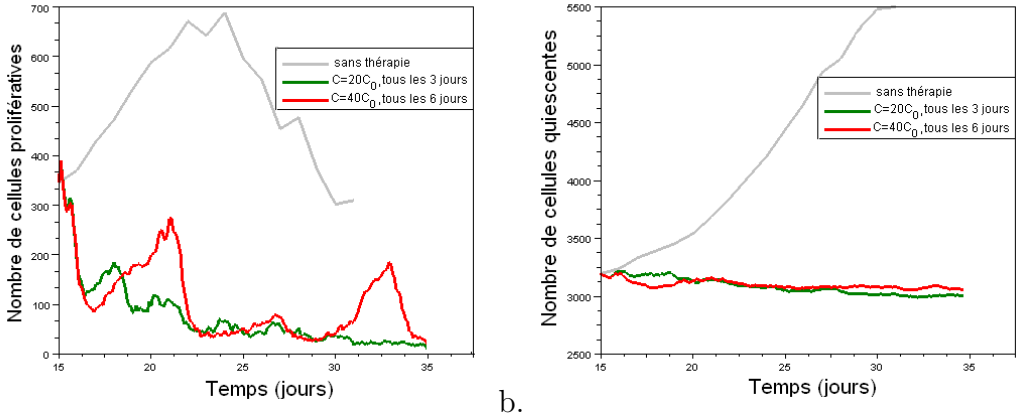
quoique près de 4 fois moins vite qu'en absence de thérapie.

### I.1.4 Choix du protocole pour l'injection d'une quantité fixée de molécules

Les simulations des sections I.1.1, I.1.2 et I.1.3 nous ont permis de montrer que l'effet des cytotoxiques sur la tumeur est dépendant respectivement du dosage, de la durée, et de la fréquence des injections. Nous allons maintenant déterminer si ces différences d'efficacité suivant la posologie sont dues aux différences de quantités de molécules injectées. Pour cette étude, la quantité de référence est celle administrée lorsque les injections sont de 2 heures, de dosage $20C_0$, et espacées de 3 jours, car ce protocole donne un résultat positif pour les cytotoxiques qui agissent sur les cellules en phase $S$ figure I.2.

#### I.1.4.1 Variations dose-fréquence à durée d'injection fixée

La figure I.5 présente l'évolution de la quantité de cellules prolifératives (figure I.5a) et quiescentes (figure I.5b) pour le protocole thérapeutique de référence et un protocole où les injections sont espacées mais plus concentrées.




a. b.

*Fig. I.5:* Effets d'un cytotoxique en phase $S$ administré pendant 2 heures tous les 3 jours à $T_v = 20C_0$ ou tous les 6 jours à $C = 40C_0$. Le jour 15 est le jour de la première injection de cytotoxiques. a. Quantité de cellules prolifératives b. Quantité de cellules quiescentes.

Nous remarquons sur la figure I.5a que la quantité de cellules prolifératives après vingt jours de traitement est similaire dans les deux cas, mais que les séances rapprochées évitent la re-prolifération cellulaire entre les thérapies. La quantité de cellules quiescentes est quant à elle stabilisée quelque soit le protocole (figure I.5b).

Suivant le type et la localisation d'une tumeur, sa dangerosité peut également dépendre de son étendue. Nous allons donc maintenant étudier l'évolution de l'étendue de la tumeur pour les deux protocoles, en traçant le cercle circonscrit à la tumeur (c'est à dire le cercle de plus petit diamètre permettant de contenir l'intégralité des cellules tumorales).

La figure I.6 représente la tumeur et sa vascularisation en absence de thérapie ainsi que lors de l'application des deux protocoles. La tumeur est visualisée aux $1^{ier}$, $4^{ième}$, $7^{ième}$, $10^{ième}$, $13^{ième}$ et $16^{ième}$ jours après le début de la thérapie, ce qui correspond aux jours suivant chaque injection lorsqu'elles sont distantes de 3 jours. Nous remarquons que le diamètre du cercle circonscrit à la tumeur augmente fortement en absence de thérapie, mais reste relativement stable pour les deux protocoles thérapeutiques représentés.

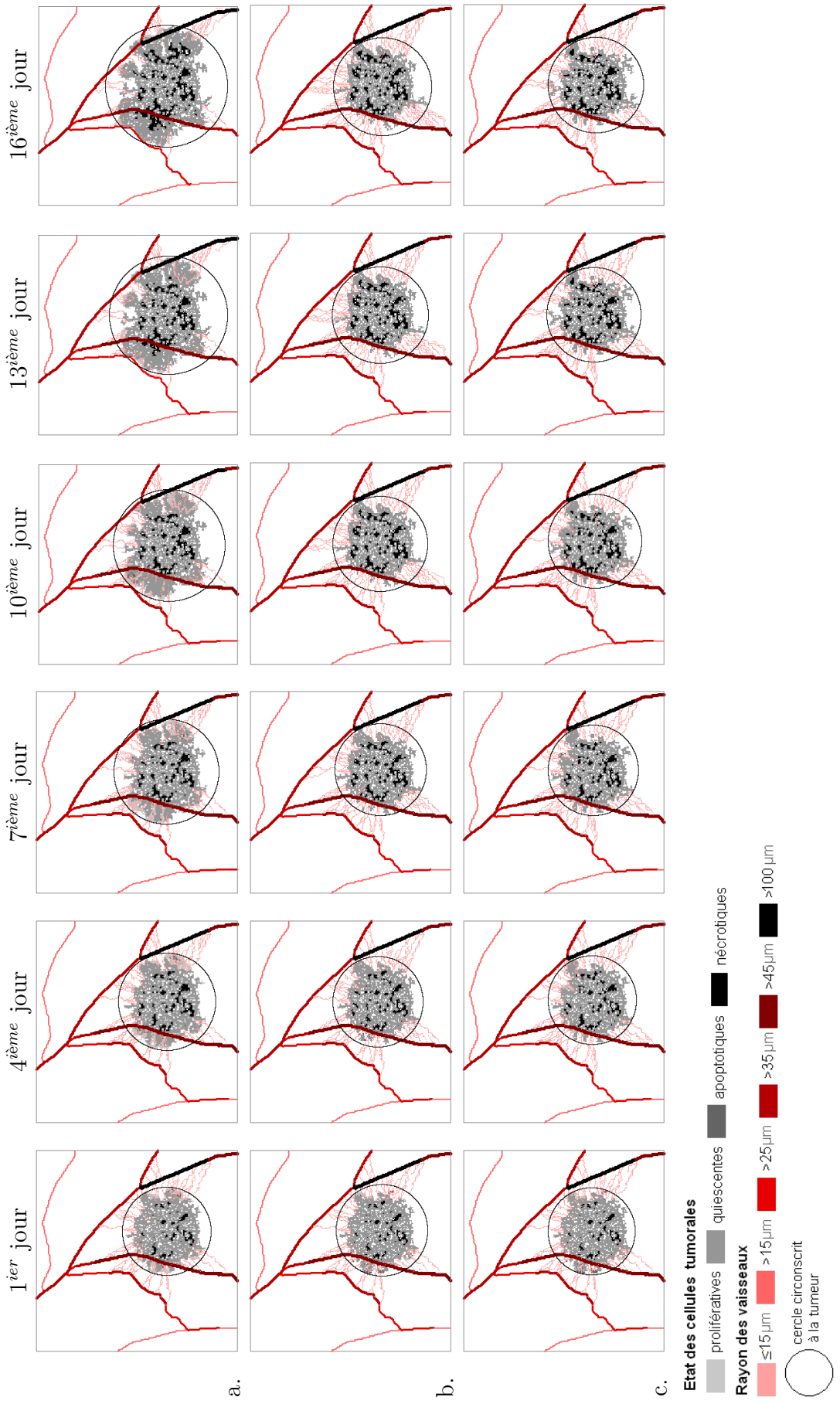



*Fig. I.6:* La tumeur et sa vascularisation. Les jours sont numérotés à partir du début de la thérapie. a. en absence de thérapie b. injections de 2 heures et de dosage $20C_0$ tous les 3 jours c. injections de 2 heures et de dosage $40C_0$ tous les 6 jours.

La figure I.7 présente l'évolution des diamètres dans les cas présentés sur la figure I.6. Nous remarquons que, alors que le diamètre de la tumeur évolue d'un peu moins de 40% en 15 jours par rapport à sa taille initiale en l'absence de thérapie, cette évolution n'est que d'environ 10% lorsque l'un ou l'autre des protocoles thérapeutiques est appliqué.

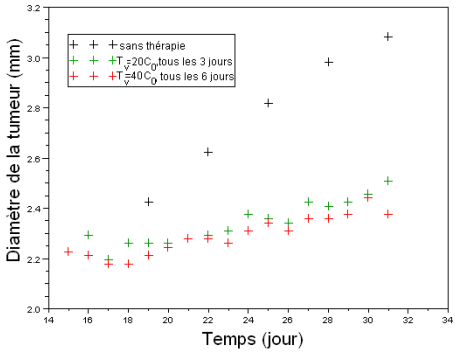



*Fig. I.7:* Évolution du diamètre du cercle circonscrit à la tumeur (mesuré 1 jour après chaque injection) lorsqu'un cytotoxique agissant sur la phase S, est administré pendant 2 heures tous les 3 jours à $C = 20C_0$, ou tous les 6 jours à $C = 40C_0$. Le jour 15 est le jour de la première injection de cytotoxiques.

En conclusion, les tumeurs obtenue à 30 jours pour les deux protocoles thérapeutiques sont très similaires. Cependant, le protocole avec des injections de 2 heures au dosage $T_v = 20C_0$ tous les 3 jours présente l'avantage d'éviter la reprise de la prolifération cellulaire entre les injections. De plus, un dosage de $T_v = 20C_0$ est potentiellement moins toxique pour l'organisme qu'un dosage de $T_v = 40C_0$, ce qui permet de limiter les effets secondaires.

#### *I.1.4.2 Variation dose-durée d'injection à fréquence fixée*

La figure I.8 présente l'évolution de la quantité des cellules prolifératives et quiescentes pour le protocole thérapeutique de référence et un protocole où les injections sont plus longues mais moins concentrée. Les molécules ciblent la phase $S$.

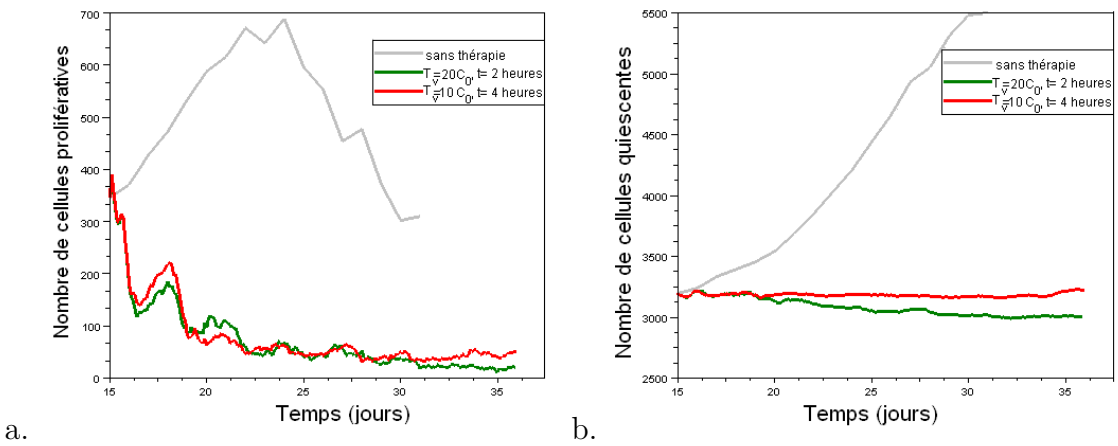



*Fig. I.8:* Évolution de la quantité de cellules prolifératives et quiescentes lorsqu'une quantité fixée de cytotoxiques ciblant la phase $S$ (respectivement a et b) est injectée tous les 3 jours. Le jour 15 est le jour de la première injection de cytotoxiques.

Nous remarquons que les effets de la thérapie sont similaires pour les 2 protocoles. L'évolution de la quantité de cellules tumorales dépend donc essentiellement de la quantité injectée plutôt que de la dilution et de la durée de l'injection.

La figure I.9 représente la tumeur et sa vascularisation en absence de thérapie et pour les protocoles exposés dans cette section, pour un cytotoxique agissant sur la phase $S$. Les tumeurs sont visualisées aux $1^{ier}$, $4^{ième}$, $7^{ième}$, $10^{ième}$, $13^{ième}$ et $16^{ième}$ jours après le début de la thérapie, ce qui correspond aux jours suivant les injections. Nous remarquons que la tumeur évolue peu et que le diamètre du cercle circonscrit reste stable sous l'effet de la thérapie, alors que ce diamètre augmente en absence de cytotoxiques.

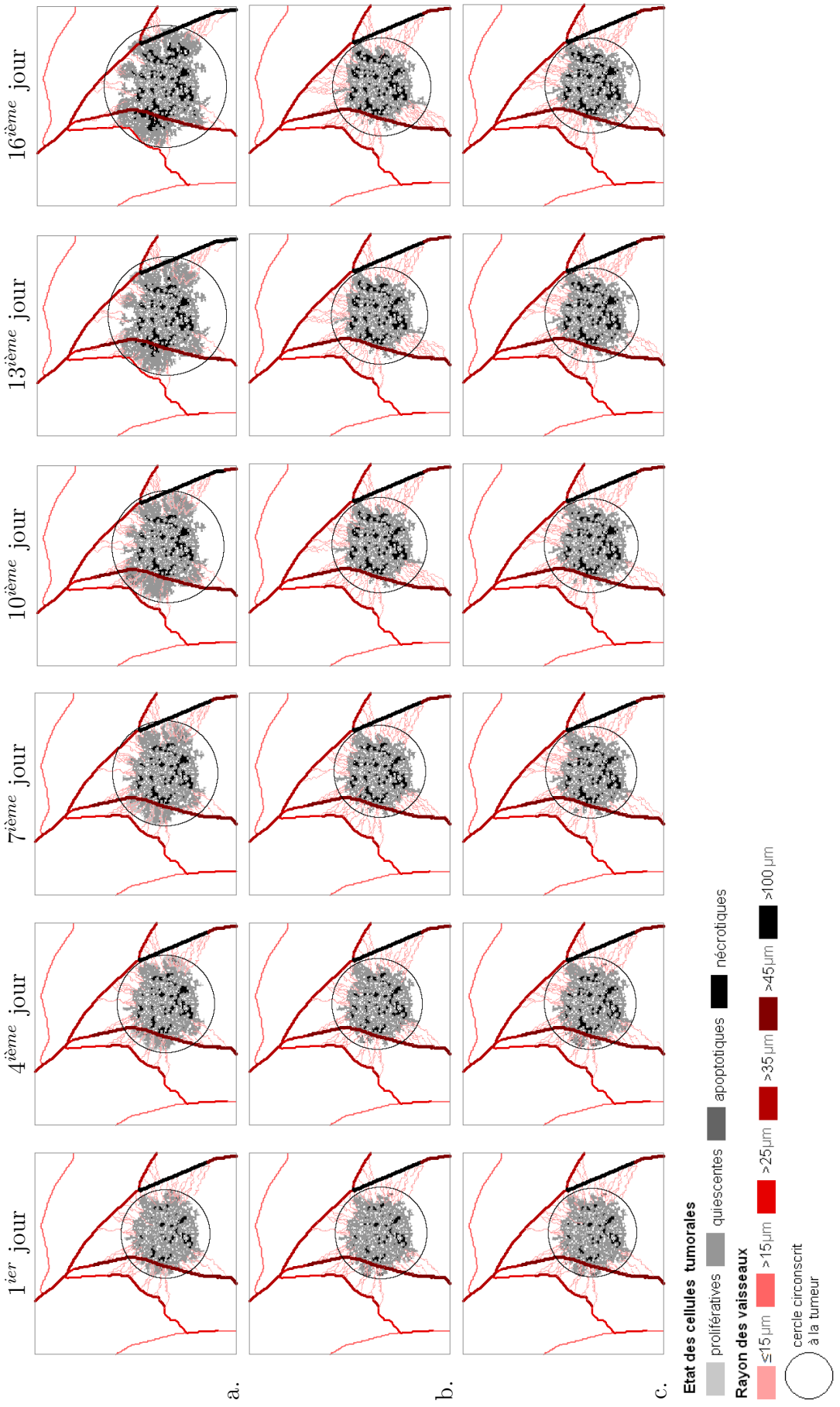



*Fig. I.9:* La tumeur et sa vascularisation. Le cytotoxique vise la phase $S$. Les jours sont numérotés à partir du début de la thérapie. a. en absence de thérapie b. injections de 2 heures et de dosage $20C_0$ tous les 3 jours c. injections de 4 heures et de dosage $10C_0$ tous les 3 jours

La figure I.10 présente l'évolution des diamètres dans les simulations dans cette section. Nous y remarquons que, comme dans la section I.1.4.1, le diamètre des tumeurs n'évolue que faiblement sur les 15 jours sur lesquels l'effet des molécules cytotoxiques sont simulées(croissance d'environ de 10% par rapport au diamètre initial). En comparaison la tumeur croit de 40% dans cette même période en l'absence de traitement.

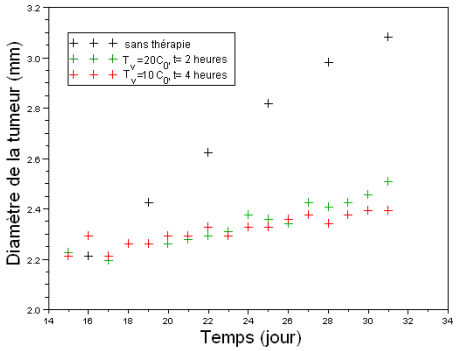



*Fig. I.10:* Évolution du diamètre du cercle circonscrit à la tumeur sous l'effet d'un cytotoxique agissant sur la phase S, administré pendant 2 heures à $T_v = 20C_0$, ou pendant 4 heures à $T_v = 10C_0$. Le jour 15 est le jour de la première injection de cytotoxiques.

En conclusion, les conséquences de la thérapie sur la tumeur sont similaires pour une même quantité de cytotoxique injectée, lorsque l'on fait varier la dilution. Il est en conséquence préférable de diluer le cytotoxique en une injection longue, pour en diminuer les risques de toxicité sur l'organisme.

## *I.2 Effets des VDAs*

Dans cette section, nous allons étudier l'action d'agents antivasculaires (VDAs) sur le réseau vasculaire tumoral et les conséquences sur la tumeur. Les VDAs sont injectées dans la tumeur à 15 jours. La durée de l'injection est de 10 secondes. Deux types d'actions potentielles de VDAs sont considérés :

- Les VDAs de **type 1** sont supposés ne pas pouvoir détruire que les néo-vaisseaux, qui sont plus fragiles que les vaisseaux principaux et que le réseau sub-microvasculaire.
- Les VDAs de **type 2** sont supposés pouvoir détruire tous les vaisseaux au voisinage de la tumeur (ceux-ci étant fragilisés entre autres par l'action du VEGF). Le vaisseau de référence est supposé ne pas pouvoir être dégradé (ce vaisseau supporte par définition l'essentiel du flux sanguin, nous considérons donc qu'il est le plus robuste). Les effets de ces VDAs sur le réseau implicite ne sont également pas pris en compte.

La figure I.11 représente la tumeur, sa vascularisation, et la distribution d'oxygène qui lui est associée avant une injection de VDAs (figure I.11a), et un jour après. La concentration $C_0$ est une concentration de référence pour la probabilité de dégradation du vaisseau. L'effet de l'agent antivasculaire de type 1 est ainsi observé pour des injections de dosage $C_0$, $10C_0$ et $50C_0$ et l'effet d'un antivasculaire de type 2 est présenté pour un dosage $C_0$.

Avant l'injection, la tumeur présente déjà des vaisseaux non perfusés essentiellement en raison de la dégradation vasculaire qui a lieu dans la tumeur. La distribution d'oxygène est par ailleurs témoin de la perfusion antérieure de ces vaisseaux.

Après l'injection, plus la dose d'antivasculaire visant les néovaisseaux est élevée, plus la proportion de vaisseaux à l'état non perfusé augmente. L'oxygénation de la périphérie tumorale est par conséquent réduite. Lorsque l'agent anti-vasculaire cible plus largement tous les vaisseaux (VDAs de type 2), la destruction du réseau vasculaire est quasi totale. Seul le vaisseau de référence et quelques vaisseaux non perfusés subsistent à l'issue de la simulation. L'oxygénation de la tumeur ne dépend alors plus que du réseau submicrovasculaire.

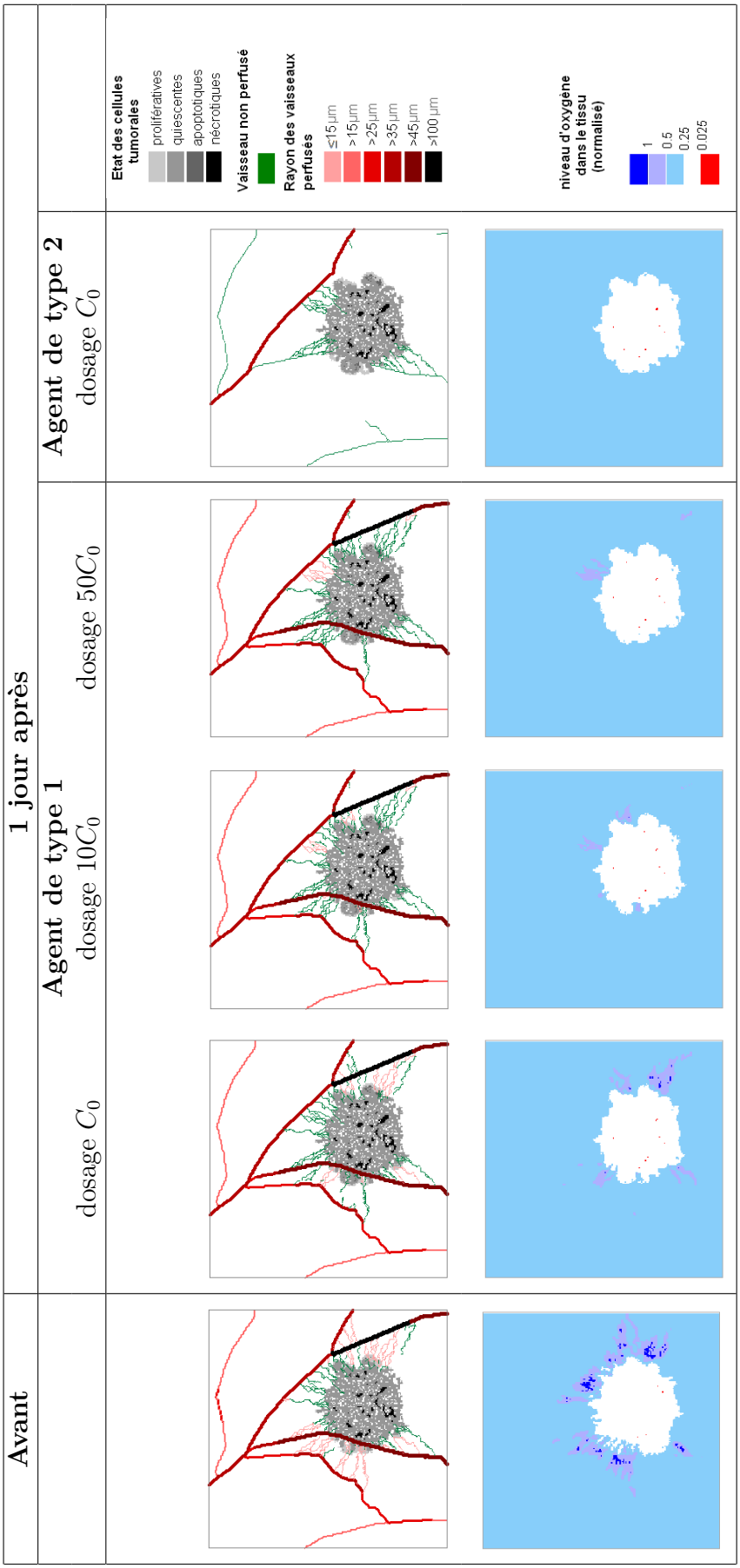



*Fig. I.11:* Représentation de la tumeur, de sa vascularisation et de la distribution en oxygène avant l'injection d'un agent de destruction vasculaire, un jour après l'injection d'un agent anti-vasculaire agissant uniquement sur les néovaisseaux (type 1) pour différents dosage ($C_0$, $10C_0$ et $50C_0$), et un jour après l'injection d'un agent antivasculaire qui agit également sur tous les vaisseaux (type 2).

### I.2.1 Adaptation vasculaire suite à une injection de VDAs

Les molécules anti-vasculaires modifient la structure du réseau et par conséquent les contraintes hémodynamiques dans les vaisseaux qui s'adaptent face à ces changements. Les diagrammes présentés sur la figure I.12 montrent l'évolution des rayons des vaisseaux, avant l'injection et le jour d'après pour les différents types et doses de molécules anti-vasculaires présentés sur la figure I.11.

Nous observons que, lorsque les molécules n'agissent que sur les néovaisseaux, l'adaptation vas-

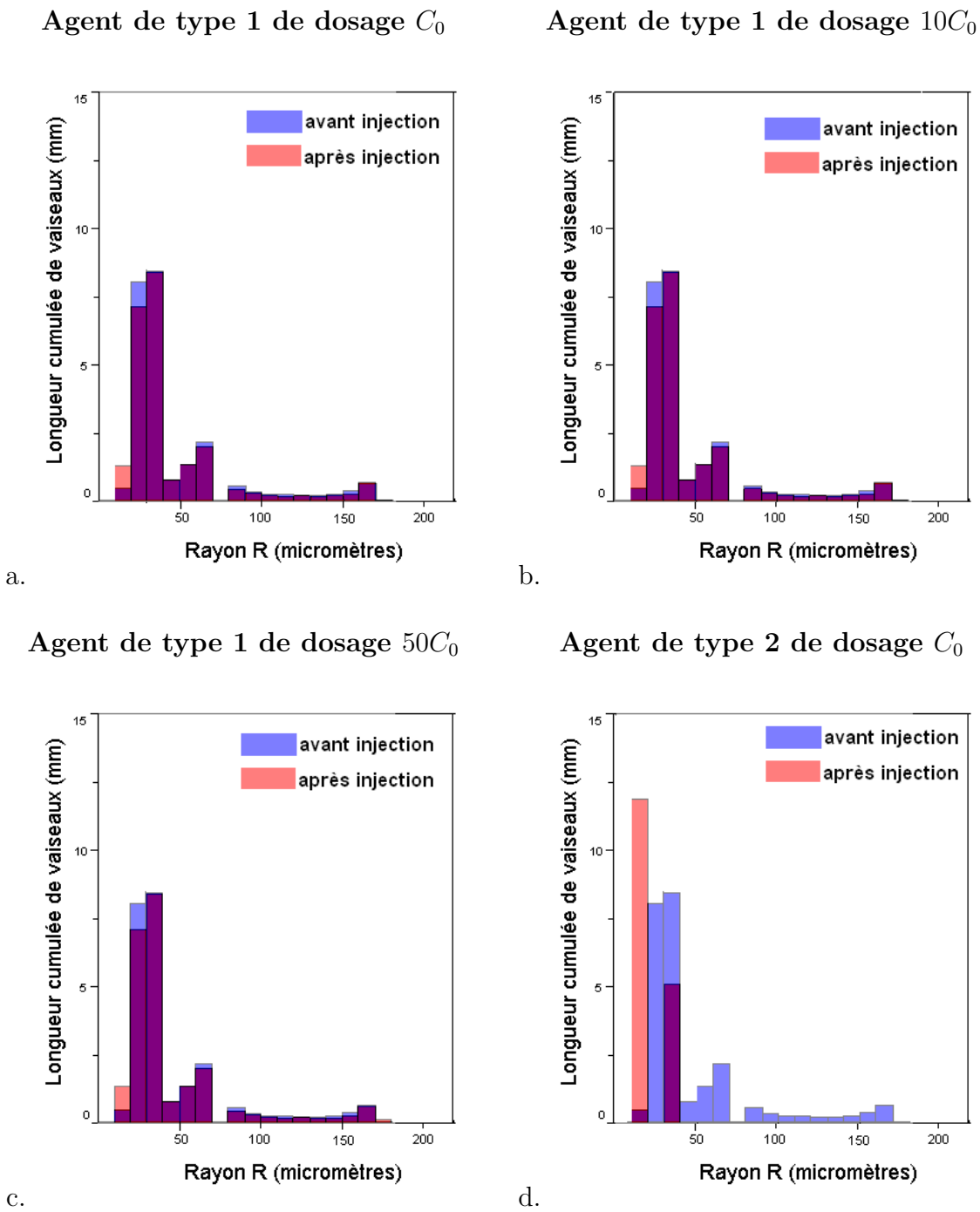



*Fig. I.12:* Adaptation vasculaire ayant lieu un jour après l'injection, pour les différents anti-vasculaires et les différentes doses présentés sur la figure I.11

culaire observée est moindre quelque soit la dose de produit injectée (figure I.12). En revanche, lorsque les VDAs ciblent tous les vaisseaux (type 2), les vaisseaux qui subsistent sont contraints de s'adapter à cette nouvelle configuration. En l'occurence, l'absence de perfusion provoque l'effondrement du diamètre de ces vaisseaux.

### *I.2.2 Reprise de la croissance tumorale suite à l'injection*

La figure I.13 permet de comparer l'évolution de la quantité de cellules proliférives et quiescentes dans la tumeur entre les 2 types de VDAs (figure I.13 a. et b.) et pour différents dosages de la molécule de type 1 (figure I.13c. et d.).

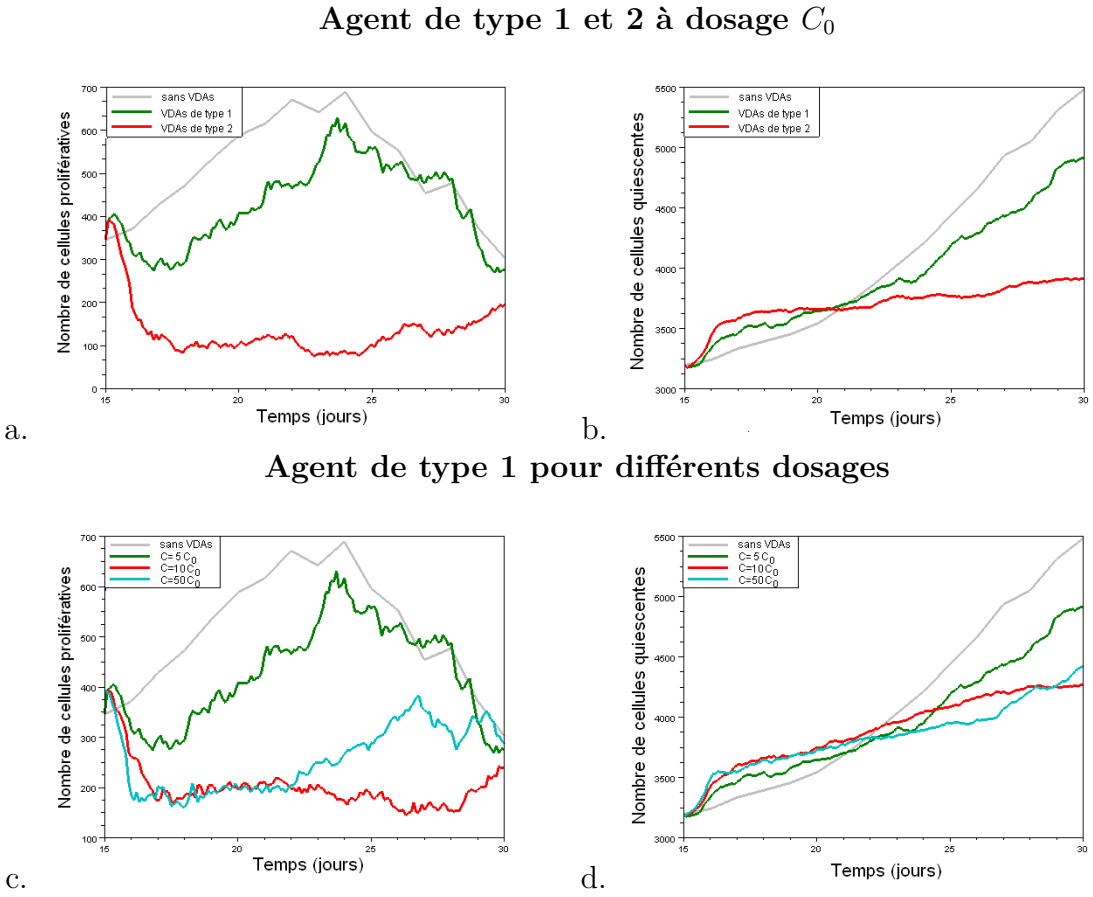



*Fig. I.13:* Évolution des quantités de cellules proliférives et quiescentes pour les molécules des deux types injectés à dosage $C_0$ (graphes a. et b.) et pour différentes dosages de VDAs de type 1 (graphes c. et d.)

Nous observons ainsi qu'un jour après l'injection de molécules anti-vasculaires, la quantité de cellules proliférives diminue et celle de cellules quiescentes augmente quelque soit le type et le dosage de l'injection. Les molécules anti-vasculaires de type 2 permettent, en détruisant la totalité du réseau vasculaire, de stabiliser la quantité de cellules quiescentes et de limiter fortement la reprise de la prolifération cellulaire. Lorsque des molécules de type 1 sont administrées au même dosage, la décroissance initiale de la population de cellules proliférives est trois fois moindre. La

tumeur prolifère à nouveau dès 2 ou 3 jours après l'injection, et la croissance de la population des cellules quiescentes n'est elle aussi que retardée.

En augmentant le dosage de l'injection de type 1, l'effet de l'agent anti-vasculaire sur la population de cellules proliératives est cependant plus marqué. Ainsi, cette population est diminuée de moitiée par rapport au cas sans thérapie au $5^{ème}$ jour après l'injection (c'est à dire à t=20 jours) pour les dosage de $C = 10C_0$, alors qu'elle est simplement réduite du quart pour $C = C_0$. La re-prolifération tumorale est également plus tardive. L'augmentation de la population de cellules quiescentes reste cependant forte pour les trois dosages de l'anti-vasculaire.

En conclusion, les molécules anti-vasculaires de type 2, qui ciblent tous les vaisseaux à l'exception du réseau sub-microvasculaire implicite et du vaisseau de référence, sont les seules qui permettent de limiter la re-prolifération cellulaire à long terme. Cependant, des molécules visant un panel aussi large de vaisseau risquent d'être toxiques pour l'organisme du patient.

Ces résultats n'ont cependant pas encore pu être validés par des résultats expérimentaux par manque de données. Cette étape est primordiale avant de pouvoir utiliser le modèle comme un vériable outil pour tester les thérapies.

**Effets de la thérapie**

| Paramètre | Unité | Valeur | Signification | Source |
|---|---|---|---|---|
| $D_T$ | $cm^2/s$ | $9.37 \times 10^{-10}$ | Coefficient de diffusion des molécules cytotoxiques | [160] |
| $\lambda_T$ | $s^{-1}$ | $1.16 \times 10^{-5}$ | Taux de dégradation des molécules cytotoxiques dans le tissu | [160] |
| $\gamma_t$ | $mm^{-1}s^{-1}$ | $4.8 \times 10^{-3}$ | Perméabilité des vaisseaux aux molécules cytotoxiques | |
| $t_{destr.VDA}$ | $s$ | 100 | Temps de dégradation d'un vaisseau par les VDAs à concentration $C_0$ | |
| $C_{VDA.min}$ | | $0.1C_0$ | Concentration au dessus de laquelle les vaisseaux peuvent être dégradés par les VDAs | |

*Tab. I.1:* Tableau des différentes paramètres de la thérapie

# CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Cette thèse a permis de construire un modèle qui décrit l'évolution tumorale telle qu'observée sous fenêtre dorsale et à partir duquel il devient possible de tester des thérapies.

Dans notre modèle, la croissance tumorale est modélisée par un automate cellulaire qui présente l'originalité d'intégrer le cycle cellulaire tout en neutralisant les biais numériques causés par les règles de division cellulaire dans la grille de l'automate. La notion d'héritage de caractéristiques cellulaires entre cellules mère et fille est également introduite. En effet, la durée du cycle cellulaire d'une cellule fille dépend de celle de la cellule mère.

Le réseau vasculaire, quant à lui, est modélisé à la fois par un champ implicite qui représente le réseau capillaire et assure l'oxygénation initialement homogène du tissu, et par des vaisseaux de plus gros diamètres représentés explicitement. Il s'agit des vaisseaux parents dont le diamètre s'adapte suivant l'évolution des contraintes hémodynamiques qui s'exercent sur leurs parois et à partir duquel l'angiogenèse se développe. Ce choix permet de rendre compte de l'angiogenèse des vaisseaux parents, qui sont la source principale des nouveaux germes qui atteignent la tumeur, sans que leur développement ne soit stoppé par les vaisseaux du réseau sub-microvasculaire.

Ce nouveau modèle d'évolution tumorale a permis d'apporter un certain nombre d'améliorations aux modèles existants. En particulier, la description du réseau vasculaire sur une grille carrée 2D réduit le réalisme des vaisseaux pouvant être représentés (effet marche d'escalier) et pose également un problème majeur dans la gestion des flux sanguins puisque les nœuds à 4 branches peuvent être plus difficilement évités. Pour remédier à ce problème, nous avons exploité les directions diagonales de la grille 2D et adapté les équations du modèle en conséquence. Cette adaptation importante permet ainsi un plus grand choix des directions possibles à chaque nœud et ainsi une représentation beaucoup plus fidèle des réseaux vasculaires expérimentaux implémentés dans la grille de calcul et à partir desquels les simulations sont effectuées.

Une autre amélioration importante concerne les mécanismes d'adaptation vasculaire. De très nombreux modèles utilisent les équations des contraintes rhéologiques définies par Pries et col. (1998) [148]. Or ces équations été initialement dérivées pour rendre compte de l'adaptation de vaisseaux irriguant un tissu sain. Nous avons par conséquent adapté ce modèle au cas tumoral en ajoutant un terme qui rend compte des effets du facteur de croissance angiogéniques (VEGF) émit par la tumeur. L'observation à partir de la fenêtre dorsale montre en effet une importante dilatation des vaisseaux suite à l'introduction de la tumeur. Le nouveau terme introduit rend compte de ce phénomène et modulant l'élasticité de la paroi vasculaire. L'élasticité tend à diminuer en présence de VEGF qui fragilise l'adhésion entre les cellules formant la paroi.

Les simulations numériques réalisées montrent qu'il est possible de rendre compte des observations expérimentales pour reproduire les différentes phases du développement vasculaire, c'est à

dire l'angiogenèse et l'adaptation initiale des vaisseaux.

Le modèle numérique de l'évolution tumorale sous fenêtre dorsale a alors été utilisé pour tester les effets de deux types de molécules : cytotoxiques et anti-vasculaires. Les simulations numériques de ces deux types de traitement explorent différents protocoles, définis par le mode d'action de la molécule, la dose administrée et la fréquence d'administration. Les résultats ont montré que des injections longues ou fréquentes de molécules cytotoxiques étaient préférables pour limiter la dose injectée, et que les agents anti-vasculaire devait viser un large panel de vaisseaux pour être efficaces.

Une limitation importante du modèle reste sa bidimensionnalité. Nous avons fait le choix de cette limitation essentiellement à cause du temps de calcul qui explose en 3D. Cependant, le passage à la troisième dimension ne pose pas de problème majeur, ni pour l'automate de croissance tumorale, ni pour la prise en compte des aspects vasculaires qui sont très facilement transposables en 3D. La modélisation 3D de la croissance tumorale sous fenêtre dorsale nécessiterait cependant de prendre en compte la contrainte de pression mécanique qu'exerce la tumeur sur le verre de la fenêtre. Cette contrainte induit une croissance anisotrope dans la direction privilégiée opposée à la fenêtre (avec une excroissance tumorale à travers l'armature de la fenêtre). La modélisation 2D nous affranchit de cette difficulté.

Une autre limitation importante du modèle est la non prise compte de la séparation des veinules et des artérioles. Nous savons en effet que :

- A chaque embranchement artériel, le sang d'un vaisseau est réparti dans des vaisseaux de plus faible diamètre (figure J.14a)
- A chaque embranchement veineux, le sang de deux vaisseaux est collecté dans un vaisseau de plus gros diamètre (figure J.14b)
- Pour un même flux, les vaisseaux artériels sont plus fins que les vaisseaux veineux car la pression sanguine y est plus forte.

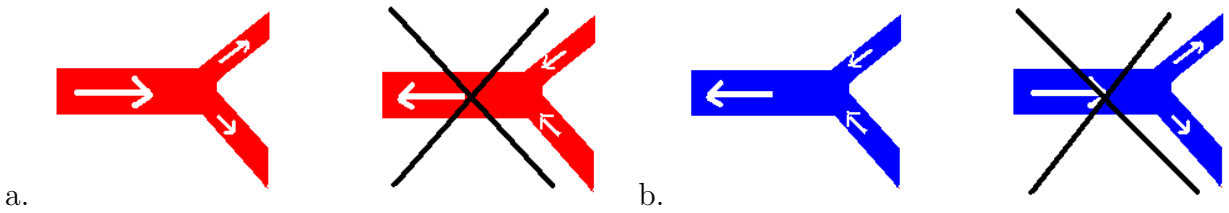



*Fig. J.14:* a. Flux sanguin à un embranchement artériel b. Flux sanguin à un embranchement veineux

Or ces trois points ne sont pas respectés dans le modèle actuel ou seule la direction du flux pour un vaisseau de référence est définie. Il aurait cependant été possible de définir ces directions par rapport aux images expérimentales où les directions de flux peuvent être déduite d'une observation attentive fondée sur les 3 points évoqués précédemment et sur la base de la coloration des vaisseaux (les artèrioles étant plus claires que les veinules).
La prise en compte du sens des flux et un choix adapté des pressions sanguines aux bornes des vaisseaux auraient permis de considérer un réseau initial avec des rayons plus proches de la réalité, et une adaptation vasculaire qui aurait pu être fidèle à la configuration expérimentale que l'on cherche à simuler. Le sens des flux aurait en particulier pu être modifié lors de l'adaptation vasculaire, modifiant ainsi les échanges sanguins entre les vaisseaux. Cependant, ce choix aurait entraîné la multiplication des vaisseaux à flux entrants.

L'évolution du rayon et du flux des vaisseaux auraient alors été difficilement contrôlables dans la simulation, et une entrée de sang massive dans le modèle aurait difficilement pu être évité.

Ce travail a cependant permis de poser de façon satisfaisante les bases du clone numérique du modèle expérimental d'évolution tumorale sous fenêtre dorsale même si certains aspects nécessitent encore quelques améliorations. La prise en compte des aspects artério-veineux apparait comme la priorité. Nous avons d'ailleurs fait une tentative dans ce sens en tentant d'intégrer et d'adapter un algorithme existant [66] pour générer un réseau sub-microvasculaire artério-veineux (figure J.15). Cependant, cette prise en compte impliquait nécessairement l'intégration d'aspects 3D, a minima par une faible épaisseur de tissu, puisqu'un câblage artério-veineux à 2 dimensions tel que nous l'observons expérimentalement, montre de nombreux croisements de vaisseaux, artérioles et veinules étant très souvent superposées.

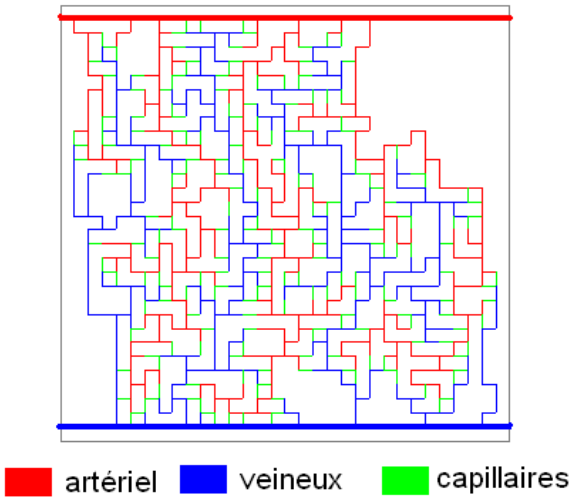



*Fig. J.15:* Résultat d'un test de simulation d'un réseau submicrovasculaire artério-veineux sur une grille 30x30

Concernant les aspects thérapeutiques, nous n'avons fait que les aborder dans le cadre de cette thèse. Le but à ce stade a été de montrer comment ils pouvaient être intégrés et paramétrisés de façon à pouvoir tester des protocoles suffisamment variés et réalistes en jouant sur la nature de la molécule, son mode d'action (sa cible), sa concentration, sa fréquence et sa durée d'administration. Nous avons ainsi testé indépendamment les effets de chaque paramètre, mais nous n'avons pas pu les comparer aux observations expérimentales sous fenêtre dorsale par manque de données. Cette étape sera cruciale pour la validation du modèle et permettra d'en établir plus précisément ses forces et ses faiblesses.

Le modèle validé pourrait se révéler un outil formidable pour contribuer à tester les effets de nouvelles molécules afin d'en définir par exemple le dosage et/ou le mode d'administration optimum qui nécessitent encore pour l'instant le sacrifice d'un grand nombre de souris.

Les effets des couplages thérapeutiques entre cytotoxiques et VDAs pourront également être explorés par ce modèle puisqu'à l'origine, c'est l'étude de ces couplages qui a motivé son élaboration.

Cette thèse s'est inscrite dans la cadre du projet CATS pour "Computer-Assisted Therapeutic Strategy" dont le but est développer une tumeur virtuelle, clone d'une tumeur réelle, sur laquelle la thérapie est virtuellement optimisée avant d'être effectivement appliquée. Cela va dans le sens de l'individualisation de la thérapie qui apparait aujourd'hui comme essentielle à une meilleure réussite du traitement.

# ANNEXE

# A. L'ALGORITHME DE GESTION DES ASPECTS MULTI-ÉCHELLES

Tout au long des simulations, le pas de discrétisation spatial utilisé est $\Delta = \Delta_x = \Delta_y = 25\ \mu m$, ce qui correspond à l'espace occupé par une cellule dans le modèle. Cependant, le modèle est multi-échelle pour le pas de temps, qui s'adapte pour mettre à jour les différents éléments pendant la simulation, comme montré figure A.1.

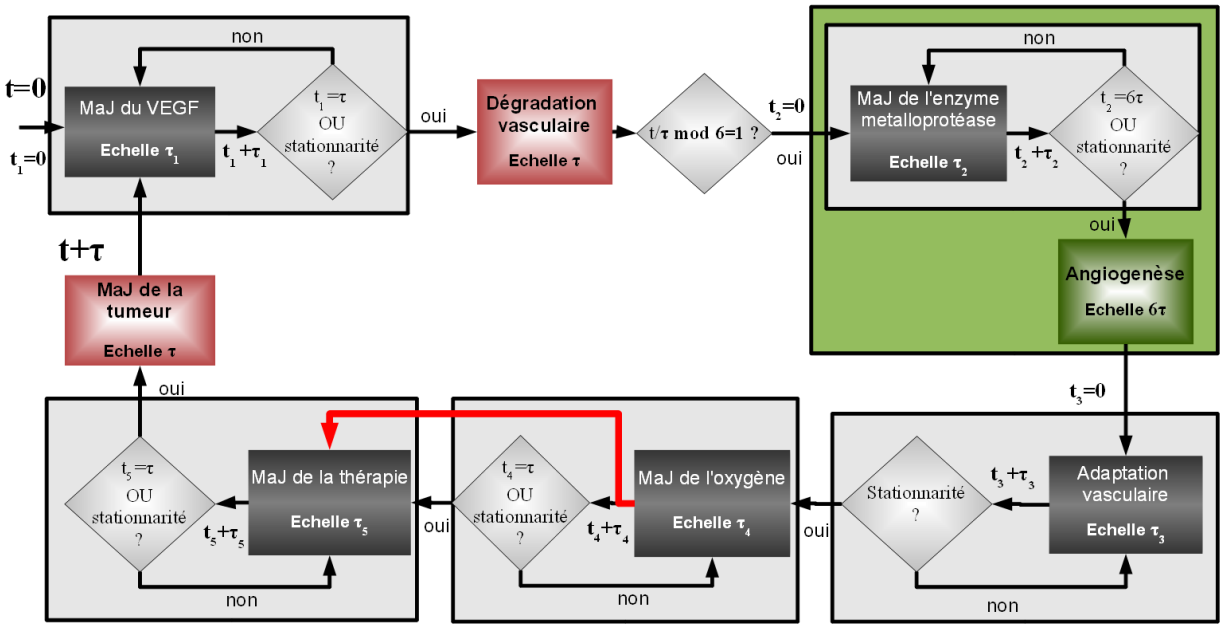



*Fig. A.1:* Algorithme pour le modèle computationnel. $\tau$ est le pas de temps principal et $\tau_1$, $\tau_2$, $\tau_3$, $\tau_4$ et $\tau_5$ représentent les pas de temps des processus intermédiaires plus rapides. La flèche rouge au niveau du processus de diffusion de l'oxygène représente une erreur dans le programme.

Le pas de temps principal du modèle $\tau$ a pour valeur 0.01 *jours*. C'est le pas de temps utilisé pour mettre à jour l'évolution tumorale, ainsi que la dégradation vasculaire dans la tumeur. L'angiogenèse, ainsi que la dégradation des enzymes métalloprotéases et des fibres matricielles dans le tissu, est quant à elle mise à jour tous les 6 $\tau$, ce qui correspond à la vitesse de migration des cellules endothéliales.

Le modèle intègre 4 processus avec de plus petits pas de temps pour la diffusion du VEGF, des enzymes métalloprotéases, et de l'oxygène, ainsi que pour l'adaptation vasculaire et la mise à jour de la thérapie (concentration de molécules dans les vaisseaux et diffusion dans les tissus environnants).

Les équations de diffusion sont résolues avec la méthode ADI et les conditions aux limites de Neumann. Pour plus de précision dans la représentation de la diffusion du VEGF et des enzymes métalloprotéases, les pas de temps utilisés dans les processus associés sont de $\tau_1 = \Delta^2/D_V \approx 22\ s$ et de $\tau_2 = \Delta^2/D_m \approx 3.6\ mins$. Ces processus sont stoppés lorsque l'état stationnaire est atteint ou lorsque le temps du pas principal $\tau$ est écoulé. La taille du dernier pas de temps avant que le temps $\tau$ soit écoulé est adapté pour que ce temps ne soit pas dépassé.

Le réseau vasculaire s'adapte suivant un pas de temps de $\tau_3 = 0.005\ s$ jusqu'à stabilité.

La diffusion de l'oxygène devrait répondre à un processus de diffusion similaire aux autres avec un pas de temps de $\tau_4 = \Delta^2/D_{O_2} \approx 0.26\ s$.

Pour la mise à jour de la thérapie, à chaque itération, le pas de temps $\tau_5$ est fixé comme le temps d'écoulement sanguin dans le segment vasculaire du modèle où il est le plus rapide et où la concentration de molécules à l'entrée et à la sortie est différente. La diffusion des molécules cytotoxiques dans le tissu se fait à chaque pas de temps. Lorsque des molécules anti-vasculaires sont présentes dans les vaisseaux, leur action de destruction vasculaire est simulée toutes les secondes. Dans ces processus, la taille du dernier pas de temps pour l'écoulement dans les vaisseaux est également adaptée pour qu'elle ne dépasse pas le pas de temps principal $\tau$.

### *IMPORTANT : identification d'une erreur de paramétrisation dans la diffusion de l'oxygène*

En simulant l'action des agents anti-vasculaires, nous avons remarqué qu'une journée était nécessaire pour que la destruction d'un vaisseau se répercute sur la distribution de l'oxygène dans le tissu, alors que quelques secondes devrait suffire.

Cela nous a permis de découvrir un erreur de conversion du pas de temps $\tau$ lors du processus de diffusion de l'oxygène, où ce pas de temps aurait dû être converti en seconde. En conséquence, la diffusion de l'oxygène ne se fait que durant un unique pas de temps de $\tau_4 \approx 6.26 \times 10^{-3}\ s$ à chaque pas de temps principal.

Toutefois, la distribution de l'oxygène varie relativement peu, puisque seules des fluctuations autour de l'état stationnaire sont observées. D'autre part, le développement vasculaire est tellement lent que l'oxygène a le temps de diffuser dans le tissu, même avec ce pas de temps erroné. Les conséquences sur la distribution d'oxygène dans le tissu sont donc relativement faibles (figure A.2). Seule la croissance tumorale est plus localisée sur les zones du tissu vascularisées par les néovaisseaux puisque la diffusion de l'oxygène est plus rapide. Cela est dû au choix des paramètres de consommation en oxygène et du seuil de quiescence. Ces deux paramètres ont été fixés de façon à permettre un stade initial de croissance tumorale avasculaire sans nécrose. La correction de cette erreur implique donc de réviser ces 2 paramètres pour maintenir la condition avasculaire.

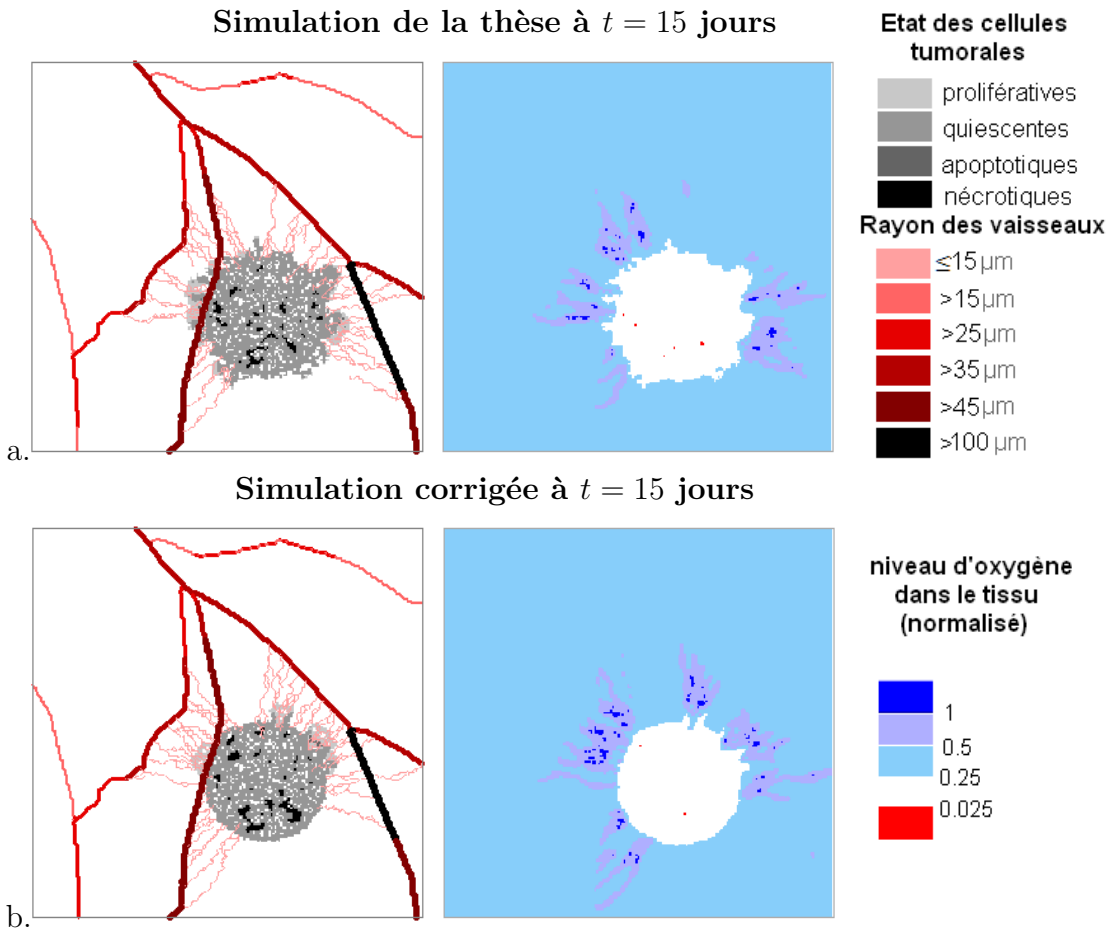



*Fig. A.2:* a. La tumeur vascularisée à 15 jours telle qu'elle est prise comme état initial du chapitre I, et la distribution en oxygène associée dans le tissu. b. La tumeur simulée avec les mêmes paramètres mais en corrigeant le processus de diffusion de l'oxygène, et la distribution de l'oxygène associée.

Cette erreur a des conséquences sur les phénomènes rapides comme la destruction soudaine des vaisseaux par les VDAs. Ainsi, figure A.3, l'impact des agents de destruction vasculaire sur la distribution de l'oxygène est visible un dixième de jour après leur administration, alors qu'il n'est visible qu'au bout d'une journée avec l'erreur. La correction entraîne donc une hypoxie consécutive au VDAs plus rapide.

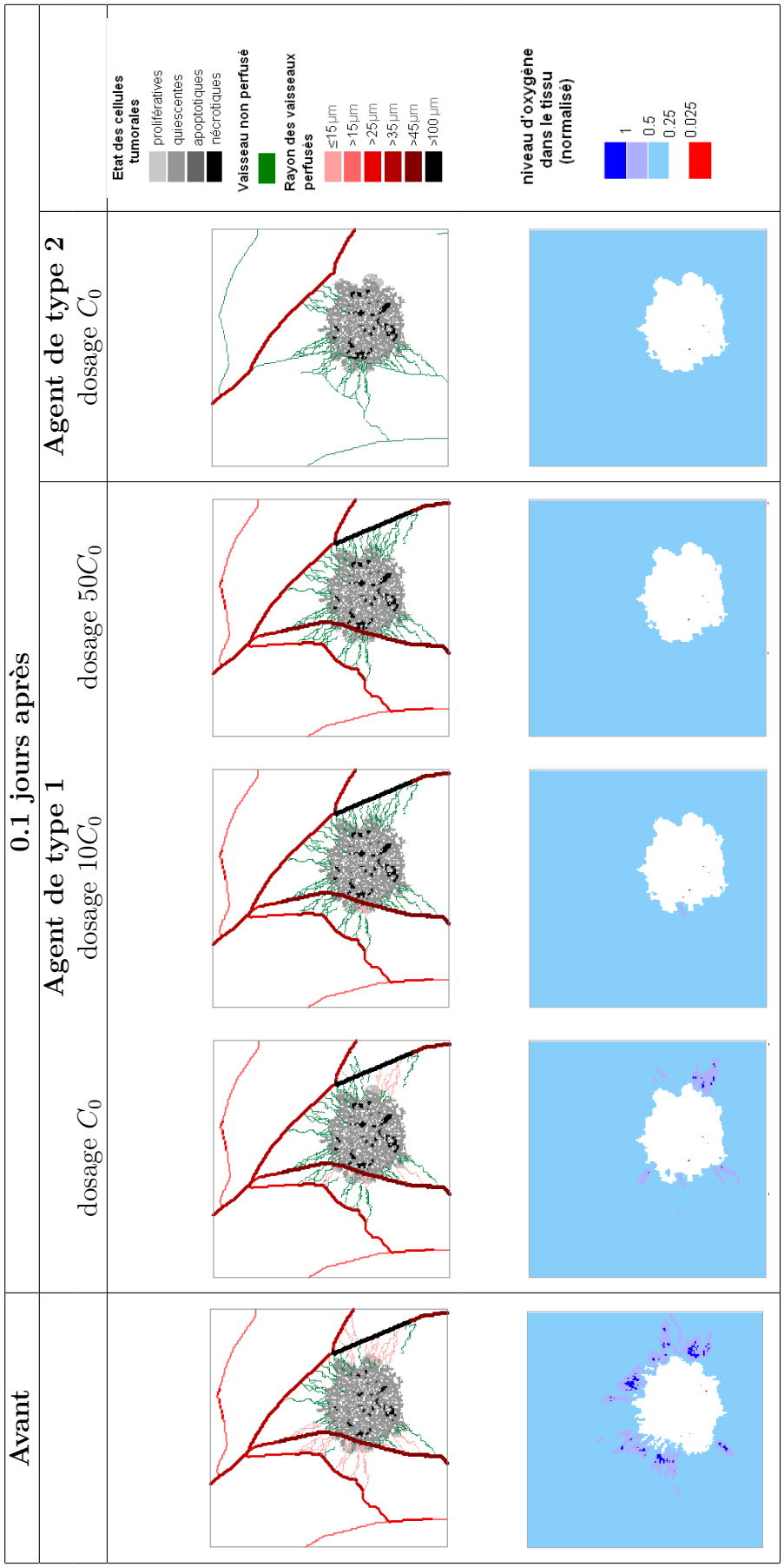



*Fig. A.3:* Représentation de la tumeur, de sa vascularisation et de la distribution en oxygène avant l'injection d'un agent de destruction vasculaire (état issu d'une simulation où la diffusion de l'oxygène n'est pas corrigée), et un dixième de jour après l'injection d'un agent anti-vasculaire agissant uniquement sur les néovaisseaux (type 1) pour différents dosage ($C_0$, $10C_0$ et $50C_0$), et un jour après l'injection d'un agent antivasculaire qui agit également sur tous les vaisseaux (type 2). Le processus de diffusion de l'oxygène est corrigé dans cette simulation.

# B. DÉTECTION DES SEGMENTS DE VAISSEAUX NON PERFUSÉS

Pour détecter les segments non perfusés, nous utilisons un algorithme qui consiste à déterminer les chemins existants entre les différentes entrées (ou sorties) du réseau vasculaire. Ces chemins sont formés d'une suite de segments reliés par des nœuds distincts. Pour cet algorithme, nous définissons comme nœud la jonction entre deux segments ou plus. L'appartenance d'un segment à une telle suite prouve sa perfusion, alors que l'impossibilité de trouver une telle suite auquel il appartient prouve sa non perfusion. Les entrées du réseau ne sont pas distinguées des sorties. Par conséquent, elles sont indifféremment appelées entrées. Des nœuds du réseau sont appelés voisins si et seulement il existe un segment qui les lient.

Le terme de nœud perfusé désigne quant à lui un nœud par lequel passe un vaisseau perfusé. L'algorithme utilise le principe que tout chemin qui lie deux nœuds perfusés est lui-même perfusé. Ramenons le problème à deux nœuds $a$ et $b$. A chacun de ces nœuds passe un chemin liant deux entrées du réseau. Nous allons prouver ici la perfusion de toute branche $[ab]$ reliant les nœuds $a$ et $b$. Pour cela, nous choisissons aléatoirement une des branches issue de $a$ et recherchons la présence d'embranchements entre cette branche et celles issues de $b$.

- Si de tels embranchements existent, notons $c$ celui qui est le plus proche de $a$. Les branches $[cb]$ et $[ba]$ peuvent alors se substituer à $[ca]$ pour former un chemin passant par $a$, dont tous les points sont distincts, et liant des entrées du réseau. Cela prouve la perfusion de $[ba]$ (figure B.1A).
- Sinon, $[ab]$ peut être relié à des entrées différentes par des chemins distincts à chacune de ces extrémités, ce qui prouve sa perfusion (figure B.1B).

En conclusion, tout chemin liant deux nœuds perfusés distincts est perfusé.

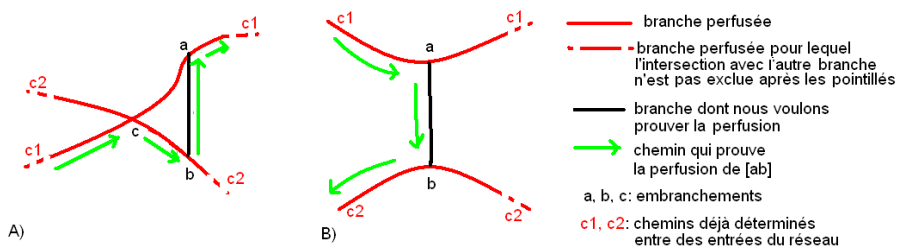



*Fig. B.1:* Démonstration de la perfusion d'une branche entre deux noeuds perfusés

L'algorithme qui détermine la perfusion des nœuds est implémenté grâce à :

- Un tableau qui, à chacun des nœuds du réseau considéré, associe un des quatre états suivants :
  - (0) : non renseigné
  - (1) : nœud perfusé (peut être une entrée du réseau)
  - (2) : nœud non perfusé

  - (3) : emprunté par le chemin en cours d'étude ou déjà étudié comme aboutissant nécessairement à ce chemin.
- Une liste $L_p$ des nœuds à l'état (1) à l'itération considérée, et dont peuvent être issus des segments n'ayant pas encore été renseignés.
- Une liste $L_c$ des nœuds d'un chemin démarrant en un nœud à l'état perfusé, et dont l'algorithme tente de déterminer la perfusion en le poursuivant jusqu'à un des autres nœuds perfusés. Le chemin associé à $L_c$ est poursuivi au fur et à mesure par des nouveaux nœuds (état (0)) qui sont ajoutés en queue de $L_c$. S'il n'est plus possible de continuer un chemin avec un nouveau nœud voisin du nœud en queue de $L_c$, alors cet élément de queue est supprimé. L'algorithme tente alors de trouver un vaisseau perfusé en empruntant un autre segment au nœud précédent. $L_c$ est réinitialisé une fois que la perfusion ou la non perfusion du segment initiant le chemin est prouvé.

Voici l'algorithme utilisé :

1. A l'état initial (figure B.2 a), le tableau des noeuds du réseau est initialisé partout à (0), mis à part les noeuds d'entrée initialisés à (1). La liste $L_p$ est initialisée par les noeuds à l'état (1). Tous les segments de vaisseaux sont placés à l'état non perfusé.
2. Les listes sont remises à jour de la façon suivante (figure B.2 a->b, k->l et l->n) :
   - Quand le noeud $n_p$ en tête de la liste $L_p$ n'a pas de voisins $n_v$ à l'état (0), tous les segments de $n_p$ ont été étudiés. $n_p$ est donc retiré de la liste $L_p$ et le nouveau nœud en tête de $L_p$ est examiné.
   - Quand un voisin $n_v$ est trouvé pour $n_p$, alors il est retiré de $L_p$ et la liste $L_c$ est initialisée par les deux nœuds $[n_v, n_p]$ avec $n_p$ en tête.
   - Si $L_p$ est vide, cela signifie que tous les segments atteignables par les entrées du réseau ont déjà été déterminés comme perfusés ou non perfusés. Les segments isolés du réseau ne sont pas perfusés, et restent donc dans leur état par défaut. L'algorithme est alors terminé (figure B.2 t).
3. Soit $n_p$ le premier nœud, $n_d$ le dernier nœud, et $n_{d2}$ l'avant-dernier nœud de $L_c$ s'il existe :
   - Si $L_c$ n'a plus qu'un seul élément alors (figure B.2 s->t) :
     - un chemin liant un nœuds à l'état (3) à un nœud d'entrée du réseau emprunte nécessairement le nœud $n_p = n_d$. Par conséquent, les différents nœuds à l'état (3) sont donc mis à l'état (2), non perfusé.
     - si $n_p = n_d$ a encore des voisins à l'état (0), alors il est ajouté en queue de $L_p$
     - $L_c$ est vidé
   - Sinon, si $n_d$ est voisin d'au moins un nœud à l'état (1) différent de $n_p$, alors un chemin perfusé est trouvé et par conséquent (figure B.2 j->k et l->m) :
     - les nœuds à l'état (3) sont mis à l'état (0), car le chemin caractérisé par la liste $L_c$ va être réinitialisé (ces nœuds sont tous reliés entre-eux, ce qui simplifie l'opération)
     - les différents nœuds de $L_c$ sont mis à l'état (1)
     - tous les segments liant un nœud de $L_c$ à un nœud à l'état (1) sont mis à l'état perfusé, car ce sont des vaisseaux perfusés.
     - les nœuds de $L_c$ duquel sont issus des segments aboutissant à un nœud non encore renseigné sont ajoutés en queue de $L_p$.
     - $L_c$ est vidé
   - Sinon, si $n_d$ est voisin d'un nœud $n_a$ à l'état (0), alors le chemin caractérisé par la liste $L_c$ peut continuer à être prolongé par ce nœud donc (figure B.2 b->c, c->d, d->e, e->f, i->j,

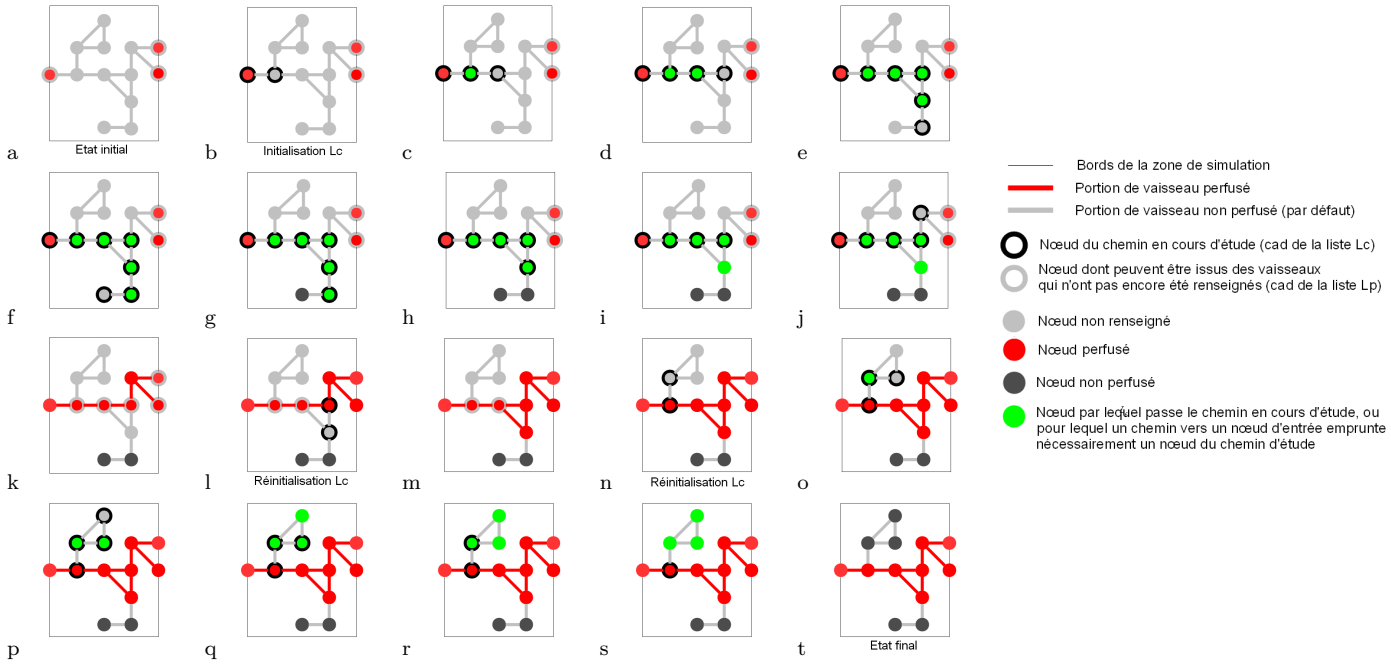



*Fig. B.2:* Détermination pas à pas (a->t) de la perfusion des vaisseaux dans un réseau vasculaire simple

n->o et o->p) :
- $n_a$ est positionné en queue de $L_c$
- $n_d$ est mis à l'état (3) car il appartient dorénavant au chemin en cours d'étude

- Sinon, si $n_d$ est adjacent à un nœud $n_a \neq n_{d2}$ à l'état (3), ou à $n_p$, alors (figure B.2 h->i, p->q, q->r et r->s) :
  - comme $n_d$ n'est adjacent qu'à des nœuds à l'état (3), ou à $n_p$ qui appartient au chemin étudié, il est mis à l'état (3)
  - il n'est plus possible de poursuivre ce chemin avec un nœud non renseigné ou de le finir avec un nœud perfusé, $n_d$ est donc supprimé de la liste $L_c$
- Sinon, $n_d$ n'est adjacent qu'à $n_{d2}$ ou à des nœuds à l'état (2) et donc (figures B.2 f->g et g->h) :
  - $n_d$ est mis à l'état (2) car il n'est pas perfusé. Ce nœud est en effet isolé à l'extrémité d'une branche non reliée à un embranchement, ou lié qu'à des branches non perfusées à cette extrémité.
  - $n_d$ ne fait pas parti d'un chemin perfusé, et est donc supprimé de la liste $L_c$

4. Si $L_c$ est vide, alors elle est réinitialisée en recommençant à l'itération 2 (figure B.2 l et n), sinon on retourne en 3.

# C. EXTRACTION DU CHEMIN DES VAISSEAUX À PARTIR DES IMAGES BINAIRES

Pour extraire les données concernant les différents vaisseaux dans l'image binaire, il est tout d'abord nécessaire d'identifier et de localiser ces vaisseaux. Pour cela, nous allons extraire le squelette des images binaires par une méthode d'amincissement topologique du réseau vasculaire. Par cette méthode, chaque vaisseau est ramené à une suite de pixels adjacents que nous appelons chemin. Chaque pixel constituant un chemin n'a que deux voisins à part ses extrémités qui ont un (extrémité libre) ou plus de deux voisins (embranchement avec un autre vaisseau).

Soit les pixels occupés, les pixels appartenant à un vaisseau, et les pixels libres, les pixels extérieurs aux vaisseaux. Le voisinage utilisé pour les pixels occupés est le 8-voisinage (voisinage de Moore). Les voisins d'un pixel sont donc transverses ou diagonaux (figure C.1a). Le voisinage des pixels libres est par conséquent le 4-voisinage (voisinage de Neumann) de façon à respecter le théorème de Jordan :
*Toute courbe fermée simple (c.-à-d. ne se recoupant pas elle-même) sépare le plan en deux domaines (ensembles connexes) qui sont le domaine intérieur et le domaine extérieur de la courbe.*
Les voisins d'un pixel libre sont donc ses voisins transverses (figure C.1b).

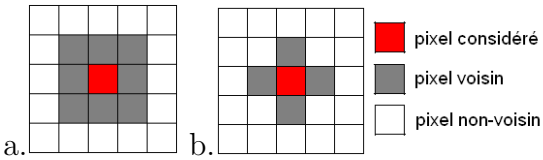



*Fig. C.1:* a. 8-voisinage b. 4-voisinage

L'image binaire est parcourue de gauche à droite et de haut en bas. Les pixels à libérer sont alors les pixels occupés qui

1. n'ont pas leurs quatre voisins transverses (un côté commun) occupés après le balayage précédent

De plus, un pixel est libéré si et seulement si, au moment de l'examen :

2. la libération du pixel préserve la connexité entre les différents points occupés du voisinage du pixel considéré.
3. il a strictement plus d'un voisin occupé
4. il a strictement plus de deux voisins occupés, ou bien ces voisins n'ont pas de côté commun.

Tous les voisins extérieurs à l'image sont considérés comme occupés. L'algorithme est arrêté quand aucun pixel n'a été éliminé après un balayage.

La condition 1 permet de limiter la libération des pixels aux pixels limitrophes entre une composante occupée et une composante libre à chaque balayage. Ainsi, la libération de pixels peut se faire de part et d'autre du vaisseau à chaque balayage, ce qui permet d'obtenir un chemin centré par rapport au vaisseau.
Les conditions 1 et 2 préservent la connexité des différentes composantes du réseau vasculaire ainsi que de son complémentaire dans le voisinage du pixel considéré. Les pixels pouvant être supprimés en respectant ainsi ces conditions sont appelés points simples [252]. La condition 2 maintient la connexité des pixels occupés, et la connexité 4-adjacentes des pixels libres est elle aussi préservée quand on lui associe la condition 1. En effet, quand un seul des voisins 4-adjacents du pixel étudié $p$ est libre, celui-ci n'a alors qu'un seul voisin à sa libération, et cela ne change donc en rien la connexité des voisins libres. Quand le nombre de voisins transverses de $p$ est plus grand, le nombre de composantes connexes des voisins libres n'est altéré par la libération de $p$ que s'il existe deux pixels libres dans le voisinage qui ne sont pas connexes avant la libération. Cela n'est pas compatible avec la condition 2 comme montré figure C.2.
Les conditions 3 et 4 permettent quand à elles de limiter la libération de pixels aux extrémités

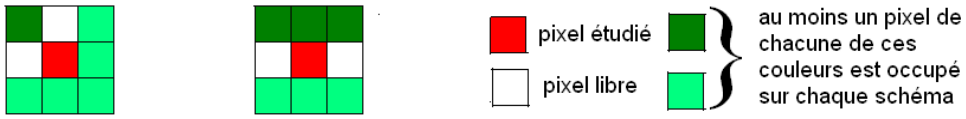



*Fig. C.2:* Occupation du voisinage d'un point avec deux voisins transverses libres ou plus et dont la connexité des pixels libres change lors de la libération du pixel central

des vaisseaux. L'absence de ces conditions entraineraient en effet l'érosion totale des vaisseaux à partir de leurs extémités libres quand elles existent.

Toutefois, les conditions 3 et 4 engendrent la création de courts chemins liant les bords des vaisseaux à leur chemin central, quand ceux-ci sont orientés dans certaines directions (figure C.3).

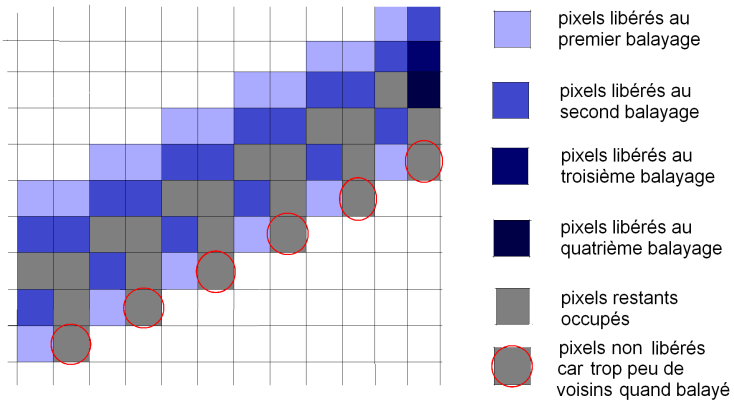



*Fig. C.3:* Érosion d'un vaisseau au fil des balayages

C'est notamment pour cette raison que les chemins de faible longueur (nombre de pixels du chemin $\leq 25$) et ayant une extrémité à un seul voisin sont supprimés. Cela permet aussi d'enlever

des chemins résultant d'imprécisions dues au tracé des vaisseaux à la main. De même, pour corriger de telles inexactitudes, si deux courts chemins (nombre de pixel du chemin $\leq 50$) relient deux pixels alors le plus grand des deux est supprimé.

Ensuite, une recherche des vaisseaux présents à proximité de l'extrémité libre d'un vaisseau sur les autres images binaires associés à la même image est réalisée. Cette recherche est effectuée dans le but de pouvoir détecter des embranchements entre des vaisseaux qui ne sont pas sur la même image binaire. Ainsi, dans chaque voisinage (distance $\leq 50$ pixels) d'une extrémité libre d'un chemin, le pixel occupé le plus proche sur le squelette d'une autre image binaire associée à la même image est recherché s'il existe. Si un tel pixel est trouvé, il est libéré, de façon à séparer le vaisseau associé en deux vaisseaux ayant un embranchement commun avec le vaisseau dont l'extrémité libre est étudiée.

Nous obtenons ainsi les chemins des vaisseaux sur les images binaires comme visibles figure C.4.

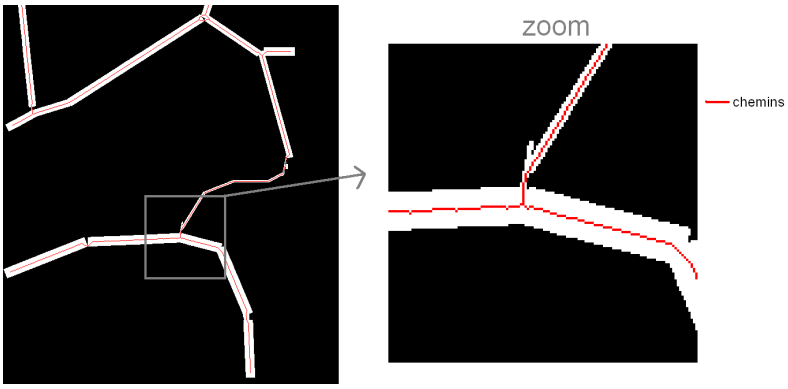



*Fig. C.4:* Une portion de masque et le chemin associé

# D. ARTICLE : ON THE IMPORTANCE OF THE SUBMICROVASCULAR NETWORK IN A COMPUTATIONAL MODEL OF TUMOUR GROWTH

Microvascular Research 84 (2012) 188–204

Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

Microvascular Research

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ymvre

# On the importance of the submicrovascular network in a computational model of tumour growth

Anne-Cécile Lesart [a], Boudewijn van der Sanden [b], Lauriane Hamard [b], François Estève [c], Angélique Stéphanou [a,*]

[a] UJF-Grenoble 1, CNRS, Laboratory TIMC-IMAG UMR 5525, DyCTiM research team, Grenoble, F-38041, France
[b] Grenoble Institut des Neurosciences — GIN, INSERM U836, Equipe 7, Chemin Fortuné Ferrini, BP 170, 38042 Grenoble Cedex 9, France
[c] Grenoble Institut des Neurosciences — GIN, INSERM U836, Equipe 6, Chemin Fortuné Ferrini, BP 170, 38042 Grenoble Cedex 9, France

ARTICLE INFO

*Article history:*
Accepted 4 June 2012
Available online 13 June 2012

ABSTRACT

A computational model is potentially a powerful tool to apprehend complex phenomena like solid tumour growth and to predict the outcome of therapies. To that end, the confrontation of the model with experiments is essential to validate this tool. In this study, we develop a computational model specifically dedicated to the interpretation of tumour growth as observed in a mouse model with a dorsal skinfold chamber. Observation of the skin vasculature at the dorsal window scale shows a sparse network of a few main vessels of several hundreds micrometers in diameter. However observation at a smaller scale reveals the presence of a dense and regular interconnected network of capillaries about ten times smaller. We conveniently designate this structure as the submicrovascular network (SMVN).[1] The question that we wish to answer concerns the necessity of explicitly taking into account the SMVN in the computational model to describe the tumour evolution observed in the dorsal chamber. For that, simulations of tumour growth realised with and without the SMVN are compared and lead to two distinct scenarios. Parameters that are known to strongly influence the tumour evolution are then tested in the two cases to determine to which extent those parameters can be used to compensate the observed differences between these scenarios. Explicit modelling of the smallest vessels appears mandatory although not necessarily under the form of a regular grid. A compromise between the two investigated cases can thus be reached.

© 2012 Elsevier Inc. All rights reserved.

## Introduction

Tumour growth is a complex phenomenon which is regulated by different processes. An integrated view of these processes which interact on multiple scales is therefore necessary in order to understand and apprehend them. Theoretical models are useful tools in order to reach a more complete understanding of the phenomena by reproducing how this biological system works. At the end of the sixties, the first models on tumour growth already described how the structure and the growth of multicellular spheroids could be affected by the environmental conditions in oxygen and nutrients (Burton, 1966; Greenspan, 1972). Since then, mathematical models have become more and more complex. In particular, in the eighties, angiogenesis began to be considered explicitly to model oxygen and nutrients availability in the tumour. Vascular growth was first modelled in one dimension (Balding and McElwain, 1985). Other works followed to extend the model in two or three dimensions (Anderson and Chaplain, 1998; Stéphanou et al., 2005; Stokes and Lauffenburger, 1991). This change of dimension permits to take into account the spatial distribution of the vascular network. Hybrid models combining different modelling approaches then emerged to model the different processes interacting on tumour growth (Alarcòn et al., 2003; Anderson and Chaplain, 1998; Perfahl et al., 2011; Stokes and Lauffenburger, 1991; Welter et al., 2008). Discrete models such as cellular automata are found to be particularly adequate to model the growth of small spheroids because they allow us to consider intrinsic parameters for each cell such as its age in the cell cycle. They are often coupled with continuous equations which describe vascular remodelling, blood flow, oxygen and nutrients diffusion (Alarcòn et al., 2003; Welter et al., 2008). Interested readers can refer to the recent reviews by Tracqui (2009) and Byrne (2010) on the evolution of the theoretical models on tumour growth over the last decades.

The current trend in theoretical modelling is to closely link, on a quantitative basis, theoretical and experimental models. The aim is to produce computational tools as close as possible to reality. In the case of cancer, most of the models coupling theory and experiments aim at testing therapies (Frieboes et al., 2009; Gatenby et al., 2009). Our work follows this trend. Our goal is to develop a computational tool to describe the tumour evolution as it is observed in a mouse model with a dorsal skinfold chamber. This technique is known for several years (Asaishi et al., 1981; Lehr et

* Corresponding author. Fax: +33 4 56 52 00 22.
*E-mail address:* Angelique.Stephanou@imag.fr (A. Stéphanou).
[1] SMVN: Sub-Microvascular Network.

0026-2862/$ – see front matter © 2012 Elsevier Inc. All rights reserved.
doi:10.1016/j.mvr.2012.06.001

al., 1993) and provides a mean to observe accurately the development of the tumour over time. Moreover, intravital microscopy permits to visualise as well the evolution of rheological and functional parameters of the tumour vasculature, such as the linear velocity of red blood cells (RBC) and vascular density (Carmeliet and Jain, 2000). In these studies, fluorescent macro-molecules were used to stain the blood plasma and RBCs were detected as moving shadows or the RBCs were positively stained with rhodamine dyes (Seylaz et al., 1999). Oxygen concentration in the tissue can also be measured using oxygen sensors (Koehl et al., 2009). The dorsal chamber method was already used to validate theoretical models that describe the vascular permeability for oxygen (Dedeugd et al., 2009; Strieth et al., 2008). However, this technique is not used yet to validate a complex model of tumour growth.

The resolution of the current microscopes and the use of fluorescent probes such as FITC-dextran allow us to visualise a hierarchy in the vascular network. Arterioles and venules can be distinguished with typical radius a few tens of micrometers. Smaller vessels (capillaries) with radius under 10 μm are visible with a higher resolution. We define the "sub-microvascular network" (SMVN) as this regular pre-existing and healthy microvascular network of capillaries that ensures physiological oxygenation of the tissue. Some models do not take into account the SMVN to describe tumour growth (Chaplain et al., 2006; McDougall et al., 2006; Owen et al., 2009; Stéphanou et al., 2005). However, in more recent models, it is considered that the evolution of the SMVN is necessary to describe it accurately (Bartha and Rieger, 2006; Lee et al., 2006; Paul, 2009; Shirinifard et al., 2009; Welter and Rieger, 2010; Welter et al., 2008). It was shown that vessel collapse or thrombosis could occur on these small microvessels during tumour growth and influence the process. The main question in thispaper is to determine if it is necessary to explicitly describe this SMVN in the tissue skin of the mouse to reproduce tumour growth as observed with the dorsal skinfold chamber.

To that goal, we developed a hybrid model inspired from several existing ones. Tumour growth is based on the cellular automaton proposed by Alarcòn et al. (2003). This choice for an automaton allows us to describe the tumour cells transitions between different states (proliferative, quiescent, apoptotic and necrotic) depending on the environmental constraints, mainly space and oxygen availability. Moreover, this model takes into account the cell cycle by assigning a timer to each individual cell. The cell sensitivity to hypoxia, which depends on the phase of the cell cycle, can be finely expressed. Angiogenesis and blood flow in the microvasculature are directly based on the model by Stéphanou et al. (2006). The new vessels emerging from the existing ones proliferate and migrate in response to combined chemotactic and haptotactic cues of growth factors (from hypoxic tumour cells) and matrix fibres respectively. The distribution of red blood cells in the vascular network allows us to estimate the oxygen field in the tissue based on vessel permeability for oxygen, and oxygen diffusion and consumption. Finally, conditions for vessel sprouting and vessel collapsing have been introduced, both based on the hypotheses proposed by Welter and Rieger (2010).

Although vascular recruitment and vessels adaptation are clearly visible in biological experiments, it remains difficult to determine if the neovasculature emerges from the main vessels or from the smaller ones forming the SMVN. In order to answer this question, the numerical simulations presented in this paper compare tumour growth with and without the SMVN. Those simulations are based upon experimentally observed initial networks of main vessels to reproduce the initial experimental conditions. The impact of the SMVN on the evolution of the tumour cell quantity and on the tumour expansion rate is evaluated.

Parameters which strongly influence the tumour evolution are then specifically considered. First of all, the tumour cells resistance to hypoxia is evaluated by changing the sensitivity of the cells to the lack of oxygen. This can be related to different cell phenotypes. The effect of the sprouting ability of the vascular network is also evaluated to determine whether an increased angiogenesis could compensate the initially reduced density when the SMVN is not considered.

## Experimental background

Experiments realised with the dorsal skinfold chamber on the mouse allow to observe with many details the process of angiogenesis and tumour growth.

### *Ethics statement*

In accordance with the policy of Grenoble Institute of Neuroscience (GIN) and the French legislation, experiments on nude mice were done in compliance with the European Community Council Directive of November 24, 1986 (86/609/EEC). The research on nude mice was authorised by the Direction Départementale des Services Vétérinaires de l'Isère — Ministère de l'Agriculture et de la Pêche, France and the Direction Départementale de la protection des populations - Préfecture de l'Isère-France (B. van der Sanden, PhD, permit number 38 09 40).

### *Experimental methods*

For tumour vasculature imaging, 3 Swiss nude mice were implanted with small dorsal skinfold chambers (small dorsal kit SM100, APJ Trading Co., Ventura, CA, USA). During surgery and imaging, mice were anesthetised by a continuous inhalation of 2% isoflurane in a gas mixture of 30% $O_2$ and 70% $N_2O$. Core temperature was maintained at approximately 37 °C. In the dorsal skinfold chamber preparation, two symmetrical titanium frames with central holes (1 cm diameter) are placed each at on side of the dorsal skinfold of animals in order to sandwich the extended double layer of skin and create the dorsal skinfold chamber, which consisted of one layer of striated muscle, s.c. tissue, and epidermis. An observation window, covered with a glass coverslip, allowed for intravital microscopic observations (Maurin et al., 2011). One day after surgery, mice were checked on the presence of infection. At the absence of infection, nude mice were implanted with a small excised part of F98 glioma. Before implantation, a photo of the host vascular network was taken using a Pentax IstDL camera mounted on a macroscope (Leica MZ6). Photos of the tumour vascular network were taken every 3 days after implantation using the same setup.

### *Experimental results*

Under such conditions, tumour cells rapidly seek to recruit a vascular network by releasing a diversity of growth factors among which the vascular endothelial growth factor (VEGF). In less than two days, the angiogenic response is visible. This starts with the apparition of hemorrhage adjacent to the tumour. The vessels become leaky as the endothelial cells forming the vessel walls start to respond to the VEGF signals. They do so by releasing the bonds between them and by migrating up the source of the signal. This event is shortly followed by vascular remodelling and vessels dilation.

In 3 days the tumour implant is surrounded by a diffuse mass of small vessels (Fig. 1). Vessels which initially formed inside the tumour mass are often crushed by the increased pressure from the proliferating cells. Very few vessels can subsequently penetrate the tumour to deliver the oxygen. This leads to the formation of the necrotic core in the most central part, surrounded by a thin rim of quiescent cells under the hypoxic stress. Only the cells located at the most peripheral part of the tumour, where space and oxygen are still available, remain able to proliferate.

Macrofluorescence imaging, involving the use of fluorescent probes (FITC-dextran, rhodamine) into the vascular system of the mouse, gives access to very detailed information about the structure of the neovasculature, the red blood cells distribution into the network and the vessels permeability. The use of fluorescent tumour cells, obtained by transfection, provides a more quantitative information about cell proliferation, death and invasion. The quantification possibilities offered by the dorsal chamber setup are huge. In this paper we will only remain

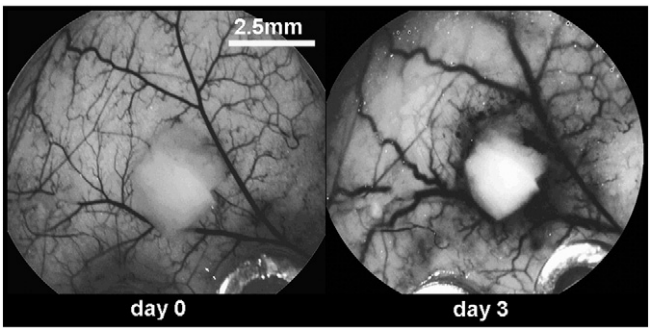



**Fig. 1.** Microscopic images of the vascular evolution resulting from the introduction of a piece of tumour (under the form of glioma cells embedded in a piece of matrigel). On the initial day (a), the piece of tumour is introduced under the glass of the skinfold chamber. Three days later (b) alterations in the vascular network are clearly visible with an increased density of small vessels around the tumour mass and the dilation of most of the vessels of the initial network.

on a qualitative basis as a first step. The progressive integration of these new elements is envisaged in a near future.

*Skeletonisation of the vascular network*

All procedures described for image analysis are performed using ImageJ© software.

First, images are converted into grey levels. Then a window of interest is selected and is chosen to correspond to a 5.5 mm-long square. This window is discretised by a 220 × 220 grid, where each element is a square of 25 μm which corresponds to the size of a single cell. A main traversing vessel (across the window) is arbitrarily selected. One of its extremities is taken as the reference point (big grey bullet mark in Fig. 2) from

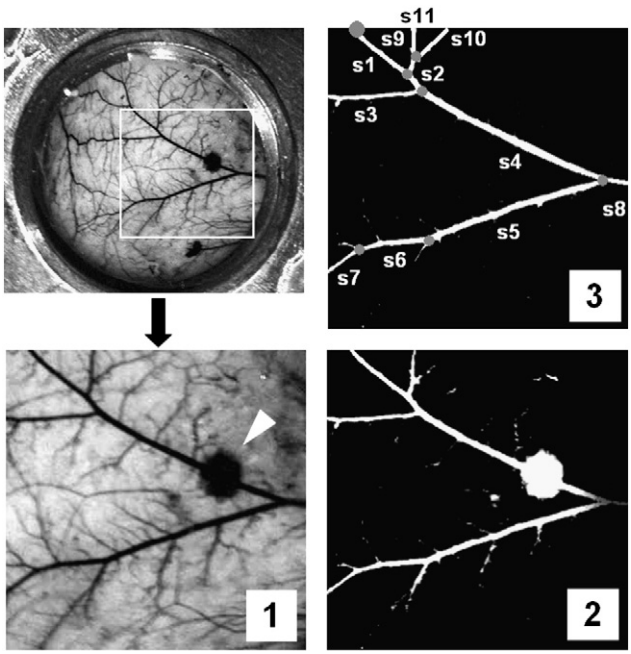



**Fig. 2.** Extraction of the skeleton of the vascular network in 3 steps. (1) A square window of interest is selected from image (side length of the square is 5.5 mm); (2) the image is inverted and a brightness threshold is applied; (3) the nodes of the vascular skeleton are detected and are used to define each vessel segment $s_i$ characterised by their length $L_i$, diameter $D_i$ and inclination from horizontal $I_i$. The reference point for segment numbering is arbitrarily defined (big grey bullet). We note that the stain indicated by the white arrow is due to local bleeding which occurred when the dorsal window was implanted. It then quickly disappeared (see Fig. 1 which shows a later stage of the same vascular network when the tumour is introduced).

which the parameters defining the first vessel segment are measured. Each segment $S_i$ is defined by 3 parameters which are its length $L_i$, its diameter $D_i$ and its inclination $I_i$ from the horizontal. The segments are numbered successively according to the following rules:

1. each time a bifurcation is encountered, the right segment is numbered first until the end of the branch (a change in vessel inclination bigger than 5° leads to a new segment),
2. we then return to the last (closest) bifurcation encountered and repeat successive numbering of the right segments along the branch and so on, until all branches are segmented.

## Computational model

The computational model is developed in order to simulate experimental observations made from the dorsal skinfold chamber. It aims at describing the successive phases of tumour evolution starting with (i) the initial avascular growth phase, followed by (ii) the hypoxic switch for tumour cells leading to growth factor diffusion, (iii) the resulting angiogenic phase and (iv) the ultimate phase of vascular-depending tumour growth. It is based on the coupling between two main modules under the form of a cellular automaton to properly describe events down to the cell scale. The first module describes the tumour evolution and integrates the cell cycle and metabolism (oxygen consumption, hypoxia, cell proliferation and cell death) to simulate the hypoxic switch and the release of growth factor. The second module describes the angiogenic process by which the tumour becomes vascularised under the effect of the growth factor. Angiogenesis involves vessel sprouting, branching and collapse in response to blood rheological constraints. These two modules are presented in detail in the following sections and relations between them are summarised in the diagram of Fig. 3.

*Simulation domain*

The dorsal skinfold chamber comprises a titanium frame on one side of the skinfold and a glass cover on the other side. The tumour implanted is therefore sandwiched between the frame and cover and constrained to grow mainly in a 2D space. Since events in the third dimension are minimal, the computational model is based on a cellular automaton evolving on a 2D grid. The simulation domain (Fig. 4) is a 5.5 mm-long square, discretised by a regular $(i, j)$-grid $(G)$ with 220 × 220 elements. The resulting size of each element is $\Delta x = \Delta y = 25$ μm so as to correspond to the approximate size of a real cell. A tumour cell thus occupies an element $e(i, j)$ of the grid and a vessel segment is defined between two horizontal or vertical nodes $N(i, j)$ of this grid.

*Tumour growth*

The tumour evolution is modelled by a cellular automaton inspired from the one previously described in Alarcòn et al. (2003). It is defined on the grid $G$ where each element $e$ can be empty $(e = 0)$ or contain a tumour cell which can either be proliferative, quiescent, apoptotic or necrotic ($e = 1,2,3$ or 4 respectively).

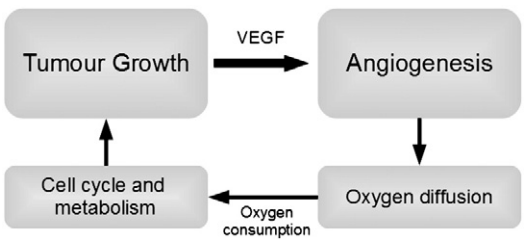



**Fig. 3.** Relationship between the main modules and elements of the computational model.

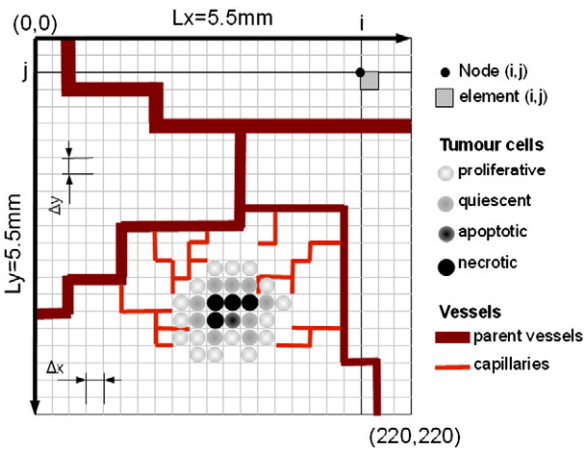



**Fig. 4.** Simulation domain for the cellular automaton. Tumour cells occupy elements of the grid ($e$) and the vessels occupy the edges of this grid defined between two nodes ($N$).

The transitions between the different cell types are conditioned by the cell cycle and environmental conditions. More specifically the level of oxygen available in the tissue and the available space will determine if the cell will proliferate or die. The rules presented in the flowchart (Fig. 5) are as follows:

- a proliferative cell becomes quiescent if the level of oxygen is below the admissible threshold for proliferation $\alpha_p$, the cell should additionally be phase-sensitive to hypoxia, that is in phase $G_1$. The duration of this phase is given by $t_{G_1}$.
- if the level of oxygen is above the admissible threshold $\alpha_p$, then the cell can divide in two daughter cells, if in phase $M$, provided there is enough available space. This means that an empty element $e=0$ adjacent to the cell must exist. This element receives one of the daughter cell, whereas the other daughter cell replaces the mother cell. The cell cycle duration is ruled by the parameter $t_{cycle}$.
- if there is not enough space then the initial proliferative cell enters apoptosis. The apoptotic stage lasts for a time $t_{apop}$ during which the cell keeps occupying the grid element until the cell is removed which corresponds to the release of the grid element.
- a quiescent cell can come back to a proliferative state if the level of oxygen becomes normal again ($\geq\alpha_p$). However, if the oxygen level keeps decreasing below the admissible quiescence threshold $\alpha_q$ and if the cell is exposed for too long to this increased stress (for longer than time $T_{limit}$) then the cell becomes necrotic. The value of the quiescent threshold $\alpha_q$ reflects the cell resistance to hypoxia. In the case of necrotic death, the grid element occupied by the cell is never released.

Note: according to the rule of the cellular automaton, it is assumed that only the $G_1$ phase is sensitive to hypoxia. This means that if a cell exposed to hypoxia while in another phase of its cycle ($S$, $G_2$ or $M$) it will pursue its cycle unaffected by the lack of oxygen. However if there is enough space for the cell to divide, the daughter cells which start their cycles in $G_1$ will immediately enter the quiescent state. This assumption can be justified by the fact that the $G_1$ phase is the longest and most energy consuming since. It is the phase during which the cell synthesises the proteins, including the enzymes, required for the subsequent phases. It is consequently assumed that once the cell has passed the $G_1$ phase, it has accumulated enough energy to complete mitosis and oxygen is no longer necessary.

*Cell division*

The cell can divide if there is at least two empty elements $e$ adjacent to its position among the 8 adjacent elements. It is assumed that one of the daughter cell takes place in one of the transverse element whereas the other daughter cell replaces the mother cell. The probability for the daughter cell to occupy a specific empty adjacent position is proportional to the distance between this position and the mother cell position. So, the probability for a daughter cell to fill one of the 4 transverse elements (right, left, up or down) is denoted $p$ and the probability for the cell to remain where it stands is $p/\sqrt{2}$.

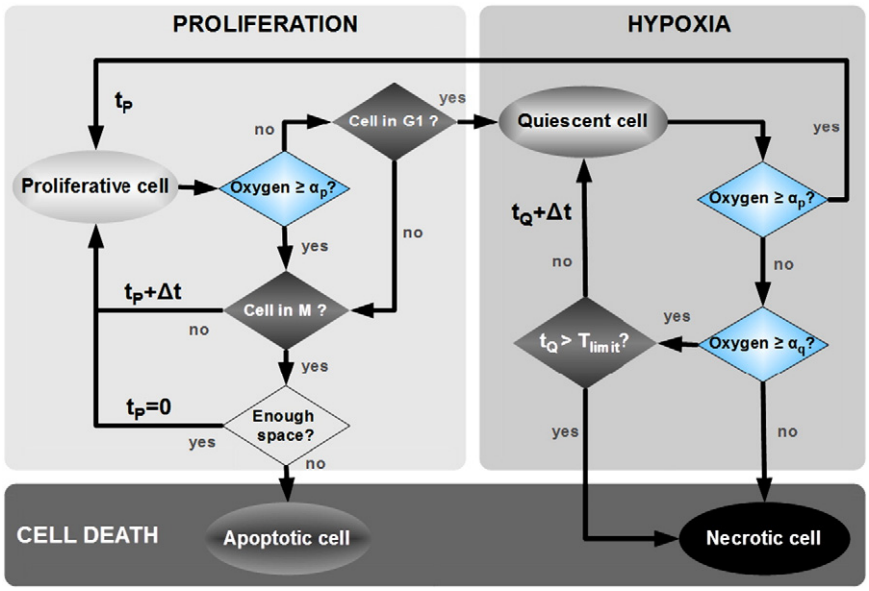



**Fig. 5.** Flowchart for tumour cell evolution. A timer is assigned to each cell to measure the time spent in a given state. $t_P$ is the timer assigned to proliferative cells. It is set to $t_P=t_0=0$ for the two daughter cells right after division of the mother cell occurring at the end of the $M$-phase when $t_P=t_4$ (mitosis). In normal oxygen condition, this timer is incremented with time step $\Delta t$. When a cell enters hypoxia, that is the $G_0$-phase, its timer $t_P$ is stopped and switched to $t_Q=0$. As long as the cell remains quiescent, its timer $t_Q$ is incremented by $\Delta t$. If oxygen becomes available again, the cell returns to the proliferation state and its timer is switched back to its value $t_P$ at which it was stopped. If the oxygen level falls below $\alpha_q$ or if $t_Q\geq T_{limit}$ then the cell becomes necrotic and switches irreversibly to timer $t_N$ which runs to infinity. The cell can also die by apoptosis (programmed cell death). It happens in this automaton if space is lacking for cell division. In that case, the cell timer is switched also irreversibly to $t_A$. It is incremented by $\Delta t$ until it reaches its limit $t_A=t_{apop}$ above which the cell is killed and is cleaned from the simulation space. All parameters are given in Table 2.

The probabilities are calculated so that the sum of probabilities for the adjacent cells surrounding one dividing cell is equal to one.

*Angiogenesis*

The angiogenic process starts when tumour cells are lacking oxygen and nutrients to sustain their growth. The cells then drastically reduce their metabolism by stopping proliferation and thus reducing their need for oxygen. This is the quiescent state or $G_0$-phase which can last for several months depending on the tumour cell type.

In this state, the cells seek to recruit a neovasculature to bring back the oxygen that they need to return to proliferation. To that aim the quiescent cells massively release vascular endothelial growth factors (VEGF) which induces angiogenesis from the neighbouring vessels. Under the effects of VEGF, the endothelial cells forming the vessel walls detach from one another, proliferate and invade the extracellular matrix towards the source of growth factor, which also stimulates their proliferation. Some sprouts progressively emerge from the parent vessels and grow guided by the VEGF-gradient. Growing vessels can form branches and connect to other growing vessels to form some loops by anastomosis. In this angiogenic process, the endothelial cells produce matrix metalloproteinase (MMPs) that allow them to degrade the surrounding matrix of fibres (such as fibronectin, collagen, laminin) and progress through the tissue. Model variables are given in Table 1.

*VEGF evolution*

The variable $V(x, y, t)$ denotes the VEGF concentration at location $(x, y)$ and time $t$ and $\tilde{V}(e)$ denotes its production rate at each grid element $e$. VEGF is assumed to be emitted with a constant rate $\tilde{V}_{emit}$ by quiescent cells only ($e=2$), so $\tilde{V}(2)=\tilde{V}_{emit}$ and $\tilde{V}(e\neq 2)=0$. It then diffuses into the interstitial space and through the tissue. The VEGF evolution is described by the following partial differential equation inspired and adapted from Bauer et al. (2007):

$$\frac{\partial V}{\partial t}=\tilde{V}(e)+D_V\nabla^2 V-\lambda V-\eta V_{uptake} \tag{1}$$

where $D_V$ is the VEGF diffusion coefficient, $\lambda$ the VEGF decay rate and $\eta$ the VEGF uptake rate by endothelial cells. As in Bauer et al. (2007), $V_{uptake}$ depends on the local amount of available VEGF, $V(e)$ and this uptake cannot exceed a maximum value $V_{max}$ corresponding to the saturation of all the VEGF receptors. For each element $e$ of the grid, half of the VEGF consumption of the $n$ blood vessels $v$ adjacent to $e$ are added ($n_{max}=4$). $\tilde{V}_{uptake}$ is thus evaluated from:

$$V_{uptake}(e)=\frac{1}{2}\sum_{v=1}^{n} min(V(e),V_{max}). \tag{2}$$

*Vessel sprouting*

Endothelial cells forming the parent vessel walls start to detach from one another, proliferate, migrate and invade to form some sprouts under the stimulating effect of VEGF (Qutub and Popel, 2009; Welter et al., 2009). We define a sprout as the tip of a growing vessel. Consequently the vessel is the result of the successive positions occupied by the moving sprout based on sufficient cell proliferation. As in the reference model (Stéphanou et al., 2006), we assume that the sprouting ability of the vessels increases with the local VEGF concentration (see Table 3). We further assume as in Welter et al. (2008) that a forming sprout inhibits further sprouting of the vessel. We set this inhibition distance to 50 μm. Vessel sprouting inside the tumour is different than in the normal tissue. Indeed, the tumour changes the nature of the vessel wall by stopping angiogenic sprouting after a time delay $t_{EC}^{(switch)}$ following the growth of the tumour over the considered vessel (Welter et al., 2009).

**Table 1**
Model variables.

| Variable | Significance |
|---|---|
| $V(x, y, t)$ | VEGF concentration |
| $f(x, y, t)$ | Matrix fibre density |
| $m(x, y, t)$ | Matrix degrading enzymes density |
| $C(x, y, t)$ | Oxygen concentration |
| $n_{i,j}^q$ | Boolean representing the presence (1) or the absence (0) of an endothelial tip cell at a specific location |

*Vessel growth*

The cells at the tip of the growing sprouts then migrate up the VEGF gradient (chemotaxis), while taking support on the fibres of the extracellular matrix (haptotaxis). This results to the formation of new vessels with radii $r_{sprout}$. The mathematical model initially proposed by Anderson and Chaplain (1998) to describe this scenario using a Hybrid Discrete Continuum (HDC) formulation has been since extensively used with some variations or additions on these main hypotheses (Macklin et al., 2009; McDougall et al., 2006; Plank et al., 2004; Stéphanou et al., 2006). The principle of the HDC model is to couple continuum equations with a cellular automaton so as to be able to describe the individual and specific characters of the cells. This provides a finer description of localised events of cell–cell interaction and cell migration (see appendix Appendix A and for full details of the HDC model as it is implemented see Stéphanou et al., 2006). With such a description, the displacement of the endothelial cells $n_{i,j}$ in the tissue, discretised using the 2D-grid (Fig. 4), is ruled by a set of probabilities conditioned by the local environmental conditions as follows:

$$n_{i,j}^{q+1}=n_{i,j}^q P_0+n_{i+1,j}^q P_1+n_{i-1,j}^q P_2+n_{i,j+1}^q P_3+n_{i,j-1}^q P_4 \tag{3}$$

where the position of the cell $n_{i,j}$ at discrete time $q+1$ depends on the probabilities $P_0$ to $P_4$ for the cell at previous time $q$ to remain where it stands or to move in one of the four directions of the 2D-grid (right, left, down or up respectively). These probabilities are related to the local gradients of VEGF denoted $V(x, y, t)$ and matrix fibres (such as fibronectin) denoted $f(x, y, t)$. Obviously, the cell cannot migrate backward since the space is already occupied by the newly formed vessel. The cell displacement in the associated direction $k$ is therefore not possible and not allowed by setting the related probability to $P_k=0$.

VEGF is produced by the hypoxic tumour cells and its evolution is given by Eq. (1). The matrix fibres evolution is given by the following set of partial differential equations:

$$\frac{\partial f}{\partial t}=\beta n_{i,j}-\gamma m f, \tag{4}$$

$$\frac{\partial m}{\partial t}=\alpha n_{i,j}+D\nabla^2 m-\nu m, \tag{5}$$

where $\beta$ is the production rate of fibres by one endothelial tip cell of a sprout $n_{i,j}$ ($n_{i,j}$ is a Boolean variable with value 1 or 0, to materialise the existence or absence of a sprout tip at the corresponding grid node respectively). Endothelial cells simultaneously produce, with rate $\alpha$, a matrix degrading enzyme $m(x, y, t)$ (metalloproteinase) to ease the migration through the tissue. The matrix is degraded by the enzyme with rate $\gamma$. The enzyme diffuses in the tissue with diffusion coefficient $D$ and decays with rate $\nu$ (details on this model can be found in Stéphanou et al. (2006) and McDougall et al. (2010)). The initial distribution of matrix fibres forming the tissue, that is before angiogenesis starts, is assumed to be homogeneous with concentration value $f(x, y, 0)=f_0$.

*Vessels collapse*

Inside the tumour, endothelial cells of the co-opted vessels express angiopoietin factors, in particular Ang-2 which is known to

perturbe cell–cell and cell matrix connections and is consequently responsible for destabilizing the vessel walls (Holash et al., 1999; Plank et al., 2004). Moreover, tumour cells are also known to produce some matrix degrading enzymes (metalloproteases and urokinase plasminogen activators) which also contribute in vessels regression (Macklin et al., 2009). Pericyte coverage is thus damaged and vessels in contact with tumour cells are more fragile. In particular, when the wall shear stress $\tau_w$ is too low, vessels tend to collapse. In our computational model, we assume that if the wall shear stress falls below a threshold value $\tau^{coll}$, that is $\tau_w < \tau^{coll}$ then the vessel has a mean survival time $t_{EC}^{(death)}$ (Welter et al., 2009). The expression of $\tau_w$ is given next.

*Oxygen diffusion*

The oxygen distribution in the tumour strongly impacts on the tumour cells by affecting tumour cells states (proliferative, quiescent, necrotic). Oxygen molecules are transported by the red blood cells (RBCs) through the vessels. These cells can only circulate in vessels with a radius ≥4 μm. From the hematocrit, which is the proportion of blood volume occupied by circulating cells in the plasma (where the RBCs represent the biggest fraction), the amount of oxygen in the tissue can be evaluated. The hematocrit will be measured directly in microvessels in future studies using a multizoom microscope.

*Blood transport in vessels*

RBCs in each vessel section of the network are transported at the speed of the blood flow $Q$. RBCs reaching each node of the vascular network are distributed in the vessels with outgoing amount proportional to the blood flow in each vessel. Newly generated vessels are unperfused and without RBCs until their tips merge with existing vessels. In perfused vessels, the blood flow obeys the Poiseuille's law. It depends on the vessel radius $R$ and length $L$. It also linearly depends on the pressure drop $\Delta P$ between the vessels extremities and on the blood viscosity. The blood being a bi-phasic medium with a fluid phase for the plasma and a solid phase comprising the red blood cells, its viscosity $\mu$ is not constant and varies with the hematocrit ($H_D$) and with the radius ($R$) of the vessel where it flows. The resulting blood flow in each vessel is thus given by:

$$Q = \frac{\pi R^4}{8L} \frac{\Delta P}{\mu(H_D, R)} \tag{6}$$

The function $\mu(H_D, R)$ used to describe the apparent viscous behaviour of the blood has been derived from experimental measurements (Pries et al., 1994). The interested reader is referred to this study for details. This function has been extensively used in mathematical models and is also detailed in the following contributions (Alarcòn et al., 2003; McDougall et al., 2006, 2010; Owen et al., 2009; Stéphanou et al., 2006; Wu et al., 2009).

Blood flow is then computed on the basis of mass conservation at each node of the network. This means that the sum of the flows at each node $(i, j)$ of the 2D-grid equals to zero. This procedure leads to a set of linear equations for the nodal pressures ($P$) which is numerically solved using a Successive Over-Relaxation (SOR) method. Once nodal pressures are computed, the flows in each vessel can be deduced from Eq. (6). The wall shear stress can easily be calculated from the blood flow and is used to determine which vessels will collapse in the tumour.

$$\tau_w = \frac{4\ \mu(H_D, R)}{\pi R^3} |Q| \tag{7}$$

*Oxygen transport from the vessels to the tissue*

Oxygen diffuses through the vessel walls and into the tissue where it is consumed by the tissue cells. The convective flow due to the pressure difference between the interior of the vessels and the interstitial space is neglected. The spatial profile of oxygen concentration is given from the following partial differential equation:

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D_{O_2} \nabla^2 C + \tilde{C}_{emit} - \tilde{C}_{cons} \tag{8}$$

where $C$ is the concentration of oxygen in the tissue, $\tilde{C}_{emit}$ is the rate of oxygen passing through the vessel walls (emission rate of oxygen into the tissue) and $\tilde{C}_{cons}$ is the rate of oxygen consumed by the tissue cells where each tissue cell occupies one element $e$ of the grid in the discrete model (Fig. 4). $\tilde{C}_{emit}$ depends on the concentration difference of oxygen between the interior of the vessel $H_v$ (assumed proportional to the hematocrit) and the exterior $C(e)$ (Alarcòn et al., 2003). It also depends on the permeability of the vessel walls $\gamma_p$. For each element $e$ of the simulation grid, half of the oxygen contribution of the n blood vessels $v$ adjacent to $e$ are added ($n_{max} = 4$). $\tilde{C}_{emit}(e)$ is thus evaluated from:

$$\tilde{C}_{emit}(e) = \frac{\gamma_p}{2} \sum_{v=1}^{n} (H_v - C(e)) \tag{9}$$

Although the oxygen tends to decrease as it is distributed throughout the network, we here consider that this decrease is negligible. It is therefore assumed that the total amount of oxygen carried through the vessels is not limiting. The consumption rate of oxygen by the tissue cells depends on the type of cells and is linearly dependent upon the oxygen concentration $C$ similarly to Alarcòn et al. (2003):

$$\tilde{C}_{cons} = \begin{cases} k_N C & \text{for normal cells} \\ k_P C & \text{for tumour proliferative cells} \\ k_Q C & \text{for tumour quiescent cells} \\ 0 & \text{for tumour necrotic and apoptotic cells} \end{cases} \tag{10}$$

with $k_P > k_N > k_Q$.

## Results

*Initial conditions*

The microvascular network is extracted from experimental images acquired in the dorsal skinfold chamber. Blood pressures in the network have been defined for each boundary nodes of the network and are based on two constraints. First, the maximum pressure drops have to be located in the main vessels of the network. Second this maximum pressure drop should not exceed 10000 Pa to remain realistic. The radius of the initial tumour is 100 μm. The tumour is positioned at the same location than in experiments. It is assumed that all tumour cells are proliferative with a random age in the cell cycle from 0 to 24 h. VEGF is assumed to be produced only by quiescent cells. Consequently, the initial VEGF concentration is set to 0. The density of matrix fibres in the tissue is initially homogeneous. The initial oxygen concentration in the tissue is derived from the hematocrit, that is the rate of red blood cells, that we imposed in the main vessels. We set its value to 0.45 which corresponds to the normal physiological condition. The initial concentration field of oxygen, before tumour implantation, results from the diffusion through the healthy tissue of the oxygen carried by the vessels. This diffusion process is simulated from an initial state without oxygen in the tissue until a stable oxygen field is reached. The resulting oxygen field (corresponding to time 0 in the simulations) evidently depends on the submicrovascular network (SMVN). The SMVN is defined as the regular pre-existing and healthy microvascular network that ensures physiological oxygenation of the tissue. Experimental observations with higher magnification reveal its presence (Fig. 6). It appears as a regular network of small vessels with approximate diameters of 8 μm. The interdistance measured between the vessels in a same plane is around 100 μm. This corresponds to data from the literature (Secomb et al., 2004;

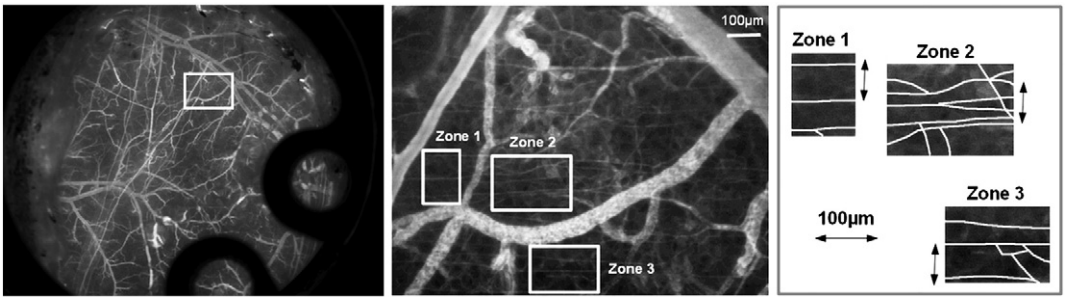



**Fig. 6.** Visualisation of the healthy skin vasculature of a mouse at different scales. The picture on the left shows a macroscopic view of the vasculature (size of the window frame is 1 cm). A region is selected in this picture and is shown at a higher resolution (middle picture). Capillaries of the SMVN can be seen. Three zones are selected and the capillaries are highlighted in each zone in the right panel. The average distance between the capillaries is around 100 µm.

Welter et al., 2008, 2009). We will consider two cases in the simulations, one without the SMVN, related to a weakly oxygenated tissue, and the other one integrating this SMVN (in addition to the microvascular network extracted from the experimental images).

*Model parameter values*

Oxygen permeability and consumption parameters are set so that the oxygen provided by the vessels diffuse with a limited distance of 100 µm around them (Secomb et al., 2004). Matrix degrading enzymes diffusion and matrix fibres degradation parameters were estimated in order to obtain a matrix fibre degradation of about 20%. Vessels with low wall shear stress (below $\tau^{(coll)}$) tend to collapse in the tumour. The $\tau^{(coll)}$ value is fixed so that vessel collapse is just sufficient to induce tumour hypoxia in the simulations with SMVN. This choice was done in order to favour selective collapse in the microvascular network. Unstable vessels mean survival time was chosen relatively high for the same reason.

**Table 2**
Parameter values.

| Parameter | Unit | Value | Significance | Source |
|---|---|---|---|---|
| *Vascular network and blood pressure* | | | | |
| $r_{sprout}$ | µm | 6 | Radius of sprouting vessels | Stéphanou et al. (2006) |
| $t_{EC}^{(switch)}$ | h | 24 | Time limit for vessel tumour sprouting | Welter et al. (2009) |
| $t_{EC}^{(death)}$ | h | 60 | Mean survival time of unstable segment | (2) |
| $\tau^{(coll)}$ | Pa | 4 | Wall shear stress threshold for vessel collapse | (2) |
| $P_{S_1}$ | Pa | 1000 | Pressure at the boundary node of $S_1$ | (2) |
| $P_{S_3}$ | Pa | 10,000 | Pressure at the boundary node of $S_3$ | (2) |
| $P_{S_7}$ | Pa | 100 | Pressure at the boundary node of $S_7$ | (2) |
| $P_{S_8}$ | Pa | 4000 | Pressure at the boundary node of $S_8$ | (2) |
| $P_{S_{10}}$ | Pa | 8500 | Pressure at the boundary node of $S_{10}$ | (2) |
| $P_{S_{11}}$ | Pa | 9000 | Pressure at the boundary node of $S_{11}$ | (2) |
| *Matrix fibre and matrix degrading enzyme* | | | | |
| $D$ | $mm^2 \cdot h^{-1}$ | $10.4 \times 10^{-3}$ | Enzyme diffusion coefficient | (2) |
| $\beta$ | $h^{-1}$ | 0 | Fibre production rate by endothelial cells | (2) |
| $\gamma$ | $h^{-1}$ | $2.61 \times 10^{-4}$ | Fibre degradation rate by the enzymes | (2) |
| $\alpha$ | $h^{-1}$ | 130 | Enzyme production rate by an endothelial tip cell | (2) |
| $\upsilon$ | $h^{-1}$ | 1.30 | Enzyme spontaneous degradation rate | (2) |
| *VEGF* | | | | |
| $D_V$ | $mm^2 \cdot h^{-1}$ | 0.104 | VEGF diffusion coefficient | Stéphanou et al.(2005) |
| $\lambda$ | $h^{-1}$ | 0.650 | Spontaneous degradation rate of VEGF | Bauer et al.(2007) |
| $\eta$ | $h^{-1}$ | 1 | Uptake rate of VEGF by endothelial cells | Bauer et al.(2007) |
| $V_{max}$ | $h^{-1}$ | 0.06 | Maximum VEGF absorption by a portion of vessel | Bauer et al.(2007) |
| $V_{emit}$ | $n.u \cdot s^{-1}$ | 0.0145 | VEGF emission rate by a quiescent cell | – |
| *Oxygen* | | | | |
| $D_{O_2}$ | $mm^2 \cdot s^{-1}$ | $2.41 \times 10^{-3}$ | Oxygen diffusion coefficient | Goldman and Popel(2000) |
| $\gamma_p$ | $s^{-1}$ | $2.26 \times 10^{-7}$ | Permeability to oxygen of the vessel walls | (2) |
| $k_Q$ | $s^{-1}$ | 1 | Consumption rate of oxygen for quiescent tumour cells | (2) |
| $k_P$ | $s^{-1}$ | $2 \times k_Q$ | Consumption rate of oxygen for proliferative tumour cells | Alarcòn et al.(2003) |
| $k_N$ | $s^{-1}$ | $1.57 \times k_Q$ | Consumption rate of oxygen for normal cells | Alarcòn et al.(2003) |
| *Tumour cells* | | | | |
| $\alpha p$ | | 0.25 | Oxygen threshold for proliferation | (2) |
| $\alpha q$ | | 0 or $\alpha_p/10$ | Oxygen threshold for quiescence without or with SMVN | See "Cell resistance to hypoxia" |
| $T_{limit}$ | days | 10 | Time after which a hypoxic cell dies by necrosis | Pons-Salort et al.(2012) |
| $t_{apop}$ | h | 5 | Time for macrophages cleaning of dead cells | Pons-Salort et al.(2012) |
| $t_{G_1}$ | h | 10 | $G_1$ phase duration | Pluznik et al.(1984) |
| $t_{cycle}$ | h | [20–23] | Cell cycle duration | Tyson and Novak(2008) |

[1]Values chosen to favour selective collapse of the vessels in the tumour.
[2]Pressures are fixed at the boundaries based on two constraints: the maximum pressure drop should be located in the main vessels and should not exceed 10,000 Pa.
[3]Evaluated from Stéphanou et al. (2006) in order to obtain a matrix fibre degradation of about 20% in the tissue.
[4]Set so that oxygen can only diffuse in the limited distance of 100 µm.
[5]Correspond to the oxygen level in a 50 µm neighbourhood of a vessel.

All parameter values regarding initial conditions, VEGF and oxygen diffusion, tumour growth and vascular evolution are given in Tables 2 and 3.

In the following, we first start by presenting numerical simulations which compare tumour growth with and without the SMVN, in order to determine the impact of the SMVN on tumour evolution. These simulations are based on the experimentally observed initial networks of main vessels presented in Fig. 1. We then have a closer look on the parameters that have a strong impact on the tumour evolution. They are specifically considered in order to evaluate their action on tumour growth, so that the model can be adapted to a specific tumour in the future.

*Influence of the SMVN on tumour growth*

*Weakly vascularised tissue*

Fig. 7 presents the simulation of tumour growth where only the main vessels, extracted from the experimental image (Fig. 2), are taken into account. Angiogenesis and tumour cell states (Fig. 7, line 1), oxygen concentration (Fig. 7, line 2), matrix fibre density (Fig. 7, line 3) and VEGF concentration (Fig. 7, line 4) are followed over 70 days.

After 10 days, we observe that the tumour is already vascularised. Since the tissue is initially poorly oxygenated, proliferative tumour cells rapidly become quiescent inducing VEGF release. The main vessels located nearer to the tumour are hit first by the VEGF and start sprouting and degrading the matrix fibre in the migration process to rapidly reach the tumour.

After 30 days, a necrotic core is visible surrounded by quiescent and proliferative cells which actively contribute in oxygen consumption. Some vessels perfusing the tumour mass collapse if blood perfusion (wall shear stress) is too low. This leads to the apparition of isolated necrotic clusters and heterogeneous oxygen distribution in the tumour mass visible 70 days later.

*Homogeneously vascularised tissue*

The SMVN is introduced in the simulation as the regular grid with the properties defined in the initial conditions. As previously, angiogenesis and tumour cell states (Fig. 8, line 1), oxygen concentration (Fig. 8, line 2), matrix fibres density (Fig. 8, line 3) and VEGF concentration (Fig. 8, line 4) are followed over 70 days.

The presence of the SMVN allows the tissue to be homogeneously oxygenated. Consequently the proliferative tumour cells introduced do not immediately become quiescent as in the previous case, but can duplicate. However, the small tumour mass, as it starts to grow during the first few days, induces the rapid collapse of the submicrovascular vessels which are located where the tumour is developing. The first quiescent cells appear and produce the VEGF signal which promotes angiogenesis. The new vessels germinate from the SMVN first. An angiogenic ring spreads with time as the tumour grows thus maintaining a uniform oxygen field around the tumour. A thin proliferative ring of tumour cells at the periphery is enough to ensure the tumour growth. Quiescent cells form a second wider ring located beneath the proliferative one and ensure the steady diffusion of VEGF. A large necrotic core is visible at the centre of the tumour after 30 days. This necrotic core represents the biggest part of the tumour mass after 70 days. Matrix fibres degradation is due to the endothelial cells as they migrate to form new vessels. We note that the degradation pattern gives an indication on the speed of the angiogenic process since higher degradation corresponds to slow invading cells which have more time to degrade the matrix.

**Table 3**
Vessel sprouting ability depending on VEGF concentration.

| VEGF quantity (normalised unit) in a grid element | Sprouting probability per day |
|---|---|
| [0.005–0.1] | 0.0025 |
| [0.1–0.25] | 0.007 |
| [0.25–0.5] | 0.015 |
| >0.5 | 0.025 |

*Comparison of the two cases*

Figs. 7 and 8 show qualitative differences on tumour growth without and with the SMVN. We now study these difference more quantitatively with comparisons of (i) the tumour growth rate, (ii) the tumour cell state evolution and (iii) the evolution of the VEGF concentration.

*Tumour growth rate*

Figs. 9a and b compare respectively the evolutions with time of the tumour cell quantities and of the tumour radius for the two tissue cases (*i.e.* with or without SMVN).

The growth of the tumour is quadratic (Fig. 9a). It is faster when the SMVN is considered with 40% more tumour cells after 70 days. The growth rates measured from the expansion of the tumour radius plotted in Fig. 9b give 12 μm/day for the case without SMVN and 14 μm/day for the case with SMVN. The faster growth is directly due to the presence of oxygen delivered by the SMVN which maintains steady cells proliferation.

*Tumour cell state evolution*

Fig. 10 compares the evolutions with time of the quantities of the tumour cells for each cell state and for each tissue case, without SMVN (Fig. 10a) and with SMVN (Fig. 10b).

In the case without SMVN (Fig. 10a), the population of proliferative cells dominates over the other cell types. After 70 days, there are three times more proliferative cells than quiescent or necrotic cells. The proliferative cell quantity increases proportionally to the surface (quadratically) contrary to the other cell types which increase proportionally to the radius (linearly).

In the case with SMVN (Fig. 10b), the appearance of quiescent and necrotic cells are delayed since it takes about a week for the proliferative cells to deplete oxygen and become quiescent and another week for the quiescent cells to die through necrosis due to severe or prolonged hypoxia. The amount of necrotic cells rapidly takes over after 30 days. Contrary to the previous case (without SMVN) the quantity of proliferative cells evolves linearly whereas the quantity of necrotic cells evolves quadratically to become three times higher than the proliferative or the quiescent cell quantity after 70 days.

*Evolution of the VEGF concentration*

VEGF is released by hypoxic cells to recruit a vascular network which will provide the missing oxygen. In this model we assumed that only quiescent tumour cells release VEGF.

The evolution of the total VEGF quantity in the simulation domain (Fig. 11b) thus follows the evolution of the quiescent cells population (Fig. 11a). These evolutions are compared for the two tissue cases, that is with or without SMVN. The evolution of the VEGF quantity is smoother than the evolution of the quiescent cells (Fig. 11b). The difference is due to VEGF spontaneous degradation and to its consumption by endothelial cells with a maximum uptake limited to $V_{max}$.

Fig. 11c shows the VEGF evolution between two consecutive days, in other words the daily VEGF evolution. VEGF consumption can be higher than its production. However, this is observed only for the tissue case without SMVN. This event is correlated with decreasing phases of the quiescent cells population (Fig. 11a).

Fig. 11d shows the evolution of the maximum VEGF quantity in the tissue. Two very different evolution profiles are observed for the two tissue cases. In the case with SMVN, the maximum VEGF quantity increases rapidly to reach a plateau in 20 days. This is due to the homogeneous ring shape distribution of the quiescent cells. At the opposite, in the case without SMVN, the quiescent cells are inhomogeneously localised and form isolated clusters induced by the collapse of vessels in the tumour. These clusters produce outbursts of VEGF which explain the perturbed evolution of the maximum VEGF quantity. We note that

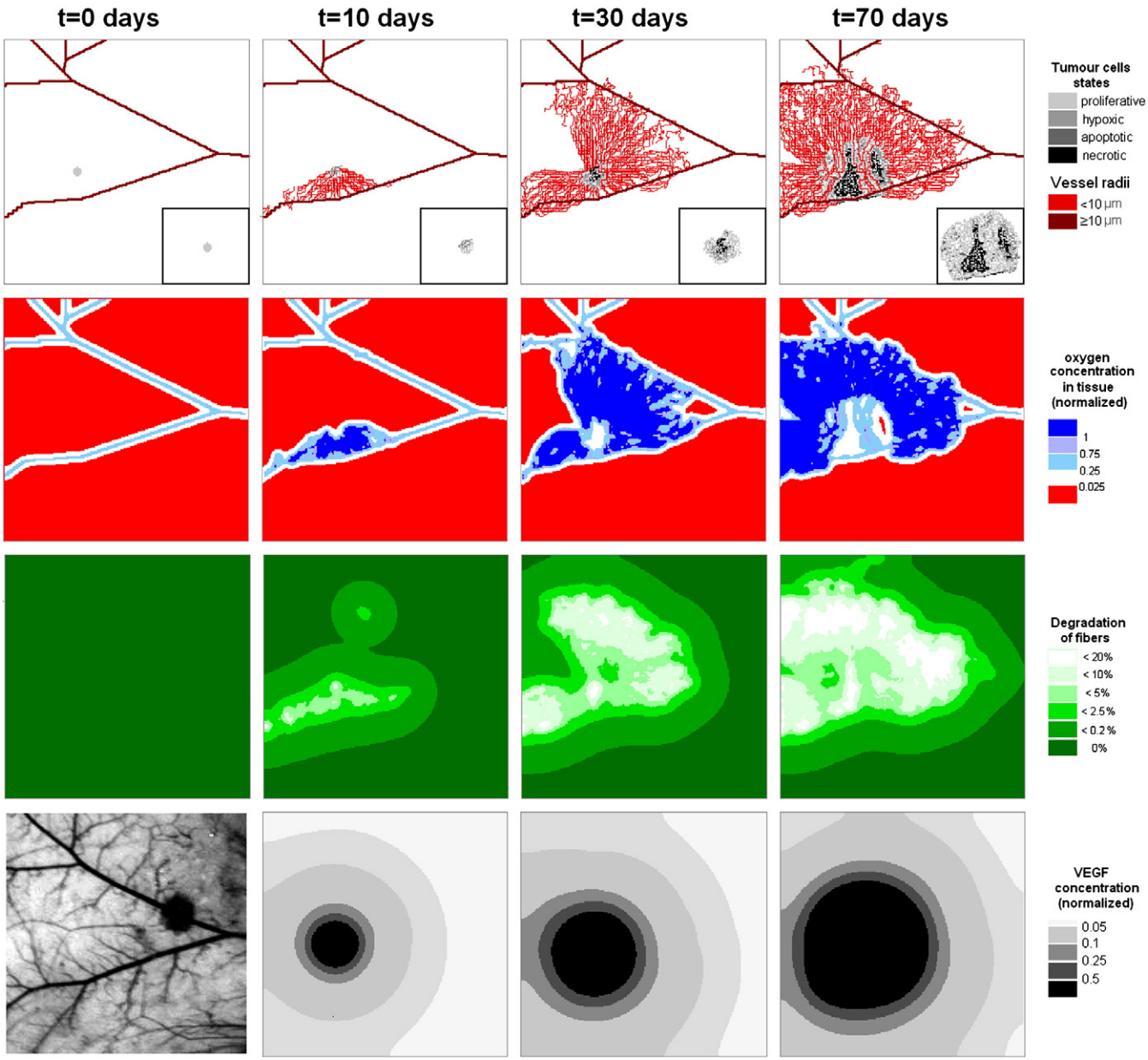



**Fig. 7.** Simulation results of the tumour development in the dorsal chamber for the tissue case without SMVN. The tumour evolution is followed over 70 days. Top to bottom: vascular network and tumour, oxygen concentration, degradation of matrix fibres, VEGF concentration, corresponding experimental vascular network (picture of last line).

one outburst of VEGF occurs a time $t = 48$ days in the tissue case with SMVN. It is due to the collapse of one of the main vessel of the vasculature (last picture of Fig. 8, line 1) which led to the sudden decrease of oxygen.

The VEGF evolution is thus much steadier with the SMVN. The effects of local "accidents", such as the local disruption of a main vessel, are quickly absorbed by the presence of the SMVN which tends to homogenise the oxygen conditions. At the opposite, they are amplified when this SMVN is absent.

*Impact of some key parameters on tumour growth*

The parameters taken to run the simulations are not specific of a particular tumour type. Among the parameters that defined a tumour type, there is the tumour cell ability to resist to the lack of oxygen. In this section, the impact of this key parameter for the tumour evolution is evaluated so as to explore a broader spectrum of tumour growth behaviours that can be encountered. This will be useful to adapt the model to a specific tumour type at a later stage.

We also evaluate a parameter related to the vasculature with its sprouting ability. The idea is to determine whether the increase of the sprouting ability in the case without the SMVN can compensate its absence regarding tumour growth.

*Cell resistance to hypoxia*

Tumour cells have the ability to survive under low oxygen concentrations. When the level of oxygen falls below the proliferation threshold $\alpha_p$, proliferative cells switch to a quiescent state characterised by a reduced metabolism with reduced oxygen consumption. If the oxygen level further decreases, below the quiescent threshold $\alpha_q$, quiescent cells die of severe hypoxia. However these thresholds vary depending on the tumour cell phenotype. The most aggressive phenotypes are characterised by a greater resistance to hypoxia, where the cells can survive with extremely low level of oxygen.

For the two considered tissue cases, the threshold $\alpha_q$ between quiescence and necrosis taken for the simulations is different. In the weakly vascularised tissue (*i.e.* without SMVN), the tumour cells necessarily

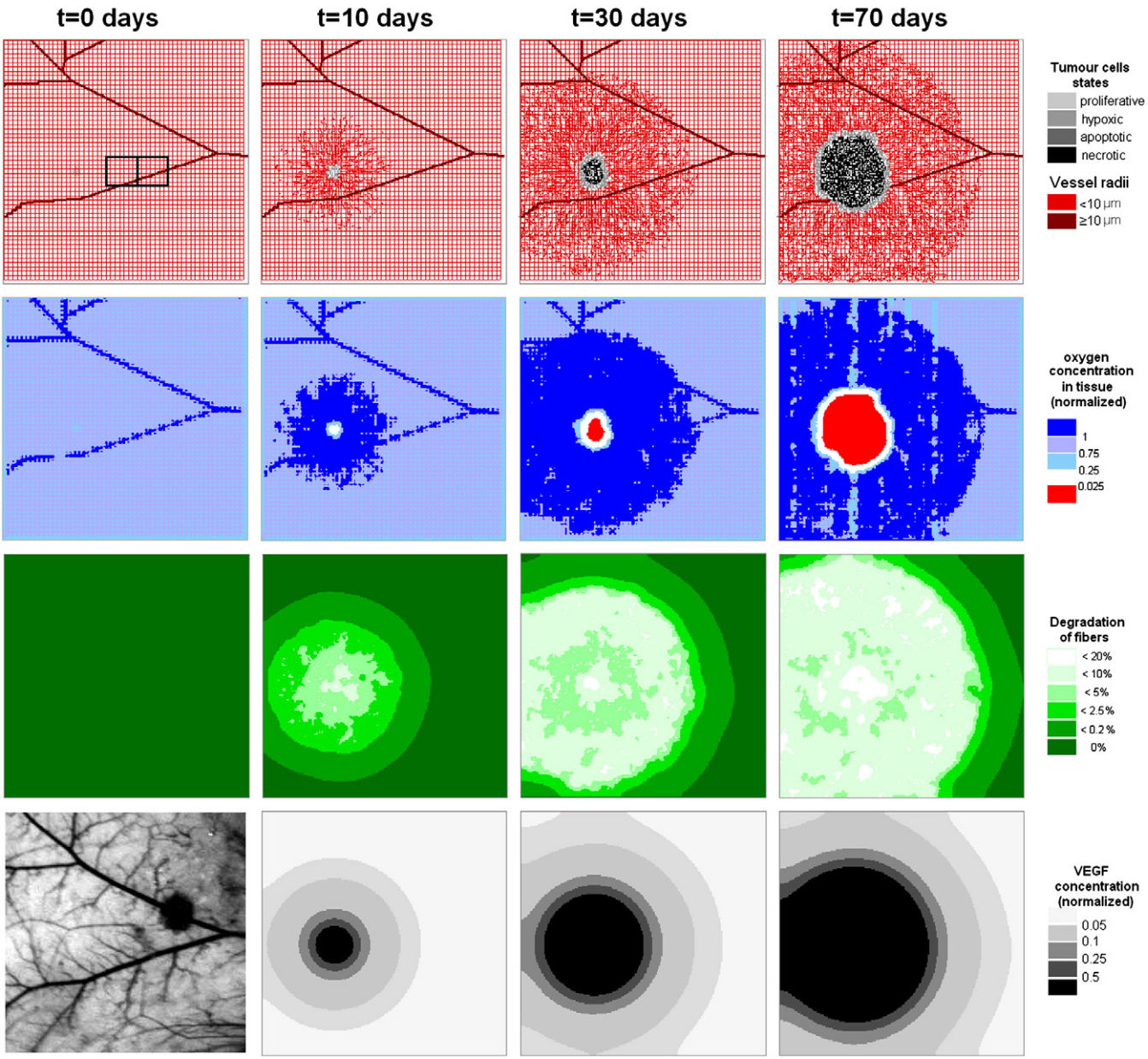



**Fig. 8.** Simulation results of the tumour development in the dorsal chamber for the tissue case with SMVN. The tumour evolution is followed over 70 days. Top to bottom: vascular network and tumour, oxygen concentration, degradation of matrix fibres, VEGF concentration, corresponding experimental vascular network (picture of last line). Two small zones are defined in the first picture to follow the evolution of the vascular density. From left to right: zone1 and zone2.

need to be more resistant for the tumour to start developing. Indeed, in the model, proliferative tumour cells are initially implanted at some distance from a feeding vessel where the oxygen concentration is very low. Consequently, if the threshold $\alpha_q$ is too high, the proliferative cells directly die through necrosis. This requires to lower $\alpha_q$ below the concentration level to which the implanted proliferative cells are initially exposed to. Since it is very low (below 0.025), $\alpha_q$ has been fixed to 0. This means that the tumour cells are highly resistant and they can only die when there is no oxygen at all (although they also die through apoptosis when space is lacking for cell division). In the other tissue case, where the SMVN is present, the oxygen level in the tissue is much higher and the value of $\alpha_q$ can be elevated. It was then fixed to $\alpha_p/10$ as in Welter et al. (2008). Tumour cells are less resistant in that case.

In the following simulation results, variations in the proliferative threshold $\alpha_p$ were considered. The different thresholds examined are presented in Fig. 12 using the same colour code for oxygen as in the earlier simulations. Figs. 12a–b show the evolution over time of the quantity of living tumour cells (proliferative and quiescent) for the two tissue cases (without and with SMVN). The ratios for each cell state, proliferative, quiescent and necrotic are plotted separately in Figs. 12c–d, e–f and g–h respectively.

Only when $\alpha_p$ is very high (above 2.5), meaning that the tumour cells need a lot of oxygen to remain proliferative, the population of living cells can be totally eradicated (Figs. 12a–b). In both tissue case, the proliferative cells implanted immediately become quiescent (Figs. 12c–d). They can only survive in this state for a limited time of 10 days before dying through necrosis (Figs. 12e–h). In ten days, the vascular network recruited could not cover the oxygen needs of the quiescent cell population to bring it back to proliferation and the cells eventually die. We note that this oxygen threshold was deliberately chosen to be above the oxygen carrying capacity of the vascular network to illustrate this extreme situation.

At the other extreme, when $\alpha_p$ is very low ($\alpha_p = 0.0025$), which corresponds to very resistant cells able to proliferate under low

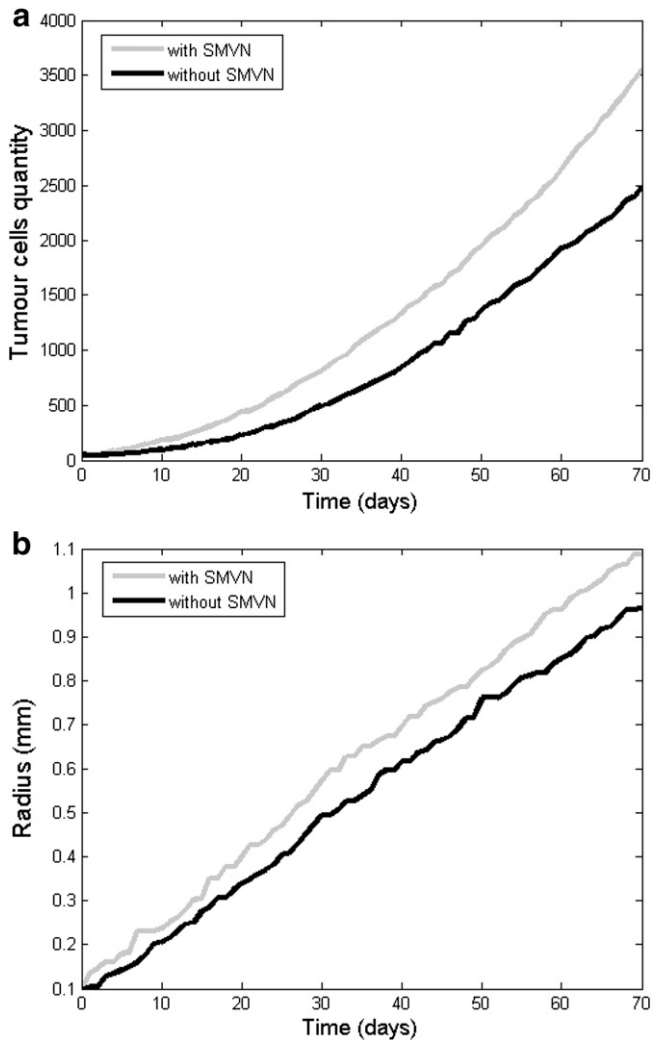



**Fig. 9.** Evolutions of the tumour cell quantity (a) and of the tumour radius (b) over time.

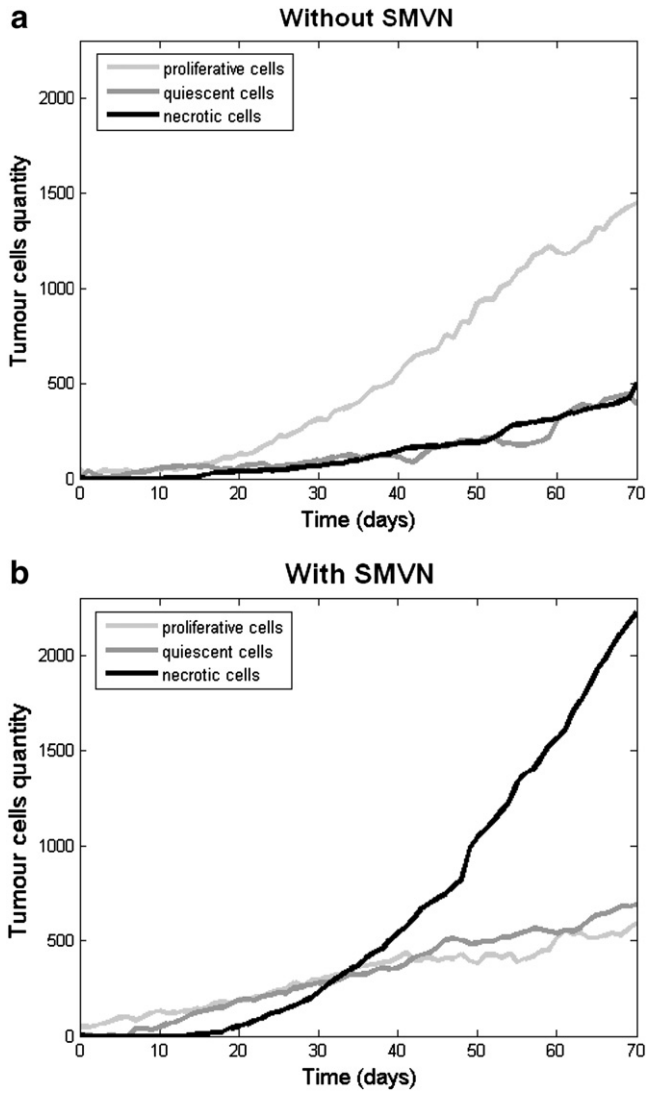



**Fig. 10.** Cell quantity evolution with time for each tumour cell's state without (a) and with (b) SMVN.

oxygen conditions, no necrosis is observed (Figs. 12g–h). In the presence of the SMVN, the cells do not even become quiescent (Fig. 12f), they remain proliferative and can only die through apoptosis when space is lacking for cell division (Fig. 12d).

For an intermediate proliferative threshold ($\alpha_p = 0.25$), which corresponds to an oxygen level close to the delivery amount from the neovessels, transitions between the three different cell states occur in both tissue case (with or without SMVN).

*Sprouting ability of the vascular network*

Endothelial cells forming the vessel walls detach and migrate to form some sprouts under the effect of VEGF. We therefore assumed in this model that vessel sprouting occurs with a probability which depends on the VEGF concentration. The reference probability of sprouting ranges from 0.0025 to 0.025 per day for VEGF concentrations ranging from 0.005 to 0.5 nu.day$^{-1}$ (see Table 3). We study here the impact of changes in these probabilities by increasing or decreasing them by a factor 10.

The increased probability of vessel sprouting is expected to induce faster vascular growth and higher vessels density. In order to measure these two effects an observation window, adjacent to the tumour (at time $t = 30$ days), is defined (Fig. 8). The total cumulated length of vessels measured in this window, for different times, gives the evolution of the vessels density. Displacement of the observation window, further away from the tumour, allows one to evaluate the time it takes for the new vessels to develop in this zone. We can thus estimate the propagation rate of angiogenesis.

Fig. 13 compares the tissue cases without and with SMVN. When the SMVN is present, angiogenesis is delayed. Whereas the first sprouts appear in a few days without SMVN, it takes about a week for the SMVN to start sprouting. The existing vasculature slows down the occurrence of hypoxia, that is the signal which triggers vascular growth.

For the highest sprouting probability (f = 10), the vessel density (observed in zone1) saturates in about 10 days after angiogenesis started from the SMVN, whereas it takes two times longer to reach saturation without the SMVN. Saturation has not yet occurred in zone2 at time $t = 30$ days for the two tissue cases, even for the highest sprouting probability. The propagation rate of angiogenesis, that we expect quicker without SMVN, is not significantly different between the two tissue cases. Angiogenesis even starts developing later when there is no SMVN, later than 10 days for the smallest sprouting probability (f = 0.1 and f = 1), compared to the case with SMVN. Only when the sprouting probability is very high (f = 10), angiogenesis occurs faster when there is no SMVN.

The sprouting probability is "expressed" only when there is VEGF, that is when tumour cells are hypoxic. It therefore takes more time to reach hypoxia when the SMVN is present. However once hypoxia starts, the SMVN which has a higher length of vessels from which

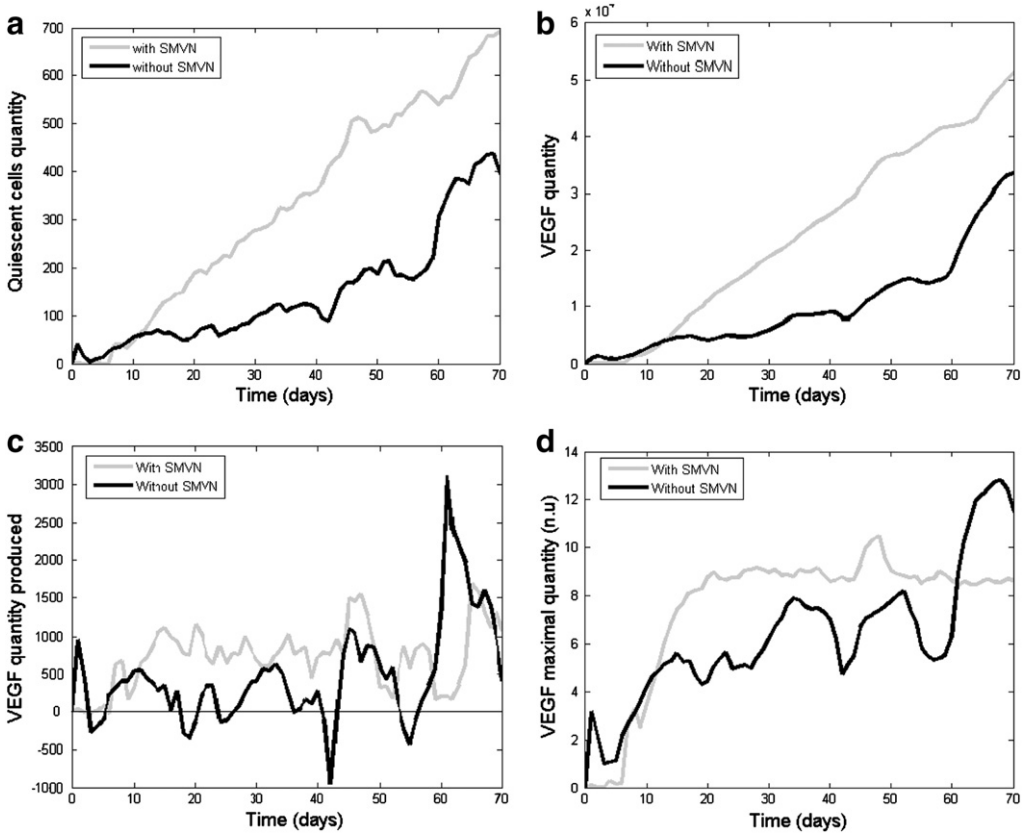



**Fig. 11.** Evolutions with time of the quiescent cell quantity (a), VEGF quantity (b), VEGF quantity per day (c) and maximum VEGF concentration in the tissue.

sprouts can form, can grow quickly. To sum up, the hypoxic signal is long to occur but the response of the tissue is fast thanks to the existing SMVN. In the other tissue case, where there is no SMVN, the hypoxic signal is triggered almost immediately, but the response of the tissue is slow due to the time it takes to grow new vessels from the few existing ones.

The consequence of this effect on the evolution of the living tumour cell quantities is visible in Fig. 14. When the SMVN is present (Fig. 14b), the sprouting probability of the vascular network has no influence on the evolution of the population of tumour cells, since this network is able to adapt instantaneously. In the other hand, when there is no SMVN, the sprouting probability of the vascular network affects the evolution of the tumour cell quantity, where an increase probability of sprouting leads to a faster growth of the tumour cells (Fig. 14a).

## Discussion

The ultimate aim of this work is to produce a computational model to mimic the development of a tumour mass introduced in a dorsal skinfold chamber so as to be able to virtually test a range of therapies. A first step was to assemble the bricks of the model and to define the most pertinent model hypotheses that take into account and match the data that can be obtained from the experimental setup. The question of the SMVN arose from reading the literature of the existing models and from our preliminary experimental observations that could not provide a clear answer. The aim of this contribution was therefore to investigate the necessity of taking this SMVN into account in the computational model, either explicitly, implicitly (by considering indirectly its effects on the oxygen field) or not at all.

We defined the SMVN as the regular pre-existing and healthy microvascular network that ensures physiological oxygenation of the tissue. We characterised this network as a regular grid of capillaries having a diameter of 8 μm and with an interspace distance of 100 μm that we based on our experimental measurements. Those are in agreement with values reported in the literature (Secomb et al., 2004; Welter et al., 2008, 2009). Based on a purely qualitative basis, simulations of angiogenesis realised without taking into account the SMVN are comparable to experimental observations. The simulated vascular networks resemble those obtained in these experiments. However, since the SMVN is not visible at the macroscopic scale, that is at the scale of the dorsal window, it remains difficult to assess its role. To that end, simulations have been realised by systematically comparing two cases, with or without the SMVN that we superimposed to the main vasculature extracted from an experimental case. The aim is then to identify the main differences between the two cases if any. These two cases correspond to a homogeneously or a weakly vascularised tissue respectively.

Our results show that taking into account the SMVN leads to a well structured tumour with a large necrotic core, covered by a ring of quiescent cells and surrounded by a rim of proliferative cells. This hierarchical structure leads to efficient tumour growth, since quiescent cells maintain a stable VEGF signal that allows them to recruit continuously more vessels which ensure the sustained proliferation of the rim cells. In the other case, when the SMVN is not present, a different scenario is observed. The lack of oxygenation in the tissue at the initial stage induces a delayed development of the tumour. Then, the heterogeneous oxygen distribution in the tissue leads to a more anarchic development of the tumour mass due to outbursts of VEGF signals. The tumour is then mainly characterised by the presence of several isolated necrotic clusters of smaller size than in the previous tissue case where the unique necrotic core is big. Whereas the necrotic state is dominating the tumour cell population (after the first month) when the SMVN is present, the proliferative state dominates when the SMVN is absent. Although the tumour grows slowly in this case, it is however more active since most of its mass is alive. Experimental verification is now required to determine which scenario is most valid. For example, immunostaining of the tumour mass to map the distribution of the tumour cell types would be one mean to do this. Tumour cells

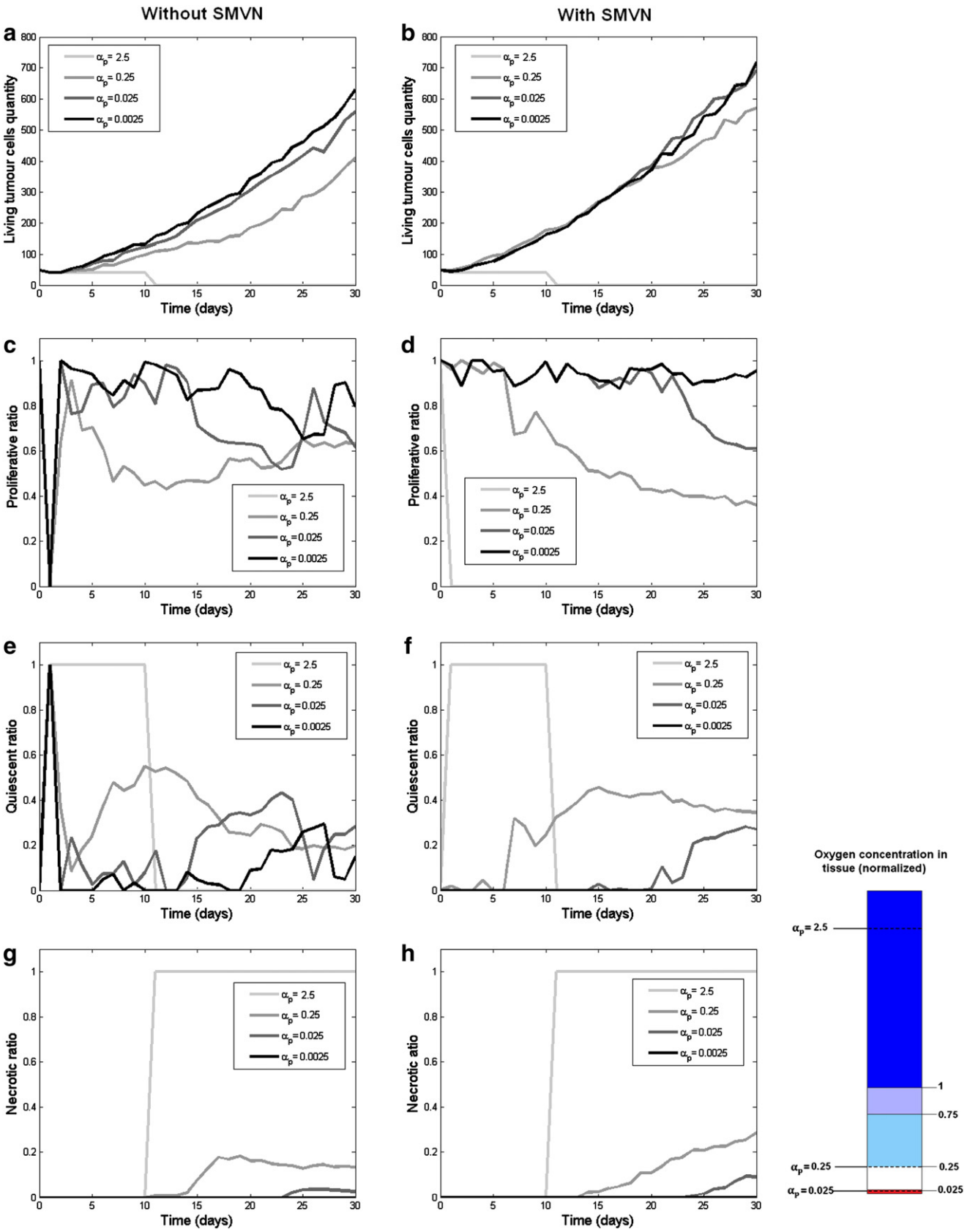



**Fig. 12.** Evolution with time when varying the oxygen threshold $\alpha_p$ of the living tumour cells population (proliferative + quiescent cells) (a, b) as well as proliferative (c, d), quiescent (e, f) and necrotic ratio (g, h) without and with SMVN respectively. Oxygen thresholds between proliferation and quiescence ($\alpha_p$). The scale is normalised from the maximum concentration value of oxygen measured in the tissue before angiogenesis starts.

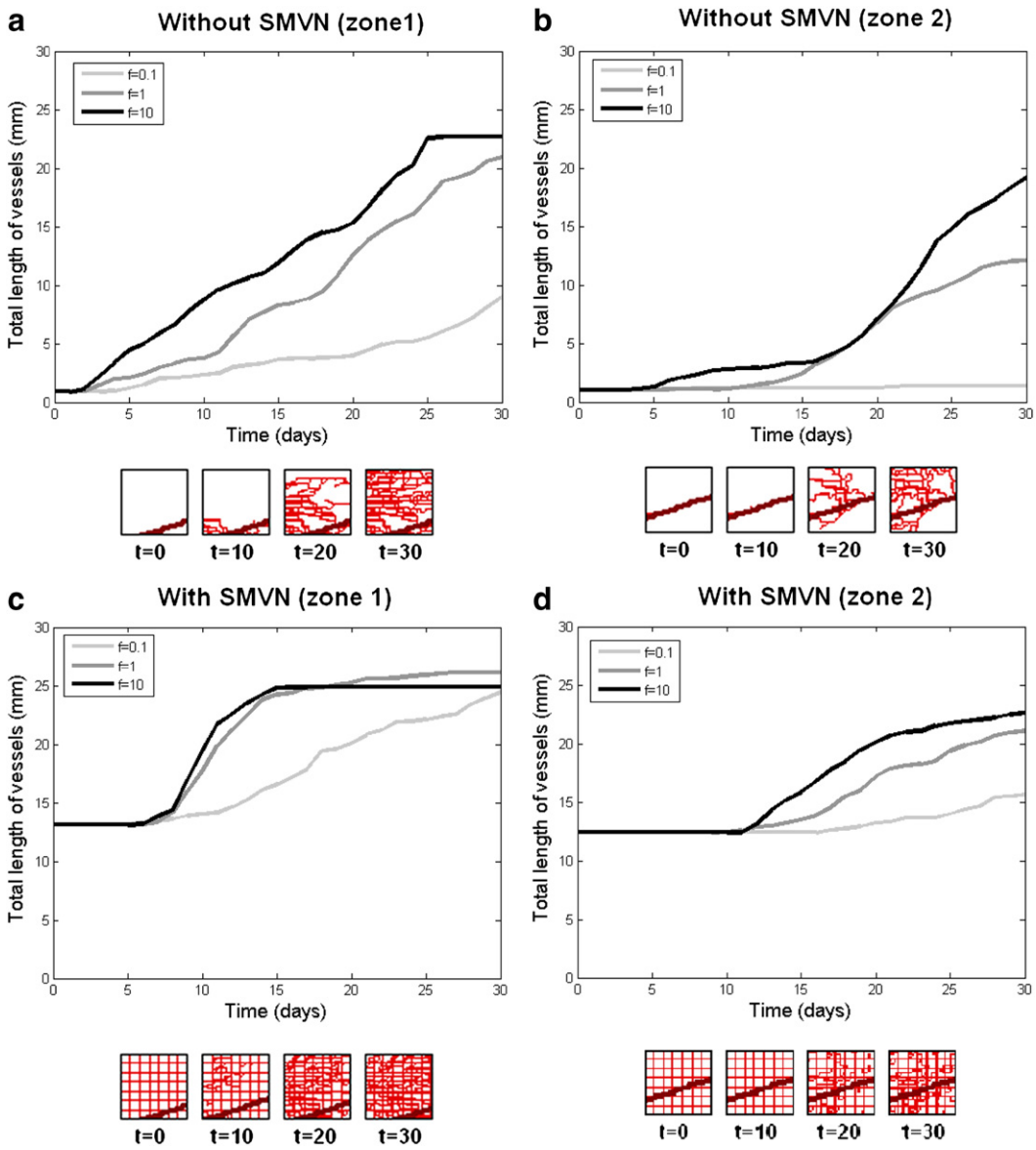



**Fig. 13.** Evolutions with time of the total vessel length in the zones defined in the first picture of Fig. 8, for different values of the sprouting probability of the vascular network modulated by a factor *f*. Case without SMVN in zone1 (a) and zone2 (b). Case with SMVN in zone1 (c) and zone2 (d).

transfected with a fluorescent protein may also be used to follow tumour proliferation in parallel with tumour angiogenesis.

In a second part, parameters that are known to strongly influence the tumour evolution have been tested in the two tissue cases (*i.e.* with or without SMVN). The first parameter concerns the cell capacity to resist to hypoxia. This parameter relates to the definition of the cell phenotype and allows us to consider a broader spectrum of tumour growth behaviours that can be encountered. We observed that for a given phenotype, the tumour evolution remains mainly directed by the intrinsic properties of the cell population rather than on the initial degree of vascularisation of the tumour environment. In other words, higher resistance to hypoxia favours tumour growth whatever the tissue case. We then tested the parameter that regulates the sprouting ability of the vascular network, with the underlying idea that increasing this probability in the case without SMVN would compensate its absence. This was indeed the case concerning the speed of tumour growth that could be increased. In the other hand, alterations of the sprouting capacity have no influence when the SMVN is present due to saturation of the vessels density.

Since well vascularised tissue such as subcutaneous tissue is oxygen consuming, the role of the SMVN is essential in their physiological oxygenation. Indeed, in consequence of the relative low solubility of oxygen in tissue, it can only diffuse in a close neighbourhood around the vessels (20 to 100 μm) if the cell consumption of oxygen is high (Secomb et al., 2004). Consequently, the presence of the SMVN in the model at least implicitly is required unless the tumour is already vascularised at the initial state of the model (Cai et al., in press; Pons-Salort et al., 2012). However, is it necessary to explicitly take it into account in computer simulations in order to realistically reflect the tumour evolution as we observe it in the dorsal skinfold chamber? We could consider not to represent the grid of vessels but to replace it by a physiologic ground level of oxygen throughout the tissue. This solution is not entirely satisfying since it cannot account for the changing conditions in the oxygen field. With a ground level of oxygen, hypoxia cannot be reached and the tumour cannot produce the VEGF that triggers angiogenesis. Consequently, local variations of the oxygen ground level have to be considered through oxygen consumption by at least the tumour cells. But in that case, oxygen needs to

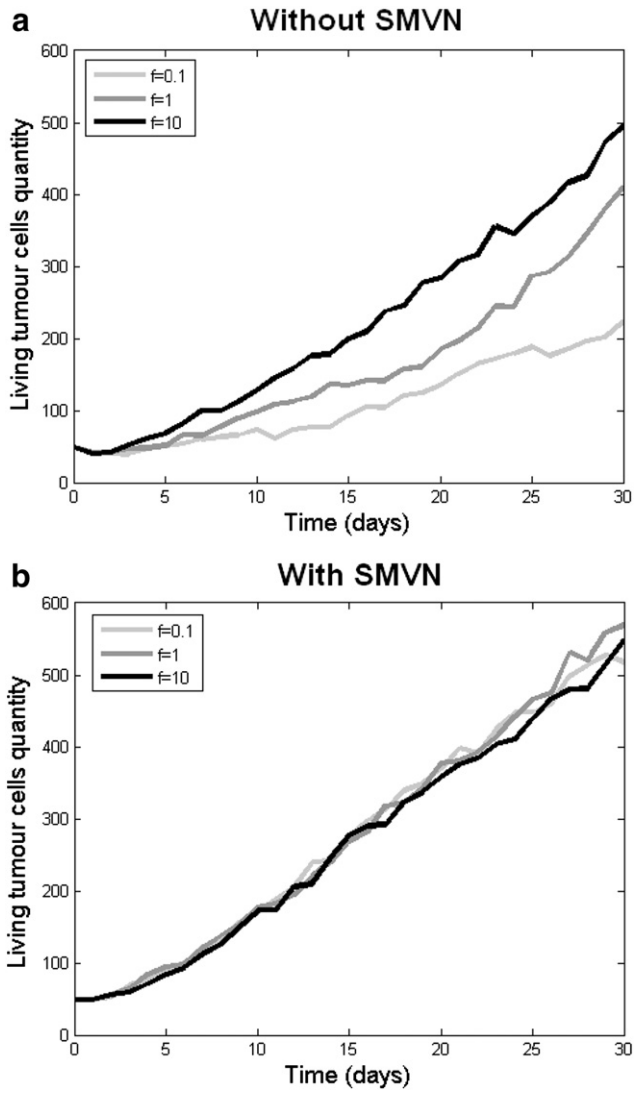



**Fig. 14.** Evolution with time of the living tumour cell population (proliferative + quiescent cells) without SMVN (a) and with SMVN (b) when varying the sprouting probability of the vascular network by a factor *f*.

be regenerated to avoid complete tissue necrosis. Finding the right oxygen balance without the physical presence of the smallest vessel is therefore a complex issue.

Throughout the recent years, various models have been proposed that take more or less explicitly into account the SMVN. Zheng et al. (2005) presented a model where an oxygen basis is provided to the tissue by pre-existing capillaries. Additionally the extra-tumoural tissue is considered as non-oxygen consuming. This model has the benefit to reproduce an oxygen gradient from the tumour periphery to the core compatible with experimental observation. In that case, the SMVN and its evolution with time is non-explicitly considered and the model does not reflect the physical reality of oxygen consumption in healthy tissue. In the paper by Macklin et al. (2009) the SMVN is also considered implicitly in addition to the neovasculature issued from a parent vessel in the model. The degradation of the SMVN is assumed to be related to the presence of matrix degrading enzymes secreted by living tumour cells. This model integrates oxygen consumption of the healthy tissue. It is based on the assumption that neovessels issued from main vessels are stable contrary to the submicrovascular vessels which collapse in the tumour. The major limitation of the implicit integration of the SMVN is that the contribution of these pre-existing capillaries in the angiogenic process is not considered.

There are fewer theoretical models of tumour growth that explicitly integrate the SMVN. Among those models we have been especially interested by the models proposed by Bartha and Rieger (2006), Lee et al. (2006), Paul (2009), Welter et al. (2008). These models integrate the SMVN as a regular square grid formed by vessels having the same radius. Similarly, Welter et al. (2008) use a regular hexagonal pattern. Most models agree with a capillary interdistance of 100 μm and we also took this value. The explicit integration of the SMVN gives access to a better description of the tumour environment to reflect the heterogeneous tumour development. Indeed, capillary degradation is not homogeneous but depends on their stability. Capillaries with higher wall shear stress are not degraded in the tumour, this breaks the symmetry of tumour growth has we could see it in our simulations. More recent works of Welter et al. introduce varying vessels radii. These variations depend on the branching pattern and lead to a more selective collapse of tumour vessels (Welter and Rieger, 2010; Welter et al., 2009). Angiogenesis of the SMVN can also be considered. Recent works integrate this aspect, though in a simplified way since sprouting vessels direction is not influenced by VEGF gradients (Bartha and Rieger, 2006; Welter and Rieger, 2010; Welter et al., 2008, 2009).

*Conclusion*

Taking into account the SMVN is obviously necessary to ensure physiological oxygenation of the tissue. Its explicit integration in theoretical models of tumour growth is relatively recent. These models have highlighted its role. In this paper our aim was to determine whether it was necessary to have such an explicit integration of the SMVN to reproduce tumour growth as we observed it in a dorsal skinfold chamber on the mouse. We reach the conclusion that the physical presence of the smallest vessels is required to account for the rapid response of the vasculature to tumour hypoxia and to inversely reflect hypoxia induced by collapsing vessels. However the integration as a regular grid is not necessarily the best choice. We could incorporate instead a more detailed vascular network, rather than exclusively retaining the main visible vessels at the dorsal window scale such as we did. Moreover, one important aspect that we have not considered is vessel remodelling. Although we considered flow selection on the capillaries, we have not integrated the effects of flow variations induced by vessels collapse. These effects lead to vessels dilation or contraction and reinforce the role of vessels selection. We intend to especially focus on this aspect for an improved version of a computational model of tumour growth. This will be our next step towards our goal of providing a virtual tumour, in the dorsal skinfold chamber context, as a tool to investigate therapy.

## Acknowledgments

This work was funded by CNRS (PEPS-INS2I 2010–2011) and by the French National Network and the Rhône-Alpes Institute for Complex Systems (RNCS and IXXI respectively). A part of the work has been performed on the IBISA platform of intravital microscopy at the Grenoble Institute of Neuroscience.

## Appendix A. Endothelial cell equation in the HDC model

The Hybrid Discrete-Continuum (HDC) model is based on the coupling between continuous and discretised equations the latter provides a mean to approach the individual behaviour of the endothelial cells. The model assumes that endothelial cells migrate through random motility, chemotaxis in response to VEGF gradients ($\nabla V$) and haptotaxis in response to fibronectin gradients ($\nabla f$) in the

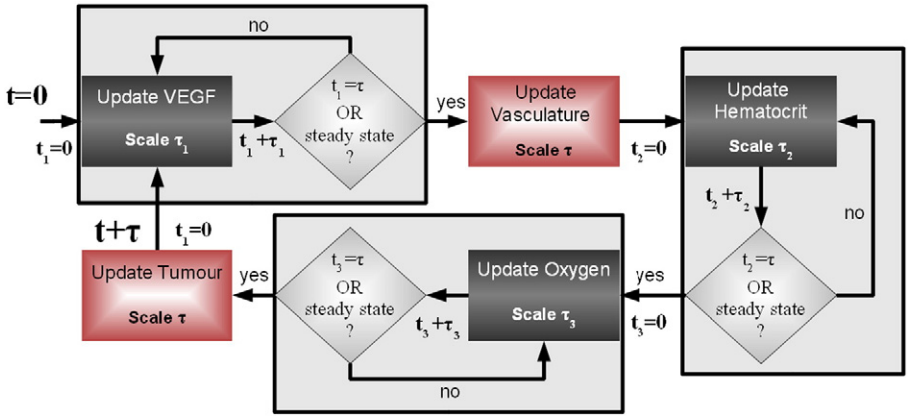



**Fig. 15.** Algorithm for the computational model. $\tau$ is the main time step used for the simulation and is related to the slower time-scale (scale of hours). $\tau_1$, $\tau_2$ and $\tau_3$ represent the intermediate time steps to update the processes which occur on fastest time scales (from milliseconds to seconds).

extracellular matrix. If we denote by $n(x, y, t)$ the endothelial cell density per unit area, then the continuous equation describing endothelial cell conservation is given by:

$$\frac{\partial n}{\partial t} = \overbrace{D\nabla^2 n}^{random} - \overbrace{\nabla\cdot(\chi(V)n\nabla V)}^{chemotaxis} - \overbrace{\rho\nabla\cdot(n\nabla f)}^{haptotaxis}. \tag{A.1}$$

The displacement of each individual endothelial cell, located at the tips of each growing sprout, is given by the discretised form of this endothelial cell conservation equation. The discretisation performed from Euler finite difference approximation leads to:

$$n_{i,j}^{q+1} = n_{i,j}^{q}P_0 + n_{i+1,j}^{q}P_1 + n_{i-1,j}^{q}P_2 + n_{i,j+1}^{q}P_3 + n_{i,j-1}^{q}P_4 \tag{A.2}$$

where $i$ and $j$ are positive parameters which specify the position of the endothelial cell on the 2D grid *i.e.* $x = i\Delta x$ and $y = j\Delta y$. Time discretisation is represented by $t = q\Delta t$. The migration of the individual cell is determined by the set of coefficients $P_k$ which relate to the likelihood of the cell being stationary ($P_0$), or moving left ($P_1$), right ($P_2$), up ($P_3$) or down ($P_4$). These coefficients incorporate the effects of random, chemotactic and haptotactic movement and depend upon the local chemical environment within the tissue, *i.e.* $P_k(\nabla V, \nabla f)$.

## Appendix B. Algorithm and simulation parameters

All through the simulations, the space discretisation step used is $\Delta = \Delta x = \Delta y = 25\ \mu m$, corresponding to the space occupied by one cell in the model. However, the model is multiscale regarding the time step, which adapts to update the different elements during the simulation, as shown in Fig. 15.

The main time step of the model $\tau$ is equal to 0.01 days. It is the time step used to update the tumour evolution and the microvascular network along with the matrix degrading enzyme and the fibronectin degradation. The model integrates three processes with smaller timesteps for VEGF and oxygen diffusion, and for the blood flow which concerns the update of the hematocrit. All these integrated processes are stopped when a steady state is reached or when the elapsed time for the considered update is about to overtake the main time step $\tau$ (Fig. 15). VEGF concentration is assumed to be stable when variations are below 2.5% of its maximum concentration.

All diffusion equations are solved with the ADI method and Neumann boundary conditions. In order to be more accurate to represent VEGF and oxygen diffusion, the timesteps used in the associated processes are respectively fixed to $\tau_1 = \Delta^2/D_V \approx 22\ s$ and $\tau_3 = \Delta^2/D_{O_2} \approx 0.26\ s$. For each time step $\tau_2$, the hematocrit is only updated in the vessel sections where hematocrit inflow and outflow are different. The value of this time step varies over the simulation. It is set to the time which is necessary to fill the vessel section which has the highest blood flow speed.

The code has been developed using Visual C++ and is potentially available upon request.

## References


Alarcòn, T., Byrne, H.M., Maini, P.K., 2003. A cellular automaton model for tumour growth in inhomogeneous environment. J. Theor. Biol. 225, 257–274.

Anderson, A.R., Chaplain, M.A., 1998. Continuous and discrete mathematical models of tumor-induced angiogenesis. Bull. Math. Biol. 60, 857–899.

Asaishi, K., Endrich, B., Götz, A., Messmer, K., 1981. Quantitative analysis of microvascular structure and function in the amelanotic melanoma a-mel-3. Cancer Res. 41, 1898–1904.

Balding, D., McElwain, D.L., 1985. A mathematical model of tumour-induced capillary growth. J. Theor. Biol. 114, 53–73.

Bartha, K., Rieger, H., 2006. Vascular network remodeling *via* vessel cooption, regression and growth in tumors. J. Theor. Biol. 241, 903–918.

Bauer, A.L., Jackson, T.L., Jiang, Y., 2007. A cell-based model exhibiting branching and anastomosis during tumor-induced angiogenesis. Biophys. J. 92, 3105–3121.

Burton, A.C., 1966. Rate of growth of solid tumours as a problem of diffusion. Growth 30, 157–176.

Byrne, H.M., 2010. Dissecting cancer through mathematics: from the cell to the animal model. Nat. Rev. Cancer 10, 221–230.

Cai, Y., Xu, S., Wu, J., Long, Q., 2011. Coupled modellin of tumour angiogenesis, tumour growth and blood perfusion. Theor. Biol. 279, 90–101.

Carmeliet, P., Jain, R.K., 2000. Angiogenesis in cancer and other diseases. Nature 407, 249–257.

Chaplain, M.A.J., McDougall, S.R., Anderson, A.R.A., 2006. Mathematical modeling of tumor-induced angiogenesis. Annu. Rev. Biomed. Eng. 8, 233–257.

Dedeugd, C., Wankhede, M., Sorg, B.S., 2009. Multimodal optical imaging of microvessel network convective oxygen transport dynamics. Appl. Opt. 48, D187–D197.

Frieboes, H.B., Edgerton, M.E., Fruehauf, J.P., Rose, F.R.A.J., Worrall, L.K., Gatenby, R.A., Ferrari, M., Cristini, V., 2009. Prediction of drug response in breast cancer using integrative experimental/computational modeling. Cancer Res. 69, 4484–4492.

Gatenby, R.A., Silva, A.S., Gillies, R.J., Frieden, B.R., 2009. Adaptive therapy. Cancer Res. 69, 4894–4903.

Goldman, D., Popel, A.S., 2000. A computational study of the effect of capillary network anastomoses and tortuosity on oxygen transport. J. Theor. Biol. 206, 181–194.

Greenspan, H.P., 1972. Models for the growth of a solid tumour by diffusion. Stud. Appl. Math. L1, 317–340.

Holash, J., Wiegand, S.J., Yancopoulos, G.D., 1999. New model of tumor angiogenesis: dynamic balance between vessel regression and growth mediated by angiopoietins and VEGF. Oncogene 18, 5356–5362.

Koehl, G.E., Gaumann, A., Geissler, E.K., 2009. Intravital microscopy of tumor angiogenesis and regression in the dorsal skin fold chamber: mechanistic insights and preclinical testing of therapeutic strategies. Clin. Exp. Metastasis 26, 329–344.

Lee, D.S., Rieger, H., Bartha, K., 2006. Flow correlated percolation during vascular remodeling in growing tumors. Phys. Rev. Lett. 96, 058104.

Lehr, H.A., Leunig, M., Menger, M.D., Nolte, D., Messmer, K., 1993. Dorsal skinfold chamber technique for intravital microscopy in nude mice. Am. J. Pathol. 143, 1055–1062.

Macklin, P., McDougall, S., Anderson, A., Chaplain, M., Cristini, V., Lowengrub, J., 2009. Multiscale modelling and nonlinear simulation of vascular tumour growth. J. Math. Biol. 58, 765–798.

Maurin, M., Stephan, O., Vial, J.-C., van der Sanden, B., 2011. Deep in vivo two-photon imaging of blood vessels with a new dye encapsulated in pluronic nanomicelles. J. Biomed. Opt. 16, 036001.

McDougall, S.R., Anderson, A.R.A., Chaplain, M.A.J., 2006. Mathematical modelling of dynamic adaptive tumour-induced angiogenesis: clinical implications and therapeutic targeting strategies. J. Theor. Biol. 241, 564–589.
McDougall, S.R., Chaplain, M.A.J., Stéphanou, A.S., Anderson, A.R.A., 2010. Modelling the impact of pericyte migration and coverage of vessels on the efficacy of vascular disrupting agents. Math. Model. Nat. Phenom. 3, 1–41.
Owen, M.R., Alarcòn, T., Maini, P.K., Byrne, H.M., 2009. Angiogenesis and vascular remodelling in normal and cancerous tissues. J. Math. Biol. 58, 689–721.
Paul, R., 2009. Flow-correlated dilution of a regular network leads to a percolating network during tumor-induced angiogenesis. Eur. Phys. J. E Soft Matter 30, 101–114. http://dx.doi.org/10.1140/epje/i2009-10513-8.
Perfahl, H., Byrne, H.M., Chen, T., Estrella, V., Alarcón, T., Lapin, A., Gatenby, R.A., Gillies, R.J., Lloyd, M.C., Maini, P.K., Reuss, M., Owen, M.R., 2011. Multiscale modelling of vascular tumour growth in 3d: the roles of domain size and boundary conditions. PLoS One 6, e14790.
Plank, M.J., Sleeman, B.D., Jones, P.F., 2004. A mathematical model of tumour angiogenesis, regulated by vascular endothelial growth factor and the angiopoietins. J. Theor. Biol. 229, 435–454.
Pluznik, D.H., Cunningham, R.E., Noguchi, P.D., 1984. Colony-stimulating factor (CSF) controls proliferation of CSF-dependent cells by acting during the G1 phase of the cell cycle. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 81, 7451–7455.
Pons-Salort, M., van der Sanden, B., Stéphanou, A., 2012. A computational framework to assess the efficacy of cytotoxic molecules and vascular disrupting agents against solid tumours. Math. Model. Nat. Phenom. 7, 49–77.
Pries, A.R., Secomb, T.W., Gessner, T., Sperandio, M.B., Gross, J.F., Gaehtgens, P., 1994. Resistance to blood flow in microvessels in vivo. Circ. Res. 75, 904–915.
Qutub, A.A., Popel, A.S., 2009. Elongation, proliferation & migration differentiate endothelial cell phenotypes and determine capillary sprouting. BMC Syst. Biol. 3 (13).
Secomb, T.W., Hsu, R., Park, E.Y.H., Dewhirst, M.W., 2004. Green's function methods for analysis of oxygen delivery to tissue by microvascular networks. Ann. Biomed. Eng. 32, 1519–1529.
Seylaz, J., Charbonné, R., Nanri, K., Von Euw, D., Borredon, J., Kacem, K., Méric, P., Pinard, E., 1999. Dynamic in vivo measurement of erythrocyte velocity and flow in capillaries and of microvessel diameter in the rat brain by confocal laser microscopy. J. Cereb. Blood Flow Metab. 19, 863–870.
Shirinifard, A., Gens, J.S., Zaitlen, B.L., Poplawski, N.J., Swat, M., Glazier, J.A., 2009. 3d multi-cell simulation of tumor growth and angiogenesis. PLoS One 4, e7190.
Stéphanou, A., McDougall, S.R., Anderson, A.R.A., Chaplain, M.A.J., 2005. Mathematical modelling of flow in 2d and 3d vascular networks: applications to anti-angiogenic and chemotherapeutic drug strategies. Math. Comput. Model. 41, 1137–1156.
Stéphanou, A., McDougall, S.R., Anderson, A.R.A., Chaplain, M.A.J., 2006. Mathematical modelling of the influence of blood rheological properties upon adaptative tumour-induced angiogenesis. Math. Comput. Model. 44, 96–123.
Stokes, C.L., Lauffenburger, D.A., 1991. Analysis of the roles of microvessel endothelial cell random motility and chemotaxis in angiogenesis. J. Theor. Biol. 152, 377–403.
Strieth, S., Eichhorn, M.E., Werner, A., Sauer, B., Teifel, M., Michaelis, U., Berghaus, A., Dellian, M., 2008. Paclitaxel encapsulated in cationic liposomes increases tumor microvessel leakiness and improves therapeutic efficacy in combination with cisplatin. Clin. Cancer Res. 14, 4603–4611.
Tracqui, P., 2009. Biophysical models of tumour growth. Rep. Prog. Phys. 72, 056701.
Tyson, J.J., Novak, B., 2008. Temporal organization of the cell cycle. Curr. Biol. 18, R759–R768.
Welter, M., Rieger, H., 2010. Physical determinants of vascular network remodeling during tumor growth. Eur. Phys. J. E Soft Matter 33, 149–163.
Welter, M., Bartha, K., Rieger, H., 2008. Emergent vascular networkinhomogeneities and resulting blood flow patterns in a growing tumor. J. Theor. Biol. 250, 257–280.
Welter, M., Bartha, K., Rieger, H., 2009. Vascular remodelling of an arterio-venous blood vessel network during solid tumour growth. J. Theor. Biol. 259, 405–422.
Wu, F.T.H., Stefanini, M.O., Gabhann, F.M., Popel, A.S., 2009. A compartment model of VEGF distribution in humans in the presence of soluble VEGF receptor-1 acting as a ligand trap. PLoS One 4 (4).
Zheng, X., Wise, S.M., Cristini, V., 2005. Nonlinear simulation of tumor necrosis, neovascularization and tissue invasion *via* an adaptive finite-element/level-set method. Bull. Math. Biol. 67, 211–259.

# BIBLIOGRAPHIE


[1] ©La situation du cancer en France en 2012.

[2] J. Folkman, E. Merler, C. Abernathy, and G. Williams. Isolation of a tumor factor responsible for angiogenesis. J Exp Med, 133(2) :275–288, Feb 1971.

[3] J. Folkman, P. Cole, and S. Zimmerman. Tumor behavior in isolated perfused organs : in vitro growth and metastases of biopsy material in rabbit thyroid and canine intestinal segment. Ann Surg, 164(3) :491–502, Sep 1966.

[4] J. Holash, S. J. Wiegand, and G. D. Yancopoulos. New model of tumor angiogenesis : dynamic balance between vessel regression and growth mediated by angiopoietins and vegf. Oncogene, 18(38) :5356–5362, Sep 1999.

[5] P. Vajkoczy, M. Farhadi, A. Gaumann, R. Heidenreich, R. Erber, A. Wunder, J. C. Tonn, M. D. Menger, and G. Breier. Microtumor growth initiates angiogenic sprouting with simultaneous expression of vegf, vegf receptor-2, and angiopoietin-2. J Clin Invest, 109(6) :777–785, Mar 2002.

[6] P. Auguste, S. Lemiere, F. Larrieu-Lahargue, and A. Bikfalvi. Molecular mechanisms of tumor vascularization. Crit Rev Oncol Hematol, 54(1) :53–61, Apr 2005.

[7] J. L Gevertz and S. Torquato. Modeling the effects of vasculature evolution on early brain tumor growth. J Theor Biol, 243(4) :517–531, Dec 2006.

[8] F. Hillen and A. W. Griffioen. Tumour vascularization : sprouting angiogenesis and beyond. Cancer Metastasis Rev, 26(3-4) :489–502, Dec 2007.

[9] D. Ribatti, B. Nico, E. Crivellato, and A. Vacca. The structure of the vascular network of tumors. Cancer Lett, 248(1) :18–23, Apr 2007.

[10] M. J. Plank, B. D. Sleeman, and P. F. Jones. A mathematical model of tumour angiogenesis, regulated by vascular endothelial growth factor and the angiopoietins. J Theor Biol, 229(4) :435–454, Aug 2004.

[11] P. C. Maisonpierre, C. Suri, P. F. Jones, S. Bartunkova, S. J. Wiegand, C. Radziejewski, D. Compton, J. McClain, T. H. Aldrich, N. Papadopoulos, T. J. Daly, S. Davis, T. N. Sato, and G. D. Yancopoulos. Angiopoietin-2, a natural antagonist for tie2 that disrupts in vivo angiogenesis. Science, 277(5322) :55–60, Jul 1997.

[12] D. Zagzag, A. Hooper, D. R. Friedlander, W. Chan, J. Holash, S. J. Wiegand, G. D. Yancopoulos, and M. Grumet. In situ expression of angiopoietins in astrocytomas identifies angiopoietin-2 as an early marker of tumor angiogenesis. Exp Neurol, 159(2) :391–400, Oct 1999.

[13] D. Tilki, M. Seitz, B. B. Singer, S. Irmak, C. G. Stief, O. Reich, and S. Ergün. Molecular imaging of tumor blood vessels in prostate cancer. Anticancer Res, 29(5) :1823–1829, May 2009.

[14] I. B. Lobov, P. C. Brooks, and R. A. Lang. Angiopoietin-2 displays vegf-dependent modulation of capillary structure and endothelial cell survival in vivo. Proc Natl Acad Sci U S A, 99(17) :11205–11210, Aug 2002.

[15] F. H. Epstein, G. H. Gibbons, and V. J. Dzau. The emerging concept of vascular remodelling. Mecanisms of Disease, 330, 1994.

[16] J. P. Cullen, S. Sayeed, R. S. Sawai, N. G. Theodorakis, P. A. Cahill, J. V. Sitzmann, and E. M. Redmond. Pulsatile flow-induced angiogenesis : Role of gi-subunits. Arterioscler Thromb Vasc Biol., 22 :1610–1616, 2002.

[17] S. Dimmeler and A. M. Zeiher. Endothelial cell apoptosis in angiogenesis and vessel regression. Circ Res, 87(6) :434–439, Sep 2000.

[18] K. Bartha and H. Rieger. Vascular network remodeling via vessel cooption, regression and growth in tumors. J Theor Biol, 241(4) :903–918, Aug 2006.

[19] J. A. Nagy and H. F. Dvorak. Heterogeneity of the tumor vasculature : the need for new tumor blood vessel type-specific targets. Clin Exp Metastasis, 29(7) :657–662, Oct 2012.

[20] M. O. Stefanini, F. T. H. Wu, F. Mac Gabhann, and A. S. Popel. The presence of vegf receptors on the luminal surface of endothelial cells affects vegf distribution and vegf signaling. PLOS Comput. Biol., 5 :(12), Decembre 2009.

[21] S-H. Chang, K. Kanasaki, V. Gocheva, G. Blum, J. Harper, M. A. Moses, S-C. Shih, J. A. Nagy, J. Joyce, M. Bogyo, R. Kalluri, and H. F. Dvorak. Vegf-a induces angiogenesis by perturbing the cathepsin-cysteine protease inhibitor balance in venules, causing basement membrane degradation and mother vessel formation. Cancer Res, 69(10) :4537–4544, May 2009.

[22] A. L. Bauer, T. L. Jackson, Y. Jiang, and T. Rohlf. Receptor cross-talk in angiogenesis : Mapping environment cues to cell phenotype using stochastic, boolean signaling network model. J. Theor. Biol., 264 :838–846, 2010.

[23] Y. Yamazaki and T. Morita. Molecular and functional diversity of vascular endothelial growth factors. Mol Divers, 10(4) :515–527, Nov 2006.

[24] A. M. Latham, C. Molina-Paris, S. Homer-Vanniasinkam, and S. Ponnambalam. An integrative model for vascular endothelial growth factor a as a tumour biomarker. Integr. Biol., 2(9) :397–407, 2010.

[25] S. Strieth, M. E. Eichhorn, A. Sutter, A. Jonczyk, A. Berghaus, and M. Dellian. Antiangiogenic combination tumor therapy blocking alpha(v)-integrins and vegf-receptor-2 increases therapeutic effects in vivo. Int J Cancer, 119(2) :423–431, Jul 2006.

[26] R. Erber, U. Eichelsbacher, V. Powajbo, T. Korn, V. Djonov, J. Lin, H-P. Hammes, R. Grobholz, A. Ullrich, and P. Vajkoczy. Ephb4 controls blood vascular morphogenesis during postnatal angiogenesis. EMBO J, 25(3) :628–641, Feb 2006.

[27] D. H. Ausprunk and J. Folkman. Migration and proliferation of endothelial cells in preformed and newly formed blood vessels during tumor angiogenesis. Microvasc Res, 14(1) :53–65, Jul 1977.

[28] A. Noël, A. Gutiérrez-Fernández, N. E. Sounni, N. Behrendt, E. Maquoi, I. K. Lund, S. Cal, G. Hoyer-Hansen, and C. López-Otín. New and paradoxical roles of matrix metalloproteinases in the tumor microenvironment. Front Pharmacol, 3 :140, 2012.

[29] R. Mazor, T. Alsaigh, H. Shaked, A. Altshuler, E. S. Pocock, E. B. Kistler, M. Karin, and G. W. Schmid-Schonbein. Matrix metalloproteinase-1 mediated upregulation of vascular endothelial growth factor-2 in endothelial cells. J Biol Chem, 288(1) :598–607, Nov 2012.

[30] P. Carmeliet and R. K. Jain. Angiogenesis in cancer and other diseases. Nature, 407(6801) :249–257, Sep 2000.

[31] A. Eberhard, S. Kahlert, V. Goede, B. Hemmerlein, K. H. Plate, and H. G. Augustin. Heterogeneity of angiogenesis and blood vessel maturation in human tumors : implications for antiangiogenic tumor therapies. Cancer Res, 60(5) :1388–1393, Mar 2000.

[32] S. Ergun, N. Kilic, J. H. Wurmbach, A. Ebrahimnejad, M. Fernando, S. Sevinc, E. Kilic, F. Chalajour, W. Fiedler, H. Lauke, K. Lamszus, P. Hammerer, J. Weil, H. Herbst, and J. Folkman. Endostatin inhibits angiogenesis by stabilization of newly formed endothelial tubes. Angiogenesis, 4(3) :193–206, 2001.

[33] C. F. Chantrain, P. Henriet, S. Jodele, H. Emonard, O. Feron, P. J. Courtoy, Y. A. DeClerck, and E. Marbaix. Mechanisms of pericyte recruitment in tumour angiogenesis : a new role for metalloproteinases. Eur J Cancer, 42(3) :310–318, Feb 2006.

[34] Y. Cao, R. Cao, and E-M. Hedlund. R regulation of tumor angiogenesis and metastasis by fgf and pdgf signaling pathways. J Mol Med (Berl), 86(7) :785–789, Jul 2008.

[35] G. N. Naumov, L. A. Akslen, and J. Folkman. Role of angiogenesis in human tumor dormancy : animal models of the angiogenic switch. Cell Cycle, 5(16) :1779–1787, Aug 2006.

[36] M. Dellian, B. P. Witwer, H. A. Salehi, F. Yuan, and R. K. Jain. Quantitation and physiological characterization of angiogenic vessels in mice : effect of basic fibroblast growth factor, vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor, and host microenvironment. Am J Pathol, 149(1) :59–71, Jul 1996.

[37] J. I. Greenberg, D. J. Shields, S. G. Barillas, L. M. Acevedo, E. Murphy, J. Huang, L. Scheppke, C. Stockmann, R. S. Johnson, N. Angle, and D. A. Cheresh. A role for vegf as a negative regulator of pericyte function and vessel maturation. Nature, 456(7223) :809–813, Dec 2008.

[38] T. Asahara, T. Murohara, A. Sullivan, M. Silver, R. van der Zee, T. Li, B. Witzenbichler, G. Schatteman, and J. M. Isner. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. Science, 275(5302) :964–967, Feb 1997.

[39] J. R. Goethert, S. E. Gustin, J. A. M. van Eekelen, U. Schmidt, M. A. Hall, S. M. Jane, A. R. Green, B. Gottgens, David J Izon, and C. Glenn Begley. Genetically tagging endothelial cells in vivo : bone marrow-derived cells do not contribute to tumor endothelium. Blood, 104(6) :1769–1777, Sep 2004.

[40] R. M. Misra, M. S. Bajaj, and V. P. Kale. Vasculogenic mimicry of ht1080 tumour cells in vivo : Critical role of hif-1$\alpha$-neuropilin-1 axis. PLoS One, 7(11) :e50153, 2012.

[41] G. Segala. Cancer : les mécanismes biologiques. Futura-Sciences, 2012.

[42] J. J. Tyson and B. Novak. Temporal organization of the cell cycle. Curr Biol, 18(17) :R759–R768, Sep 2008.

[43] A. Zetterberg, O. Larsson, and K. G. Wiman. What is the restriction point ? Curr Opin Cell Biol, 7(6) :835–842, Dec 1995.

[44] M. Malumbres and M. Barbacid. To cycle or not to cycle : a critical decision in cancer. Nat Rev Cancer, 1(3) :222–231, Dec 2001.

[45] S. A. F. Morad and M. C. Cabot. Ceramide-orchestrated signalling in cancer cells. Nat Rev Cancer, 13(1) :51–65, Dec 2012.

[46] F. B. Brikci, J. Clairambault, B. Ribba, and B. Perthame. An age-and-cyclin-structured cell population model for healthy and tumoral tissues. J Math Biol, 57(1) :91–110, Jul 2008.

[47] M. Saeed, F. Schwarze, A. Loidl, J. Meraner, M. Lechner, and P. Loidl. In vitro phosphorylation and acetylation of the murine pocket protein rb2/p130. PLoS One, 7(9) :e46174, 2012.

[48] K. Myant and O. Sansom. Efficient wnt mediated intestinal hyperproliferation requires the cyclin d2-cdk4/6 complex. Cell Div, 6(1) :3, 2011.

[49] R. J. Sabin and R. M. Anderson. Cellular senescence - its role in cancer and the response to ionizing radiation. Genome Integr, 2(1) :7, 2011.

[50] A. J. Weeks, P. J. Blower, and D. R. Lloyd. p53-dependent radiobiological responses to internalised indium-111 in human cells. Nucl Med Biol, 40(1) :73–79, Jan 2013.

[51] J. F. Kerr, A. H. Wyllie, and A. R. Currie. Apoptosis : a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. Br J Cancer, 26(4) :239–257, Aug 1972.

[52] D. Dworakowska, E. Wlodek, C. A. Leontiou, S. Igreja, M. Cakir, M. Teng, N. Prodromou, M. I. Góth, S. Grozinsky-Glasberg, M. Gueorguiev, B. Kola, M. Korbonits, and A. B. Grossman. Activation of raf/mek/erk and pi3k/akt/mtor pathways in pituitary adenomas and their effects on downstream effectors. Endocr Relat Cancer, 16(4) :1329–1338, Dec 2009.

[53] C. M. Henriques and M. G. Ferreira. Consequences of telomere shortening during lifespan. Curr Opin Cell Biol, 24(6) :804–808, Dec 2012.

[54] R. Lau and M. A C Pratt. The opposing roles of cellular inhibitor of apoptosis proteins in cancer. ISRN Oncol, 2012 :928120, 2012.

[55] M. Tomek, T. Akiyama, and C. R. Dass. Role of bcl-2 in tumour cell survival and implications for pharmacotherapy. J Pharm Pharmacol, 64(12) :1695–1702, Dec 2012.

[56] G. Jonsson, J. Staaf, J. Vallon-Christersson, M. Ringnér, S. K. Gruvberger-Saal, L. H. Saal, K. Holm, C. Hegardt, A. Arason, R. Fagerholm, C. Persson, D. Grabau, E. Johnsson, K. Lövgren, L. Magnusson, P. Heikkila, B. A. Agnarsson, O. T. Johannsson, P. Malmstrom, M. Ferno, H. Olsson, N. Loman, H. Nevanlinna, R. B. Barkardottir, and A. Borg. The retinoblastoma gene undergoes rearrangements in brca1-deficient basal-like breast cancer. Cancer Res, 72(16) :4028–4036, Aug 2012.

[57] N. Nagarkatti-Gude, Y. Wang, M. J. Ali, S. G. Honavar, M. J. Jager, and C-C. Chan. Genetics of primary intraocular tumors. Ocul Immunol Inflamm, 20(4) :244–254, Aug 2012.

[58] J. Wu, J. Fang, Z. Yang, F. Chen, J. Liu, and Y. Wang. Wnt inhibitory factor-1 regulates glioblastoma cell cycle and proliferation. J Clin Neurosci, 19(10) :1428–1432, Oct 2012.

[59] A. Banito and J. Gil. Induced pluripotent stem cells and senescence : learning the biology to improve the technology. EMBO Rep, 11(5) :353–359, May 2010.

[60] M. Aikio, I. Alahuhta, S. Nurmenniemi, J. Suojanen, R. Palovuori, S. Teppo, T. Sorsa, C. L 'opez Ot´ in, Taina Pihlajaniemi, Tuula Salo, Ritva Heljasvaara, and Pia Nyberg. Arresten, a collagen-derived angiogenesis inhibitor, suppresses invasion of squamous cell carcinoma. PLoS One, 7(12) :e51044, 2012.

[61] S. Fernandez, S. Dematteis, J. Giglio, H. Cerecetto, and A. Rey. Synthesis, in vitro and in vivo characterization of two novel (68)ga-labelled 5-nitroimidazole derivatives as potential agents for imaging hypoxia. Nucl Med Biol, 40(2) :273–9, Dec 2012.

[62] A. A. Patel, E. T. Gawlinski, S. K. Lemieux, and R. A. Gatenby. A cellular automaton model of early tumor growth and invasion. J Theor Biol, 213(3) :315–331, Dec 2001.

[63] D. Neri and C. T. Supuran. Interfering with ph regulation in tumours as a therapeutic strategy. Nat Rev Drug Discov, 10(10) :767–777, Oct 2011.

[64] D. Stieber, S. A A. Rahim, and S. P. Niclou. Novel ways to target brain tumour metabolism. Expert Opin Ther Targets, 15(10) :1227–1239, Oct 2011.

[65] M. J. Tindall, C. P. Please, and M. J. Peddie. Modelling the formation of necrotic regions in avascular tumours. Math Biosci, 211(1) :34–55, Jan 2008.

[66] M. Welter and H. Rieger. Physical determinants of vascular network remodeling during tumor growth. Eur. Phys. J. E, 33(2) :149–63, 2010.

[67] K. Smallbone, D. J. Gavaghan, R. A. Gatenby, and P. K. Maini. The role of acidity in solid tumour growth and invasion. J Theor Biol, 235(4) :476–484, Aug 2005.

[68] H. P. Greenspan. Models for the growth of a solid tumour by diffusion. Studies in Applied Mathematics, L1(4) :317–340, December 1972.

[69] J. A. Adam. A simplified mathematical model of tumor growth. Mathematical Biosciences, 81 :229–244, 1986.

[70] J. A. Adam. A mathematical model of tumor growth. ii. effects of geometry and spatial nonuniformity on stability. Mathematical Biosciences, 86 :183–211, 1987.

[71] J. A. Adam and S. A. Maggelakis. Mathematical models of tumor growth. iv. effects of a necrotic core. Math Biosci, 97(1) :121–136, Nov 1989.

[72] M. A. Chaplain and B. D. Sleeman. Modelling the growth of solid tumours and incorporating a method for their classification using nonlinear elasticity theory. J Math Biol, 31(5) :431–473, 1993.

[73] T. Roose, S. J. Chapman, and P. K. Maini. Mathematical models of avascular tumor growth. SIAM Review, 49 :179–208, 2007.

[74] X. Zheng, S. M. Wise, and V. Cristini. Nonlinear simulation of tumor necrosis, neovascularization and tissue invasion via an adaptive finite-element/level-set method. Bull Math Biol, 67(2) :211–259, Mar 2005.

[75] P. Macklin, S. McDougall, A. Anderson, M. Chaplain, V. Cristini, and J. Lowengrub. Multiscale modelling and nonlinear simulation of vascular tumour growth. Journal of Mathematical Biology, 58 :765–798, 2009. 10.1007/s00285-008-0216-9.

[76] B. Ribba, E. Watkin, M. Tod, P. Girard, E. Grenier, B. You, E. Giraudo, and G. Freyer. A model of vascular tumour growth in mice combining longitudinal tumour size data with histological biomarkers. Eur J Cancer, 47(3) :479–490, Feb 2011.

[77] M. E. Orme and M. A. J. Chaplain. A mathematical model of the first steps of tumour-related angiogenesis : Capillary sprout formation and secondary branching. Mathematical Medicine and Biology, 13(2) :73–98, 1996.

[78] J. Panovska, H. M. Byrne, and P. K. Maini. A theoretical study of the response of vascular tumours to different types of chemotherapy. Mathematical and Computer Modelling, 47 :560–579, 2008.

[79] T. Hase, M. Sato, K. Yoshida, L. Girard, Y. Takeyama, M. Horio, M. Elshazley, T. Oguri, Y. Sekido, D. S. Shames, A. F. Gazdar, J. D. Minna, M. Kondo, and Y. Hasegawa. Pivotal role of epithelial cell adhesion molecule in the survival of lung cancer cells. Cancer Sci, 102(8) :1493–1500, Aug 2011.

[80] G. J. Pettet, C. P. Please, M. J. Tindall, and D. L. McElwain. The migration of cells in multicell tumor spheroids. Bull Math Biol, 63(2) :231–257, Mar 2001.

[81] C. J W Breward, H. M. Byrne, and C. E. Lewis. The role of cell-cell interactions in a two-phase model for avascular tumour growth. J Math Biol, 45(2) :125–152, Aug 2002.

[82] C. J. W. Breward, H. M. Byrne, and C. E Lewis. A multiphase model describing vascular tumour growth. Bull Math Biol, 65(4) :609–640, Jul 2003.

[83] B. Ribba, T. Colin, and S. Schnell. A multiscale mathematical model of cancer, and its use in analyzing irradiation therapies. Theor Biol Med Model, 3 :7, 2006.

[84] A. Gerisch and M. A J Chaplain. Mathematical modelling of cancer cell invasion of tissue : local and non-local models and the effect of adhesion. J Theor Biol, 250(4) :684–704, Feb 2008.

[85] K. R Swanson, R. C Rockne, J. Claridge, M. A. Chaplain, E. C. Alvord, and A. R. A Anderson. Quantifying the role of angiogenesis in malignant progression of gliomas : in silico modeling integrates imaging and histology. Cancer Res, 71(24) :7366–7375, Dec 2011.

[86] Benjamin Ribba, Thierry Colin, and Santiago Schnell. A multiscale mathematical model of cancer, and its use in analyzing irradiation therapies. Theor Biol Med Model, 3 :7, 2006.

[87] D. Bresch, T. Colin, E. Grenier, B. Ribba, and O. Saut. Computational modeling of solid tumor growth : the avascular stage. Siam Journal of Science Computing, 32 :2321–2344, 2010.

[88] Thomas Hillen, Gerda de Vries, Jiafen Gong, and Chris Finlay. From cell population models to tumor control probability : including cell cycle effects. Acta Oncol, 49(8) :1315–1323, Nov 2010.

[89] Wenxiang Liu, Thomas Hillen, and H. I. Freedman. A mathematical model for m-phase specific chemotherapy including the g0-phase and immunoresponse. Math Biosci Eng, 4(2) :239–259, Apr 2007.

[90] F. Lignet, S. Benzekry, S. Wilson, F. Billy, O. Saut, M. Tod, B. You, A. Adda Berkane, S. Kassour, M. X. Wei, E. Grenier, and B. Ribba. Theoretical investigation of the efficacy of antiangiogenic drugs combined to chemotherapy in xenografted mice. J Theor Biol, 320 :86–99, Dec 2013.

[91] Béla Novàk and John J Tyson. A model for restriction point control of the mammalian cell cycle. J Theor Biol, 230(4) :563–579, Oct 2004.

[92] T. Alarcòn, H. M. Byrne, and P. K. Maini. A mathematical model of the effects of hypoxia on the cell-cycle of normal and cancer cells. J Theor Biol, 229(3) :395–411, Aug 2004.

[93] J-B. Lagaert. Modélisation de la croissance tumorale : Estimation de paramètres d'un modèle de croissance et introduction d'un modèle spécifique aux gliomes de tout grade. PhD thesis, Université Bordeaux 1 : Ecole doctorale de Mathématiques et d'Informatique, 2012.

[94] B-R. Chen, H-H. Cheng, W-C. Lin, K-H. Wang, J-Y. Liou, P-F. Chen, and K. K Wu. Quiescent fibroblasts are more active in mounting robust inflammatory responses than proliferative fibroblasts. PLoS One, 7(11) :e49232, 2012.

[95] C. S. Hogea, B. T. Murray, and J. A. Sethian. Simulating complex tumor dynamics from avascular to vascular growth using a general level-set method. J Math Biol, 53(1) :86–134, Jul 2006.

[96] J. S. Lowengrub, H. B. Frieboes, F. Jin, Y-L. Chuang, X. Li, P. Macklin, S. M. Wise, and V. Cristini. Nonlinear modelling of cancer : bridging the gap between cells and tumours. Nonlinearity, 23(1) :R1–R9, 2010.

[97] W. Duchting and G. Dehl. Simulation of two-dimensional cell growth with application to tumor kinetics. Mathematics and Computers in Simulation XXII, pages 81–90, 1980.

[98] T. Alarcon, H. M. Byrne, and P.K. Maini. A cellular automaton model for tumour growth in inhomogeneous environment. J Theor Biol, 225(2) :257–274, Nov 2003.

[99] M. Welter, K. Bartha, and H. Rieger. Emergent vascular nerwork inhomogenities and resulting blood flow patterns in a growing tumor. J. Theor. Biol., 250 :257–280, 2008.

[100] M. Welter, K. Bartha, and H. Rieger. Vascular remodelling of an arterio-venous blood vessel network during solid tumour growth. J. Theor. Biol., 259 :405–422, 2009.

[101] L. Zhang, L. L. Chen, and T. S. Deisboeck. Multi-scale, multi-resolution brain cancer modeling. Math. Comput. Simul., 79 :2021–2035, 2009.

[102] H. Perfahl, H. M. Byrne, T. Chen, V. Estrella, T. Alarcòn, A. Lapin, R. A. Gatenby, R. J. Gillies, M. C. Lloyd, P. K. Maini, M. Reuss, and M. R Owen. Multiscale modelling of vascular tumour growth in 3d : the roles of domain size and boundary conditions. PLoS One, 6(4) :e14790, 2011.

[103] N. Kazmi, M. A. Hossain, R. M. Phillips, M. A. Al-Mamun, and R. Bass. Avascular tumour growth dynamics and the constraints of protein binding for drug transportation. J Theor Biol, 313C :142–152, Aug 2012.

[104] A-C. Lesart, B. van der Sanden, L. Hamard, F. Esteve, and A. Stephanou. On the importance of the submicrovascular network in a computational model of tumour growth. Microvasc Res, 84(2) :188–204, Sep 2012.

[105] M. Pons-Salort, B. van der Sanden, A. Juhem, A. Popov, and A. Stéphanou. A computational framework to assess the efficacy of cytotoxic molecules and vascular disrupting agents against solid tumours. mathematical modelling of natural phenomena. Mathematical Modeling of Natural Phenomena, 7(01) :49–77, 2012.

[106] A. R. Kansal, S. Torquato, I. V. Harsh GR, E. A. Chiocca, and T. S. Deisboeck. Simulated brain tumor growth dynamics using a three-dimensional cellular automaton. J Theor Biol, 203(4) :367–382, Apr 2000.

[107] S. Torquato. Toward an ising model of cancer and beyond. Phys Biol, 8(1) :015017, Feb 2011.

[108] P. Gerlee and A. R A Anderson. An evolutionary hybrid cellular automaton model of solid tumour growth. J Theor Biol, 246(4) :583–603, Jun 2007.

[109] P. Gerlee and A. R A Anderson. A hybrid cellular automaton model of clonal evolution in cancer : the emergence of the glycolytic phenotype. J Theor Biol, 250(4) :705–722, Feb 2008.

[110] D-S. Lee, H. Rieger, and K. Bartha. Flow correlated percolation during vascular remodeling in growing tumors. Phys Rev Lett, 96(5) :058104, Feb 2006.

[111] J. L. Gevertz. Computational modeling of tumor response to vascular-targeting therapies–part i : validation. Comput Math Methods Med, 2011 :830515, 2011.

[112] C. I. Morton, L. Hlatky, P. Hahnfeldt, and H. Enderling. Non-stem cancer cell kinetics modulate solid tumor progression. Theor Biol Med Model, 8 :48, 2011.

[113] Y. Jiao and S. Torquato. Diversity of dynamics and morphologies of invasive solid tumors. AIP Adv, 2(1) :11003, Mar 2012.

[114] T. Alarcon, M. R. Owen, H. Byrne, and P. Maini. Multiscale modelling of tumour growth and therapy : the influence of vessel normalisation on chemotherapy. Computational and Mathematical Methods in Medicine, 7, 2006.

[115] M. R. Owen, T. Alarcòn, P. K. Maini, and H. M Byrne. Angiogenesis and vascular remodelling in normal and cancerous tissues. J Math Biol, 58(4-5) :689–721, Apr 2009.

[116] B. Keith, R. S Johnson, and M. C. Simon. Hif1$\alpha$ and hif2$\alpha$ : sibling rivalry in hypoxic tumour growth and progression. Nat Rev Cancer, 12(1) :9–22, Jan 2012.

[117] A. L. Bauer, T. L. Jackson, and Y. Jiang. A cell-based model exhibiting branching and anastomosis during tumor-induced angiogenesis. Biophysical Journal, 92 :3105–3121, May 2007.

[118] S. R. McDougall, M. G. Watson, A. H. Devlin, C. A. Mitchell, and M. A J Chaplain. A hybrid discrete-continuum mathematical model of pattern prediction in the developing retinal vasculature. Bull Math Biol, 74(10) :2272–2314, Oct 2012.

[119] A. Das, D. Lauffenburger, H. Asada, and R. D. Kamm. A hybrid continuum-discrete modelling approach to predict and control angiogenesis : analysis of combinatorial growth factor and matrix effects on vessel-sprouting morphology. Philos Transact A Math Phys Eng Sci, 368(1921) :2937–2960, Jun 2010.

[120] B. J. McGuire and T. W. Secomb. A theoretical model for oxygen transport in skeletal muscle under conditions of high oxygen demand. J Appl Physiol, 91(5) :2255–2265, Nov 2001.

[121] T. W. Secomb, R. Hsu, E. Y H. Park, and M. W. Dewhirst. Green's function methods for analysis of oxygen delivery to tissue by microvascular networks. Ann. Biomed. Eng., 32(11) :1519–1529, Novembre 2004.

[122] N. M. Tsoukias, D. Goldman, A. Vadapalli, R. N. Pittman, and A. S. Popel. A computational model of oxygen delivery by hemoglobin-based oxygen carriers in three-dimensional microvascular networks. J Theor Biol, 248(4) :657–674, Oct 2007.

[123] C. Dedeugd, M. Wankhede, and B. S. Sorg. Multimodal optical imaging of microvessel network convective oxygen transport dynamics. Appl Opt, 48(10) :D187–D197, Apr 2009.

[124] A. A. Al-Shammari, E. A. Gaffney, and S. Egginton. Re-evaluating the use of voronoi tessellations in the assessment of oxygen supply from capillaries in muscle. Bull Math Biol, 74(9) :2204–2231, Sep 2012.

[125] G. G. Powathil, K. E. Gordon, L. A. Hill, and M. A. J. Chaplain. Modelling the effects of cell-cycle heterogeneity on the response of a solid tumour to chemotherapy : biological insights from a hybrid multiscale cellular automaton model. J Theor Biol, 308 :1–19, Sep 2012.

[126] V. Adhikarla and R. Jeraj. An imaging-based stochastic model for simulation of tumour vasculature. Phys Med Biol, 57(19) :6103–6124, Oct 2012.

[127] A. Martinez-Gonzalez, G. F. Calvo, L. A. Perez Romasanta, and V. M. Perez-Garcia. Hypoxic cell waves around necrotic cores in glioblastoma : a biomathematical model and its therapeutic implications. Bull Math Biol, 74(12) :2875–2896, Dec 2012.

[128] F. Billy. Modélisation math´ematique multi-échelle de l'angiogenèse tumorale. Analyse de la réponse tumorale aux traitements anti-angiogéniques. PhD thesis, Université Claude Bernard Lyon, 2009.

[129] M.A.J. Chaplain, Susan M. Giles, B.D. Sleeman, and R.J. Jarvis. A mathematical analysis of a model for tumour angiogenesis. J. Math. Biol., 33 :744–770, 1995.

[130] H. M. Byrne and M. A. Chaplain. Growth of nonnecrotic tumors in the presence and absence of inhibitors. Math Biosci, 130(2) :151–181, Dec 1995.

[131] M. Kohandel, M. Kardar, M. Milosevic, and S. Sivaloganathan. Dynamics of tumor growth and combination of anti-angiogenic and cytotoxic therapies. Phys Med Biol, 52(13) :3665–3677, Jul 2007.

[132] A. d'Onofrio and A. Gandolfi. Chemotherapy of vascularised tumours : role of vessel density and the effect of vascular "pruning". J Theor Biol, 264(2) :253–265, May 2010.

[133] A. R. Anderson and M. A. Chaplain. Continuous and discrete mathematical models of tumor-induced angiogenesis. Bull Math Biol, 60(5) :857–899, Sep 1998.

[134] M. A. Chaplain. Mathematical modelling of angiogenesis. J Neurooncol, 50(1-2) :37–51, 2000.

[135] S. R. McDougall, A. R A Anderson, M. A. J. Chaplain, and J. A. Sherratt. Mathematical modelling of flow through vascular networks : implications for tumour-induced angiogenesis and chemotherapy strategies. Bull Math Biol, 64(4) :673–702, Jul 2002.

[136] D. Tee and J. Distefano. Simulation of tumor-induced angiogenesis and its response to anti-angiogenic drug treatment : mode of drug delivery and clearance rate dependencies. J Cancer Res Clin Oncol, 130(1) :15–24, Jan 2004.

[137] A. Stephanou, S. R. McDougall, A. R. A. Anderson, and M. A. J. Chaplain. Mathematical modelling of flow in 2d and 3d vascular networks : Applications to anti-angiogenic and chemotherapeutic drug strategies. Mathematical and Computer Modelling, 41(10) :1137 – 1156, 2005. Modelling Complex Systems in Molecular Biology and Tumor Dynamics and Control.

[138] A. Stephanou, S. R. McDougall, A. R. A. Anderson, and M. A. J. Chaplain. Mathematical modelling of the influence of blood rheological properties upon adaptative tumour-induced angiogenesis. Mathematical and Computer Modelling, 44(1-2) :96 – 123, 2006. Advances in Business Modeling and Decision Technologies [pp. 1-95].

[139] M. A. J. Chaplain, S. R. McDougall, and A. R A Anderson. Mathematical modeling of tumor-induced angiogenesis. Annu Rev Biomed Eng, 8 :233–257, 2006.

[140] S. R. McDougall, A. R. A Anderson, and M. A. J. Chaplain. Mathematical modelling of dynamic adaptive tumour-induced angiogenesis : clinical implications and therapeutic targeting strategies. J Theor Biol, 241(3) :564–589, Aug 2006.

[141] T. Alarcòn. Modelling tumour-induced angiogenesis : A review of individual-based models and multiscale approaches. Contemporary Mathematics, 492 :45–56, 2009.

[142] C. L. Stokes, D. A. Lauffenburger, and S. K. Williams. Migration of individual microvessel endothelial cells : stochastic model and parameter measurement. J Cell Sci, 99 ( Pt 2) :419–430, Jun 1991.

[143] S. Tong and F. Yuan. Numerical simulations of angiogenesis in the cornea. Microvasc Res, 61(1) :14–27, Jan 2001.

[144] M. J. Plank and B. D. Sleeman. Lattice and non-lattice models of tumour angiogenesis. Bull Math Biol, 66(6) :1785–1819, Nov 2004.

[145] J. O. Barber, J. P. Aberding, J. M. Restrepo, and T. W. Secomb. Simulated two-dimensional red blood cell motion, deformation and partitioning in microvessel bifurcations. Ann. Biomed. Eng., 36(10) :1690–1698, Octobre 2008.

[146] R. Paul. Flow-correlated dilution of a regular network leads to a percolating network during tumor-induced angiogenesis. The European Physical Journal E : Soft Matter and Biological Physics, 30 :101–114, 2009. 10.1140/epje/i2009-10513-8.

[147] M. Welter and H. Rieger. Blood vessel network remodelling during tumor growth. Theoretische Physik, 2011.

[148] A. R. Pries, T. W. Secomb, M. Sperandio, and P. Gaehtgens. Blood flow resistance during hemodilution : effect of plasma composition. Cardiovasc Res, 37(1) :225–235, Jan 1998.

[149] S. R. McDougall, MAJ. Chaplain, A. St 'ephanou, and A. R. A. Anderson. Modelling the impact of pericyte migration and coverage of vessels on the efficacy of vascular disrupting agents. Math. Model. Nat. Phenom., 3(1) :1–41, 2010.

[150] A. R. Pries, B. Reglin, and T. W. Secomb. Structural adaptation of microvascular networks : functional roles of adaptive responses. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 281(3) :H1015–H1025, Sep 2001.

[151] A. R. Pries, B. Reglin, and T. W. Secomb. Structural response of microcirculatory networks to changes in demand : information transfer by shear stress. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 284(6) :H2204–H2212, Jun 2003.

[152] B. Reglin, T. W. Secomb, and A. R Pries. Structural adaptation of microvessel diameters in response to metabolic stimuli : where are the oxygen sensors ? Am J Physiol Heart Circ Physiol, 297(6) :H2206–H2219, Dec 2009.

[153] A. R. Pries, M. Höpfner, F. le Noble, M. W. Dewhirst, and T. W. Secomb. The shunt problem : control of functional shunting in normal and tumour vasculature. Nat. Rev. Cancer, 10 :587–593, 2010.

[154] A. R. Pries, B. Reglin, and T. W. Secomb. Modeling of angioadaptation : insights for vascular development. Int J Dev Biol, 55(4-5) :399–405, 2011.

[155] F. Laigle-Donadey, C. Dehais, J-J. Mazeron, and M. Sanson. [association of radiotherapy and chemotherapy-targeted therapies in glioblastomas]. Bull Cancer, 96(3) :291–297, Mar 2009.

[156] O. S. Miettinen. Screening for a cancer : thinking before rethinking. Eur J Epidemiol, 25(6) :365–374, Jun 2010.

[157] C. D. Jones, I. G. Cummings, A. R. Shipolini, and D. J. McCormack. Does surgery improve prognosis in patients with small-cell lung carcinoma ? Interact Cardiovasc Thorac Surg, 39(1) :29–36, Nov 2012.

[158] L. Marcu, E. Bezak, I. Olver, and T. van Doorn. Tumour resistance to cisplatin : a modelling approach. Phys Med Biol, 50(1) :93–102, Jan 2005.

[159] F. Lévi, A. Altinok, J. Clairambault, and A. Goldbeter. Implications of circadian clocks for the rhythmic delivery of cancer therapeutics. Philos Trans A Math Phys Eng Sci, 366(1880) :3575–3598, Oct 2008.

[160] H. B Frieboes, M. E Edgerton, J. P. Fruehauf, F. R. A. J. Rose, L. K. Worrall, R. A. Gatenby, M. Ferrari, and V. Cristini. Prediction of drug response in breast cancer using integrative experimental/computational modeling. Cancer Res, 69(10) :4484–4492, May 2009.

[161] Valentina Boni, Nerea Bitarte, Ion Cristobal, Ruth Zarate, Javier Rodriguez, Evaristo Maiello, Jesus Garcia-Foncillas, and Eva Bandres. mir-192/mir-215 influence 5-fluorouracil resistance through cell cycle-mediated mechanisms complementary to its post-transcriptional thymidilate synthase regulation. Mol Cancer Ther, 9(8) :2265–2275, Aug 2010.

[162] Barbara Fasulo, Carol Koyama, Kristina R Yu, Ellen M Homola, Tao S Hsieh, Shelagh D Campbell, and William Sullivan. Chk1 and wee1 kinases coordinate dna replication, chromosome condensation, and anaphase entry. Mol Biol Cell, 23(6) :1047–1057, Mar 2012.

[163] N. Rastogi and D. P. Mishra. Therapeutic targeting of cancer cell cycle using proteasome inhibitors. Cell Div, 7(1) :26, Dec 2012.

[164] Jeffrey A Silverman and Steven R Deitcher. Marqibo® (vincristine sulfate liposome injection) improves the pharmacokinetics and pharmacodynamics of vincristine. Cancer Chemother Pharmacol, 71(3) :555–564, Mar 2013.

[165] I. K. Nordgren and A. Tavassoli. Targeting tumour angiogenesis with small molecule inhibitors of hypoxia inducible factor. Chem Soc Rev, 40(8) :4307–4317, Aug 2011.

[166] A. Mukherjee, K. Huber, H. Evans, N. Lakhani, and S. Martin. A cellular and molecular investigation of the action of pmx464, a putative thioredoxin inhibitor, in normal and colorectal cancer cell lines. Br J Pharmacol, 151(8) :1167–1175, Aug 2007.

[167] M. B. Meads, R. A. Gatenby, and W. S. Dalton. Environment-mediated drug resistance : a major contributor to minimal residual disease. Nat Rev Cancer, 9(9) :665–674, Sep 2009.

[168] D. Ayers and A. Nasti. Utilisation of nanoparticle technology in cancer chemoresistance. J Drug Deliv, 2012 :265691, 2012.

[169] R. A. Gatenby, A. S. Silva, R. J. Gillies, and B. R. Frieden. Adaptive therapy. Cancer Res, 69(11) :4894–4903, Jun 2009.

[170] R. A. Gatenby. A change of strategy in the war on cancer., chapter 7246, pages 508 – 509. Number 7246. Nature Publishing Group, 2009.

[171] F. Lévi, A. Okyar, S. Dulong, P. F. Innominato, and J. Clairambault. Circadian timing in cancer treatments. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 50 :377–421, 2010.

[172] A. Ballesta, S. Dulong, C. Abbara, B. Cohen, A. Okyar, J. Clairambault, and F. Levi. A combined experimental and mathematical approach for molecular-based optimization of irinotecan circadian delivery. PLoS Comput Biol, 7(9) :e1002143, Sep 2011.

[173] G. Bergers and D. Hanahan. Modes of resistance to anti-angiogenic therapy. Nat Rev Cancer, 8(8) :592–603, Aug 2008.

[174] J. Gevertz. Optimization of vascular-targeting drugs in a computational model of tumor growth. Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys, 85(4-1) :041914, Apr 2012.

[175] D. Ribatti. Anti-angiogenesis in neuroblastoma. Crit Rev Oncol Hematol, 86(3) :212–21, Dec 2012.

[176] R. K. Jain. A new target for tumor therapy. N Engl J Med, 360(25) :2669–2671, Jun 2009.

[177] M. Mazzone, D. Dettori, R. Leite de Oliveira, S. Loges, T. Schmidt, B. Jonckx, Y-M.Tian, A. A. Lanahan, P. Pollard, C. Ruiz de Almodovar, F. De Smet, S. Vinckier, J. Aragonés, K. Debackere, A. Luttun, S. Wyns, B. Jordan, A. Pisacane, B. Gallez, M. G. Lampugnani, E. Dejana, M. Simons, P. Ratcliffe, P. Maxwell, and P. Carmeliet. Heterozygous deficiency of phd2 restores tumor oxygenation and inhibits metastasis via endothelial normalization. Cell, 136(5) :839–851, Mar 2009.

[178] L. Moserle and O. Casanovas. Anti-angiogenesis and metastasis : a tumour and stromal cell alliance. J Intern Med, 273(2) :128–137, Nov 2012.

[179] K. H. Plate, A. Scholz, and D. J. Dumont. Tumor angiogenesis and anti-angiogenic therapy in malignant gliomas revisited. Acta Neuropathol, 124(6) :763–775, Dec 2012.

[180] A. Bagri, L. Berry, B. Gunter, M. Singh, I. Kasman, L. A Damico, H. Xiang, M. Schmidt, G. Fuh, B. Hollister, O. Rosen, and G. D. Plowman. Effects of anti-vegf treatment duration on tumor growth, tumor regrowth, and treatment efficacy. Clin Cancer Res, 16(15) :3887–3900, Aug 2010.

[181] T. Voloshin, E. E. Voest, and Y. Shaked. The host immunological response to cancer therapy : An emerging concept in tumor biology. Exp Cell Res, Mar 2013.

[182] B. A. Salmon, H. W. Salmon, and D. W. Siemann. Monitoring the treatment efficacy of the vascular disrupting agent ca4p. Eur J Cancer, 43(10) :1622–1629, Jul 2007.

[183] S. Strieth, M. E. Eichhorn, Al. Werner, B. Sauer, M. Teifel, U. Michaelis, A. Berghaus, and M. Dellian. Paclitaxel encapsulated in cationic liposomes increases tumor microvessel leakiness and improves therapeutic efficacy in combination with cisplatin. Clin Cancer Res, 14(14) :4603–4611, Jul 2008.

[184] G. Thurston, J. W. McLean, M. Rizen, P. Baluk, A. Haskell, T. J. Murphy, D. Hanahan, and D. M. McDonald. Cationic liposomes target angiogenic endothelial cells in tumors and chronic inflammation in mice. J Clin Invest, 101(7) :1401–1413, Apr 1998.

[185] C. Clémenson, C. Chargari, and E. Deutsch. Combination of vascular disrupting agents and ionizing radiation. Crit Rev Oncol Hematol, 86(2) :143–60, Nov 2012.

[186] K. W. Kim, J. M. Lee, Y. S. Jeon, I. J. Lee, Y. Choi, J. Park, B. Kiefer, C. Kim, J. K. Han, and B. I. Choi. Vascular disrupting effect of ckd-516 : preclinical study using dce-mri. Invest New Drugs, 7(7) :e40177, Jan 2013.

[187] L. Nguyen, T. Fifis, C. Malcontenti-Wilson, L. S. Chan, P. N. Luiza Costa, M. Nikfarjam, V. Muralidharan, and C. Christophi. Spatial morphological and molecular differences within solid tumors may contribute to the failure of vascular disruptive agent treatments. BMC Cancer, 12 :522, 2012.

[188] M. Taylor, F. Billiot, V. Marty, V.Rouffiac, P. Cohen, E. Tournay, P. Opolon, F. Louache, G. Vassal, C. Laplace-Builhé, P. Vielh, J-C. Soria, and F. Farace. Reversing resistance to vascular-disrupting agents by blocking late mobilization of circulating endothelial progenitor cells. Cancer Discov, 2(5) :434–449, May 2012.

[189] D. Fukumara and R. K. Jain. Imaging angiogenesis and the microenvironment. APMIS, 116 :695–715, 2008.

[190] S. Chen, D. M. Lovelock, and R. J. Radke. Segmenting the prostate and rectum in ct imagery using anatomical constraints. Med Image Anal, 15(1) :1–11, Feb 2011.

[191] N. Lepareur, V. Ardisson, N. Noiret, and E. Garin. (188)re-sss/lipiodol : Development of a potential treatment for hcc from bench to bedside. Int J Mol Imaging, 2012 :278306, 2012.

[192] J-M. Hannoun-Levi, D. Chevallier, J-M. Cosset, and A. Gerbaulet. Evolution of prostate cancer brachytherapy. Bull Cancer, 99(12) :1175–1181, Dec 2012.

[193] E. Lartigau. Radiothérapie et anti-angiogenèse. VEGF Actu, 6 :3–4, 2007.

[194] R. Fahrner, A. Ochsenbein, R. A. Schmid, and G. L. Carboni. Long term survival after trimodal therapy in malignant pleural mesothelioma. Swiss Med Wkly, 142 :0, 2012.

[195] L. G. Marcu and E. Bezak. Influence of stem-cell cycle time on accelerated re-population during radiotherapy in head and neck cancer. Cell Prolif, 45(5) :404–412, Oct 2012.

[196] M. Kioi, H. Vogel, G. Schultz, R. M. Hoffman, G. R. Harsh, and J. M. Brown. Inhibition of vasculogenesis, but not angiogenesis, prevents the recurrence of glioblastoma after irradiation in mice. J. Clin. Invest., 120 :694–705, 2010.

[197] J. Rousseau, R. F. Barth, M. Fernandez, J.-F. Adam, J. Balosso, F. Estève, and H. Elleaume. Efficacy of intracerebral delivery of cisplatin in combination with photon irradiation for treatment of brain tumors. J Neurooncol, 98(3) :287–295, Jul 2010.

[198] S. Iyer and D. Balasubramanian. Management of radiation wounds. Indian J Plast Surg, 45(2) :325–331, May 2012.

[199] A. G. Rijkee, J. Zoetelief, C. P J Raaijmakers, S. C. Van Der Marck, and W. Van Der Zee. Assessment of induction of secondary tumours due to various radiotherapy modalities. Radiat Prot Dosimetry, 118(2) :219–226, 2006.

[200] C. Demoor-Goldschmidt, S. Supiot, and M-A. Mah 'e. [breast cancer after radiotherapy : Risk factors and suggestion for breast delineation as an organ at risk in the prepuberal girl]. Cancer Radiother, 16(2) :140–151, Apr 2012.

[201] P. Deman, M. Vautrin, V. Stupar, E. L. Barbier, H. Elleaume, F. Esteve, and J. F. Adam. Monochromatic minibeam radiotherapy : theoretical and experimental dosimetry for preclinical treatment plans. Phys Med Biol, 56(14) :4465–4480, Jul 2011.

[202] P. Deman, M. Vautrin, M. Edouard, V. Stupar, L. Bobyk, R. Farion, H. Elleaume, C. Rémy, E. L. Barbier, F. Estève, and J.-F. Adam. Monochromatic minibeams radiotherapy : from healthy tissue-sparing effect studies toward first experimental glioma bearing rats therapy. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 82(4) :e693–e700, Mar 2012.

[203] A. Hoos. Evolution of end points for cancer immunotherapy trials. Ann Oncol, 23 Suppl 8 :viii47–viii52, Sep 2012.

[204] O. Leavy. Immunotherapy : Isolation of t(cm) cells for tumour immunotherapy. Nat Rev Immunol, 12(10) :680–681, Oct 2012.

[205] N. P. Restifo, M. E. Dudley, and S. A. Rosenberg. Adoptive immunotherapy for cancer : harnessing the t cell response. Nat Rev Immunol, 12(4) :269–281, Apr 2012.

[206] B. Escudier. Emerging immunotherapies for renal cell carcinoma. Ann Oncol, 23 Suppl 8 :viii35–viii40, Sep 2012.

[207] B. Joshi, X. Wang, S. Banerjee, H. Tian, A. Matzavinos, and M. A J Chaplain. On immunotherapies and cancer vaccination protocols : a mathematical modelling approach. J Theor Biol, 259(4) :820–827, Aug 2009.

[208] K. Bourzac. Nanotechnology : Carrying drugs. Nature, 491(7425) :S58–S60, Nov 2012.

[209] J. I. Quetglas, J. Fioravanti, N. Ardaiz, J. Medina-Echeverz, I. Baraibar, J. Prieto, C. Smerdou, and P. Berraondo. A semliki forest virus vector engineered to express ifná induces efficient elimination of established tumors. Gene Ther, 19(3) :271–278, Mar 2012.

[210] D. Bexell, A. Svensson, and J. Bengzon. Stem cell-based therapy for malignant glioma. Cancer Treat Rev, 39(4) :358–65, Jul 2013.

[211] H. Yuan, C. G. Khoury, C. M. Wilson, G. A. Grant, A. J. Bennett, and T. Vo-Dinh. In vivo particle tracking and photothermal ablation using plasmon-resonant gold nanostars. Nanomedicine, 8(8) :1355–1363, Nov 2012.

[212] M. M. Shenoi, I. Iltis, J. Choi, N. A. Koonce, G. J. Metzger, R. J. Griffin, and J. C. Bischof. Nanoparticle delivered vascular disrupting agents (vdas) : Use of tnf-alpha conjugated gold nanoparticles for multimodal cancer therapy. Mol Pharm, Apr 2013.

[213] L. Li, T. L. M. Ten Hagen, M. Hossann, R. Suss, G. C. van Rhoon, A. M. M. Eggermont, D. Haemmerich, and G. A. Koning. Mild hyperthermia triggered doxorubicin release from optimized stealth thermosensitive liposomes improves intratumoral drug delivery and efficacy. J Control Release, Mar 2013.

[214] J. Watson. Oxidants, antioxidants and the current incurability of metastatic cancers. Open Biol, 3(1) :120144, 2013.

[215] J. Foo and F. Michor. Evolution of resistance to anti-cancer therapy during general dosing schedules. J Theor Biol, 263(2) :179–188, Mar 2010.

[216] J. Foo, K. Leder, and S. M. Mumenthaler. Cancer as a moving target : understanding the composition and rebound growth kinetics of recurrent tumors. Evol Appl, 6(1) :54–69, Jan 2013.

[217] O. Vainas, S. Ariad, O. Amir, W. Mermershtain, V. Vainstein, M. Kleiman, O. Inbar, R. Ben-Av, A. Mukherjee, S. Chan, and Z. Agur. Personalising docetaxel and g-csf schedules in cancer patients by a clinically validated computational model. Br J Cancer, 107(5) :814–822, Aug 2012.

[218] G. G. Powathil, D. J. A. Adamson, and M. A. J. Chaplain. Towards predicting the response of a solid tumour to chemotherapy and radiotherapy treatments : clinical insights from a computational model. PLoS Comput Biol, 9(7) :e1003120, Jul 2013.

[219] J. Zhao, H. Salmon, and M. Sarntinoranont. Effect of heterogeneous vasculature on interstitial transport within a solid tumor. Microvasc Res, 73(3) :224–236, May 2007.

[220] R. K. Jain, R. T. Tong, and L. L. Munn. Effect of vascular normalization by antiangiogenic therapy on interstitial hypertension, peritumor edema, and lymphatic metastasis : insights from a mathematical model. Cancer Res, 67(6) :2729–2735, Mar 2007.

[221] L. J. Liu, S. L. Brown, J. R. Ewing, and M. Schlesinger. Phenomenological model of interstitial fluid pressure in a solid tumor. Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys, 84(2-1) :021919, Aug 2011.

[222] B. Ribba, K. Marron, Z. Agur, T. Alarcòn, and P. K. Maini. A mathematical model of doxorubicin treatment efficacy for non-hodgkin's lymphoma : investigation of the current protocol through theoretical modelling results. Bull Math Biol, 67(1) :79–99, Jan 2005.

[223] S. N. Gardner. Modeling multi-drug chemotherapy : tailoring treatment to individuals. J Theor Biol, 214(2) :181–207, Jan 2002.

[224] K. Asaishi, B. Endrich, A. Gotz, and K. Messmer. Quantitative analysis of microvascular structure and function in the amelanotic melanoma a-mel-3. Cancer Res, 41(5) :1898–1904, May 1981.

[225] H. A. Lehr, M. Leunig, M. D. Menger, D. Nolte, and K. Messmer. Dorsal skinfold chamber technique for intravital microscopy in nude mice. Am J Pathol, 143(4) :1055–1062, Oct 1993.

[226] V. T. Baron, J. Welsh, P. Abedinpour, and P. Borgstr om. Intravital microscopy in the mouse dorsal chamber model for the study of solid tumors. Am J Cancer Res, 1(5) :674–686, 2011.

[227] A-C. Lavigne, V. Carrière, F. Amalric, J-P. Girard, and C. M´Rini. Apports de la microscopie réalisée in situ sur animal vivant dans l´étude du cancer. Med Sci (Paris), 18(2) :217–225, 2002.

[228] S. Strieth, M. E. Eichhorn, B. Sauer, B. Schulze, M. Teifel, U. Michaelis, and M. Dellian. Neovascular targeting chemotherapy : encapsulation of paclitaxel in cationic liposomes impairs functional tumor microvasculature. Int J Cancer, 110(1) :117–124, May 2004.

[229] D. Strelczyk, M. E. Eichhorn, S. Luedemann, G. Brix, M. Dellian, A. Berghaus, and S. Strieth. Static magnetic fields impair angiogenesis and growth of solid tumors in vivo. Cancer Biol Ther, 8(18) :1756–1762, Sep 2009.

[230] G. E. Koehl, A. Gaumann, and E. K. Geissler. Intravital microscopy of tumor angiogenesis and regression in the dorsal skin fold chamber : mechanistic insights and preclinical testing of therapeutic strategies. Clin Exp Metastasis, 26(4) :329–344, 2009.

[231] M. Upreti, A. Jamshidi-Parsian, N. A. Koonce, J. S. Webber, S. K. Sharma, A. A. Asea, M. J. Mader, and R. J. Griffin. Tumor-endothelial cell three-dimensional spheroids : New aspects to enhance radiation and drug therapeutics. Transl Oncol, 4(6) :365–376, Dec 2011.

[232] T. G. Simonsen, J.-V. Gaustad, M. N. Leinaas, and E. K. Rofstad. Vascular abnormalities associated with acute hypoxia in human melanoma xenografts. Radiother Oncol, 105(1) :72–78, Oct 2012.

[233] J. A. Lee, R. T. Kozikowski, and B. S. Sorg. Combination of spectral and fluorescence imaging microscopy for wide-field in vivo analysis of microvessel blood supply and oxygenation. Opt Lett, 38(3) :332–334, Feb 2013.

[234] L. Arakelyan, Y. Merbl, and Z. Agur. Vessel maturation effects on tumour growth : validation of a computer model in implanted human ovarian carcinoma spheroids. Eur J Cancer, 41(1) :159–167, Jan 2005.

[235] H. D. Papenfuss, J. F. Gross, M. Intaglietta, and F. A. Treese. A transparent access chamber for the rat dorsal skin fold. Microvasc Res, 18(3) :311–318, Nov 1979.

[236] N. Z. Wu, B. A. Ross, C. Gulledge, B. Klitzman, R. Dodge, and M. W. Dewhirst. Differences in leucocyte-endothelium interactions between normal and adenocarcinoma bearing tissues in response to radiation. Br J Cancer, 69(5) :883–889, May 1994.

[237] N. Lindenblatt, U. Platz, M. Althaus, N. Hegland, CA Schmidt, C. Contaldo, B. Vollmar, P. Giovanoli, and M. Calcagni. Temporary angiogenic transformation of the skin graft vasculature after reperfusion. Plast Reconstr Surg, 126(1) :61–70, Jul 2010.

[238] M. J. C. Machado, M. G. Watson, A. H. Devlin, M. A. J. Chaplain, S. R. McDougall, and C. A. Mitchell. Dynamics of angiogenesis during wound healing : a coupled in vivo and in silico study. Microcirculation, 18(3) :183–197, Apr 2011.

[239] T. G. Simonsen, J.-V. Gaustad, and E. K. Rofstad. Development of hypoxia in a preclinical model of tumor micrometastases. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 76(3) :879–888, Mar 2010.

[240] R. K. Jain, L. L. Munn, and D. Fukumura. Dissecting tumour pathophysiology using intravital microscopy. Nat Rev Cancer, 2(4) :266–276, Apr 2002.

[241] M. Leunig, F. Yuan, M. D. Menger, Y. Boncher, A. E. Goetz, K. Messmer, and R. K. Jain. Angiogenesis, microvascular architecture, microhemodynamics, and interstitial fluid pressure during early growth of human adenocarcinoma lsi74t in scid mice. Cancer Research, 52 :6553–6560, 1992.

[242] E. Brown, L. L. Munn, D. Fukumura, and R. K. Jain. In vivo imaging of tumors. Cold Spring Harb Protoc, 2010(7) :pdb.prot5452, Jul 2010.

[243] I. Debergh, N. Van Damme, P. Pattyn, M. Peeters, and W. P. Ceelen. The low-molecular-weight heparin, nadroparin, inhibits tumour angiogenesis in a rodent dorsal skinfold chamber model. Br J Cancer, 102(5) :837–843, Mar 2010.

[244] Allison B Chambliss, Pei-Hsun Wu, Wei-Chiang Chen, Sean X Sun, and Denis Wirtz. Simultaneously defining cell phenotypes, cell cycle, and chromatin modifications at single-cell resolution. FASEB J, 27(7) :2667–2676, Jul 2013.

[245] A. R. Pries, T. W. Secomb, and P. Gaehtgens. Relationship between structural and hemodynamic heterogeneity in microvascular networks. Am J Physiol, 270(2 Pt 2) :H545–H553, Feb 1996.

[246] F. T. H. Wu, M. O. Stefanini, F. Mac Gabhann, and A. S. Popel. A compartment model of vegf distribution in humans in the presence of soluble vegf receptor-1 acting as a ligand trap. PLOS One, 4 :(4), April 2009.

[247] A. A. Qutub and A. S. Popel. Elongation, proliferation & migration differentiate endothelial cell phenotypes and determine capillary sprouting. BMC Syst. Biol., 3 :(13), 2009.

[248] E. M. Prokopiou, S. A. Ryder, and J. J. Walsh. Tumour vasculature targeting agents in hybrid/conjugate drugs. Angiogenesis, Mar 2013.

[249] Atilla Altinok, Francis Lévi, and Albert Goldbeter. A cell cycle automaton model for probing circadian patterns of anticancer drug delivery. Adv Drug Deliv Rev, 59(9-10) :1036–1053, Aug 2007.

[250] D. Goldman and A. S. Popel. A computational study of the effect of capillary network anastomoses and tortuosity on oxygen transport. Journal of Theoretical Biology, 206(2) :181 – 194, 2000.

[251] D. H. Pluznik, R. E. Cunningham, and P. D. Noguchi. Colony-stimulating factor (csf) controls proliferation of csf-dependent cells by acting during the g1 phase of the cell cycle. Proc Natl Acad Sci U S A, 81(23) :7451–7455, Dec 1984.

[252] C. Lohou. Contribution à l'analyse topologique des images : L' étude d'algorithmes pour images 2D et 3D, selon une approche topologie digitale ou topologie discrète. PhD thesis, Université de Marne-la-Vallée, 2011.