

N° d'ordre : 306 - 2009

Année 2009

THESE DE L'UNIVERSITE DE LYON

Délivrée par

L'UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1

ECOLE DOCTORALE :

Evolution Ecosystèmes Microbiologie Modélisation (E2M2)

DIPLOME DE DOCTORAT

(arrêté du 7 août 2006)

Soutenue publiquement le 09 décembre 2009

par

Frédérique BILLY

**Modélisation mathématique multi-échelle de
l'angiogenèse tumorale. Analyse de la réponse
tumorale aux traitements anti-angiogéniques.**

Directeurs de thèse : Pr Emmanuel GRENIER, Pr Jean-Pierre FLANDROIS

JURY :	M. Dominique	BARBOLOSI	Rapporteur
	M. S. Randall	THOMAS	Rapporteur
	M. Jean-Pierre	BOISSEL	Examinateur
	M. Jean	CLAIRAMBAULT	Examinateur
	M. Jean-Pierre	FLANDROIS	Examinateur
	M. Emmanuel	GRENIER	Examinateur

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON 1

Président de l'Université

Vice-président du Conseil Scientifique

Vice-président du Conseil d'Administration

Vice-président du Conseil des Etudes et de la Vie Universitaire

Secrétaire Général

M. le Professeur L. Collet

M. le Professeur J-F. Mornex

M. le Professeur G. Annat

M. le Professeur D. Simon

M. G. Gay

COMPOSANTES SANTE

Faculté de Médecine Lyon Est - Claude Bernard

Faculté de Médecine Lyon Sud - Charles Mérieux

UFR d'Odontologie

Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques

Institut des Sciences et Techniques de Réadaptation

Département de Formation et Centre de Recherche en Biologie Humaine

Directeur : M. le Professeur J. Etienne

Directeur : M. le Professeur F-N. Gilly

Directeur : M. le Professeur D. Bourgeois

Directeur : M. le Professeur F. Locher

Directeur : M. le Professeur Y. Matillon

Directeur : M. le Professeur P. Farge

COMPOSANTES SCIENCES ET TECHNOLOGIE

Faculté des Sciences et Technologies

UFR Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives

Observatoire de Lyon

Institut des Sciences et des Techniques de l'Ingénieur de Lyon

Institut Universitaire de Technologie A

Institut Universitaire de Technologie B

Institut de Science Financière et d'Assurance

Institut Universitaire de Formation des Maîtres

Directeur : M. Le Professeur F. Gieres

Directeur : M. C. Collignon

Directeur : M. B. Guiderdoni

Directeur : M. le Professeur J. Lieto

Directeur : M. le Professeur C. Coulet

Directeur : M. le Professeur R. Lamartine

Directeur : M. le Professeur J-C. Augros

Directeur : M. R. Bernard

RESUME

Le cancer est l'une des principales causes de décès dans le monde.

L'angiogenèse tumorale est le processus de formation de nouveaux vaisseaux sanguins à partir de vaisseaux préexistants. Une tumeur cancéreuse peut induire l'angiogenèse afin de disposer d'apports supplémentaires en oxygène et nutriments, indispensables à la poursuite de son développement.

Cette thèse consiste en l'élaboration d'un modèle mathématique multi-échelle de l'angiogenèse tumorale. Ce modèle intègre les principaux mécanismes intervenant aux échelles tissulaire et moléculaire. Couplé à un modèle de croissance tumorale, notre modèle permet d'étudier les effets de l'apport en oxygène sur la croissance tumorale.

D'un point de vue mathématique, ces modèles d'angiogenèse et de croissance tumorale reposent sur des équations aux dérivées partielles de réaction-diffusion et d'advection régissant l'évolution spatio-temporelle des densités de cellules endothéliales, cellules constituant la paroi des vaisseaux sanguins, et tumorales, ainsi que celle des concentrations tissulaires en substances pro- et anti-angiogéniques et en oxygène. A l'échelle moléculaire, la liaison des substances angiogéniques aux récepteurs membranaires des cellules endothéliales, mécanisme clé de la communication intercellulaire, est modélisée à l'aide de lois pharmacologiques.

Ce modèle permet ainsi de reproduire *in silico* les principaux mécanismes de l'angiogenèse et d'analyser leur rôle dans la croissance tumorale. Il permet également de simuler l'action de différentes thérapies anti-angiogéniques, et d'étudier leur efficacité sur le développement tumoral afin d'aider à l'innovation thérapeutique.

TITLE

Multiscale mathematical modeling of tumor-induced angiogenesis. Investigation of the tumoral response to anti-angiogenic therapies.

ABSTRACT

Cancer is one of the main causes of death worldwide.

Angiogenesis is the formation of new blood vessels from preexisting vessels. A cancerous tumor can induce angiogenesis in order to get essential additional oxygen and nutrients supply to grow. This thesis is about the development of a multiscale mathematical model of tumor-induced angiogenesis. This model takes into account the main mechanisms that occur at the tissue level and at the molecular level during angiogenesis. Coupled with a model of tumor growth, our model enables to simulate the effect of oxygen supply on tumor growth.

On a mathematical point of view, these models of tumor-induced angiogenesis and tumor growth are based on reaction-diffusion and advection partial differential equations that govern the evolution of the densities of endothelial cells, that compose blood vessel wall, and tumor cells, and that of the tissue concentrations of pro- and anti-angiogenic substances and oxygen. At the molecular level, the binding of angiogenic substances to receptors located on the membrane of endothelial cells is modeled by use of pharmacological laws. Such bindings are key mechanisms of intercellular communication.

This model makes it possible to reproduce *in silico* the main mechanisms of angiogenesis and to analyze their action on tumor growth. It also enables to simulate the action of several anti-angiogenic therapies and to study their efficacy on tumor growth in order to help therapeutic

innovation.

DISCIPLINE

Mathématiques appliquées

MOTS CLES

modélisation mathématique multi-échelle ; angiogenèse ; croissance tumorale ; thérapies anti-angiogéniques ; optimisation de thérapies

KEY WORDS

multiscale mathematical modeling ; angiogenesis ; tumor growth ; anti-angiogenic therapies ; therapy optimization

INTITULE ET ADRESSE DU LABORATOIRE

Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive (LBBE) - UMR CNRS 5558
Université Claude Bernard Lyon 1
Bât. Grégor Mendel
43 bd du 11 novembre 1918
69622 VILLEURBANNE cedex

Remerciements

Au terme de ce travail, je tiens à remercier toutes les personnes sans qui cette thèse n'aurait pu exister.

Je remercie tout d'abord Monsieur le Professeur Jean-Pierre BOISSEL de m'avoir proposé ce sujet de thèse, de m'avoir ainsi permis de commencer à réaliser mon projet de carrière, et d'avoir accepté de participer à mon jury de thèse.

Mes remerciements vont également à Monsieur le Professeur François GUEYFFIER pour m'avoir accueillie dans l'équipe Evaluation et Modélisation des Effets Thérapeutiques (EMET) qu'il dirige au sein du laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive, et de m'avoir permis de mener à bien cette thèse.

Je remercie vivement mes directeurs de thèse pour la confiance qu'ils m'ont accordée. Je remercie Monsieur le Professeur Emmanuel GRENIER d'avoir accepté d'encadrer cette thèse, et de m'avoir conseillée durant ces trois années. Je remercie également Monsieur le Professeur Jean-Pierre FLANDROIS d'avoir accepté d'encadrer cette thèse, de m'avoir permis de séjourner au sein de son équipe à la faculté de Médecine Lyon Sud - Charles Mérieux, et également pour sa disponibilité et ses précieux conseils.

J'exprime toute ma reconnaissance à Monsieur S. Randall THOMAS, ainsi qu'à Monsieur Dominique BARBOLOSI pour m'avoir fait l'honneur d'être rapporteurs de ce travail de thèse.

Je remercie également Monsieur Jean CLAIRAMBAULT d'avoir accepté de juger mon travail.

Mes plus vifs remerciements sont adressés à Monsieur Benjamin RIBBA pour ses conseils en modélisation dans le domaine de la cancérologie, et pour m'avoir guidée durant ces trois années.

Je remercie également Monsieur le Professeur Thierry COLIN, Monsieur Olivier SAUT et Monsieur Didier BRESCH pour leurs conseils et leur enthousiasme communicatif. Merci particulièrement à Olivier pour sa disponibilité et son aide précieuse dans l'implémentation du modèle.

Je tiens également à remercier Madame Violaine LOUVET et Monsieur Thierry DUMONT pour leur aide technique, et pour m'avoir permis d'utiliser les ressources informatiques de l'Institut Camille Jordan.

Je remercie très chaleureusement Mademoiselle Marie-Aimée DRONNE pour l'aide qu'elle m'a apportée tout au long de cette thèse, aussi bien sur le plan théorique que pratique. Merci à elle de m'avoir fait profiter de son expérience dans le domaine de la recherche, et surtout merci pour sa gentillesse et sa disponibilité.

Pour les diverses discussions qui ont permis d'éclairer mes réflexions, je remercie Monsieur le Professeur Jean-Yves SCOAZEC, Monsieur Denis GERLIER, Monsieur Pascal GIRARD et Monsieur Michel TOD.

J'adresse un grand merci au personnel du Service de Pharmacologie Clinique de la faculté de Médecine Laennec pour leur accueil et leur gentillesse. Je garderai un très bon souvenir de mon passage dans le service.

Je remercie les membres, passés et actuels, de l'équipe du Professeur Jean-Pierre FLANDROIS à la faculté de Médecine Lyon Sud - Charles Mérieux : Catherine, David, Gérard, Ghislaine, Sophie, Véronique, Willy. Je les remercie pour leur accueil et l'intérêt qu'ils ont porté à mon travail pourtant relativement éloigné de leur domaine de recherche. Je garderai un très bon souvenir de mon passage au laboratoire. Merci également à Emilie pour sa bonne humeur et sa joie de vivre.

Je souhaite également adresser mes remerciements à Madame Marie-Françoise MORIZUR pour m'avoir permis d'y voir plus clair dans mon projet professionnel.

Je remercie vivement mes collègues et amis doctorants et post-doctorants, passés et actuels, de l'équipe EMET : Ahmed, Alexandra, Amine, Catherine, Delphine, Diéré, Gustavo, Hadrien, Ivanny, Justine, Lu, Riad, Taïssia, Valérie, Ying. Merci pour ces bons moments passés ensemble. Merci tout particulièrement à Catherine et Justine pour leur soutien constant durant ces trois années.

J'adresse mes plus chaleureux remerciements à Céline, Nicolas, et Virginie pour leur amitié et leurs encouragements.

Enfin, je tiens à remercier mes parents. Merci pour la confiance qu'ils m'ont accordée, pour leur soutien sans faille dans les bons moments comme dans les moins bons. Merci également à Jean-François, Fabienne et Ambre pour leur soutien affectif.

Cette thèse a été financée par l'Institut National du Cancer (Programme "Doctorants").

Table des matières

Table des matières	11
I Introduction	16
II Modélisation en physiopathologie	19
1 Généralités	20
2 Méthodologie	22
2.1 Gestion de la connaissance	23
2.2 Elaboration d'hypothèses biologiques	23
2.3 Elaboration du modèle discursif	24
2.4 Elaboration du modèle mathématique	25
2.5 Implémentation	26
2.6 Analyse du modèle	26
2.7 Réalisation de simulations	27
2.8 Validation du modèle	27
3 Eléments de modélisation en pharmacologie	29
3.1 Effet d'un agoniste	30
3.2 Effet en présence d'un antagoniste	30
3.2.1 Effet d'un agoniste en présence d'un antagoniste compétitif	31
3.2.2 Effet d'un agoniste en présence d'un antagoniste non-compétitif	32
III Etat de l'art	34
4 Introduction	35
5 Mécanismes de l'angiogenèse	38

6	Modèles mathématiques d'angiogenèse	43
6.1	Modèles continus	44
6.2	Modèles discrets	48
7	Mécanismes de la croissance tumorale	56
8	Modèles mathématiques de croissance tumorale avasculaire	60
8.1	Modèles continus	61
8.2	Modèles discrets	71
9	Modèles mathématiques de croissance tumorale vasculaire	76
9.1	Modèles continus	77
9.2	Modèles discrets	80
10	Thérapies anti-cancéreuses	83
11	Modèles de thérapies anti-angiogéniques	87
11.1	Modèles continus	87
11.2	Modèles discrets	89
IV	Nouveau modèle d'angiogenèse	92
12	Hypothèses biologiques et modèle discursif	94
12.1	Modèle de croissance tumorale	96
12.2	Modèle d'angiogenèse	97
12.3	Modèles de traitements anti-angiogéniques	99
13	Modèle mathématique	102
13.1	Variables du modèle	102
13.2	Equations du modèle	104
13.2.1	Densité de cellules endothéliales	104
13.2.2	Concentration en VEGF	109
13.2.3	Concentration en endostatine	110
13.2.4	Concentration en angiopoïétines	110
13.2.5	Concentration en oxygène	112
13.2.6	Densité de cellules tumorales et de cellules saines	112
13.2.7	Traitements anti-angiogéniques	116
13.2.7.1	Traitement A : anticorps anti-VEGF	116
13.2.7.2	Traitement B : endostatine	118
13.2.8	Résumé des équations du modèle	118
13.3	Conditions initiales et conditions au bord	121

13.3.1	Conditions initiales	121
13.3.2	Conditions au bord	122
13.4	Evaluation des effets thérapeutiques	122
13.5	Valorisation des paramètres	124
13.5.1	Coefficients de diffusion des substances chimiques	124
13.5.2	Autres coefficients	125
13.6	Implémentation du modèle	125
13.6.1	Equations de diffusion	126
13.6.2	Equations de transport	128
13.6.3	Equations d'amplification	129
13.6.4	Equation de réaction	129
13.6.5	Echelles de temps	129
V	Résultats numériques	132
14	Visualisation des résultats numériques	133
15	Etude de la robustesse du modèle	135
16	Etude <i>in silico</i> du développement du réseau vasculaire et de la croissance tumorale	136
17	Etude <i>in silico</i> de l'effet de traitements anti-angiogéniques	139
17.1	Effet d'anticorps anti-VEGF	139
17.1.1	Effet du traitement sur la croissance tumorale	139
17.1.2	Influence du schéma thérapeutique	142
17.2	Effet d'une thérapie génique	144
17.2.1	Effet du traitement sur la croissance tumorale	144
17.2.2	Influence du schéma thérapeutique	147
17.2.2.1	Evolution du critère d'efficacité 1	148
17.2.2.2	Evolution du critère d'efficacité 2	150
VI	Discussion	154
18	Propriétés du modèle	155
19	Limites du modèle	157
19.1	Modélisation	157
19.2	Biologie	158

VII Conclusion	161
Annexes	168
A Résumé des paramètres du modèle	169
B Publication	173
Bibliographie	192
Table des figures	205
Liste des tableaux	209

Première partie

Introduction

Le cancer est l'une des premières causes de décès à travers le monde. En France, il est devenu pour la première fois en 2004, la première cause de mortalité, devant les maladies cardiovasculaires [1], et son incidence globale (nombre de nouveaux cas par an) ne cesse d'augmenter [2].

Un cancer se caractérise par une prolifération incontrôlée de cellules d'un tissu, pour former une masse tumorale (ou tumeur). Ces cellules sont capables d'envahir le tissu environnant et de se répandre dans l'organisme par l'intermédiaire de la circulation sanguine et/ou lymphatique pour former des tumeurs distantes appelées métastases. Tous les types de tissus peuvent être concernés.

Dans les pays industrialisés, de nombreuses recherches sont menées afin de mieux comprendre les mécanismes intervenant dans le développement de cette pathologie, l'objectif final étant d'optimiser les traitements existants, voire d'en développer de nouveaux, et de rendre la pathologie cancéreuse comparable aux pathologies dites chroniques. Cependant, la complexité des processus du vivant rend la compréhension des mécanismes biologiques sous-jacents très difficile.

Ainsi, la modélisation mathématique se présente comme une approche complémentaire aux approches expérimentales traditionnelles. Ces dernières années, de nombreux modèles mathématiques de mécanismes cancéreux ont été développés afin d'aider à la compréhension de processus biologiques impliqués dans le cancer. L'intérêt de l'élaboration de tels modèles réside dans leur faculté à regrouper une grande quantité d'informations accumulées par les biologistes. Les simulations *in silico* issues de ces modèles peuvent également aider à l'élaboration de plans expérimentaux, voire éviter la réalisation d'expériences biologiques *in vitro* ou *in vivo* souvent longues et coûteuses.

Mon projet de thèse a consisté à élaborer un modèle mathématique multi-échelle de l'un des principaux mécanismes impliqués dans le cancer : l'angiogenèse. L'angiogenèse est le processus de formation de nouveaux vaisseaux sanguins à partir de vaisseaux préexistants. L'angiogenèse joue un rôle déterminant dans la pathologie cancéreuse puisqu'elle permet à la tumeur de disposer d'apports supplémentaires en oxygène et nutriments, indispensables à son développement. Ce modèle d'angiogenèse, couplé à un modèle mathématique de croissance tumorale, prend en

compte les principaux mécanismes intervenant à l'échelle tissulaire tels que la prolifération et la migration de cellules, ainsi que les mécanismes se produisant à l'échelle moléculaire tels que la liaison de molécules à des récepteurs spécifiques.

L'élaboration de ce modèle a pour objectif de reproduire de façon cohérente avec la réalité les mécanismes de l'angiogenèse et d'analyser leur rôle dans la croissance tumorale, mais également de simuler l'action de traitements anti-angiogéniques afin d'aider à l'innovation thérapeutique.

Ce rapport comprend sept parties.

Après cette introduction, la seconde partie rappelle brièvement les différentes étapes de la modélisation en physiopathologie, et présente les lois traditionnellement utilisées en pharmacologie pour modéliser la liaison d'un ligand à son récepteur.

La troisième partie est consacrée à la description des principaux mécanismes biologiques de l'angiogenèse et de la croissance tumorale, et présente des modèles mathématiques s'y rapportant.

La quatrième partie présente le modèle mathématique d'angiogenèse que j'ai développé au cours de cette thèse. Après la présentation des objectifs d'un tel modèle, le premier chapitre regroupe les différentes hypothèses biologiques ayant servi de base à l'élaboration du modèle. Le second chapitre est consacré au modèle mathématique en lui-même.

La cinquième partie expose les résultats de simulations obtenus avec ce modèle. Différentes situations ont été étudiées : sans et avec différents traitements anti-angiogéniques.

La sixième partie présente une discussion sur le modèle. Elle énonce les atouts du modèle, ainsi que ses limites.

La septième partie est consacrée à la conclusion et propose différentes perspectives de travail permettant de compléter le modèle.

Deuxième partie

Modélisation en physiopathologie

Chapitre 1

Généralités

Les systèmes vivants ne demeurent encore que partiellement connus et mal maîtrisés, et se distinguent ainsi des systèmes artificiels, construits et donc maîtrisés par l'homme.

La complexité de tels systèmes est liée non seulement au nombre important de leurs composantes, mais aussi aux interactions quantitatives et dynamiques entre ces composantes.

L'intérêt de la modélisation réside dans la possibilité de prendre en compte la complexité de la biologie, ce qui n'est pas possible avec les approches traditionnelles de la physiologie, de la biologie moléculaire et génétique [3]. Cependant, modéliser un système vivant dans les moindres détails est impossible. En effet, la modélisation en physiopathologie requiert des connaissances spécifiques à différentes échelles spatiales, allant de l'échelle génomique à l'échelle populationnelle. A cette diversité d'échelles spatiales s'ajoute un nombre croissant d'entités intervenant dans les différents mécanismes physiopathologiques. Ainsi, la modélisation d'une membrane plasmique, par exemple, nécessite la prise en compte d'un nombre considérable de lipides, protéines et glucides, dont la nature dépend du type de cellule considéré, et assurant la communication entre la cellule et son environnement ; il convient également de considérer la totalité des interactions entre ces composants, les différents échanges à travers cette membrane, ... ce qui représente une quantité d'informations considérable. De plus, les mécanismes physiopathologiques se produisent à différentes échelles temporelles, allant de la nanoseconde à plusieurs décennies. L'élaboration d'un modèle physiopathologique consiste donc à intégrer, par une approche réductionniste, un

maximum d'entités, et leurs interactions, plusieurs échelles spatio-temporelles intervenant dans les mécanismes considérés.

Un modèle mathématique physiopathologique peut, par exemple, permettre de vérifier une hypothèse thérapeutique, d'identifier les mécanismes clés d'une maladie afin de définir de nouvelles thérapies, ou de proposer de nouveaux biomarqueurs, caractéristiques évaluées comme indicateurs de processus physiopathologiques. Il peut également permettre de prédire la réponse individuelle à une thérapeutique donnée.

Chapitre 2

Méthodologie

Face à la quantité d'informations (biologiques, mathématiques, numériques) à prendre en compte dans l'élaboration d'un modèle en physiopathologie, il est indispensable de suivre une méthodologie précise et efficace pour mener à bien le projet de recherche [4]. Ce chapitre présente, d'une manière générale, la méthodologie adoptée au cours de cette thèse. Les différentes étapes de modélisation sont les suivantes :

- collecte et analyse critique des connaissances disponibles/pertinentes sur le sujet ;
- élaboration d'hypothèses biologiques ;
- élaboration du modèle discursif ;
- élaboration du modèle mathématique ;
- implémentation ;
- analyse du modèle ;
- réalisation de simulations ;
- validation du modèle.

2.1 Gestion de la connaissance

La gestion de la connaissance est une question de grande importance en modélisation physiopathologique. Le préalable à tout travail de modélisation est une recherche bibliographique des données biologiques relatives au phénomène étudié.

Plusieurs difficultés se présentent alors. Tout d'abord se pose le problème des ontologies. Afin de pouvoir intégrer des résultats de recherche provenant de différentes sources, il est nécessaire de s'assurer que les mêmes mots désignent les mêmes concepts. Il pourra ainsi parfois être utile de préciser l'emploi de certains termes afin que les chercheurs qui collaborent sur un même projet parlent le même langage.

Les difficultés résident également dans la complexité et l'abondance des connaissances disponibles ainsi que dans le manque de données quantitatives exploitables. Les bases de données d'échelle internationale, en voie de développement, apparaissent alors comme des outils essentiels pour palier à ce manque de données.

2.2 Elaboration d'hypothèses biologiques

La complexité du phénomène étudié conduit à distinguer, en fonction des objectifs du modèle, les processus clés des processus secondaires éventuellement négligeables, et à établir ainsi un certain nombre d'hypothèses simplificatrices. Ces hypothèses peuvent être de type biologique, permettant, par exemple, de palier au manque de connaissance sur le sujet, de type mathématique, ... Elles peuvent être hiérarchisées selon leur degré de vraisemblance. Il est ainsi vivement recommandé de distinguer les hypothèses faibles, considérées comme acquises, des hypothèses fortes dont il n'est pas du tout certain qu'elles soient vraies. L'intégration dans le modèle mathématique du degré de véracité de ces hypothèses peut parfois s'avérer difficile. S'il est possible d'affecter une probabilité aux valeurs de paramètres afin de modéliser leur degré de vraisemblance, cette démarche est beaucoup plus compliquée, voire impossible, lorsqu'il s'agit de caractériser la fiabilité d'outils de modélisation (modèle de Hill, ...).

Les hypothèses émises serviront de base à la construction d'un modèle à la fois suffisamment réaliste et suffisamment simple (principe de parcimonie). Ce modèle ne peut fournir une représentation totalement fidèle du processus modélisé, il s'agit d'une approximation. Il ne faut pas perdre de vue ce point essentiel, et remettre en question le modèle si les résultats issus des simulations ne semblent pas cohérents. Garder un œil critique permet ainsi d'adapter le modèle pour le rendre plus proche de la réalité.

Au cours de cette étape, il convient également de définir la stratégie de modélisation. En effet, en fonction des objectifs du projet, deux approches de modélisation sont possibles. Une première approche, que nous appellerons phénoménologique (ou empirique) décrit les phénomènes de manière globale, en faisant abstraction des mécanismes sous-jacents. Une autre approche possible est celle que nous appellerons mécanistique (ou mécaniste), et qui, elle, prend en compte ces mécanismes sous-jacents, ainsi que les différents éléments et leurs interactions. Cette approche sera ainsi la plus appropriée pour l'élaboration d'un modèle à visée thérapeutique. En effet, elle permettra de simuler l'action d'agents thérapeutiques connus pour agir sur un ou plusieurs mécanismes précis pris en compte dans le modèle. Cette approche, plus précise que l'approche phénoménologique, suppose néanmoins une connaissance approfondie des processus. Ainsi, lorsque les connaissances mécanistes font défaut ou lorsqu'il n'est pas nécessaire de trop détailler les processus, l'approche phénoménologique est privilégiée.

Ces deux types d'approche peuvent coexister au sein d'un même modèle selon les objectifs du projet (cf ci-dessous).

2.3 **Elaboration du modèle discursif**

Concrètement, le modèle discursif se présente généralement sous la forme de mots arrangés en phrases selon la grammaire du langage et/ou d'un schéma, et décrit les entrées et les sorties du modèle ainsi que les relations causales et/ou temporelles existant entre les différents phéno-

mènes considérés. Des logiciels informatiques, facilitant les inévitables mises à jour du modèle, permettent la création de tels diagrammes (Graphviz, ...).

Le modèle discursif peut être décomposé en plusieurs sous-modèles, chaque sous-modèle représentant un phénomène élémentaire ou un ensemble de phénomènes bien déterminés impliqués dans un même processus biologique. La sortie d'un sous-modèle sera l'entrée du sous-modèle suivant. Les entrées et les sorties du modèle et des sous-modèles doivent être des biomarqueurs, variables biologiques mesurables expérimentalement, afin de permettre la validation du modèle et des sous-modèles par comparaison des résultats issus d'expériences *in silico* à ceux d'expériences *in vitro* et/ou *in vivo*.

Il convient également de déterminer une approche de modélisation (phénoménologique ou mécanistique) pour chaque sous-modèle en fonction des données disponibles et des objectifs du projet.

Chaque sous-modèle est ensuite validé individuellement avant d'être intégré aux autres sous-modèles pour constituer le modèle global.

2.4 Elaboration du modèle mathématique

Cette étape consiste à traduire en équations mathématiques les mécanismes pris en compte dans le modèle discursif, ainsi que leurs interactions. Il s'agit ainsi de déterminer les différentes variables du modèle et de définir des équations mathématiques qui décriront leur évolution biologique. Le choix des outils mathématiques dépend des objectifs de l'étude mais également des ressources informatiques disponibles.

C'est également au cours de cette étape qu'il convient de fixer la valeur des paramètres du modèle. Trois types de paramètres peuvent être distingués. Certains paramètres ont une réalité biologique et il est possible d'en trouver des valeurs dans la littérature (coefficient de diffusion, ...). Cependant les valeurs trouvées pour un même paramètre peuvent être très disparates (différence *in vitro/in vivo*, variabilité d'une espèce à l'autre, ...). Un problème de choix de valeur se

pose alors : il sera résolu en fonction des objectifs du projet. En revanche, d'autres paramètres ayant une réalité biologique peuvent ne pas être renseignés dans la littérature ; leur estimation est alors la seule solution. Enfin, certains paramètres n'ont pas de réalité biologique. Leur valeur sera alors déterminée de manière à reproduire une évolution des variables conforme à celle observée expérimentalement.

2.5 Implémentation

Les modèles mathématiques utilisés en modélisation physiopathologique sont si complexes qu'ils n'admettent, la plupart du temps, pas de solution théorique explicite simple. Il s'agit donc d'en déterminer une solution approchée. Le modèle mathématique doit ainsi être implémenté sur ordinateur. Les équations mathématiques déterminées lors de l'étape précédente (cf section 2.4) sont ainsi traduites dans un langage de programmation interprété (Matlab, Mathematica, ...) ou compilé (C, C++, ...) en fonction des connaissances du modélisateur, des ressources informatiques disponibles et des besoins du projet. Les méthodes de résolution numérique des équations fournissent une solution approchée de la solution réelle. Ces méthodes doivent donc être choisies de manière à ce que l'approximation soit la plus précise possible. Le langage de programmation et les méthodes de résolution numérique doivent cependant permettre de résoudre les équations en un temps raisonnable.

2.6 Analyse du modèle

Il convient par la suite de tester la robustesse du modèle, c'est-à-dire d'étudier son comportement lors de variations "raisonnables" des valeurs de paramètres. Si le comportement du modèle ne reste pas satisfaisant lorsqu'un paramètre varie de façon raisonnable, les résultats d'expéri-

mentations *in silico* pourront être faussés. Il s'agit donc alors de poursuivre les investigations afin d'identifier la source du problème (modèle trop phénoménologique, omission d'un mécanisme clé, ...). Cette étape consiste donc également à identifier des valeurs de paramètres non référencées dans la littérature pour lesquelles le modèle reste fiable.

2.7 Réalisation de simulations

Une simulation numérique est une expérience *in silico* pour des valeurs de paramètres et des conditions initiales du modèle données. A chaque jeu de paramètres et conditions initiales correspond une situation "expérimentale". Les résultats de ces expériences *in silico* vont ainsi permettre de reproduire le phénomène étudié, voire de prédire son comportement dans différentes situations. Il est ainsi possible de simuler l'action d'un agent thérapeutique sur un processus donné.

2.8 Validation du modèle

Finalement, le modèle doit être validé. Cette validation s'effectue à deux niveaux : interne et externe.

La validation interne consiste à vérifier la concordance entre les résultats issus d'expériences *in silico* et les données bibliographiques qui ont servi à l'élaboration du modèle. Cette étape peut être menée conjointement à la réalisation de simulations numériques. Elle permet de déceler d'éventuelles défaillances du modèle (valeurs de paramètres erronées, ...).

La validation externe s'effectue en comparant les résultats des simulations *in silico* à des résultats expérimentaux *in vitro* et/ou *in vivo* non utilisés pour la construction du modèle ; ces deux types de résultats doivent être cohérents. Cette validation peut s'avérer difficile à obtenir, mais est néanmoins essentielle puisqu'elle permet de s'assurer de la qualité prédictive du modèle.

Une fois la validité externe du modèle obtenue, celui-ci pourra servir à des applications cliniques.

Chapitre 3

Éléments de modélisation en pharmacologie

Dans ce chapitre, nous présentons quelques outils de modélisation couramment utilisés en pharmacologie pour étudier les interactions ligand-récepteur.

Le bon fonctionnement d'un organisme repose sur une communication intercellulaire. Cette communication est assurée par des molécules "informatives", également appelées ligands, sécrétées par un type de cellules et capables de se lier à des récepteurs spécifiques situés sur la membrane d'autres cellules. Cette liaison génère alors un signal intracellulaire induisant une réponse des cellules concernées (ce phénomène est également appelé transduction du signal). Les interactions ligand-récepteur sont donc des mécanismes clés de la communication intercellulaire.

Lorsque la liaison du ligand au récepteur induit un signal intracellulaire et une réponse biologique de la cellule concernée (effet), ce ligand est appelé agoniste. Dans le cas contraire, il est appelé antagoniste [5, 6].

En pharmacologie, l'étude de l'action de médicaments repose sur l'analyse de l'effet produit par la liaison des molécules médicamenteuses aux récepteurs cellulaires.

3.1 Effet d'un agoniste

L'effet induit par la fixation de l'agoniste au récepteur dépend de sa capacité de fixation, appelée affinité du ligand pour le récepteur. Cette affinité est quantifiée par l'intermédiaire de la concentration en agoniste occupant 50% des récepteurs sur une préparation de membrane, également appelée constante de dissociation de l'agoniste (K_D). Plus cette constante est faible, plus l'affinité de l'agoniste pour ce récepteur est forte.

La relation entre la concentration d'agoniste (ou dose) et l'effet induit par la fixation aux récepteurs est donnée par la relation suivante, également appelée modèle du *E_{max}* [5, 6] :

$$E = \varepsilon \frac{E_{max}}{1 + \frac{K_D}{[C]}}$$

où :

- E désigne l'effet de l'agoniste ;
- $\varepsilon \leq 1$ représente l'activité intrinsèque de l'agoniste, i.e. sa capacité à activer les systèmes de transduction du récepteur ; si $\varepsilon = 1$, l'activité intrinsèque est maximale, et l'on parle alors d'agoniste complet (ou entier) ; si $\varepsilon < 1$, on parle d'agoniste partiel ;
- E_{max} désigne l'effet maximal induit par l'agoniste par fixation au récepteur ;
- K_D désigne la constante de dissociation du complexe agoniste-récepteur ;
- $[C]$ représente la concentration en agoniste.

(cf également Figure 3.1).

3.2 Effet d'un agoniste en présence d'un antagoniste

Comme nous l'avons mentionné précédemment, un antagoniste est une substance capable d'inhiber la réponse cellulaire normalement induite par la fixation de l'agoniste du récepteur considéré. Il existe plusieurs types d'antagonistes. Un antagoniste sera ainsi dit compétitif lors-

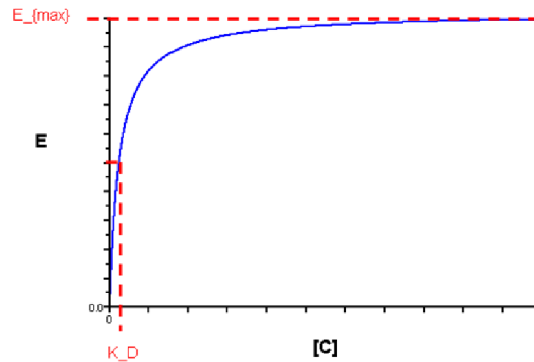


FIGURE 3.1 – Evolution de l'effet (E) en fonction de la concentration en agoniste ($[C]$) selon le modèle du E_{max} . E_{max} désigne l'effet maximal; K_D est la constante de dissociation du complexe ligand-récepteur.

qu'il se lie au récepteur sur le site d'action de l'agoniste, et non-compétitif lorsqu'il se fixe sur un site distinct.

3.2.1 Effet d'un agoniste en présence d'un antagoniste compétitif

Un antagoniste compétitif, i.e. se fixant sur le même site que l'agoniste, empêche la liaison de ce dernier au récepteur. Il réduit donc l'effet de l'agoniste en diminuant son affinité pour le récepteur. La courbe de relation dose-effet présentée Figure.3.1 est alors déplacée vers la droite. Ainsi, l'effet (E) d'un agoniste en présence d'un antagoniste compétitif est donné par la relation suivante [5, 6] :

$$E = \varepsilon \frac{E_{max}}{1 + \frac{K_D}{[C]} \left(1 + \frac{[A]}{K_{D,A}} \right)}$$

où :

- ε , E_{max} , K_D , $[C]$ sont décrits à la section 3.1 ;
- $[A]$ représente la concentration en antagoniste ;
- $K_{D,A}$ est la constante de dissociation du complexe antagoniste-récepteur.

3.2.2 Effet d'un agoniste en présence d'un antagoniste non-compétitif

Un antagoniste non-compétitif peut bloquer le récepteur, mais, contrairement à l'antagoniste compétitif, ne se fixe pas sur le même site que l'agoniste. L'antagoniste non-compétitif ne modifie donc pas l'affinité de l'agoniste pour le récepteur, mais, en revanche, diminue l'effet de l'agoniste. Ainsi, avec les mêmes notations que précédemment, l'effet de l'agoniste en présence d'un antagoniste non-compétitif est donné par la relation [5, 6] :

$$E = \varepsilon \frac{E_{max}}{\left(1 + \frac{K_D}{[C]}\right) \left(1 + \frac{[A]}{K_{D,A}}\right)}$$

Les antagonistes peuvent également s'opposer à l'action de l'agoniste par fixation sur leur propre récepteur, différent du récepteur de l'agoniste ; c'est par exemple le cas des antagonistes dits allostériques [5]. Ce type d'antagonistes n'intervenant pas dans notre modèle, nous avons choisi de ne pas présenter le modèle d'effet associé dans ce chapitre.

Ainsi, l'élaboration d'un modèle physiopathologique repose sur différentes étapes allant de la gestion de la connaissance à la validation du modèle. Ces étapes permettent d'atteindre méthodologiquement les objectifs initialement fixés, tout en assurant la cohérence du modèle avec la réalité.

Par ailleurs, parmi les techniques utilisées pour modéliser des processus physiopathologiques figurent les lois pharmacologiques permettant de prendre en compte les propriétés moléculaires des entités biochimiques considérées dans l'expression de leur effet sur les cellules, propriétés déterminantes dans la communication intercellulaire.

Troisième partie

Etat de l'art

Chapitre 4

Introduction

L'angiogenèse est le processus de formation de nouveaux vaisseaux sanguins à partir d'un réseau vasculaire préexistant.

Ce phénomène joue un rôle important dans de nombreux processus de croissance des mammifères. Ainsi, au cours de l'embryogenèse, le développement vasculaire fait appel à la vasculogenèse et à l'angiogenèse : de nouveaux vaisseaux sanguins se forment à partir de cellules précurseurs (hémangioblastes et angioblastes) amenées à se différencier, c'est la vasculogenèse ; puis, à partir de ces premiers vaisseaux, d'autres vaisseaux se forment par angiogenèse. Chez l'Homme adulte, on retrouve le processus angiogénique au cours des cycles menstruels féminins [7] et lors de la cicatrisation tissulaire [8]. Si, dans ces situations, l'angiogenèse est un phénomène "contrôlé", on parle d'angiogenèse physiologique, elle peut devenir totalement incontrôlée ou excessive, et l'on parle alors d'angiogenèse pathologique. Ainsi, elle se manifeste dans des pathologies telles que l'arthrite rhumatoïde, les rétinopathies diabétiques, la dégénérescence maculaire liée à l'âge, et le cancer [9].

Nous nous sommes plus particulièrement intéressé à l'angiogenèse impliquée dans le cancer, ou angiogenèse tumorale.

D'un point de vue biologique, une tumeur solide a besoin d'oxygène et de nutriments pour se développer. Initialement, les cellules tumorales utilisent les ressources disponibles dans leur

environnement par diffusion à partir des vaisseaux sanguins préexistants. Cette phase de croissance est dite avasculaire. Cependant, l'oxygène et les nutriments ne pouvant diffuser à plus de quelques millimètres des vaisseaux sanguins, les ressources nécessaires à la poursuite du développement tumoral deviennent rares, et la tumeur ne peut poursuivre son développement dans ces conditions au-delà de quelques millimètres de diamètre. Elle est alors capable de déclencher le processus angiogénique afin de disposer de son propre réseau vasculaire et de s'approvisionner en oxygène et nutriments. Munie de son propre réseau vasculaire, la tumeur peut alors poursuivre son développement. Cette phase de croissance est dite vasculaire. De plus, ce nouveau réseau permet aux cellules tumorales de s'échapper de la tumeur initiale, dite tumeur primaire, via la circulation sanguine, pour former de nouvelles tumeurs à distance de la tumeur initiale. La présence de ces tumeurs, appelées tumeurs secondaires ou métastases, est, la plupart du temps, un facteur de mauvais pronostic pour le patient [10, 11]. Ainsi l'angiogenèse joue un rôle déterminant dans le développement des cancers.

On distingue donc trois principales phases dans la croissance tumorale : la phase avasculaire, l'établissement de l'angiogenèse, et la phase vasculaire.

Les mécanismes impliqués dans le cancer étant, comme beaucoup d'autres mécanismes biologiques, d'une complexité extrême, la modélisation mathématique est apparue, ces dernières années, comme une approche complémentaire aux approches biologiques traditionnelles. Ainsi, de nombreux modèles mathématiques de processus cancéreux sont nés de collaborations entre mathématiciens, biologistes et médecins. L'objectif de ces collaborations est, par exemple, de vérifier le fondement de certaines hypothèses biologiques, de mieux comprendre certains mécanismes, le tout sans avoir recours aux expérimentations biologiques, parfois longues, coûteuses, voire non éthiques.

Deux principales approches de modélisation se distinguent : l'approche continue et l'approche discrète.

Les modèles continus décrivent l'évolution d'un système en terme de densités de cellules (par exemple endothéliales, tumorales), de concentrations en substances chimiques (par exemple en substances angiogéniques). Ils sont principalement basés sur des équations ordinaires ou sur des

équations aux dérivées partielles. Ils permettent ainsi de décrire des évolutions de populations.

Les modèles discrets considèrent quant à eux chaque entité (cellule, molécule, ...) individuellement. Ces modèles permettent par exemple de prendre en compte les interactions d'une cellule avec son environnement. Cependant, ces modèles peuvent nécessiter le recours à des machines de calculs performantes lorsque le nombre d'entités considérées devient trop élevé.

Cette partie rappelle les principaux mécanismes régissant angiogenèse et croissance tumorale (avasculaire et vasculaire) et présente différents modèles mathématiques s'y rapportant. Les deux derniers chapitres sont consacrés aux thérapies anti-angiogéniques, et exposent différents modèles mathématiques intégrant un sous-modèle de thérapie.

Chapitre 5

Mécanismes de l'angiogenèse

L'étude de la vascularisation tumorale remonte à plus d'un siècle. De nombreuses tentatives d'explication de ce phénomène ont vu le jour, avec plus ou moins de succès. Ce n'est qu'au début des années 1970 que Judah Folkman [12] évoqua l'idée novatrice que croissance tumorale et angiogenèse étaient étroitement liées, et proposa de développer des substances inhibitrices d'angiogenèse afin de bloquer le développement des tumeurs solides. Cette idée n'a été pleinement exploitée par d'autres chercheurs que depuis la fin des années 1980, avec, en 1989, l'identification du facteur qui est, à ce jour, le principal facteur angiogénique : le facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF) [13], également appelé facteur de perméabilité vasculaire (VPF). Depuis, de nombreuses études ont permis de découvrir que l'angiogenèse est en réalité régulée par une multitude de signaux chimiques endogènes, appelés facteurs pro- et anti-angiogéniques, les facteurs pro-angiogéniques activant le processus d'angiogenèse, les facteurs anti-angiogéniques l'inhibant. On parle ainsi de balance (ou switch) angiogénique [14] (cf Figure 5.1) : en fonction de l'action des substances activatrices par rapport aux substances inhibitrices, l'angiogenèse est activée ou inhibée. Parmi les facteurs pro-angiogéniques les plus connus figurent le VEGF, le facteur de croissance des fibroblastes (FGF), l'angiopoïétine-2, le facteur de croissance dérivé des plaquettes (PDGF). L'endostatine, l'angiostatine, l'angiopoïétine-1 et la thrombospondine font partie des facteurs anti-angiogéniques les plus connus. Une partie de la complexité du processus angiogénique réside dans le nombre de tels facteurs. Ainsi, dans le cancer du sein, au moins sept

facteurs pro-angiogéniques ont été découverts [15].

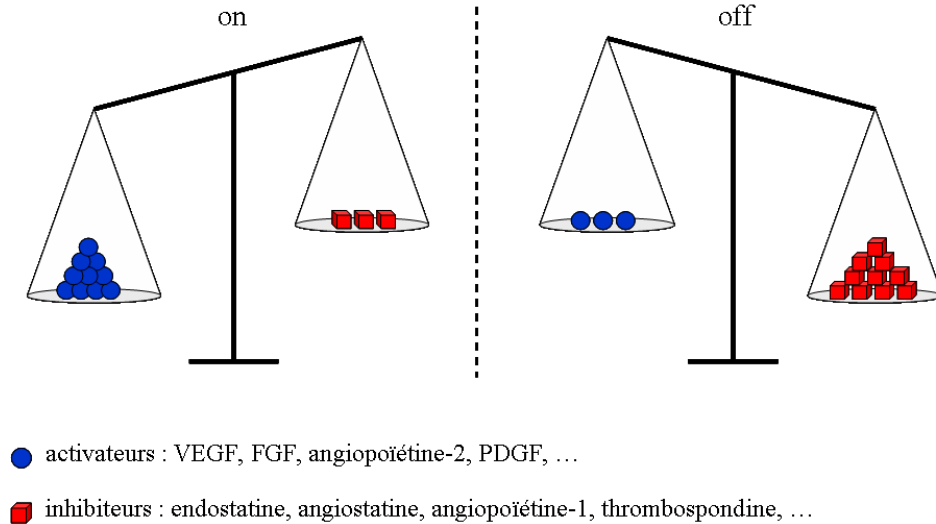


FIGURE 5.1 – Balance angiogénique. L'angiogenèse est activée (balance sur "on") lorsque l'effet des activateurs prédomine sur l'effet des inhibiteurs, et inhibée (balance sur "off") dans le cas contraire.

Rappelons que la paroi des vaisseaux sanguins est composée de trois parties concentriques : l'intima, la média, et l'adventice (cf Figure 5.2). L'intima est la région la plus interne, bordant la lumière du vaisseau. Elle se compose principalement d'une couche monocellulaire de cellules endothéliales surmontée de la membrane basale. La media est, quant à elle, composée de cellules musculaires lisses, de péricytes, et d'une matrice conjonctive. L'adventice est la région la plus externe, et se compose d'un tissu conjonctif principalement constitué de fibres de collagènes protégeant et fixant les vaisseaux. Le diamètre d'un vaisseau, l'épaisseur et la composition de chaque couche constituant sa paroi dépendent de la nature et donc de la localisation de ce vaisseau dans le réseau vasculaire. Ainsi, la paroi des grosses artères est par exemple beaucoup plus épaisse et que celle des petites artérioles.

L'angiogenèse est initiée par la sécrétion, par les cellules tumorales quiescentes, cellules ne se divisant plus à cause du manque d'oxygène et de nutriments (cf Chapitre 7), de facteurs de croissance pro-angiogéniques chemoattractants, tels que le VEGF. Ces molécules diffusent dans

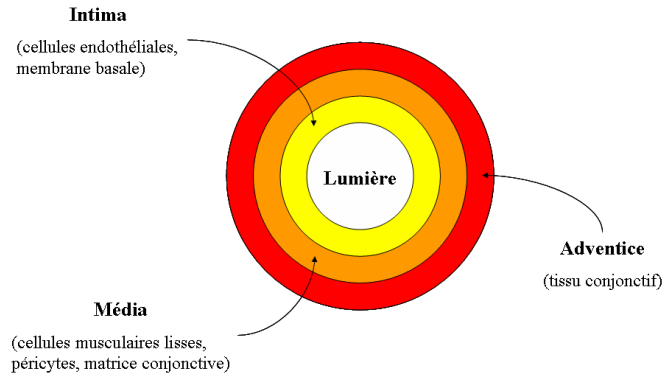


FIGURE 5.2 – Représentation schématique d'une coupe de vaisseau sanguin. La paroi d'un vaisseau sanguin est constituée de trois régions concentriques. L'intima borde la lumière du vaisseau et se compose principalement de cellules endothéliales et d'une membrane basale. La média se compose de cellules musculaires lisses, de péricytes, et d'une matrice conjonctive. L'adventice, couche la plus externe, est formée d'un tissu conjonctif.

le tissu environnant, créant ainsi un gradient chimique de concentration autour de la tumeur. Lorsqu'elles atteignent les vaisseaux sanguins préexistants, ces molécules activent des récepteurs spécifiques situés sur la membrane des cellules endothéliales constituant la paroi des vaisseaux sanguins.

Le VEGF possède différentes isoformes dont la plus courante est le VEGF₁₆₅ [16].

Les récepteurs spécifiques du VEGF les plus connus sont les récepteurs tyrosine kinase Flt-1 (également appelé VEGFR-1) et Flk-1 (également appelé KDR ou VEGFR-2) [17, 18]. La liaison du VEGF à ces récepteurs membranaires induit un signal intracellulaire. La cellule endothéliale est alors stimulée. Cependant, l'effet du VEGF est régulé par la présence de substances anti-angiogéniques. Ces substances sont, par exemple, capables de se fixer aux molécules de VEGF libres ou aux récepteurs du VEGF (Flt-1, Flk-1), et empêchent ainsi la fixation des molécules de VEGF aux récepteurs membranaires, et donc la stimulation des cellules endothéliales.

En l'absence de stimulation, un contact existe entre les cellules endothéliales elles-mêmes, et entre les cellules endothéliales, les cellules musculaires lisses et les péricytes. Ce contact est assuré par l'action de l'angiopoïétine-1, substance biochimique sécrétée par les cellules musculaires lisses et les péricytes, pouvant se lier au récepteur membranaire endothélial à activité tyrosine

kinase Tie2 [19, 20]. Ce récepteur membranaire Tie2, également appelé Tek, est spécifique des cellules endothéliales et des cellules hématopoïétiques [21, 22, 23]. L'angiopoïétine-1 assure ainsi la perméabilité et la maturité des vaisseaux sanguins [19, 20]. Cependant, il existe un inhibiteur compétitif de l'angiopoïétine-1 pour le récepteur Tie2, l'angiopoïétine-2 [24]. L'angiopoïétine-2 est un facteur pro-angiogénique sécrété à la fois par les cellules tumorales et par les cellules endothéliales [25, 26, 27, 28, 29, 30]. La présence d'angiopoïétine-2 peut donc induire la perte de contact entre les cellules endothéliales et leurs cellules voisines, et déstabiliser ainsi le vaisseau sanguin [24, 31]. Dès lors, les cellules endothéliales déstabilisées sont capables de dégrader la membrane basale des vaisseaux ainsi que la matrice extracellulaire environnante.

Une fois la membrane basale dégradée, les cellules endothéliales déstabilisées prolifèrent et migrent à travers la matrice extracellulaire, en direction de la tumeur. La migration s'effectue en effet le long du gradient de concentration en VEGF, le VEGF étant sécrété par les cellules tumorales quiescentes. On qualifie ainsi le VEGF de substance chemo-attractante, et le mouvement de migration des cellules endothéliales est appelé chemotaxie ou chimiotactisme. Par ailleurs, le mouvement de ces cellules endothéliales est guidé par des molécules d'adhésion sécrétées par le tissu environnant, on parle alors d'haptotaxie, ou haptotactisme. Les cellules endothéliales déstabilisées s'organisent en une structure en forme de tube pour former les néo-vaisseaux. Ces cellules peuvent mourir si la stimulation par le VEGF devient insuffisante.

La maturation et la stabilisation de la structure de ces nouveaux vaisseaux s'effectuent grâce au recrutement de fibroblastes. Les cellules endothéliales constituant les néo-vaisseaux sécrètent en effet une substance, appelée facteur de croissance dérivé des plaquettes (PDGF), qui, par chemotaxie, attire les fibroblastes sur le site de remodelage vasculaire. Ces fibroblastes se différencient alors en cellules musculaires lisses et en péricytes. Si l'action de l'angiopoïétine-1 est suffisante (comparée à celle de l'angiopoïétine-2), un contact s'établit entre les cellules musculaires lisses, les péricytes et les cellules endothéliales, ce qui assure la stabilisation des cellules endothéliales, i.e. l'arrêt de leur prolifération et de leur migration, et la maturation des néo-vaisseaux qui deviennent ainsi fonctionnels. Cependant, la maturation des vaisseaux résultant de l'angiogenèse tumorale est généralement incomplète, ce qui conduit à des vaisseaux plus per-

méables que la plupart des vaisseaux du corps humain [32, 33].

La Figure 5.3 résume les principaux mécanismes évoqués ci-dessus.

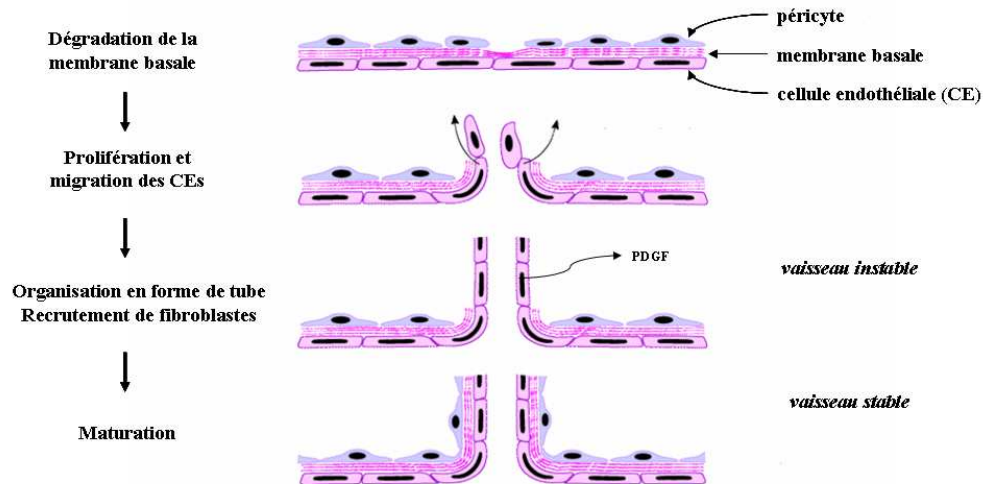


FIGURE 5.3 – Représentation schématique des principaux mécanismes de l'angiogenèse. Déstabilisées, les cellules endothéliales (CEs) sont capables de dégrader la membrane basale, puis de proliférer et migrer en direction du gradient de concentration en VEGF. Ces cellules s'organisent alors en une structure en forme de tube, et sécrètent des molécules de PDGF afin de recruter des fibroblastes, indispensables à la maturation du néo-vaisseau. D'après [34].

Le nouveau réseau vasculaire se développe ainsi jusqu'au voisinage de la tumeur. Les cellules tumorales disposant d'un apport en oxygène et en nutriments suffisant peuvent à nouveau proliférer.

Chapitre 6

Modèles mathématiques d'angiogenèse

Depuis les premiers travaux de J. Folkman, le nombre d'études visant à explorer le processus angiogénique n'a cessé de croître. Cependant, beaucoup de mécanismes sous-jacents restent, à ce jour, inexpliqués. La modélisation de l'angiogenèse est ainsi apparue, au cours des vingt-cinq dernières années, comme une approche complémentaire aux approches traditionnelles, pouvant permettre de fournir des hypothèses expliquant certaines observations expérimentales. De nombreux modèles mathématiques d'angiogenèse ont ainsi été développés. On distingue deux principales catégories de modèles : les modèles continus d'une part, et les modèles discrets d'autre part.

La principale différence entre ces deux catégories de modèles réside dans la manière de considérer le réseau vasculaire. Les modèles continus décrivent principalement l'évolution de la densité de cellules endothéliales, en fonction de celle de concentrations en substances chimiques intervenant dans le processus. Les modèles discrets eux, considèrent individuellement chaque cellule impliquée dans le processus angiogénique. La description de l'évolution et de la structure du réseau est ainsi plus précise qu'avec les modèles continus.

Par soucis de simplification, lorsque cela ne présente pas de risque de confusion, nous omettons, par la suite, de préciser les dépendance en espace et en temps des différentes variables.

Nous noterons ainsi par exemple n pour $n(\mathbf{x}, t)$ où $\mathbf{x} \in \mathbb{R}^m$ ($m = 1, 2$ ou 3) représente la coordonnée spatiale, et $t \in \mathbb{R}^+$ la coordonnée temporelle.

6.1 Modèles continus

Les modèles continus d'angiogenèse publiés sont principalement basés sur des systèmes d'équations aux dérivées partielles décrivant l'évolution spatio-temporelle de la densité de néo-vaisseaux en fonction de celle de facteurs environnementaux tels que les facteurs pro- et anti-angiogéniques. La plupart des modèles ne considère qu'un seul facteur, le plus souvent un facteur pro-angiogénique.

Ainsi, les modèles continus sont généralement inspirés du modèle de chemotaxie suivant [35].

Soient Ω un domaine de \mathbb{R}^m ou $m = 1, 2, 3$, $\mathbf{x} \in \mathbb{R}^m$ la coordonnée spatiale et $t \in \mathbb{R}^+$ la coordonnée temporelle.

$\forall \mathbf{x} \in \Omega, \forall t > 0$, on a :

$$\begin{cases} \frac{\partial n}{\partial t} = -\nabla \cdot \mathbf{J}_n + F(n, c) \\ \frac{\partial c}{\partial t} = -\nabla \cdot \mathbf{J}_c + G(n, c) \end{cases} \quad (6.1)$$

où n représente la densité de cellules endothéliales, c la concentration en facteur angiogénique, \mathbf{J}_n le flux de cellules endothéliales, \mathbf{J}_c le flux de facteur angiogénique, les fonctions F et G représentant l'augmentation relative respectivement de la densité de cellules et de la concentration en facteur angiogénique.

Les molécules de facteur angiogénique étant supposées diffuser dans leur environnement, le flux de facteur angiogénique est donné par la loi de Fick :

$$\mathbf{J}_c = -D_c \Delta c$$

où D_c désigne le coefficient de diffusion du facteur angiogénique.

Les premiers modèles supposaient que les cellules endothéliales subissaient une motilité aléa-

toire, semblable au mouvement de diffusion des molécules, et étaient attirées par une concentration élevée en substance pro-angiogénique (telle que le VEGF). Ainsi, le flux de cellules endothéliales pouvait s'écrire :

$$\mathbf{J}_n = \mathbf{J}_{\text{aléatoire}} + \mathbf{J}_{\text{chemo}}$$

avec

$$\mathbf{J}_{\text{aléatoire}} = -D_n \nabla n \quad \text{et} \quad \mathbf{J}_{\text{chemo}} = \chi(c)n\nabla c$$

où D_n est appelé coefficient de motilité aléatoire (ou coefficient de diffusion) des cellules, et $\chi(c)$ coefficient de chemotaxie. La plupart des modèles continus sont donc basés sur le système d'équations suivant :

$$\begin{cases} \frac{\partial n}{\partial t} = D_n \Delta n - \nabla \cdot [\chi(c)n\nabla c] + F(n, c) \\ \frac{\partial c}{\partial t} = D_c \Delta c + G(n, c) \end{cases} \quad (6.2)$$

La fonction F modélise les phénomènes de prolifération et d'apoptose des cellules endothéliales. F peut, par exemple, s'écrire sous la forme : $F(n, c) = \alpha(c)n(1 - n) - \delta(c)n$ où $\alpha(c)$ et $\delta(c)$ sont des fonctions représentant une éventuelle action du facteur chemo-attractant sur la prolifération et l'apoptose des cellules endothéliales [36]. De même, la fonction G modélise les phénomènes de production, consommation (par exemple par liaison aux récepteurs des cellules endothéliales), dégradation du facteur angiogénique. G peut, par exemple, s'écrire sous la forme : $G(n, c) = \beta c - \gamma nc - \mu c$.

Initialement, les coefficients de diffusion et de chemotaxie furent considérés comme constants, traduisant ainsi une diffusion homogène des cellules et du facteur angiogénique dans le milieu environnant, ainsi qu'une réponse chemotactique des cellules endothéliales indépendante du facteur chemo-attractant.

Les conditions aux bords employées pour ce type de modèle sont des conditions annihilant le flux de cellules endothéliales aux bords et des conditions de type Dirichlet pour les concentrations en substances chimiques.

Ces modèles ont, dans un premier temps, été développés en une seule dimension d'espace, en ne considérant par exemple que la distance entre le centre d'une tumeur (source du facteur chemo-attractant) et le vaisseau sanguin préexistant [36, 37, 38, 39, 40, 41]. S'ils permettent de décrire l'évolution de certaines caractéristiques de l'angiogenèse, ces modèles fournissent une représentation spatiale du réseau vasculaire réduite, limitant ainsi les possibilités de comparaison des résultats numériques à des résultats issus d'expériences biologiques. La nécessité de considérer au minimum deux dimensions d'espace dans les modèles est donc rapidement apparue, permettant ainsi d'obtenir des résultats numériques plus adaptés [42].

Par la suite, le phénomène d'haptotaxie a également été pris en compte. Le mouvement des cellules endothéliales est en effet guidé par des molécules d'adhésion présentes dans le tissu environnant.

Ainsi, Anderson et Chaplain [43] ont développé un modèle à deux dimensions d'espace. Principalement intéressés par les cellules endothéliales composant l'extrémité des néo-vaisseaux, ils ont choisi de négliger les phénomènes de prolifération et d'apoptose cellulaire. Leur modèle prend en compte le phénomène d'haptotaxie par l'intermédiaire de la concentration en fibronectine, substance d'adhésion supposée sécrétée par les cellules endothéliales, dont le gradient de concentration guide le mouvement des cellules endothéliales. Par rapport aux modèles précédents (cf par exemple équation (6.2)), le flux de cellules endothéliales \mathbf{J}_n comprend donc un terme supplémentaire, noté $\mathbf{J}_{\text{hapto}}$, tel que :

$$\mathbf{J}_n = \mathbf{J}_{\text{aléatoire}} + \mathbf{J}_{\text{chemo}} + \mathbf{J}_{\text{hapto}}$$

avec

$$\mathbf{J}_{\text{hapto}} = \rho_0 n \nabla f$$

où f représente la concentration en fibronectine, et $\rho_0 > 0$ est appelé coefficient d'haptotaxie.

Dans ce modèle, Anderson et Chaplain ont également introduit un coefficient de chemotaxie non constant, inversement proportionnel à la concentration en substance chemo-attractante, supposant ainsi que la sensibilité des cellules endothéliales diminuait lorsque la concentration

en substance chemo-attractante augmentait. Enfin, ils ont également choisi de supposer que la diffusion et la dégradation de la substance angiogénique n'avaient lieu qu'initialement et que, par la suite, seule restait la disparition due à la liaison aux cellules endothéliales. Ainsi, le modèle d'angiogenèse développé par Anderson et Chaplain [43] est :

$$\begin{cases} \frac{\partial n}{\partial t} = D_n \Delta n - \nabla \cdot \left(\frac{\chi_0 k_1}{k_1 + c} n \nabla c \right) - \nabla \cdot (\rho_0 n \nabla f) \\ \frac{\partial f}{\partial t} = \omega n - \mu n f \\ \frac{\partial c}{\partial t} = -\lambda n c \end{cases} \quad (6.3)$$

avec $\Omega = [0; 1] \times [0; 1]$, et pour conditions initiales, $\forall (x, y) \in \Omega$:

$$\begin{cases} n(x, y, 0) = \exp\left(\frac{x^2}{\epsilon_3}\right) \sin^2(6\pi y) \\ c(x, y, 0) = \exp\left(\frac{(1-x)^2}{\epsilon_1}\right) \\ f(x, y, 0) = k \exp\left(\frac{x^2}{\epsilon_2}\right) \end{cases} \quad (6.4)$$

où $k < 1$, ϵ_1 , ϵ_2 , ϵ_3 sont des constantes positives. Initialement, les cellules endothéliales sont donc réparties en trois groupes le long du vaisseau parent, la tumeur, source de la substance angiogénique, est située sur la bande $[0; 1] \times \{1\}$, et le vaisseau parent est la principale source de fibronectine.

La Figure 6.1 présente des exemples de résultats obtenus par simulations numériques de ce modèle [43]. Anderson et Chaplain ont ainsi pu étudier l'effet de l'haptotaxie sur le mouvement des cellules endothéliales. Leurs résultats montrent que l'haptotaxie ralentit la migration des cellules endothéliales à travers la matrice extracellulaire, et induit un mouvement de migration latérale.

Le modèle d'Anderson et Chaplain a ensuite servi de base à d'autres modèles (par exemple [44, 45]).

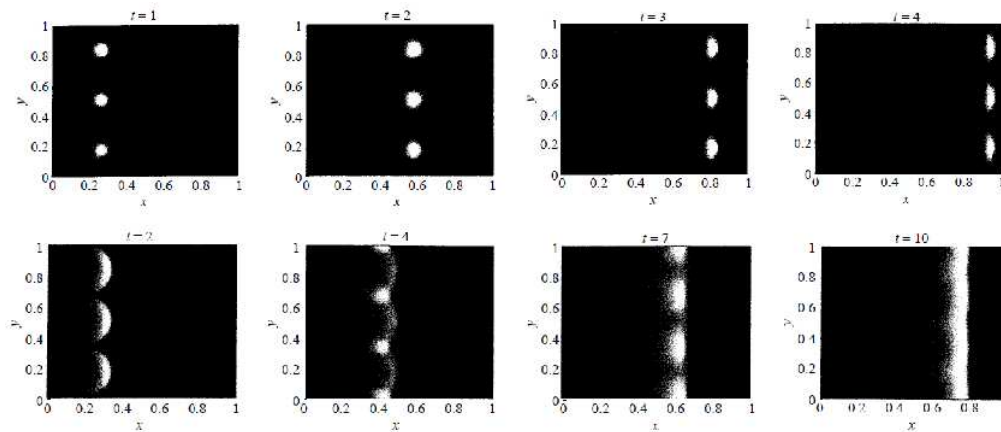


FIGURE 6.1 – Comparaison de l'évolution spatio-temporelle de la densité de cellules endothéliales selon le modèle continu développé par Anderson et Chaplain [43], sans haptotaxie (en haut), et avec haptotaxie (en bas). Le vaisseau parent est situé sur la bande $\{0\} \times [0; 1]$, la tumeur sur la bande $\{1\} \times [0; 1]$. L'haptotaxie a pour effet de ralentir la migration des cellules endothéliales et d'induire un mouvement de migration latérale entre les groupes de cellules. D'après [43].

6.2 Modèles discrets

Les modèles continus permettent donc d'étudier l'influence de certains mécanismes sur le processus global d'angiogenèse. Cependant, ce type de modèle ne permet par exemple pas d'étudier la structure du réseau vasculaire (branchements, anastomoses, ...). Des modèles dits discrets, considérant chaque cellule individuellement ont également été développés afin de modéliser l'angiogenèse. Le principe de base des modèles discrets est de modéliser des phénomènes se produisant à l'échelle d'une seule cellule pour obtenir des informations sur l'évolution globale du réseau vasculaire tumoral. L'élaboration de tels modèles est rendue possible grâce à la disponibilité croissante de données concernant les mécanismes angiogéniques intervenant aux échelles cellulaire et subcellulaire. Contrairement aux modèles continus, les modèles discrets permettent de décrire le mouvement de chaque cellule endothéliale, et cela de manière plus mécanistique, puisqu'offrant la possibilité de détailler les interactions de la cellule avec son environnement. Les modèles discrets permettent ainsi d'observer le développement de l'arbre vasculaire et de comparer les résultats d'expériences *in silico* à des résultats issus d'expériences *in vitro*.

Ces résultats d'expériences *in silico* de modèles discrets restent néanmoins en accord avec les

résultats d'expériences *in silico* de modèles continus correspondants.

L'un des premiers modèles discrets fut celui de Stokes et Lauffenburger [46]. Ce modèle est basé sur un modèle stochastique décrivant le mouvement de migration d'une cellule endothéliale [47]. Chaque vaisseau en formation est représenté par sa cellule de tête, soumise aux processus de migration aléatoire et de chemotaxie, et caractérisée par sa position et sa vitesse à l'instant t . Le mouvement de migration aléatoire est perçu comme la somme d'une résistance au mouvement et d'accélération aléatoires, et la chemotaxie comme un facteur biaisant le mouvement aléatoire. Le taux d'accroissement de la vitesse v_i de la cellule endothéliale de tête du vaisseau numéro i est alors donné par l'équation :

$$dv_i(t) = \underbrace{-\beta v_i(t)dt}_{\text{résistance au mouvement}} + \underbrace{\sqrt{\alpha}dW_i(t)}_{\text{accélérations aléatoires}} + \underbrace{\kappa \nabla a \sin\left(\frac{\phi_i}{2}\right)dt}_{\text{chemotaxie}} \quad (6.5)$$

où α et β sont des paramètres positifs relatifs au mouvement aléatoire, W_i représente le processus de Weiner (processus aléatoire idéalisé tel que, $\forall 0 \leq s < t$, $W_i(t) - W_i(s)$ suit une loi normale centrée en 0, de variance $\alpha(t - s)$), κ est le coefficient de sensibilité chemotactique, a la concentration en substance chemo-attractante, ϕ_i l'angle entre la direction prise par la cellule en mouvement et celle de la source en substance chemo-attractante.

La position x_i de cette cellule au temps t est alors déduite de l'équation (6.5) par l'intermédiaire de l'équation suivante :

$$\frac{dx_i}{dt}(t) = v_i(t) \quad (6.6)$$

Afin de décrire entièrement le réseau vasculaire (et pas uniquement la trajectoire des cellules de tête), le modèle de Stokes et Lauffenburger [46] calcule également la densité moyenne de cellules de chaque vaisseau en formation. Cette densité dépend de la prolifération des cellules endothéliales constituant le vaisseau, de l'élongation de ce dernier, de l'arrivée de cellules endothéliales du vaisseau parent, et de la redistribution des cellules vers les nouvelles branches du vaisseau, ces deux derniers mécanismes n'étant que très rarement pris en compte dans les autres modèles de la littérature. Ainsi, l'évolution temporelle de la densité moyenne de cellules, ρ_i , du vaisseau i

est donnée par l'équation :

$$\frac{d\rho_i}{dt}(t) = \underbrace{k_g \frac{\rho_{max} - \rho_i(t)}{\rho_{max} - \rho_{min}} \rho_i(t)}_{\text{prolifération}} - \underbrace{\frac{s_i(t)}{L_i(t)} \rho_i(t)}_{\text{élongation}} + \underbrace{k_b [\rho_P(t) - \rho_i(t)]}_{\text{arrivée de cellules}} - \underbrace{\sum_{j=1}^{\nu_i} k_b [\rho_i(t) - \rho_j(t)]}_{\text{redistribution}} \quad (6.7)$$

où k_g est le taux de prolifération, k_b le taux de redistribution, ρ_{max} (resp. ρ_{min}) la densité moyenne maximale (resp. minimale) d'un vaisseau, ρ_P la densité moyenne du vaisseau parent, ν_i le nombre de branches du vaisseau, $s_i = \|v_i\|$ la vitesse instantanée de progression du vaisseau, L_i la longueur du vaisseau, donnée par $\frac{dL_i}{dt}(t) = s_i(t)$.

Le nombre total de vaisseaux en formation est fonction de la création de nouvelles branches vasculaires, mais également de la "disparition" de vaisseaux induite par la survenue d'anastomoses, connexions entre deux vaisseaux engendrant la mort des cellules de tête de l'un des vaisseaux concernés. Dans ce modèle, la formation de nouvelles branches est supposée aléatoire. La survenue d'anastomoses est supposée dépendre de la distance séparant les cellules de tête d'un vaisseau des autres vaisseaux : si cette distance devient inférieure à un certain seuil, la progression du vaisseau s'arrête, i.e. la vitesse de sa cellule de tête devient nulle et celle-ci disparaît.

Ce modèle permet ainsi de représenter l'évolution de chaque vaisseau, ainsi que les éventuelles hétérogénéités du réseau vasculaire.

Cependant, dans le modèle de Stokes et Lauffenburger [46], la description du vaisseau complet nécessite le calcul de la densité moyenne de cellules endothéliales le long de ce vaisseau, sans considération locale de cette densité. Or, le processus de prolifération des cellules endothéliales est connu pour concerner principalement les cellules en tête du vaisseau. Il existe donc des disparités dans la densité de cellules endothéliales le long d'un même vaisseau que ce modèle ne permet pas de retranscrire.

Anderson and Chaplain [43] ont également développé un modèle discret d'angiogenèse. Tout comme le modèle discret développé par Stokes et Lauffenburger [46] présenté ci-dessus, le modèle d'Anderson et Chaplain [43] est basé sur l'hypothèse que ce sont les cellules de tête du vaisseau qui gouvernent l'évolution de ce dernier. Cependant, la définition même du modèle diffère de celle de Stokes et Lauffenburger. En effet, le mouvement individuel d'une cellule de tête est déduit de

l'un de leurs modèles continus (cf système d'équations (6.3)) par discrétisation des équations aux dérivées partielles gouvernant le taux de variation de la densité de cellules endothéliales, cette discrétisation spatio-temporelle s'effectuant classiquement par la méthode des différences finies. Ainsi, le système d'équations (6.3) discrétisé sur le domaine $[0; 1] \times [0; 1]$ devient :

$$n_{l,m}^{q+1} = n_{l,m}^q P_0 + n_{l+1,m}^q P_1 + n_{l-1,m}^q P_2 + n_{l,m+1}^q P_3 + n_{l,m-1}^q P_4 \quad (6.8a)$$

$$f_{l,m}^{q+1} = f_{l,m}^q (1 - k\mu n_{l,m}^q) + k\omega n_{l,m}^q \quad (6.8b)$$

$$c_{l,m}^{q+1} = c_{l,m}^q (1 - k\lambda n_{l,m}^q) \quad (6.8c)$$

où les indices du bas correspondent à la discrétisation spatiale, et ceux du haut à la discrétisation temporelle, i.e. $x = lh$, $y = mh$, $t = qk$, l , m , k , q , h étant des constantes positives. h et k sont ainsi appelés pas de discrétisation respectivement en espace et en temps. L'expression des coefficients P_0 - P_4 est détaillée dans [43].

Ainsi, l'équation (6.8a), par exemple, permet de déterminer, au temps $t = (q+1)k$, la densité de cellules endothéliales au point (l, m) (soit $(x = lh, y = mh)$) de la grille de discrétisation en fonction des densités aux points voisins au temps $t = qk$. Les coefficients P_0 - P_4 sont alors supposés proportionnels à la probabilité que la cellule bouge sur l'un des cinq points de la grille avoisinant sa position, i.e. à la probabilité qu'elle reste stationnaire (P_0), bouge à gauche (P_1), à droite (P_2), en haut (P_3) ou en bas (P_4) (cf Figure 6.2), chaque coefficient prenant en compte les mouvements de motilité aléatoire, de chemotaxie et d'haptotaxie, mouvements initialement considérés dans le modèle continu (cf section 6.1).

La prolifération cellulaire est supposée ne concerner que les cellules endothéliales situées juste derrière les cellules de tête du néo-vaisseau. La division cellulaire se produit lorsque la cellule atteint un âge donné, la longueur du néo-vaisseau étant alors augmentée de la taille d'une cellule.

Ce modèle s'apparente au modèle de marche aléatoire renforcée développé par Othmer et Stevens [48], dans lequel le mouvement des cellules endothéliales en réponse à un stimulus chimique est gouverné par une équation (discrète en temps et continue en espace) sur la probabilité qu'une cellule soit à une position donnée au temps t .

L'un des avantages du modèle discret d'Anderson et Chaplain [43] est de prendre en compte

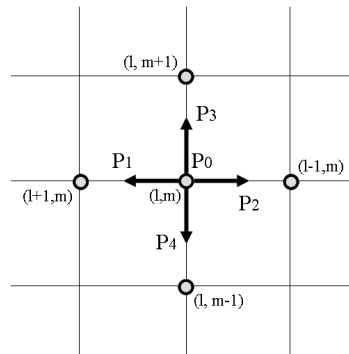


FIGURE 6.2 – Grille de discrétisation spatiale du système d'équations (6.3).

les phénomènes de branchements et d'anastomoses, ce qui n'était pas possible avec la version continue (cf section 6.1). Dans ce modèle, les règles définissant l'apparition de branchements sont plus complexes que celles établies par Stokes et Lauffenburger [46]. L'apparition de branchements est en effet conditionnée à plusieurs phénomènes. Tout d'abord, ce modèle suppose que les vaisseaux ne peuvent se diviser que s'ils en ont la place. Il suppose également que les vaisseaux doivent exister depuis un certain temps pour avoir la capacité de se diviser, et que la densité de cellules de tête doit être suffisamment élevée pour qu'un nouveau vaisseau puisse être créé. Si ces trois conditions sont satisfaites, un nouveau vaisseau sera créé avec la probabilité P_b , cette probabilité augmentant à l'approche de la source de substance chemo-attractante, i.e. à l'approche de la tumeur. La description du phénomène d'anastomose est plus phénoménologique. En effet, chaque cellule de tête des néo-vaisseaux peut bouger d'un point de la grille de discrétisation vers l'un des quatre points voisins en fonction de l'équation (6.8a). Si une cellule de tête d'un autre vaisseau se trouve déjà sur l'un de ces points, le modèle considère que le phénomène d'anastomose se produit. L'un des deux vaisseaux concernés arrête alors de se développer, le choix de ce vaisseau étant aléatoire.

La Figure 6.3 présente des exemples de résultats obtenus par simulations numériques de ce modèle [43] à partir de conditions initiales analogues à celles du modèle continu : le vaisseau parent est supposé situé en $x = 0$, initialement composé de cinq néo-vaisseaux, i.e. de cinq cellules endothéliales de tête, et la source de substance chemo-attractante, i.e. la tumeur, est représentée par la bande $\{1\} \times [0; 1]$. Les résultats numériques obtenus par simulations sont en accord

avec les résultats obtenus pour le modèle continu (cf section 6.1). Ce modèle permet de plus de représenter les anastomoses et les branchements de vaisseaux sanguins.

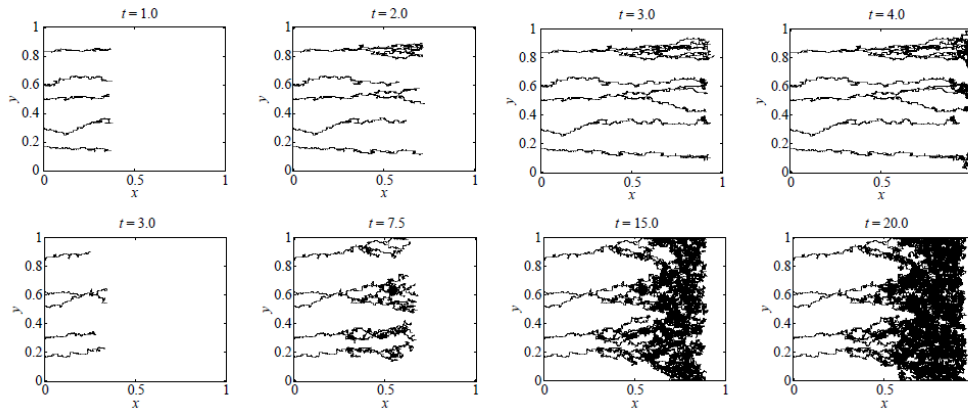


FIGURE 6.3 – Comparaison de l'évolution spatio-temporelle du réseau vasculaire selon le modèle discret développé par Anderson et Chaplain [43], sans haptotaxie (en haut), et avec haptotaxie (en bas). Le vaisseau parent est situé sur la bande $\{0\} \times [0; 1]$, la tumeur sur la bande $\{1\} \times [0; 1]$. Des anastomoses et branchements se produisent dans les deux cas, mais plus fréquemment lorsque l'haptotaxie est pris en compte. L'haptotaxie induit également une réduction de la vitesse de migration des cellules endothéliales. D'après [43].

Ces deux modèles discrets, développés par Stokes et Lauffenburger [46], et par Anderson et Chaplain [43], permettent de reproduire l'évolution du réseau vasculaire tout en tenant compte des principaux phénomènes impliqués dans l'angiogenèse. Cependant, seules les interactions chimiques sont considérées, et les contraintes mécaniques exercées sur le système ne sont pas modélisées.

Certains modèles ont été développés afin de tenir compte des propriétés rhéologiques du flux sanguin (viscosité, ...) [49, 50, 51]. Ces propriétés influencent la géométrie et la structure des vaisseaux sanguins, par exemple par l'intermédiaire des forces de cisaillement ; on parle alors de remodelage ou d'adaptation vasculaire. Cependant, la géométrie et la structure du réseau vasculaire influencent également les propriétés rhéologiques du sang, et donc les forces de cisaillement. Il existe donc une boucle de rétroaction entre les propriétés du flux sanguin et celles du réseau vasculaire.

Ainsi Chaplain et al. [52] ont développé un modèle d'angiogenèse intégrant la circulation sanguine à l'intérieur des néo-vaisseaux. Ce modèle est basé sur le modèle discret d'angiogenèse développé par Anderson et Chaplain [43] décrit ci-dessus. Il intègre également le remodelage vasculaire par l'intermédiaire du rayon des néo-vaisseaux, supposé influencé par les forces de cisaillement, la pression intravasculaire, et par un processus métabolique dépendant de l'hématocrite (pourcentage de globules rouges dans un volume de sang donné), le flot sanguin étant déterminé par une loi de type Poiseuille.

Par ailleurs, dans ce modèle, la survenue de branchements dépend non seulement de la concentration en substance chemo-attractante mais également des forces de cisaillement affectant la paroi vasculaire.

Chaplain et al. [53] ont ainsi pu étudier l'influence des propriétés du flux sanguin sur l'architecture d'un réseau vasculaire angiogénique en développement.

Parmi les modèles discrets, un certain nombre d'automates cellulaires ont été développés afin de modéliser le processus angiogénique. Comme les modèles décrits ci-dessus, ils considèrent les cellules endothéliales individuellement, leur mouvement dépendant directement des interactions avec leur voisinage. Plus précisément, un automate cellulaire se compose d'une grille régulière à une, deux ou trois dimensions spatiales, discrétisant l'espace et formant ainsi un réseau. Chaque site (également appelé maille) du réseau est caractérisée par un état (occupé par une cellule, vacant, ...). Le temps est également discrétisé et l'évolution du réseau est recalculée à chaque pas de temps. Cette évolution est déterminée par des règles, déterministes ou probabilistes, correspondant au mouvement des cellules biologiques sur les sites du réseau, et dépendant principalement des conditions spatiales dans un voisinage donné de chaque site, typiquement les quatre ou huit cellules adjacentes au site. Ces règles peuvent, par exemple, exprimer le fait qu'une cellule située sur un site donné du réseau peut proliférer avec une probabilité k_1 , mourir avec une probabilité k_2 , ou bouger sur un site voisin avec une probabilité k_3 . Ce type de modèle permet également de représenter la structure du réseau vasculaire. Le modèle d'Anderson et Chaplain [53] s'apparente à un automate cellulaire, mais les règles d'évolution du réseau vasculaire, basées sur celles d'une évolution continue, sont définies de manière beaucoup plus précise, et plus déterministe, qu'elles ne le sont généralement dans les automates cellulaires classiques. Cependant, les automates cel-

lulaires permettent également de prendre en compte les contraintes mécaniques s'exerçant sur le réseau vasculaire.

Bartha et Rieger [54], par exemple, ont développé un automate cellulaire probabiliste afin d'analyser les phénomènes pouvant conduire au caractère anormal du réseau vasculaire. Ce modèle permet de caractériser le rayon des segments vasculaires, le flux sanguin qui les traverse, ainsi que les forces de cisaillement exercées sur leur paroi. L'évolution de ces variables est définie à l'aide de lois probabilistes, en fonction de différents paramètres, tels que la présence de cellules tumorales, la concentration en oxygène, en facteur de croissance.

Le modèle de Bartha et Rieger [54] permet de retranscrire, par une approche probabiliste, les mécanismes de croissance des vaisseaux (correspondant à l'apparition de nouveaux segments vasculaires), de dilatation, collapsus et régression des vaisseaux existants (correspondant à la disparition de segments vasculaires) en fonction de différents paramètres. Ce modèle a ainsi permis de démontrer qu'un vaisseau peut ne plus être concerné par la circulation sanguine dès lors qu'une petite partie de ce vaisseau collapse.

Plusieurs modèles d'automates cellulaires plus complexes ont, par la suite, été développés à partir du modèle de Bartha et Rieger [55, 56].

Ainsi, de nombreux modèles ont été développés afin de modéliser l'angiogenèse, avec des approches parfois très différentes. Cependant, aussi différents soient-ils, ces modèles permettent d'obtenir des résultats numériques cohérents les uns avec les autres, et également avec les observations biologiques. Les différentes approches de modélisation sont donc complémentaires, et permettent de mieux comprendre le rôle de mécanismes sous-jacents sur le processus global d'angiogenèse.

Afin d'analyser le rôle de l'angiogenèse dans le processus global de croissance tumorale, il peut être intéressant de coupler un modèle d'angiogenèse à un modèle de croissance tumorale.

Chapitre 7

Mécanismes de la croissance tumorale

Les tumeurs solides sont caractérisées par une prolifération excessive de cellules.

Le cycle de division cellulaire se compose classiquement de quatre phases : G_1 (gap 1), S (synthèse de l'ADN), G_2 (gap 2), M (mitose). Ce cycle concerne les cellules en prolifération. Les cellules qui ne sont pas en prolifération sont dites quiescentes, ou en phase G_0 . Le passage d'une phase à l'autre est irréversible, excepté entre les phases G_0 et G_1 . Des points de vérification contrôlent le passage des phases G_1 à S , et G_2 à M . Ces points permettent à la cellule de vérifier qu'aucune modification, génétique ou structurelle, n'est intervenue au cours du cycle, et, le cas échéant, induisent l'apoptose, ou mort programmée, de la cellule (cf Figure 7.1). La division cellulaire est donc normalement régulée, i.e. activée ou inhibée, par l'expression de nombreux gènes. Cependant, une accumulation de mutations génétiques peut altérer cette régulation. L'intégrité de la cellule n'est alors plus assurée, et la cellule peut échapper au processus d'apoptose et acquérir la capacité de se diviser indéfiniment. Si cette cellule n'est pas immédiatement reconnue et éliminée par le système immunitaire, elle donne alors naissance à des cellules filles possédant la même capacité qu'elle à se diviser indéfiniment. Cette prolifération anormale de cellules engendre ainsi une croissance anormale du tissu (perte d'homéostasie), pouvant donner naissance à une

tumeur solide.

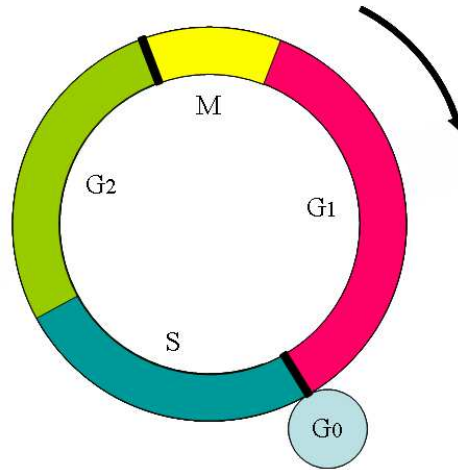


FIGURE 7.1 – Schéma du cycle cellulaire. Le cycle de prolifération se compose des phases G_1 , S , G_2 , M . Les cellules qui ne prolifèrent pas sont en phase G_0 . Des points de vérification entre les phases G_1 et S , et G_2 et M vérifient l'intégrité de la cellule.

Les cellules cancéreuses tumorales peuvent ensuite envahir localement le tissu environnant. Cette invasion joue un rôle essentiel dans le développement de la maladie. Les cellules cancéreuses peuvent en effet s'infiltrer dans les tissus voisins en détruisant les séparations naturelles existant entre les tissus cancéreux et les tissus sains. Cette infiltration est rendue possible par une diminution de l'adhérence intercellulaire des cellules cancéreuses, par la sécrétion, par ces dernières, d'enzymes de dégradation, et par une certaine mobilité permettant aux cellules de se déplacer dans le tissu environnant.

La croissance tumorale se compose de deux phases : l'une dite avasculaire, l'autre dite vasculaire.

La prolifération des cellules tumorales nécessite une place suffisante, et la présence d'oxygène et de nutriments dans le milieu environnant. Initialement, la tumeur ne possédant pas sa propre vascularisation (d'où le nom de phase avasculaire), ses cellules utilisent l'oxygène et les nutriments ayant diffusé à travers le tissu depuis les vaisseaux sanguins existants. Lorsque la masse tumorale grossit, les cellules, de plus en plus nombreuses, ont de moins en moins de place pour proliférer,

et leurs besoins en oxygène et nutriments augmentent. Les cellules situées au centre de la tumeur, partie la plus dense et la plus éloignée des sources d’oxygène et de nutriments, arrêtent donc leur prolifération, i.e. deviennent quiescentes, et meurent par nécrose lorsque la quantité d’oxygène et de nutriments disponible ne leur permet pas d’assurer leur survie. Lorsque l’oxygène et les nutriments disponibles dans l’environnement ne sont plus suffisants pour assurer la prolifération des cellules proliférantes restantes (autour du cœur nécrotique), situation apparaissant lorsque le diamètre de la tumeur atteint quelques millimètres, ces cellules proliférantes passent en phase de quiescence. Ces cellules quiescentes sont alors capables d’induire l’angiogenèse en sécrétant des substances chimiques telles que le VEGF (cf Chapitre 5), afin que la tumeur dispose de son propre réseau vasculaire. Ce nouveau réseau vasculaire constitue alors une source supplémentaire en oxygène et nutriments indispensables à la poursuite du développement tumoral.

La deuxième phase de croissance débute lorsque la tumeur possède son propre réseau vasculaire fonctionnel, et est ainsi appelée phase de croissance vasculaire. La tumeur étant vascularisée, les cellules tumorales, devenues principalement quiescentes, peuvent à nouveau proliférer et continuer leur invasion locale.

La croissance tumorale s’accompagne d’une modification des propriétés mécaniques des cellules tumorales et du tissu environnant. En effet, lorsqu’elle est dans un état statique, une cellule subit des forces mécaniques de la part de son environnement, mais exerce également des forces mécaniques sur cet environnement [57, 58, 59, 60].

Les forces qui s’exercent sur cette cellule peuvent l’être par les autres cellules, la matrice extracellulaire, ou par le tissu lui-même, par l’intermédiaire de forces interstitielles ou de cisaillement. Lorsqu’une cellule se détache de la tumeur pour envahir le tissu environnant, elle subit de plus des forces de traction. Des expérimentations biologiques ont montré que les stress mécaniques générés par la croissance de la masse tumorale ralentissaient cette dernière [61], d’où une boucle de rétro-contrôle.

La croissance de la masse tumorale a également des conséquences sur le développement du réseau vasculaire intratumoral. En effet, des phénomènes de collapsus et régression vasculaires ont été observés expérimentalement par Goldacre et Sylven [62]. Ces phénomènes pourraient être

dus à la pression interstitielle ou plus généralement aux stress biomécaniques créés par la masse tumorale croissante [63]. Le collapsus et la régression vasculaires induisent une diminution de l’approvisionnement de la tumeur en oxygène et nutriments, et donc éventuellement un arrêt de la prolifération des cellules tumorales dans certaines parties de la tumeur.

Par ailleurs, la vascularisation tumorale peut également permettre l’invasion de sites distants de la tumeur initiale, dite tumeur primaire. En effet, une ou plusieurs cellules tumorales peuvent perdre leur adhérence à la masse tumorale, pénétrer à l’intérieur de vaisseaux sanguins et/ou lymphatiques (intravasation) et ainsi se retrouver dans la circulation sanguine et/ou lymphatique. Les cellules tumorales survivantes peuvent alors sortir de la circulation sanguine et/ou lymphatique (extravasation) à distance de la tumeur primaire, i.e. dans d’autres parties du corps, et proliférer pour former des masses tumorales appelées tumeurs secondaires ou métastases. La présence de métastases témoigne du caractère avancé de la maladie [10, 11].

La Figure 7.2 résume les principales caractéristiques d’une cellule cancéreuse.

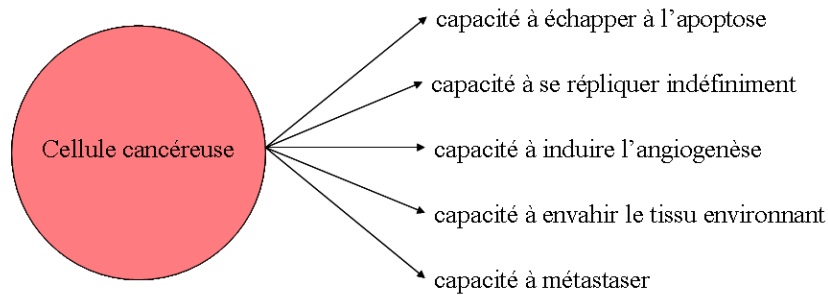


FIGURE 7.2 – Principales caractéristiques d’une cellule cancéreuse.

Chapitre 8

Modèles mathématiques de croissance tumorale avasculaire

Depuis les cinquante dernières années, la croissance de tumeurs solides a été l'objet de nombreux modèles mathématiques afin d'essayer d'expliquer ce phénomène complexe. La modélisation de la phase avasculaire a été le point de départ de nombreux modèles de croissance tumorale. En effet, la phase avasculaire est, d'un point de vue mathématique, moins complexe à modéliser que la phase vasculaire, et contient de nombreux éléments nécessaires à la modélisation de la phase de croissance vasculaire. Par ailleurs, la volonté de pouvoir comparer les résultats d'expérimentations *in silico* à des résultats d'expérimentations *in vitro* a incité les chercheurs à modéliser principalement la croissance de tumeurs sphéroïdes, en supposant ces dernières parfaitement sphériques, de nombreuses expériences *in vitro* ayant montré que certaines lignées de cellules croissent en formant des sphéroïdes.

8.1 Modèles continus

La manière la plus phénoménologique de modéliser la croissance tumorale est de considérer le taux de croissance de la tumeur. Ainsi, dans la première moitié du 20ème siècle, l'analyse d'observations expérimentales animales et de données moyennes de population humaine, a conduit à considérer une croissance exponentielle de la tumeur, avec un temps de doublement du volume tumoral constant. Ainsi, l'évolution du nombre de cellules est donnée par l'équation :

$$\frac{dN}{dt} = \lambda N \quad (8.1)$$

soit $N(t) = N_0 \exp(\lambda t)$ où N est le nombre de cellules tumorales (proportionnel à la masse tumorale) avec $0 < N_0 = N(t = 0)$, $\lambda > 0$ est le taux de division de chaque cellule, supposé constant.

Ce modèle considère cependant que la croissance tumorale n'est limitée par aucun facteur.

Le modèle de croissance logistique permet de prendre en compte les contraintes de croissance liées par exemple au manque de ressources et/ou de place. L'évolution du nombre de cellules est alors donnée par l'équation :

$$\frac{dN}{dt} = \lambda N \left(1 - \frac{N}{N_\infty} \right) \quad (8.2)$$

soit $N(t) = \frac{N_\infty N_0 \exp(\lambda t)}{N_\infty + N_0 (\exp(\lambda t) - 1)}$ où N est le nombre de cellules tumorales, et λ , N_0 et N_∞ sont des constantes positives, avec $0 < N_0 = N(t = 0) < N_\infty$. Ainsi, initialement, les solutions de cette équation croissent exponentiellement avec un taux λ , puis convergent éventuellement vers une valeur d'équilibre N_∞ . Ce modèle permet donc de prendre en compte la limitation de la croissance tumorale par des facteurs, naturels ou pas.

Un autre modèle, dit modèle de Gompertz, permet de modéliser le fait que la croissance tumorale n'est pas obligatoirement infinie. Cette hypothèse fut avancée pour la première fois dans les années 1960 par A.K. Laird [64]. A.K. Laird réussit en effet à ajuster la courbe représentative d'une fonction mathématique définie par Gompertz en 1825, et appelée courbe de Gompertz [65], à des données expérimentales de croissance tumorale. Ainsi, dans le modèle de Laird-Gompertz,

l'évolution du nombre de cellules tumorales est donnée par :

$$\frac{dN}{dt} = \lambda N \exp(-kt) \quad (8.3)$$

soit $N(t) = N_0 \exp\left(\frac{\lambda}{k}[1 - \exp(-kt)]\right)$ (fonction de Gompertz), où N représente le nombre de cellules tumorales, λ , k , et $N_0 = N(t = 0)$ étant des constantes positives, avec $N_0 = N(t = 0) > 0$.

La Figure 8.1 permet de comparer les solutions de ces différents modèles.

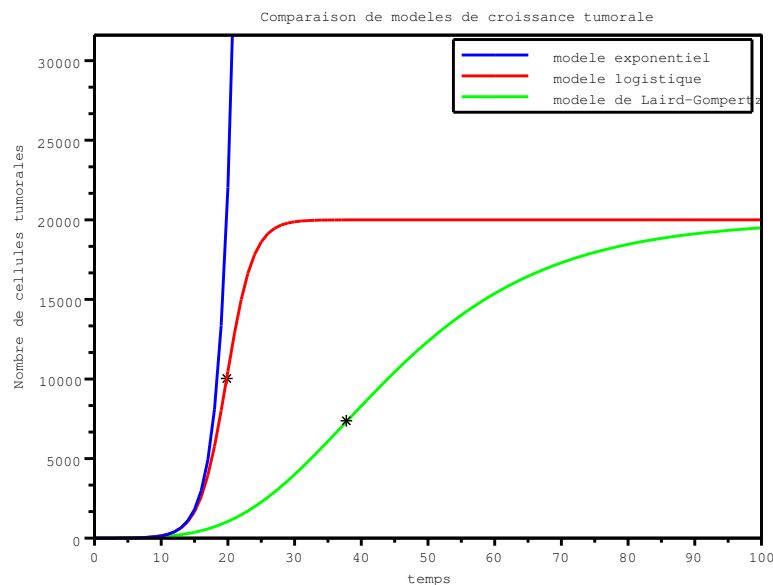


FIGURE 8.1 – Comparaison de l'évolution temporelle du nombre de cellules tumorales pour les modèles exponentiel, logistique, et de Laird-Gompertz. Seuls les modèles logistique et de Laird-Gompertz permettent de prendre en compte la limitation de la croissance tumorale par des facteurs environnementaux. Dans le modèle de Laird-Gompertz, le taux de croissance maximal (correspondant au point d'inflexion de la courbe ci-dessus, marqué d'une *) est toujours atteint pour un nombre de cellules tumorales inférieur à celui correspondant au taux de croissance maximal du modèle logistique, correspondant lui à $N = N_\infty/2$.

L'évolution du taux de croissance de la tumeur est, à ce jour, toujours étudiée [66, 67, 68]. Ainsi, en observant des données biologiques de volumes tumoraux, et les temps de développement correspondants, Guiot et al. [68] ont proposé un modèle supposant que les tumeurs suivaient une

loi de croissance exponentielle universelle. Les résultats de simulations *in silico* de ce modèle sont en accord avec des données *in vitro* et *in vivo*.

Une autre façon de modéliser la croissance tumorale est de la représenter par des échanges de cellules entre les phases de prolifération et de quiescence, en fonction des conditions environnementales [69, 70]. Ainsi, en notant P le nombre de cellules proliférantes, Q le nombre de cellules quiescentes, et N le nombre total de cellules tumorales ($N = P + Q$), le modèle peut s'écrire :

$$\begin{cases} \frac{dP}{dt} = (\beta_P - \mu_P - r_o(N))P + r_i(N)Q \\ \frac{dQ}{dt} = r_o(N)P - (r_i(N) + \mu_Q)Q \end{cases} \quad (8.4)$$

où β_P représente le taux de naissance de cellules (par division cellulaire), μ_P et μ_Q le taux de mort de cellules respectivement proliférantes et quiescentes ; les fonctions r_i et r_o modélisent respectivement l'entrée dans le cycle cellulaire de cellules jusqu'alors quiescentes, et la sortie du cycle cellulaire de cellules jusqu'alors proliférantes devenant quiescentes. Les fonctions r_i et r_o peuvent s'écrire sous la forme de fonctions de Hill :

$$r_i(N) = \frac{\alpha L^\delta}{L^\delta + N^\delta} \quad \text{et} \quad r_o(N) = \frac{\beta N^\gamma}{K^\gamma + N^\gamma} ,$$

les coefficients K , L , δ et γ étant relatifs aux cellules et/ou à leur environnement. Ces fonctions modélisent ainsi le phénomène, suggéré par les données biologiques, selon lequel plus la tumeur est grosse (et donc plus le nombre total de cellules tumorales est élevé), plus les cellules proliférantes tendent à devenir quiescentes, et moins les cellules quiescentes tendent à entrer dans le cycle de division.

Gyllenberg et Webb [69] ont ainsi proposé d'expliquer l'allure gompertzienne de la courbe de croissance de certaines tumeurs par la présence de la phase de quiescence.

Ces modèles de croissance tumorale permettent certes de reproduire des phénomènes observés expérimentalement, mais restent très phénoménologiques. Ils ne prennent en effet pas en compte

le caractère spatial de la croissance, i.e. son caractère invasif, et le rôle des facteurs environnementaux n'est que suggéré.

Greenspan [71] fut l'un des premiers à prendre en compte la dimension spatiale de la croissance tumorale. Il eut ainsi recours à un système d'équations aux dérivées partielles (EDP) afin de modéliser la distribution spatiale de l'oxygène (en supposant l'équilibre diffusif atteint). Basé sur l'hypothèse simplificatrice d'un tissu à symétrie sphérique, son modèle permet de déterminer l'évolution de la tumeur, caractérisée par son rayon ne dépendant que du temps, en fonction du niveau d'oxygène. Ce modèle a, par la suite, servi de base à de nombreux modèles de croissance tumorale [40, 72, 73, 74, 75, 76].

L'une des premières EDP utilisées pour modéliser la diffusion de molécules chimiques ou de cellules soumises à un processus de réactions chimiques locales, dans une dimension d'espace (notée x), est l'équation de Fisher-KPP :

$$\frac{\partial N}{\partial t} = D \frac{\partial^2 N}{\partial x^2} + f(N) \quad (8.5)$$

où N représente la densité de cellules ou la concentration en molécules chimiques, D le coefficient de diffusion, et $f > 0$ le terme de réaction (prolifération, mort, ...) [35].

Ainsi, de nombreux modèles ont eu recours à ce type d'équations pour modéliser l'évolution de l'interface tumeur-tissu, en fonction par exemple de la distance au centre de la tumeur sphérique. L'interface tumeur-tissu, représentant le bord de la tumeur, y est considérée comme une onde (plane) se propageant dans le tissu environnant, en remplaçant le tissu sain [77, 78]. Ce type de modèles a, par exemple, permis d'étudier l'effet de l'haptotaxie sur la dynamique de la croissance tumorale [79], le rôle du phénomène de diffusion dans la propagation des ondes [80].

Plus généralement, les EDP utilisées pour décrire l'évolution de la concentration de substances chimiques ou de la densité cellulaire soumises aux processus de diffusion et de transformation par réactions (chimiques ou non) sont les équations dites de réaction-diffusion, de la forme :

$$\frac{\partial N}{\partial t} + \nabla \cdot F = f(N) \quad (8.6)$$

où N représente la densité de cellules ou la concentration en molécules chimiques, F le flux de cette substance chimique ou cellulaire à l'intérieur de la tumeur, et $f > 0$ le terme de réaction (réactions chimiques, prolifération, mort de cellules, ...). Pour une cellule ou une particule non chargée telle que le glucose ou l'oxygène, l'expression du flux F est donnée par la loi de Fick :

$$F = -D\nabla N \quad (8.7)$$

où, $D > 0$ représente le coefficient de diffusion (dépendant, a priori, de l'espace) [35].

Ce type d'équation permet ainsi de modéliser les interactions d'une particule en diffusion (molécule, cellule), avec son environnement.

Certains modèles intègrent le phénomène de compétition entre les cellules tumorales et les cellules saines. La compétition, principalement pour le gain d'espace, de nutriments, entre les différents types de cellules peut avoir des effets négatifs sur chacune de ces populations. Le type de modèle le plus utilisé pour représenter des phénomènes de compétition est le modèle de Lotka-Volterra [35, 81]. Ainsi, Gatenby et al. [82] décrivent un phénomène de compétition entre une population de cellules saines (de densité notée N) et une population de cellules tumorales (de densité notée T) à l'aide du système suivant :

$$\begin{cases} \frac{\partial N}{\partial t} = D_N \Delta N + r_N N \left(1 - \frac{N}{K_N} - \frac{b_{NT} T}{K_N} \right) \\ \frac{\partial T}{\partial t} = D_T \Delta T + r_T T \left(1 - \frac{T}{K_T} - \frac{b_{TN} N}{K_T} \right) \end{cases} \quad (8.8)$$

où D_N (resp. D_T) représente le coefficient de diffusion des cellules saines (resp. tumorales), r_N (resp. r_T) le taux net maximal de croissance des cellules saines (resp. des cellules tumorales), K_N la densité maximale de cellules saines en l'absence de cellules tumorales, K_T la densité maximale de cellules tumorales en l'absence de cellules saines, b_{NT} et b_{TN} les termes de compétition. Ainsi b_{NT} modélise, de façon phénoménologique, l'action négative des cellules tumorales sur le tissu sain, comme par exemple la dégradation de la matrice extracellulaire par les cellules tumorales, et b_{TN} le processus de défense des cellules saines contre les cellules tumorales, comme par exemple la réponse immunitaire. Ce modèle a ainsi permis d'analyser de façon générale les limites théra-

peutiques des agents cytotoxiques.

Afin d'être biologiquement plus proche de la réalité, de nombreux modèles de croissance tumorale considèrent, de plus, les interactions entre les cellules tumorales et une ou plusieurs espèces chimiques influençant leur cycle cellulaire. Pour chaque espèce chimique considérée, l'équation décrivant l'évolution de sa concentration à l'intérieur de la tumeur sphéroïde est classiquement de type équation de réaction-diffusion (cf équation (8.6)). Le terme de réaction correspond alors au taux net de production / consommation de chaque espèce, à la fois par les cellules tumorales, et par interactions avec les autres espèces chimiques. Pour une particule non chargée telle que le glucose ou l'oxygène, l'expression du flux F est donnée par la loi de Fick (cf équation (8.7)). Pour une particule chargée telle qu'un ion, ce terme de flux doit également tenir compte du champ électrique régissant la migration de la charge.

Casciari et al. [83] ont ainsi proposé un modèle complexe de croissance tumorale intégrant l'oxygène, le glucose, le dioxyde de carbone, l'ion lactate, l'ion bicarbonate, l'ion chlorure et l'ion hydrogène, afin d'étudier leur rôle sur la croissance tumorale.

La plupart des modèles ne considèrent cependant qu'un seul facteur. Ce dernier peut être un facteur chimique inhibiteur de croissance, ou promoteur de croissance tel que l'oxygène ou un nutriment "générique", dont dépendent principalement la prolifération et la mort des cellules tumorales [84].

Les premiers modèles de croissance d'une tumeur sphéroïde limitée par un facteur chimique se sont intéressés à l'inhibition de la division cellulaire par un facteur de croissance inhibiteur (GIF) produit par la tumeur [73, 75, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91]. La division cellulaire est alors supposée se produire seulement si la concentration en GIF est inférieure à un seuil donné. Prendre en compte un facteur promoteur de croissance se ferait de manière analogue, la division cellulaire étant alors supposée se produire si la concentration en facteur est supérieure à un seuil donné.

Dans ces modèles, l'équation gouvernant l'évolution de la concentration en facteur GIF est généralement de la forme :

$$\frac{\partial C}{\partial t} = \nabla \cdot (D_C(\mathbf{r})\nabla C) + f(C) + \lambda S(\mathbf{r}) \quad (8.9)$$

où $C = C(\mathbf{r}, t)$ désigne la concentration en GIF, $\mathbf{r} \in \Omega \subset \mathbb{R}^3$, $D_C(\mathbf{r})$ représente le coefficient de diffusion du GIF, la fonction f modélise le taux de dégradation du GIF, $\lambda > 0$ désigne le taux de production de GIF, et la fonction S modélise la source de GIF.

Le GIF est ainsi supposé être produit par les cellules du tissu tumoral (fonction source S), diffuser dans le milieu environnant avec un taux de diffusion D , et être dégradé avec un taux $f(C)$. Ce modèle a été étudié pour un coefficient de diffusion constant [73, 75] ou non [90, 91], pour une fonction de dégradation f par exemple de la forme $f(C) = -\gamma C$, la constante $\gamma > 0$ désignant le taux de dégradation du GIF, et pour différentes formes de la fonction de production S . Ainsi, Shymko [73] a supposé que la production de GIF était homogène à l'intérieur de la tumeur, alors que les modèles plus récents sont basés sur une production non-homogène, plus réaliste d'un point de vue biologique [75, 91, 92].

Greenspan [93] fut l'un des premiers à considérer la tumeur comme un fluide incompressible. Son modèle considère que la tumeur est composée d'un cœur nécrotique, entouré d'un anneau de cellules proliférantes. Greenspan supposa que l'évolution locale de la population de cellules tumorales due à la prolifération cellulaire, et donc à l'apparition de nouvelles cellules et à la mort cellulaire, engendrait un gradient de pression interne, comparable à des forces d'expansion, induisant un mouvement passif de convection des cellules tumorales, favorisant ainsi l'expansion de la tumeur. S'inspirant du modèle développé par Greenspan, de nombreux auteurs ont, par la suite, repris cette notion de fluide incompressible dans leurs travaux [94, 95, 96].

La tumeur se composant, entre autre, de différents types de cellules, de fluide interstitiel, de matrice extracellulaire, elle peut être considérée comme un élément multiphasique, chaque phase étant représentée par l'un de ses constituants. Cette vision permet de prendre en compte les interactions mécaniques et biochimiques entre les différentes phases. Les modèles se basent alors sur des équations du type :

$$\frac{\partial \Phi_i}{\partial t} + \nabla \cdot (\mathbf{v}_i \Phi_i) = \nabla \cdot (D_i \nabla \Phi_i) + \lambda_i(\Phi_i, C_j) - \mu_i(\Phi_i, C_j) \quad (8.10)$$

où, pour chaque phase i , Φ_i représente la fraction de volume ($\sum_i \Phi_i = 1$), \mathbf{v}_i la vitesse, D_i le coefficient de diffusion, $\lambda_i(\Phi_i, C_j)$ et $\mu_i(\Phi_i, C_j)$ respectivement les termes de production et de dégradation (en fonction des j espèces chimiques influençant la phase i).

Les modèles les plus courants ne considèrent que les cellules tumorales, ces dernières pouvant être distinguées en fonction de leur caractère proliférant, quiescent ou mort. Certains modèles, à une phase, ne considèrent que des cellules proliférantes [83]. Les modèles à deux phases, distinguant les cellules vivantes (i.e. proliférantes) des cellules mortes, sont les plus développés [77, 78]. Certains modèles à deux phases considèrent les cellules tumorales et le milieu (aqueux) extracellulaire [97, 98, 99].

Comme nous l'avons vu précédemment, la plupart des modèles ne considèrent qu'une seule espèce chimique, l'oxygène ou un nutriment "générique", de concentration notée C par la suite [77, 78]. La tumeur étant supposée avasculaire, ce nutriment est supposé soumis uniquement aux processus de diffusion et de consommation par les cellules vivantes. Connaissant le volume moyen d'une cellule vivante, noté V_L , et celui d'une cellule morte, noté V_D , avec $V_D < V_L$, on peut alors déduire de l'équation (8.10) l'équation gouvernant l'évolution des densités de cellules vivantes et mortes, notées respectivement n et m , et de la concentration en nutriment :

$$\begin{cases} \frac{\partial n}{\partial t} + \nabla \cdot (\mathbf{v}_n n) = \nabla \cdot (D_n \nabla n) + \lambda(n, C) - \mu(n, C) \\ \frac{\partial m}{\partial t} + \nabla \cdot (\mathbf{v}_m m) = \mu(n, C) \\ \frac{\partial C}{\partial t} + \nabla \cdot (\mathbf{v}_c C) = \nabla \cdot (D_C \nabla C) - \gamma(C)n \end{cases} \quad (8.11)$$

Supposant que les deux types de cellules et le nutriment subissent le même mouvement de convection, i.e. $\mathbf{v}_n = \mathbf{v}_m = \mathbf{v}_c = \mathbf{v}$ ([77, 78]), il est nécessaire de déterminer la vitesse \mathbf{v} de ce mouvement afin de pouvoir résoudre le système d'équations (8.11). En supposant la conservation du volume, on obtient : $nV_L + mV_D = 1$ d'où l'expression :

$$\nabla \cdot v = \nabla \cdot (D \nabla n) V_L + \lambda(n, C) V_L - \mu(n, C) (V_L - V_D) \quad (8.12)$$

La plupart des modèles de croissance tumorale supposent, pour simplifier, que la croissance est symétrique. En effet, dans le cas d'un problème à symétrie radiale, on peut supposer que les

composantes du vecteur vitesse \mathbf{v} sont toutes nulles excepté sa composante radiale, qui dépend de la distance au centre de la tumeur r et du temps t . L'équation (8.12) permet alors de résoudre complètement le système (8.11).

Lorsque le problème n'est pas à symétrie radiale, l'équation (8.12) ne suffit pas, à elle seule, pour déterminer la vitesse \mathbf{v} du mouvement des cellules. Il faut alors prendre en compte certains aspects mécaniques. Greenspan [93] et Byrne et Chaplain [96] ont, par exemple, introduit le concept de pression interne p dans la tumeur, reliée à la vitesse \mathbf{v} d'expansion de cette tumeur par la loi de Darcy :

$$\mathbf{v} = -\mu \nabla p \quad (8.13)$$

où $\mu > 0$ décrit les propriétés de viscosité des cellules tumorales. La tumeur est en effet considérée comme un fluide se déplaçant à travers la matrice extracellulaire fixe.

Le système d'équations (8.11) est alors complet muni de conditions initiales et de conditions au bord, le mouvement du bord de la tumeur étant donné par l'équation :

$\mathbf{n} \cdot \frac{d\mathbf{r}}{dt} = \mathbf{v} \cdot \mathbf{n} = -\mu \nabla p \cdot \mathbf{n}$ où \mathbf{r} représente la distance au centre de la tumeur, et \mathbf{n} désigne le vecteur sortant normal à la surface tumorale.

Dans leur modèle, Byrne et Chaplain [96] considèrent un unique nutriment "générique" supposé être dans un état de pseudo-équilibre en temps. A l'intérieur de la tumeur, la concentration en nutriment est donc supposée régie par l'équation : $\nabla^2 C - \lambda(C) = 0$ où $\lambda(C)$ représente le taux de consommation de nutriments par les cellules tumorales. Byrne et Chaplain supposent, de plus, que ce nutriment est une source d'énergie permettant de maintenir le contact entre les cellules à la périphérie de la tumeur. Ils considèrent donc que la concentration en nutriment satisfait la relation de Gibbs-Thomson à la surface de la tumeur : $C = C_\infty(1 - 2\gamma\kappa)$ où κ représente le rayon de courbure moyen de la surface de la tumeur, 2γ la tension exercée à la surface de la tumeur, C_∞ la concentration en nutriment dans le tissu extérieur à la tumeur. Cette relation traduit ainsi le fait que la quantité d'énergie nécessaire pour maintenir la structure de la tumeur à sa surface, ou tension de surface, est de $2C_\infty\gamma\kappa$. La modélisation de l'adhésion cellule-cellule par une tension de surface a récemment été reprise dans des modèles plus complexes [100, 101].

Se basant sur le modèle ci-dessus, d'autres modèles ont considéré trois types de cellules tumo-

rales : proliférantes, quiescentes, et mortes [102].

Certains modèles considèrent les propriétés mécaniques des interactions entre les cellules tumorales et leur environnement.

Ainsi, se basant sur le modèle de Greenspan [93], Chaplain et Sleeman [103] ont développé un modèle basé sur la théorie non-linéaire de l'élasticité. Dans leur modèle, la tumeur est caractérisée par des membranes et des coques épaisses. La définition d'une énergie de tension permet de caractériser le stress subit par les cellules tumorales vivantes, et la déformation subie par la tumeur, et ainsi de déterminer le pouvoir invasif de la tumeur et donc son caractère bénin ou malin.

D'autres modèles considèrent les interactions entre les cellules tumorales et la matrice extracellulaire. Anderson et Chaplain [104] ont développé un modèle de croissance tumorale intégrant le phénomène d'haptotaxie, i.e. d'adhésion des cellules tumorales à la matrice extracellulaire, et la dégradation de la matrice extracellulaire par les métalloprotéases afin d'étudier l'action des inhibiteurs de métalloprotéases sur la croissance tumorale. Ce modèle a été récemment repris par Gerisch et Chaplain [105], remplaçant le terme local d'haptotaxie par un terme non-local permettant d'obtenir une plus grande hétérogénéité dans l'évolution de la population de cellules tumorales.

Araujo et McElwain se sont intéressés aux stress générés par la croissance du tissu tumoral [106, 107, 108]. Dans [106], les auteurs étudient la relation existant entre la distribution spatiale du processus de croissance tumorale (isotropique et anisotropique) et celle du stress induit par cette croissance, en faisant l'hypothèse d'un tissu à symétrie sphérique. Par ailleurs, dans [107, 108], les auteurs proposent un nouveau type de modèle multiphasique en considérant les caractéristiques solides du tissu. Ainsi, afin d'étudier la création et la répartition de stress résiduels dans les tissus, ils présentent un modèle comprenant une phase constituée d'un solide élastique et une phase constituée d'un fluide non visqueux.

Ambrosi et Mollica [109] ont développé un modèle de croissance tumorale en utilisant la théorie des matériaux aux configurations naturelles multiples. La croissance y est interprétée comme

une augmentation de la masse des particules du tissu, i.e. une augmentation de leur volume à densité constante, et non comme une augmentation du nombre de particules. Une telle description mécanique permet, par exemple, d'étudier l'évolution du stress à l'intérieur et à l'extérieur du tissu croissant.

8.2 Modèles discrets

Les modèles discrets de croissance tumorale permettent de modéliser des phénomènes intervenant aux échelles cellulaire et subcellulaire. Ils définissent l'évolution individuelle de chaque cellule d'une population de cellules tumorales. Chaque cellule est ainsi caractérisée par sa position, sa vitesse et ses caractéristiques biologiques telles que sa position dans le cycle cellulaire, ses interactions locales avec l'environnement, ...

Les modèles discrets de croissance tumorale les plus répandus sont les automates cellulaires (cf définition à la section 6.2) [50, 104, 110, 111, 112, 113, 114, 115].

Düchting fut l'un des premiers à développer des automates cellulaires, afin d'étudier le processus de renouvellement cellulaire [110]. Chaque site du réseau peut être occupé par une cellule saine (ou normale), une cellule tumorale ou être vacant. Les lois définissant l'évolution du système concernent principalement la survie d'une cellule, sa division et sa mort, les cellules tumorales se distinguant des cellules saines par un taux de renouvellement plus élevé. A cause du manque de ressources informatiques disponibles à l'époque de son élaboration, ce modèle ne put être utilisé que pour un réseau à deux dimensions d'espace, de 10×10 cellules biologiques au maximum, ce qui n'est pas réaliste. Par la suite, avec le développement des moyens de calculs, ce modèle a été étendu à un réseau 100×100 , plus réaliste, muni de règles d'évolution plus complexes [111], puis à un réseau à trois dimensions afin d'étudier les effets de la radiothérapie sur la croissance tumorale [116].

Qi et al. [117] ont développé un automate cellulaire décrivant les interactions entre le système immunitaire et la tumeur, afin de reproduire la courbe de Gompertz caractérisant la croissance

tumorale (cf section 8.1). Ce modèle intègre les cellules tumorales, vivantes ou mortes, les cellules saines et les complexes formés par des cellules immunitaires liées aux cellules tumorales. Les règles d'évolution régissent principalement la prolifération des cellules, l'action cytotoxique des cellules du système immunitaire, et l'effet de la pression mécanique intratumorale sur le mouvement des cellules en division.

Plus récemment, Kansal et al. [112] ont développé un modèle de croissance de tumeur cérébrale afin de reproduire le comportement macroscopique d'une tumeur à l'aide de paramètres microscopiques. Ce modèle est caractérisé par un réseau en trois dimensions généré à partir d'un réseau de Voronoï. Un tel réseau est créé à partir de ses nœuds, représentés par des points aléatoirement distribués dans l'espace considéré. Chaque site du réseau final contiendra l'un de ces points. Pour un point donné, le site correspondant est défini comme la partie de l'espace qui est plus proche de ce point particulier que de tous les autres points. En trois dimensions, un réseau de Voronoï est constitué de polyèdres (en deux dimensions, il est constitué de polygones). Les nœuds des polyèdres partageant une face commune sont alors connectés (par triangulation de Delaunay, chaque nœud du diagramme de Voronoï étant associé à un sommet dans la triangulation de Delaunay), ce qui définit le voisinage d'un site : les sites voisins d'un site donné, sont les polyèdres possédant une face commune avec ce site.

Ce modèle considère trois types de cellules tumorales répartis en trois zones concentriques : nécrotiques (au centre), quiescentes, proliférantes (à la périphérie). Les cellules saines correspondent aux sites vides, et chaque site peut contenir plusieurs types de cellules. Les règles d'évolution de ce modèles sont probabilistes. Cependant, contrairement aux modèles de Düchting et al. [110, 116] et Qi et al. [117], la règle définissant la prolifération des cellules n'est ni locale, ni homogène. En effet, dans le modèle de Kansal et al. [112], la survie des cellules tumorales dépend de la distance la séparant de la surface de la tumeur : seule les cellules tumorales situées à une distance donnée de la surface de la tumeur peuvent proliférer, et les cellules situées au delà de cette distance deviennent nécrotiques. Cette hypothèse permet de modéliser phénoménologiquement les effets du manque de nutriments au centre de la tumeur. La pression intratumorale influence également la prolifération des cellules en fonction de leur situation par rapport à la surface de la tumeur. Bien que basé sur une modélisation plutôt phénoménologique, ce modèle permet d'obtenir des

résultats de simulations concernant la composition de la tumeur et son évolution en accord avec les résultats biologiques disponibles dans la littérature.

Kanzal et al. [112, 113] ont également pris en compte l'instabilité génétique des cellules tumorales, et ont ainsi modélisé l'apparition de nouvelles populations au sein de la tumeur.

Dans leurs modèles, Kanzal et al. [112, 113] intègrent les effets du manque de nutriments et des contraintes mécaniques sur la croissance tumorale. Cependant, la description de ces mécanismes y est faite de manière plutôt phénoménologique. Certains modèles prennent en compte les nutriments, substances chimiques, et les forces mécaniques de manière plus mécanistique. La plupart de ces modèles sont basés sur un automate cellulaire couplé à des équations aux dérivées partielles modélisant par exemple la concentration en nutriments ou en facteurs de croissance (cf section 8.1). Ces modèles sont dit hybrides puisqu'ils combinent des équations discrètes et continues. Ainsi, Ferreira et al. [118, 119] ont proposé un modèle de croissance tumorale dans lequel la prolifération, la motilité et la mort des cellules sont régulées par la diffusion de facteurs de croissance produits par chaque cellule tumorale. Ce modèle est basé sur un automate cellulaire comprenant un réseau 1400×1400 dont chaque site est occupé par une cellule saine ou par une cellule tumorale. La prolifération, la migration et la mort de chaque cellule tumorale sont régies par des lois probabilistes dépendant de la concentration moyenne en facteurs de croissance au voisinage de chaque cellule tumorale. Ferreira et al. [120] ont, par la suite, introduit dans ce modèle la présence de nutriments (en distinguant nutriments essentiels et non-essentiels à la prolifération cellulaire), l'évolution de la concentration de ces derniers étant également régie par des équations aux dérivées partielles. Ce modèle a permis de reproduire plusieurs morphologies de tumeurs observées *in vivo*.

Afin de reproduire des données expérimentales de croissance *in vitro* de tumeurs sphéroïdes, Dormann et Deutsch [121] ont également développé un automate cellulaire hybride en trois dimensions, considérant la présence de nutriments et l'existence d'un signal chemo-attractant émis par les cellules nécrotiques. Les lois d'évolution de cet automate sont des lois probabilistes.

En se basant sur le modèle élaboré par Anderson [122], Gerlee et Anderson [123] ont considéré un automate cellulaire hybride dont les lois d'évolution dépendent du type de cellule. Ce

modèle prend en compte les concentrations en oxygène, glucose et ions hydrogène H^+ , ainsi que les mutations génétiques pouvant conduire à l'émergence de plusieurs populations de cellules tumorales. Ils ont ainsi mis en évidence l'influence de la concentration en oxygène sur la diversité de populations de cellules tumorales.

D'autres modèles discrets, proches des automates cellulaires, ont également été développés afin de modéliser la croissance tumorale. Ils s'agit de systèmes multi-agents. A la différence des automates cellulaires qui considèrent les changements d'états des sites d'un réseau, un système multi-agents se compose d'agents (cellules, protéines, gènes, ...) en interactions les uns avec les autres, dans un environnement commun. Chaque agent est une entité autonome qui peut se déplacer, interagir avec d'autres agents de même ou de différent type que lui, et également percevoir son environnement. Comme pour les automates cellulaires, la configuration du système multi-agents est recalculée à chaque pas de temps

Ainsi, Mansury et al. [124] ont développé un modèle multi-agents de croissance de tumeur cérébrale afin d'étudier la réponse cellulaire en fonction de son environnement. Leur modèle se compose d'une grille à deux dimensions d'espace. La densité de cellules d'un site est définie comme le nombre de cellules occupant ce site. Chaque cellule tumorale peut migrer, proliférer ou mourir, la probabilité de chacune de ces actions dépendant du niveau d'oxygène, du confinement mécanique et de la toxicité des métabolites sur le site occupé par la cellule tumorale considérée.

Les résultats numériques obtenus à l'aide de ce modèle ont permis de mettre en évidence le fait que la morphologie de la tumeur dépende du caractère local ou global de la recherche d'informations sur son environnement effectuée par la tumeur. Plus récemment, Drasdo et Höhme [125] ont élaboré un modèle multi-agents biophysique dans lequel chaque cellule est caractérisée par un objet sphérique, isotrope, élastique, paramétré par des paramètres cellulaires biophysiques et cinétiques pouvant être mesurés expérimentalement. Ce modèle, en accord avec les expérimentations biologiques, a permis de fournir des explications concernant les différentes morphologies de tumeurs observées expérimentalement. Zhang et al. [126] ont également développé un modèle de tumeur cérébrale intégrant les échelles macroscopique, microscopique et cellulaire.

Contrairement au cas des automates cellulaires et systèmes multi-agents précédents pour les-

quels chaque site comporte une ou plusieurs cellules biologiques, dans le modèle de Potts [127], chaque cellule biologique peut occuper plusieurs sites du réseau. A chaque pas de temps, la probabilité de mouvement d'une cellule dépend de l'énergie induite par ce mouvement. Turner et Sherratt [128] se sont ainsi basés sur le modèle de Potts pour élaborer un modèle de croissance tumorale permettant d'analyser le rôle des propriétés d'adhésion des cellules tumorales sur la morphologie et le caractère invasif des tumeurs. Ce modèle tient compte des forces d'adhésion entre cellules et entre cellules et matrice extracellulaire, de la croissance et de la déformation élastique des cellules, de l'haptotaxie en fonction d'un gradient de concentration en protéines d'adhésion.

L'intérêt croissant porté par la communauté scientifique à la croissance tumorale s'est traduit, ces dernières années, par l'élaboration d'une multitude de modèles mathématiques. Ces modèles sont principalement basés sur deux approches mathématiques distinctes, l'approche continue et l'approche discrète. Plus ou moins complexes en fonction de leur objectif, ces modèles permettent d'étudier les différents mécanismes sous-jacents à la croissance tumorale avasculaire, et de fournir des tentatives d'explication de phénomènes observés expérimentalement et plus ou moins bien connus.

Ces modèles de croissance tumorale avasculaire ont été le point de départ de l'élaboration de modèles de croissance tumorale vasculaire.

Chapitre 9

Modèles mathématiques de croissance tumorale vasculaire

La phase vasculaire de la croissance tumorale est caractérisée par l'existence d'un réseau vasculaire tumoral, fournissant à la tumeur l'oxygène et les nutriments nécessaires à la poursuite de son développement. La tumeur, dont le développement était fortement ralenti à cause du manque d'oxygène et de nutriments, entre alors dans une phase dynamique de croissance. Elle peut dès lors envahir le tissu environnant, et des cellules tumorales peuvent pénétrer la circulation sanguine de ces vaisseaux pour aller former des métastases dans d'autres parties du corps. La vascularisation d'une tumeur est donc un témoin de l'avancement de la maladie.

Aux interactions entre la tumeur et son environnement déjà présentes au cours de la phase de croissance avasculaire s'ajoutent donc, au cours de la phase vasculaire, les interactions entre la tumeur et son réseau vasculaire. Ainsi, les phénomènes de collapsus et régression vasculaires sont l'une des conséquences de la croissance tumorale sur le réseau vasculaire (cf Chapitre 7).

La majorité des modèles de croissance vasculaire résultent du couplage d'un modèle d'angiogenèse et d'un modèle de croissance tumorale avasculaire. Ce couplage s'effectue par l'intermédiaire de la concentration en oxygène et/ou nutriments fournis par le réseau vasculaire, et consommés

par les cellules tumorales, ainsi que par la concentration en facteurs pro- et anti-angiogéniques sécrétés par la tumeur pour induire le développement du réseau vasculaire. Le sous-modèle d'angiogenèse considéré peut être plus ou moins complexe. Il peut, par exemple, simplement consister en un réseau vasculaire fixe. Plus généralement, le couplage peut s'effectuer entre deux modèles continus, deux modèles discrets, ou plus rarement entre un modèle continu et un modèle discret. Dans tous les cas, l'objectif principal est l'étude de la transition entre la phase de croissance avasculaire et la phase vasculaire.

9.1 Modèles continus

Les modèles continus de croissance tumorale vasculaire sont basés sur des équations aux dérivées partielles décrivant l'évolution des densités de cellules endothéliales constituant la paroi des nouveaux vaisseaux sanguins, de cellules tumorales, et de substances chimiques telles que l'oxygène, les nutriments et les facteurs de croissance et/ou d'inhibition.

Byrne et Chaplain [40] ont ainsi proposé un modèle de croissance vasculaire d'une tumeur non-nécrotique afin d'étudier le rôle des nutriments et des substances inhibitrices de croissance arrivant jusqu'à la tumeur par des mécanismes de diffusion et de transfert sang-tissu via le réseau vasculaire intratumoral. Ce modèle est basé sur une équation différentielle ordinaire régissant l'évolution du rayon de la tumeur supposée sphérique, et des équations de conservation de masse régissant l'évolution des concentrations en nutriments et facteur inhibiteur de croissance. Le réseau vasculaire intratumoral est modélisé de manière très phénoménologique puisque son action se résume à un terme de transfert de l'oxygène du plasma au tissu tumoral, terme intervenant dans l'équation sur la concentration en oxygène.

Le phénomène de collapsus vasculaire et ses effets sur la croissance tumorale ont été étudiés par de nombreux modèles, par exemple [41, 129, 130].

Orme et Chaplain [41] ont développé un modèle comprenant deux types d'entités : les cellules tumorales et les vaisseaux sanguins. Ils ont supposé que les cellules tumorales étaient capables de diffuser et qu'elles étaient attirées par le gradient de vaisseaux sanguins. Ils ont modélisé l'effet

de la pression intratumorale responsable du collapsus vasculaire par l'intermédiaire d'un terme non-linéaire de mort des vaisseaux sanguins, terme dépendant de la densité de cellules tumorales.

Plus récemment, Breward et al. [129] ont intégré la formation des vaisseaux sanguins au modèle continu de croissance tumorale avasculaire biphasique qu'ils avaient précédemment développé [97]. Ainsi, les vaisseaux sanguins sont considérés comme la troisième phase du modèle, les deux premières étant constituées des cellules tumorales et du matériel extracellulaire (matrice extracellulaire, ...). Ce modèle à une dimension spatiale intègre la pression exercée par la tumeur sur le réseau vasculaire intratumoral, cette pression pouvant induire un collapsus des vaisseaux si elle dépasse un certain seuil.

Stamper et al. [130] ont proposé un modèle de croissance tumorale dont la vascularisation est engendrée à la fois par l'angiogenèse et par la vasculogenèse. Le rôle de la vasculogenèse dans la croissance tumorale semble encore discuté, mais les cellules progénitrices endothéliales de la moelle épinière pourraient être mobilisées par le VEGF, passer dans la circulation sanguine, et, une fois dans le réseau vasculaire tumoral, se différencier en cellules endothéliales et ainsi contribuer à la formation de ce réseau vasculaire. Ce modèle est basé sur des équations différentielles ordinaires décrivant l'évolution temporelle du volume tumoral, de la concentration en facteur pro-angiogénique (TAF) dans la tumeur, le sang et la moelle épinière, et du taux de cellules progénitrices endothéliales dans ces trois compartiments. L'évolution temporelle du volume de vaisseaux angiogéniques est également régie par une équation différentielle ordinaire intégrant la prolifération des cellules endothéliales (en fonction de la concentration en TAF), leur apoptose, et l'occlusion des vaisseaux en fonction du rapport du volume tumoral sur le volume total de vaisseaux. Ils ont ainsi pu étudier les effets combinés de l'angiogenèse et de la vasculogenèse sur la croissance tumorale.

Hogea et al. [131] ont proposé un modèle basé sur celui développé par de Angelis et Preziosi [132]. Ce modèle prend en compte les cellules tumorales, mortes et vivantes, les cellules endothéliales des vaisseaux sanguins, un nutriment "générique" et un facteur pro-angiogénique. L'évolution des densités de cellules et des concentrations en molécules est gouvernée par des équations de réaction-advection-diffusion. Ce modèle permet d'étudier la transition entre les phases

avasculaire et vasculaire, et de reproduire la composition de la tumeur observée expérimentalement, à savoir un cœur nécrotique entouré d'un anneau de cellules proliférantes.

Certains modèles continus de croissance tumorale ont également été couplés à des modèles discrets d'angiogenèse. L'objectif général de ces couplages est d'étudier l'effet de la croissance tumorale sur les caractéristiques du réseau vasculaire.

Ainsi, Zheng et al. [133] ont couplé un modèle de croissance tumorale inspiré des modèles développés par Greenspan [93], et Byrne et Chaplain [40, 76] (cf section 8.1) avec un modèle d'angiogenèse similaire à celui développé par Anderson et Chaplain [43] (cf sections 6.1 et 6.2), en supposant par exemple, de plus, que le mouvement de convection des cellules endothéliales était lié à celui des cellules saines et tumorales, et que les cellules endothéliales pouvaient être soumises à un processus de dégradation naturelle ainsi qu'au processus de mitose. Le couplage entre les deux modèles s'effectue via la concentration en facteur pro-angiogénique.

Macklin et al. [134] ont également couplé un modèle continu de croissance tumorale à un modèle discret d'angiogenèse. Leur modèle de croissance tumorale est basé sur l'un de leurs précédents modèles [101]. Il prend en compte l'adhésion cellule-cellule, cellule-matrice extracellulaire, la dégradation de la matrice extracellulaire, ainsi que les phénomènes de migration, prolifération, apoptose et nécrose des cellules tumorales. Leur modèle d'angiogenèse, quant à lui, est basé sur le modèle développé par McDougall et al. [135]. Il intègre la circulation sanguine à travers le réseau vasculaire, ainsi que le remodelage vasculaire induit par les forces de cisaillement et les stress mécaniques générés par la tumeur croissante. Ces deux modèles sont couplés via la concentration en un facteur de croissance émis par les cellules tumorales, et en nutriments diffusant à travers la paroi des néo-vaisseaux. Ces deux modèles sont également reliés par la densité de la matrice extracellulaire, celle-ci étant dégradée par les cellules tumorales sécrétant des enzymes de dégradation, et influençant ainsi le mouvement haptotactique des cellules endothéliales. Ce modèle complexe permet de mettre en évidence l'effet des forces mécaniques créées par la masse tumorale croissante sur le développement du réseau vasculaire, et donc sur la circulation sanguine.

9.2 Modèles discrets

Comme nous l'avons vu précédemment, les modèles discrets permettent de prendre en compte les propriétés individuelles des cellules considérées, et de décrire les interactions de ces cellules avec leur environnement de manière plus mécanistique qu'avec un modèle continu. La plupart des modèles discrets de croissance vasculaire sont des automates cellulaires (cf section 8.2).

Arakelyan et al. [136, 137] ont développé un modèle algorithmique de croissance tumorale vasculaire intégrant les mécanismes de prolifération et mort des cellules tumorales, de formation et régression de vaisseaux sanguins immatures, ainsi que la formation et la déstabilisation de vaisseaux matures. Ce modèle intègre les cellules endothéliales, les péricytes, le VEGF, le PDGF et les angiopoïétines -1 et -2. Les sous-modèles définissant les règles d'évolution du réseau vasculaire et de la croissance tumorale sont couplés par l'intermédiaire des concentrations en facteurs angiogéniques (VEGF, PDGF, angiopoïétines). Ce modèle intègre les échelles tissulaire, cellulaire, et moléculaire. Arakelyan et al. [136, 137] ont ainsi étudié l'effet du processus de maturation sur la dynamique de la croissance tumorale.

Les automates cellulaires ont également permis d'étudier les propriétés physiques du réseau vasculaire.

Alarcón et al. [50, 138], Bartha et Rieger [54], Lee et al. [55], Welter et al. [56] ont utilisé des automates cellulaires modélisant à la fois la croissance tumorale et le développement du réseau vasculaire, afin de tenter d'expliquer le caractère anormal du réseau vasculaire tumoral généralement observé expérimentalement.

Le modèle développé par Alarcón et al. [50] intègre le flux sanguin afin d'étudier l'effet de son hétérogénéité sur le développement tumoral. Basé sur un réseau géométrique préexistant de vaisseaux sanguins, ce modèle considère l'évolution du rayon de la lumière de chaque vaisseau sanguin en fonction des propriétés rhéologiques du sang et de l'hématocrite. Chaque site du réseau est caractérisé par son occupation (vacant ou occupé par un cellule saine, tumorale ou par un vaisseau), le caractère proliférant ou quiescent de la cellule qui l'occupe, et la concentration locale en oxygène, cette dernière étant évaluée par une approche continue. La prolifération et la mort de

cellules saines et tumorales, et la quiescence de cellules tumorales dépendent de la concentration locale en oxygène. Ce modèle a permis de mettre en évidence l'effet d'inhomogénéités de la distribution en oxygène sur le caractère invasif des cellules tumorales. Cependant, l'évolution de la structure du réseau vasculaire n'est pas prise en compte dans ce modèle, les vaisseaux sont donc statiques. Ce modèle a, par la suite, été complexifié [138] afin d'inclure les interactions entre les échelles tissulaire, cellulaire et intracellulaire.

Les automates cellulaires définis par Bartha et Rieger [54], Lee et al. [55] et Welter et al. [56] prennent en compte la croissance tumorale, la néo-vascularisation, la cooption des vaisseaux sanguins, leur collapsus, et la mort cellulaire. Chaque site de l'automate peut être occupé par une cellule tumorale, une cellule endothéliale, ou être vacant. Un segment de vaisseau sanguin (représenté par une cellule endothéliale) présent sur un site du réseau de l'automate est alors caractérisé par son rayon, le flux sanguin qui le traverse, et la valeur des forces de cisaillement s'exerçant sur sa paroi. Ces modèles intègrent également un facteur de croissance (tel que le VEGF) sécrété par les cellules tumorales, et l'oxygène, apporté par les néo-vaisseaux, et dont la concentration dépend de la circulation sanguine de chaque vaisseau. La prolifération et la mort des cellules tumorales dépendent de la concentration en oxygène. Les vaisseaux peuvent se dilater lorsque la concentration en facteur de croissance est suffisamment élevée. En revanche, lorsque les forces de cisaillement exercées sur un vaisseau sont trop faibles, ce dernier collapse; la circulation sanguine est alors interrompue dans ce vaisseau qui régresse.

Les modèles de croissance tumorale vasculaire se sont principalement développés depuis la fin du 20ème siècle. Basés sur des modèles de croissance tumorale avasculaire, la prise en compte de la vascularisation est plus ou moins phénoménologique en fonction des objectifs du modèle. Les modèles continus permettent principalement d'étudier la transition entre la phase avasculaire et la phase vasculaire, alors que les modèles discrets sont plus axés sur l'étude des interactions entre le réseau vasculaire et la tumeur.

La couplage de modèles d'angiogenèse à des modèles de croissance tumorale peut, de plus, permettre de simuler l'effet de thérapies anti-cancéreuses, notamment celui de thérapies anti-

angiogéniques sur le développement du réseau vasculaire, et donc sur la croissance tumorale, et d'analyser ainsi l'efficacité de ces thérapies.

Chapitre 10

Thérapies anti-cancéreuses

La présence de la vascularisation tumorale reflète l'avancement de la maladie, et indique une phase de développement dynamique de la tumeur. Cependant, le réseau vasculaire est également, via la circulation sanguine, le principal vecteur de substances anti-cancéreuses.

Il existe à ce jour diverses thérapies anti-cancéreuses. Le choix d'une thérapie dépend de nombreux facteurs, par exemple du type de tumeur, de sa taille, de sa localisation, du degré d'évolution de la maladie.

Le traitement le plus ancien est la chirurgie, mais elle n'est pas toujours possible, même au stade précoce de développement de la maladie. Un autre mode d'action vise à induire l'apoptose des cellules cancéreuses. C'est le cas de la radiothérapie et de la chimiothérapie. La radiothérapie, apparue au début du 20ème siècle, est un traitement local basé sur l'irradiation de la tumeur. Dans les pays industrialisés, chirurgie et radiothérapie sont les traitements les plus utilisés contre le cancer. La chimiothérapie s'est développée dans la deuxième moitié du 20ème siècle. Cette thérapie est basée sur l'administration de substances chimiques, dites cytotoxiques, induisant l'apoptose des cellules en prolifération, qu'elles soient cancéreuses ou non. Plus récemment, l'hormonothérapie et l'immunothérapie se sont développées. L'hormonothérapie est utilisée dans le cas de tumeurs dont la croissance nécessite la présence d'hormone (par exemple dans le cas de tumeurs du sein). La thérapie consiste alors à réduire ce taux d'hormones ou à empêcher

la tumeur d'utiliser ces hormones. L'immunothérapie consiste, quant à elle, à administrer des substances stimulant le système immunitaire du patient. Ces différentes thérapies peuvent être combinées afin d'augmenter l'efficacité anti-cancéreuse.

Cependant, malgré leur efficacité, ces thérapies induisent, la plupart du temps, des effets secondaires indésirables, et parfois irréversibles.

Depuis le début des années 1980, suite aux études de J. Folkmann et à la découverte du processus angiogénique, de nombreuses molécules anti-angiogéniques ont vu le jour, avec plus ou moins de succès sur l'inhibition de la croissance tumorale. L'idée sous-jacente est de bloquer le développement du réseau vasculaire angiogénique afin de priver la tumeur de l'approvisionnement en oxygène et nutriments. L'angiogenèse intervenant généralement peu dans l'organisme excepté lors de la survenue de cancer, une inhibition de l'angiogenèse promet donc, a priori, d'engendrer beaucoup moins d'effets secondaires que les traitements cytotoxiques, et d'être ainsi mieux tolérée par les patients.

Les stratégies anti-angiogéniques consistent principalement à détruire directement le réseau vasculaire, ou neutraliser les substances pro-angiogéniques, ou enfin inactiver les voies d'activation des récepteurs de substances pro-angiogéniques.

Le VEGF étant la substance pro-angiogénique la plus étudiée, son inhibition a également naturellement fait l'objet de nombreuses recherches. Ainsi, la majorité des molécules anti-angiogéniques développées ces dernières années sont des molécules anti-VEGF. Deux principaux modes d'action se distinguent : la neutralisation des molécules de VEGF libre sécrétées par la tumeur, afin d'empêcher leur liaison aux récepteurs membranaires, ou l'occupation des sites de liaison du VEGF à ces récepteurs membranaires. Dans les deux cas, les cellules endothéliales ne sont plus stimulées par le VEGF, et l'angiogenèse est alors fortement inhibée.

Ainsi, les anticorps monoclonaux anti-VEGF font partie des inhibiteurs d'angiogenèse capables de neutraliser le VEGF (cf Figure 10.1) . L'un des avantages des anticorps monoclonaux est qu'ils possèdent une demi-vie d'élimination très longue comparée à celle du VEGF (une ou deux dizaines de jours versus quelques minutes) [139]. Le bevacizumab (Avastin[®], Roche), an-

ticorps monoclonal humanisé anti-VEGF, fut le premier inhibiteur d'angiogenèse à obtenir une autorisation de mise sur le marché (AMM). Il est utilisé en traitement de première ligne chez des patients atteints de cancer colorectal métastatique, par voie intra-veineuse, en association avec une chimiothérapie. De plus, des résultats prometteurs ont été obtenus concernant son efficacité anti-tumorale en monothérapie [140].

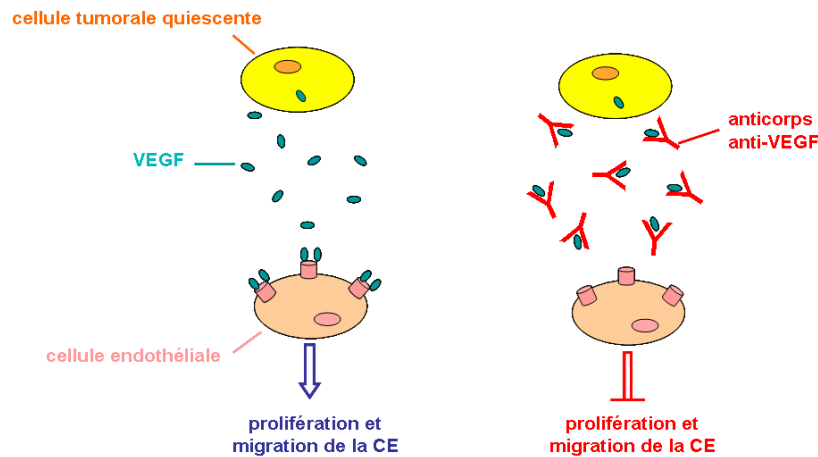


FIGURE 10.1 – Représentation schématique du mode d'action des anticorps anti-VEGF. Les anticorps anti-VEGF sont capables de neutraliser les molécules de VEGF, empêchant ainsi l'activation des cellules endothéliales.

Les substances anti-angiogéniques endogènes, produites par les cellules tumorales, ont également fait l'objet de nombreuses études. Ainsi, l'endostatine, l'un des premiers anti-angiogéniques découverts [141], a montré un puissant pouvoir inhibiteur de prolifération sur les cellules endothéliales [141, 142, 143, 144, 145]. L'endostatine est un anti-VEGF agissant par occupation des sites des récepteurs du VEGF (cf Figure 10.2). Les traitements développés ces dernières années consistent principalement en des injections systémiques quotidiennes d'endostatine recombinée. Cependant, des études ont montré qu'une perfusion continue serait plus efficace que des injections en bolus [146, 147]. Ainsi, les thérapies géniques permettent d'exprimer la protéine active d'endostatine directement dans le tissu tumoral et en continu. Ce type de thérapie a montré une activité anti-tumorale sur plusieurs types de tumeurs [148] et plusieurs essais cliniques sont actuellement en cours (cf [149]). Ainsi, un essai clinique est actuellement en cours pour étudier

l'efficacité d'une thérapie génique basé sur des injections intra-tumorales d'adénovirus codant pour le gène sauvage humain de l'endostatine [150].

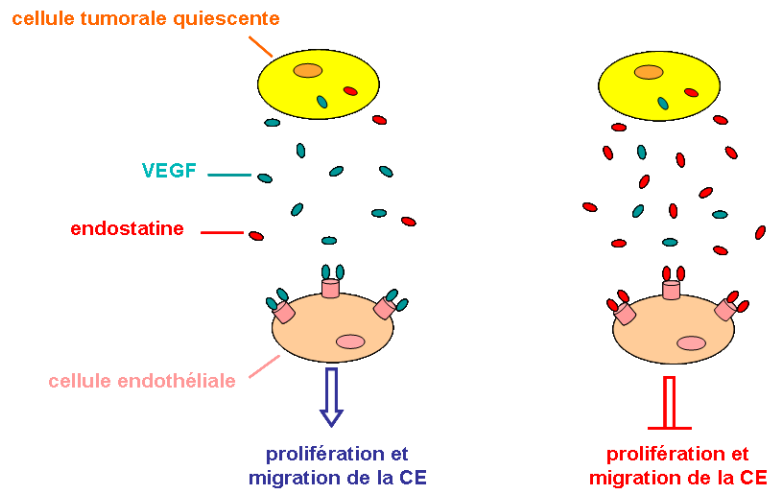


FIGURE 10.2 – Représentation schématique du mode d'action de l'endostatine. Les molécules d'endostatine se lient aux récepteurs Flk-1 à la place des molécules de VEGF, inhibant ainsi la prolifération et la migration des cellules endothéliales.

Chapitre 11

Modèles de thérapies anti-angiogéniques

Comparée à la modélisation de la croissance tumorale, la modélisation de thérapies anti-cancéreuses via le réseau vasculaire est assez récente. Ce retard se justifie par la découverte plutôt récente (fin du 20ème siècle) des molécules anti-angiogéniques.

La croissance tumorale dépendant de l'angiogenèse, le recours à des modèles couplant angiogenèse et croissance tumorale a permis d'étudier l'effet des thérapies anti-angiogéniques sur la dynamique de croissance tumorale, et également de modéliser l'action de combinaisons de thérapies anti-cancéreuses.

11.1 Modèles continus

Levine et al. [151] ont développé un modèle continu d'angiogenèse permettant d'étudier l'effet de l'angiostatine sur l'angiogenèse, supposant que l'angiostatine pouvait être elle-même un inhibiteur de protéases, ou que les cellules endothéliales pouvaient, en réponse à la liaison de l'angiostatine sur leurs récepteurs, sécréter des inhibiteurs de protéases. Ils ont donc considéré

deux mécanismes induisant une inhibition de la migration des cellules endothéliales. Ce modèle complexe, continu, basé sur leurs précédents travaux [151, 152], intègre les cellules endothéliales, un facteur pro-angiogénique, les protéases, la fibronectine et l'angiostatine. Les cinétiques chimiques sont établies à partir d'équations de Michaelis-Menten, et le mouvement de migration des cellules endothéliales, induit par les protéases, est basé sur un processus de marche aléatoire renforcée. Dans ce modèle, Levine et al. ont également distingué l'évolution du système dans la paroi du vaisseau sanguin (en une dimension d'espace), de son évolution dans la matrice extracellulaire (en deux dimensions d'espace). Leurs résultats numériques, en accord avec les résultats d'expérimentations biologiques ont permis d'étudier l'effet d'une augmentation de la concentration en inhibiteur de protéases sur l'évolution de la densité de cellules endothéliales.

Kohandel et al. [153] ont élaboré un modèle décrivant les interactions entre les cellules tumorales et endothéliales, et permettant d'étudier les effets des thérapies cytotoxiques (chimiothérapie, radiothérapie) et anti-angiogéniques, seules ou combinées. Pour cette étude, ils ont supposé que les thérapies anti-angiogéniques permettaient de normaliser les vaisseaux sanguins afin d'accroître le flux sanguin dans la tumeur, et donc d'augmenter l'efficacité des thérapies cytotoxiques [154]. Ce modèle est basé sur des équations de réaction-diffusion décrivant l'évolution spatio-temporelle des densités de cellules tumorales et endothéliales, ainsi que celle de la concentration en nutriments. Ce modèle n'intègre pas de substance anti-angiogénique, mais l'action des thérapies est modélisée par un terme de mort cellulaire dépendant du profil temporel de la thérapie; ainsi la thérapie cytotoxique induit la mort des cellules tumorales, la thérapie anti-angiogénique celle des cellules endothéliales. Kohandel et al. [153] ont ainsi pu analyser l'effet sur la croissance tumorale de différents schémas thérapeutiques de combinaison entre radiothérapie et thérapie anti-angiogénique en vue de leur optimisation.

Le modèle continu développé par Anderson et Chaplain [43] (cf section 6.1) et sa version discrète [43] (cf section 6.2) ont également été utilisés pour simuler l'action de substances anti-angiogéniques sur le développement du réseau vasculaire.

Ainsi, le modèle développé par Tee et al. [155] intègre les cellules endothéliales, un facteur de croissance, la fibronectine, ainsi qu'une substance anti-angiogénique produite de manière endogène et exogène, telle que l'endostatine ou l'angiostatine, et capable d'inhiber la prolifération des

cellules endothéliales. La modélisation de cet effet se fait en multipliant le taux de prolifération des cellules endothéliales par une fonction d'inhibition dépendant de la concentration en endostatine. Tee et al. [155] ont ainsi pu comparer, à la fois par une approche continue et par une approche discrète, l'effet sur la prolifération des cellules endothéliales, et donc sur le développement global du réseau vasculaire, de perfusions constantes et d'injections en bolus d'endostatine.

Plank et al. [44, 156] ont également élaboré un modèle continu-discret d'angiogenèse basé sur le modèle développé par Anderson et Chaplain [43]. Ce modèle intègre les angiopoïétines -1 et -2, connues pour leur action respectivement anti- et pro-angiogénique. Le mouvement des cellules endothéliales y est régi par un processus de marche aléatoire renforcée, et les concentrations en angiopoïétines et en VEGF sont régies par des équations de réaction-diffusion. Plank et al. [44, 156] ont ainsi pu étudier l'effet d'une inhibition et/ou d'une surproduction de ces substances sur le développement du réseau vasculaire.

11.2 Modèles discrets

Arakelyan et al. [136] ont utilisé un algorithme de croissance vasculaire intégrant, entre autre, le VEGF et les angiopoïétines -1 et -2 (cf section 9.2) pour étudier l'effet sur la croissance tumorale de deux thérapies anti-angiogéniques : l'une consistant à prévenir la formation des néo-vaisseaux en inhibant la production de VEGF, l'autre à prévenir la maturation des néo-vaisseaux en inhibant la production d'angiopoïétine-1. Arakelyan et al. [136] ont ainsi démontré que la combinaison de ces deux thérapies réduisait plus fortement la croissance tumorale que chaque thérapie administrée seule.

L'introduction du flux sanguin dans les modèles de croissance tumorale vasculaire a permis de modéliser de manière plus mécanistique la délivrance de médicaments anti-cancéreux à la tumeur [52, 135]. McDougall et al. [135] ont ainsi simulé l'injection d'une substance médicamenteuse dans le vaisseau sanguin parent, et ont suivi son parcours dans le réseau vasculaire, la substance

étant transportée par le flux sanguin. Ils ont ainsi pu étudier l'influence des caractéristiques du réseau vasculaire sur le transport de telles substances.

De nombreux modèles mathématiques ont été développés ces dernières années afin de représenter l'angiogenèse tumorale et ses conséquences sur la croissance tumorale. Différentes approches ont été utilisées : l'approche continue, l'approche discrète ou un couplage des deux (modèles hybrides). L'approche continue permet de décrire l'évolution de populations cellulaires et moléculaires, alors que l'approche discrète considère chaque entité individuellement en tenant compte des interactions avec son environnement. Ainsi, une approche discrète permet de représenter la structure du réseau vasculaire, et les interactions entre la cellule, endothéliale ou tumorale, et le tissu environnant. Les modèles continus présentent l'avantage d'être plus intuitifs. Ils permettent de retranscrire de manière plus précise les principes physiques sous-jacents, et, à complexité biologique égale, contiennent souvent moins de paramètres que les modèles discrets. Ainsi, les deux approches présentent des avantages et des inconvénients. Le choix d'une approche plutôt qu'une autre se fait en fonction des objectifs du modèle.

Ainsi, l'utilisation de ces deux approches pour analyser l'angiogenèse et la croissance tumorale a permis d'étudier différents mécanismes, ou les mêmes mécanismes par deux approches différentes afin d'avoir une idée plus précise du phénomène considéré.

Cependant, si des modèles couplant angiogenèse et croissance tumorale existent, ils n'intègrent qu'un ou deux facteurs angiogéniques, et leur application au domaine thérapeutique n'est pas toujours étudiée. De plus, le modèle de croissance tumorale associé est, la plupart du temps, assez simple, et n'intègre pas l'évolution des cellules dans le cycle cellulaire.

Quatrième partie

Nouveau modèle d'angiogenèse

L'objectif principal de ce travail est d'élaborer un modèle d'angiogenèse capable de reproduire, de façon réaliste, les principaux mécanismes en jeu dans le processus angiogénique, ceci afin d'étudier l'impact de tels mécanismes sur la croissance tumorale. De plus, ce modèle devra permettre de simuler l'action de traitements anti-angiogéniques afin d'étudier *in silico* leurs effets sur le développement du réseau vasculaire angiogénique et donc sur la croissance tumorale. Ce modèle devra toutefois rester suffisamment simple pour éviter que son utilisation et son interprétation ne deviennent trop difficiles.

Chapitre 12

Hypothèses biologiques et modèle discursif

Comme nous l'avons vu précédemment, l'angiogenèse est un phénomène d'une grande complexité. L'élaboration de notre modèle repose donc sur l'établissement d'hypothèses biologiques simplifiant certains mécanismes secondaires impliqués dans le processus global d'angiogenèse.

Ce chapitre regroupe deux étapes de la méthodologie de la modélisation en physiopathologie (cf Chapitre 2), l'élaboration des hypothèses biologiques et le modèle discursif. Méthodologiquement, les hypothèses biologiques ont été posées avant l'élaboration du modèle discursif. Cependant, afin d'éviter toute redondance, le modèle discursif servira ici de support à la présentation des hypothèses biologiques.

La Figure 12.1, également appelée schéma discursif, représente schématiquement les phénomènes que nous avons pris en compte dans notre modèle ainsi que les interactions spatio-temporelles entre ces différents phénomènes. Ce schéma a été élaboré en collaboration avec des biologistes et des médecins afin de respecter la cohérence du modèle avec la réalité.

Notre modèle considère deux principaux types de cellules : les cellules endothéliales, et les

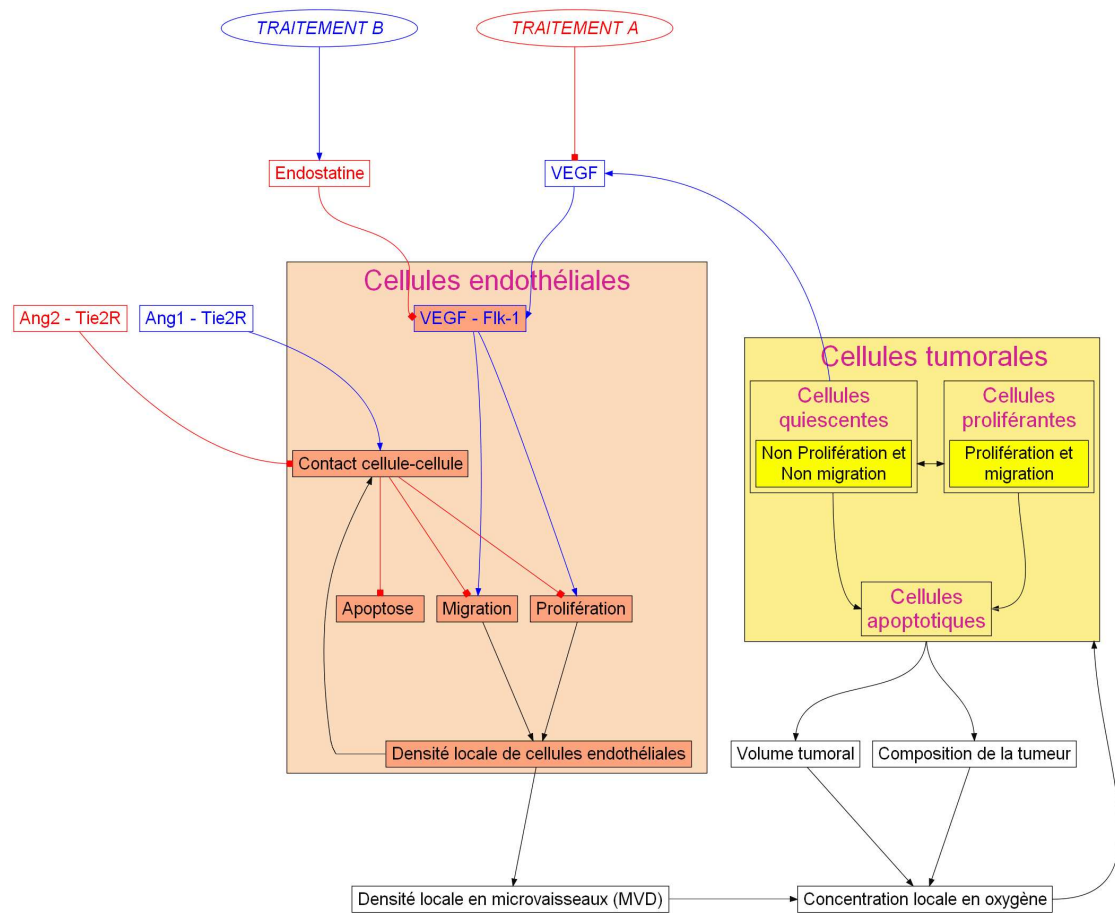


FIGURE 12.1 – Schéma discursif : résumé des entités et interactions biologiques prises en compte dans le modèle. Les actions activatrices sont représentées par des flèches bleues, les actions inhibitrices par des flèches rouges. Le modèle distingue deux types de cellules : les cellules endothéliales (stables et instables), et les cellules tumorales (proliférantes, quiescentes et apoptotiques). Les cellules quiescentes sécrètent du VEGF qui, par diffusion, stimule la prolifération et la migration des cellules endothéliales en direction de la tumeur. Un phénomène de compétition pour le récepteur Tie2 entre les angiopoïétines -1 (Ang1) et -2 (Ang2) régule le contact entre cellules endothéliales, et donc la maturation des vaisseaux concernés. Les néo-vaisseaux fournissent alors, par l'intermédiaire du flux sanguin, un apport en oxygène à la tumeur. Ce modèle intègre également deux sous-modèles de traitements anti-angiogéniques (notés "A" et "B").

cellules tumorales. Comme nous l'avons vu dans le Chapitre 5, les cellules endothéliales sont des cellules constituant la paroi des vaisseaux sanguins. Nous avons supposé que ces cellules pouvaient être dans deux états, immature (ou instable) et mature (ou stable), les cellules immatures étant soumises au processus angiogénique, et constituant la paroi de vaisseaux immatures, i.e.

non fonctionnels, les cellules matures constituant, quant à elles, la paroi des vaisseaux matures, fonctionnels, et donc potentielles sources d'oxygène pour la tumeur.

Le second type de cellules considéré par notre modèle sont les cellules tumorales. Nous avons supposé que ces cellules pouvaient se trouver dans trois états différents : proliférant, quiescent, et l'état de mort cellulaire. Dans la suite, nous désignerons par "apoptose" tout type de mort cellulaire (nécrose, apoptose, ...).

12.1 **Modèle de croissance tumorale**

Le modèle de croissance tumorale est un modèle structuré en âge. Il se base sur un modèle précédemment développé par Bresch et al. [84]. Les cellules tumorales sont supposées pouvoir se trouver dans trois états différents : proliférant, quiescent, apoptotique.

Ce modèle est un modèle multiphasique (cf Chapitre 8) ; chaque population de cellules tumorales (proliférantes, quiescentes, apoptotiques) est donc considérée comme un fluide dont le mouvement est régi par une loi de Darcy.

Les cellules proliférantes sont supposées évoluer dans le cycle cellulaire. Dans un souci de simplification, le cycle cellulaire est, dans notre modèle, supposé constitué de deux phases : l'une correspondant à la phase biologique G1, l'autre regroupant les phases biologiques S, G2, M (cf Chapitre 7). A la fin de chaque cycle cellulaire, les cellules proliférantes se divisent et donnent chacune naissance à deux cellules filles. Cependant, si les conditions environnementales deviennent défavorables, i.e. si la quantité d'oxygène disponible dans l'environnement des cellules tumorales proliférantes est insuffisante, ou s'il y a trop de cellules à un endroit donné, les cellules tumorales sortent du cycle cellulaire, arrêtent donc de se diviser, et deviennent quiescentes. Ces cellules, hypoxiques, sont alors supposées sécréter du VEGF, substance pro-angiogénique capable, par diffusion dans le milieu environnant, de stimuler les cellules endothéliales des vaisseaux sanguins

préexistants. Nous avons considéré une forme générique du VEGF, ce dernier possédant plusieurs isoformes différentes (cf Chapitre 5). Si les conditions environnementales redeviennent favorables, i.e. si la quantité d'oxygène ou la place disponibles redeviennent suffisantes, les cellules quiescentes peuvent réintégrer le cycle cellulaire et se diviser à nouveau. Cependant, si la quantité d'oxygène disponible devient très insuffisante, les cellules tumorales meurent.

Ce modèle intègre donc deux niveaux de complexité : le niveau cellulaire avec la régulation du cycle cellulaire, et le niveau tissulaire avec la croissance de la masse tumorale. Le lien entre ces deux niveaux se fait par l'intermédiaire de l'oxygène, apporté par les néo-vaisseaux sanguins, et régulant le cycle cellulaire et donc la croissance tumorale.

Afin d'éviter de trop complexifier ce modèle, nous ne tenons pas compte des aspects mécaniques de la croissance tumorale.

12.2 **Modèle d'angiogenèse**

Le modèle d'angiogenèse se base sur l'évolution spatio-temporelle de la densité de cellules endothéliales. Ce modèle distingue les cellules endothéliales stables, des cellules endothéliales instables. Les cellules endothéliales stables sont les cellules constituant la paroi des néo-vaisseaux matures, et donc fonctionnels, alors que les cellules endothéliales instables constituent la paroi des néo-vaisseaux immatures. Seules les cellules endothéliales instables sont sensibles aux stimuli angiogéniques.

Les cellules endothéliales instables sont naturellement soumises à un processus de mouvement aléatoire, ou mouvement brownien, s'apparentant à la diffusion de molécules chimiques, mouvement physique par lequel la matière est transportée de régions à forte concentration vers les régions à faible concentration. Par la suite, nous parlerons donc de mouvement de diffusion

de cellules pour faire référence à ce mouvement aléatoire.

Les cellules endothéliales instables sont, de plus, stimulées par les molécules de VEGF. En effet, les molécules de VEGF, sécrétées par les cellules tumorales quiescentes, diffusent à travers le tissu environnant, et se lient à des récepteurs spécifiques situés sur la membrane des cellules endothéliales. La liaison des molécules de VEGF aux récepteurs Flk-1 engendre la prolifération et la migration des cellules endothéliales en direction du gradient de concentration en VEGF (chemotaxie), i.e. en direction des cellules tumorales quiescentes. La liaison des molécules de VEGF aux récepteurs Flt-1 n'engendrant que la prolifération des cellules endothéliales, notre modèle ne considère que la liaison du VEGF aux récepteurs Flk-1. De plus, la liaison du VEGF au récepteur Flk-1 est régulée par l'endostatine, antagoniste compétitif du VEGF pour le récepteur Flk-1, également sécrété par les cellules tumorales. Si la stimulation des cellules endothéliales instables par le VEGF est suffisante, ces cellules prolifèrent et migrent en direction de la tumeur, sinon, si la stimulation est insuffisante, elles meurent.

Afin d'éviter de trop complexifier notre modèle, nous ne tenons pas compte des interactions mécaniques entre les cellules endothéliales et la matrice extracellulaire. Les cellules endothéliales instables suffisamment stimulées par le VEGF s'organisent alors en une structure en forme de tube pour former les néo-vaisseaux.

Dans notre modèle, la maturation des néo-vaisseaux se produit par l'intermédiaire du contact entre cellules endothéliales voisines. Ce contact est contrôlé par l'action conjuguée des angiopoïétines -1 et -2. Ces dernières sont des antagonistes compétitifs pour le récepteur spécifique Tie2 situé sur la membrane des cellules endothéliales. L'angiopoïétine-1 étant connue pour réguler la perméabilité des vaisseaux sanguins (cf Chapitre 5), nous avons supposé que l'angiopoïétine-1 favorisait le contact entre cellules endothéliales alors que l'angiopoïétine-2 l'inhibait. Dans notre modèle, lorsque le contact entre cellules endothéliales instables est suffisant, i.e. lorsque l'effet de l'angiopoïétine-1 est suffisant, les processus de prolifération, migration et apoptose sont interrompus, et les cellules endothéliales instables deviennent alors stables. Lorsque la densité locale en cellules endothéliales stables est suffisante, les néo-vaisseaux dont elles constituent la paroi sont supposés stabilisés et donc fonctionnels.

Les néo-vaisseaux se développent ainsi jusqu'au voisinage de la tumeur et lui fournissent, par l'intermédiaire du flux sanguin, l'oxygène nécessaire à la poursuite de son développement.

12.3 Modèles de traitements anti-angiogéniques

L'objectif de ce modèle est d'étudier l'action de traitements anti-angiogéniques sur la croissance tumorale. Nous nous sommes donc intéressés à deux d'entre eux. Ces traitements sont représentatifs de l'ensemble des traitements anti-angiogéniques existants à ce jour puisqu'ils ciblent directement le VEGF.

Le premier traitement considéré (par la suite également nommé "traitement A") est basé sur des administrations d'anticorps anti-VEGF. Afin de modéliser l'action d'un tel traitement, nous nous sommes référés au mode d'action du bevacizumab (Avastin[®], Roche), anticorps monoclonal anti-VEGF utilisé dans le traitement du cancer colorectal (cf Chapitre 10). Nous avons ainsi considéré une entité de type anticorps (que nous appellerons par la suite "anticorps" pour simplifier), capable de se lier aux molécules de VEGF libre, empêchant ce dernier de se lier aux récepteurs Flk-1, et donc de stimuler les cellules endothéliales.

Les traitements anti-VEGF de ce type sont généralement administrés par voie intraveineuse, depuis laquelle les anticorps sont distribués dans les tissus [139]. Nous avons donc supposé que des anticorps anti-VEGF apparaissaient dans le tissu environnant la tumeur, de manière homogène (compte-tenu de la diffusion depuis les vaisseaux autres que ceux considérés), en fonction du schéma thérapeutique. Nous avons également supposé que la liaison anticorps-VEGF était irréversible. Ainsi, les anticorps considérés se liant aux molécules de VEGF, engendrent une diminution plus ou moins importante du nombre de molécules de VEGF libre, pouvant induire l'apoptose des cellules endothéliales instables par manque de stimulation.

Le second traitement considéré (par la suite également nommé "traitement B") est, quant à lui, basé sur des administrations d'endostatine, inhibiteur compétitif du VEGF pour le récepteur Flk-1. En effet, nous nous sommes basés sur une thérapie génique consistant à favoriser la production d'endostatine. L'endostatine étant un inhibiteur compétitif du VEGF, ses molécules sont capables de se lier aux récepteurs Flk-1 à la place des molécules de VEGF, et empêchent ainsi la stimulation des cellules endothéliales par le VEGF. Nous avons considéré une thérapie génique consistant à infecter les cellules tumorales (par injection intra-tumorale) par des adenovirus codant pour le gène de l'endostatine [150]. L'objectif étant d'étudier l'action de ces virus sur le processus angiogénique, nous avons modélisé un tel traitement de manière plutôt phénoménologique. Nous avons supposé que les particules virales étaient défectives, i.e. ne pouvaient se répliquer, et qu'elles induisaient une production homogène d'endostatine par les cellules tumorales. Nous avons négligé la diffusion des particules virales à l'extérieur de la tumeur, et n'avons donc pas tenu compte de l'éventuelle action des virus sur les cellules endothéliales ou sur les autres cellules saines; nous avons ainsi supposé que l'action des virus sur les cellules endothéliales était négligeable comparée à leur action sur les cellules tumorales. De plus, des injections de tels virus dans l'organisme sont susceptibles d'engendrer, dès la deuxième injection, une réponse immunitaire pouvant réduire l'efficacité du traitement. Nous avons donc choisi de ne modéliser l'action que d'une seule injection afin de pouvoir négliger la réponse immunitaire.

Finalement, le Tableau 12.1 regroupe les principales hypothèses biologiques du modèle.

Domaine	Hypothèse(s)
type de cellules	<ul style="list-style-type: none"> · cellules endothéliales (CEs) (stables et instables) · cellules tumorales (CTs) (proliférantes, quiescentes, apoptotiques) · cellules saines
substances biochimiques	<ul style="list-style-type: none"> · VEGF (forme générique) · endostatine · angiopoïétine-1 · angiopoïétine-2 · oxygène · anticorps anti-VEGF
récepteurs membranaires des CEs	<ul style="list-style-type: none"> · Flk-1 pour le VEGF et l'endostatine · Tie2 pour les angiopoïétines -1 et -2
mécanismes régissant l'évolution de la densité de CEs instables	<ul style="list-style-type: none"> · mouvement aléatoire (diffusion) · prolifération · chemotaxie · maturation
facteur de maturation des CEs instables	angiopoïétine-1
mécanismes régissant l'évolution des concentrations en substances pro- et anti-angiogéniques	<ul style="list-style-type: none"> · diffusion · production · dégradation naturelle · liaison aux récepteurs des CEs instables · atteinte d'un état d'équilibre quasi-instantanément
mécanismes régissant l'évolution de la concentration en oxygène	<ul style="list-style-type: none"> · diffusion · consommation par les CTs et les cellules saines · dégradation naturelle · atteinte d'un état d'équilibre quasi-instantanément · apport par le néo-réseau vasculaire stable
composition du cycle cellulaire	<ul style="list-style-type: none"> · 2 phases proliférantes (structurées en âge) · 1 phase quiescente · 1 phase apoptotique
régulation du cycle cellulaire	<ul style="list-style-type: none"> · degré d'hypoxie · degré de surpopulation
mécanismes régissant l'évolution des densités de CTs	<ul style="list-style-type: none"> · mouvement de transport passif · évolution dans le cycle cellulaire (dont division cellulaire, et échanges entre les différentes phases)
aspects mécaniques de la croissance tumorale	négligés
traitements anti-angiogéniques	<ul style="list-style-type: none"> · administration uniforme des anticorps anti-VEGF dans le tissu · liaison VEGF / anticorps anti-VEGF irréversible · endostatine surproduite, de manière homogène, par les CTs uniquement · réponse immunitaire négligée · une seule période de traitement

TABLE 12.1 – Principales hypothèses biologiques du modèle

Chapitre 13

Modèle mathématique

Après avoir déterminé les mécanismes qui seront intégrés au modèle, et défini les hypothèses biologiques associées, il convient de convertir le modèle discursif en modèle mathématique.

13.1 Variables du modèle

Nous avons choisi de modéliser le processus de croissance vasculaire par un approche continue. Ainsi, nous considérons l'évolution de chaque entité du modèle (cellules, substances chimiques) dans son ensemble, plutôt qu'individuellement. Les populations de cellules sont donc représentées par leur densité (nombre de cellules par unité de volume), et les substances chimiques par leur concentration tissulaire (nombre de moles par unité de volume).

Ainsi, la tumeur est décrite à l'aide de densités de cellules tumorales proliférantes, quiescentes ou apoptotiques.

Les néo-vaisseaux sont représentés par la densité de cellules endothéliales constituant leur paroi, en distinguant les cellules endothéliales stables et instables. Les cellules endothéliales instables sont soumises aux processus de prolifération et migration en réponse aux stimuli angiogéniques, alors que les cellules stables, constituant la paroi des néo-vaisseaux fonctionnels, sources d'oxy-

gène, sont statiques.

Les différentes substances biochimiques prises en compte dans le modèle, i.e. le VEGF, l'endostatine, les angiopoïétines -1 et -2, les anticorps anti-VEGF, et l'oxygène sont représentées par leur concentrations tissulaires.

Le Tableau 13.1 regroupe les différentes notations utilisées pour chaque variable du modèle mathématique.

Variable	Description
Ω	Domaine de calcul
n	Densité de cellules endothéliales instables
n_s	Densité de cellules endothéliales stables
$[VEGF]$	Concentration en VEGF
$[endos]$	Concentration en endostatine
$[Ang1]$	Concentration en angiopoïétine-1
$[Ang2]$	Concentration en angiopoïétine-2
$[Ac]$	Concentration en anticorps anti-VEGF
$[O_2]$	Concentration en oxygène
P	Densité de cellules tumorales proliférantes
Q	Densité de cellules tumorales quiescentes
A	Densité de cellules tumorales apoptotiques
M	Densité de cellules saines

TABLE 13.1 – Notations utilisées dans le modèle mathématique.

Ces densités et concentrations locales sont des fonctions de l'espace, représenté par \mathbf{x} ($\mathbf{x} \in \Omega \subset \mathbb{R}^2$ ou \mathbb{R}^3), et du temps t ($t \in \mathbb{R}^+$). Afin de simplifier les notations, nous éviterons par la suite, lorsque cela ne prête pas à confusion, d'écrire les dépendances en espace et en temps. Nous noterons donc par exemple n au lieu de $n(\mathbf{x}, t)$.

13.2 Equations du modèle

13.2.1 Densité de cellules endothéliales

Les cellules endothéliales instables sont soumises à quatre processus : diffusion, prolifération (jusqu'à une valeur maximale, N_{max} , donnée), chemotaxie en direction du gradient de concentration en VEGF, et maturation. Au point \mathbf{x} et au temps t , l'évolution de la densité de cellules endothéliales instables est ainsi donnée par l'équation :

$$\frac{\partial n}{\partial t} = \underbrace{\nabla \cdot (D_e \nabla n)}_{\text{diffusion}} + \underbrace{\alpha n \left(1 - \frac{n + n_S}{N_{max}}\right)}_{\text{prolifération}} - \underbrace{\nabla \cdot \left(\chi n \left(1 - \frac{n + n_S}{N_{max}}\right) \nabla [VEGF]\right)}_{\text{chemotaxie}} - \underbrace{\frac{\partial n_S}{\partial t}}_{\text{maturation}} \quad (13.1)$$

où D_e représente le coefficient de diffusion, α le taux de prolifération, χ le taux de chemotaxie. (cf équation (13.2) pour plus de détails sur $\frac{\partial n_S}{\partial t}$.)

Nous avons modélisé la prolifération cellulaire à l'aide d'un modèle de croissance logistique. Une fonction d'inhibition de type logistique permet ainsi de traduire le fait que la prolifération cellulaire est limitée, par exemple par les capacités de tissu environnant, et que la densité de cellules endothéliales ne peut donc dépasser une valeur maximale, notée N_{max} . Nous avons également introduit cette fonction d'inhibition dans le terme de chemotaxie, afin de modéliser l'affinité naturelle des cellules les unes pour les autres : plus les cellules sont nombreuses en un lieu donné, moins elles ont tendance à s'en éloigner ; cette affinité ralentit donc leur migration en direction du gradient de concentration en VEGF.

Par ailleurs, afin de tenir compte de l'action mécanique de la masse tumorale sur le développement du réseau vasculaire (effets de la pression, du manque de place, ..., cf Chapitre 7), nous avons supposé que la diffusion des cellules endothéliales instables était réduite là où la densité de cellules tumorales dépassait un certain seuil. Le coefficient de diffusion est donc, dans notre modèle, considéré comme globalement constant (noté C_e), mais multiplié par une constante $c_{e,d} < 1$ là où la densité de cellules tumorales ($P + Q$) est supérieure à un seuil donné, noté $\tau_{e,d}$:

$$\forall t, \forall \mathbf{x} \in \Omega \quad D_e(\mathbf{x}, t) = C_e * \lambda_{e,d}(\mathbf{x}, t)$$

$$\text{où } \lambda_{e,d}(\mathbf{x}, t) = \begin{cases} c_{e,d} < 1 & \text{si } P(\mathbf{x}, t) + Q(\mathbf{x}, t) > \tau_{e,d} \\ 1 & \text{sinon} \end{cases}$$

(cf section 13.2.6 pour plus de détails sur P et Q)

Les cellules endothéliales instables étant stimulées par le VEGF, leurs taux de prolifération et migration (respectivement les coefficients α et χ dans l'équation (13.1)) dépendent de l'effet induit par le VEGF.

Effet du VEGF sur la prolifération des cellules endothéliales instables. Les molécules de VEGF engendrent la prolifération des cellules endothéliales instables en se liant aux récepteurs spécifiques Flk-1 situés sur la membrane de ces dernières. Cependant, cette liaison est régulée par la présence de molécules d'endostatine, inhibiteur compétitif du VEGF pour le récepteur Flk-1. L'effet du VEGF sur la prolifération des cellules endothéliales dépend donc de l'endostatine. Afin de prendre en compte les différences entre les propriétés moléculaires du VEGF et de l'endostatine, nous avons modélisé l'effet du VEGF sur la prolifération des cellules endothéliales instables (noté $E_{VEGF,prolif}$) à l'aide d'un modèle pharmacologique du *E_{max}* (cf Chapitre 3) :

$$E_{VEGF,prolif} = \frac{E_{maxVEGF,prolif}}{1 + \frac{K_{D,VEGF}}{[VEGF]} \left(1 + \frac{[endos]}{K_{D,endos}} \right)}$$

où $E_{maxVEGF,prolif}$ représente l'effet maximal du VEGF sur la prolifération des cellules endothéliales instables, $K_{D,VEGF}$ (resp. $K_{D,endos}$) la constante de dissociation du VEGF (resp. de l'endostatine) pour le récepteur Flk-1.

Conformément aux observations biologiques, une augmentation de la concentration en endostatine engendre une diminution de l'effet du VEGF.

Par ailleurs, les cellules endothéliales instables meurent si elles ne sont pas suffisamment stimulées. Leur taux de prolifération devient donc négatif si l'effet du VEGF est inférieur à un

certain seuil, noté $E_{min_{prolif}}$. Pour modéliser cette propriété, nous utilisons la fonction suivante :

$$PA(u) = \left(\frac{Ap + u}{2}\right) - \left(\frac{Ap - u}{2}\right) \tanh(10^2(u - E_{min_{prolif}})) \quad \forall u \geq 0$$

où $E_{min_{prolif}}$ est la valeur minimale de $E_{VEGF,prolif}$ en dessous de laquelle le taux de prolifération devient négatif (de valeur Ap).

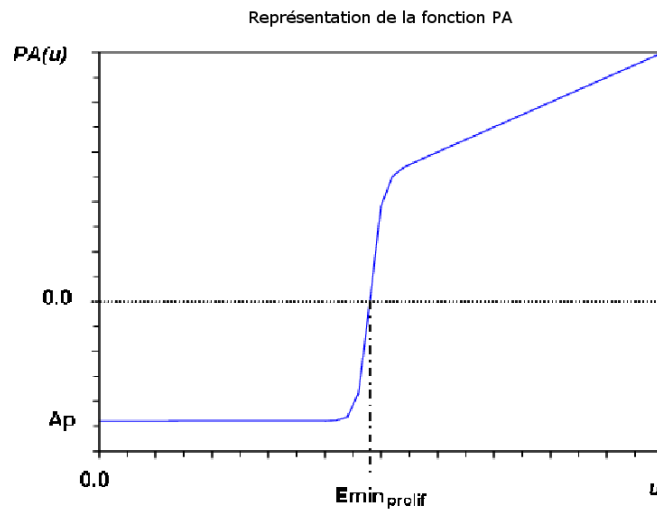


FIGURE 13.1 – Représentation de la fonction PA . $E_{min_{prolif}}$ représente la valeur minimale de $E_{VEGF,prolif}$ en dessous de laquelle les cellules endothéliales ne prolifèrent plus, et meurent avec un taux maximal $|Ap|$ ($Ap < 0$).

Tout comme le processus de diffusion, nous supposons que les effets mécaniques de la croissance tumorale réduisent la prolifération des cellules endothéliales instables. Ainsi, le taux de prolifération de ces cellules endothéliales est multiplié par une constante $c_{e,p} < 1$ là où la densité tumorale dépasse un seuil donné, noté $\tau_{e,p}$. Ceci revient à multiplier le taux de prolifération par la fonction suivante :

$$\lambda_{e,p} = \begin{cases} c_{e,p} < 1 & \text{si } P + Q > \tau_{e,p} \\ 1 & \text{sinon} \end{cases}$$

Le taux de prolifération des cellules endothéliales est donc finalement donné par l'expression :

$$\alpha = PA(E_{VEGF,prolif}) \lambda_{e,p}$$

Effet du VEGF sur la chemotaxie des cellules endothéliales instables. Nous avons supposé que le taux de chemotaxie dépendait de l'effet du VEGF sur les cellules endothéliales. Comme précédemment, un modèle du *Emax* nous permet d'exprimer l'effet du VEGF sur la chemotaxie des cellules endothéliales instables (noté $E_{VEGF,chemo}$) en fonction des propriétés moléculaires du VEGF et de l'endostatine :

$$E_{VEGF,chemo} = \frac{Emax_{VEGF,chemo}}{1 + \frac{K_{D,VEGF}}{[VEGF]} \left(1 + \frac{[endos]}{K_{D,endos}}\right)}$$

où $Emax_{VEGF,chemo}$ représente l'effet maximal du VEGF sur la chemotaxie des cellules endothéliales instables, $K_{D,VEGF}$ (resp. $K_{D,endos}$) la constante de dissociation du VEGF (resp. de l'endostatine) pour le récepteur Flk-1.

Comme dans le cas de la prolifération des cellules endothéliales, nous supposons que la croissance de la masse tumorale réduit la migration des cellules endothéliales, et multiplions donc l'effet du VEGF par une constante $c_{e,c} < 1$ aux endroits où la densité de cellules tumorales est supérieure à un seuil donné, noté $\tau_{e,c}$. Finalement, le taux de chemotaxie des cellules endothéliales instables est donné par :

$$\chi = \lambda_{e,c} \frac{Emax_{VEGF,chemo}}{1 + \frac{K_{D,VEGF}}{[VEGF]} \left(1 + \frac{[endos]}{K_{D,endos}}\right)}$$

où

$$\lambda_{e,c} = \begin{cases} c_{e,c} < 1 & \text{si } P + Q > \tau_{e,c} \\ 1 & \text{sinon} \end{cases}$$

En plus des mouvements de diffusion, prolifération et chemotaxie, les cellules endothéliales

instables subissent également un processus de maturation qui les fait passer de l'état instable à l'état stable. Nous avons supposé que ce processus dépendait de l'effet des angiopoïétines -1 et -2.

Effet des angiopoïétines -1 et -2 sur la maturation des cellules endothéliales instables.

Les angiopoïétines -1 et -2 sont impliquées dans le processus de maturation des cellules endothéliales (cf Chapitre 5). L'angiopoïétine-2 étant un antagoniste compétitif de l'angiopoïétine-1 pour le récepteur Tie2, nous avons utilisé un modèle du *E_{max}* afin de modéliser l'effet de l'angiopoïétine-1 sur la maturation des cellules endothéliales (noté E_{Ang1}) :

$$E_{Ang1} = \frac{E_{max\,Ang1}}{1 + \frac{K_{D,Ang1}}{[Ang1]} \left(1 + \frac{[Ang2]}{K_{D,Ang2}} \right)}$$

où $E_{max\,Ang1}$ représente l'effet maximal de l'angiopoïétine-1 sur les cellules endothéliales instables, et $K_{D,Ang1}$ (resp. $K_{D,Ang2}$) la constante de dissociation de l'angiopoïétine-1 (resp. de l'angiopoïétine-2) pour le récepteur Tie2.

Ainsi, nous avons supposé que les cellules endothéliales devenaient stables, de façon instantanée, si la densité totale de cellules endothéliales (stables et instables) et l'effet de l'angiopoïétine-1 sur la maturation étaient suffisamment élevés. L'évolution de la densité de cellules endothéliales stables est donc donnée par l'équation discrète :

$$n_S(t + \delta t) = n_S(t) + \mu H(E_{Ang1} - E_{Ang1,min}) H(n + n_S - N_{min}) n(t) \quad (13.2)$$

où μ représente le taux de maturation, H la fonction d'Heaviside, et où $E_{Ang1,min}$ et N_{min} sont respectivement la valeur minimale de l'effet de l'angiopoïétine-1 et celle de la densité de cellules endothéliales (stables et instables) au-dessus desquelles le processus de maturation se produit. μ , $E_{Ang1,min}$ et N_{min} sont des constantes positives.

13.2.2 Concentration en VEGF

Le VEGF est sécrété par les cellules tumorales hypoxiques, i.e. quiescentes, diffuse dans le tissu environnant, et se lie aux récepteurs Flk-1 situés sur la membrane des cellules endothéliales. Les molécules de VEGF libre sont également supposées être naturellement dégradées.

Par ailleurs, nous avons supposé que le processus de diffusion moléculaire se déroulait sur une échelle de temps beaucoup plus petite que la division cellulaire. Nous avons donc supposé que la concentration en VEGF atteignait un état d'équilibre instantanément, d'où l'équation régissant son évolution :

$$0 = \frac{\partial [VEGF]}{\partial t} = \underbrace{\nabla \cdot (D_V \nabla [VEGF])}_{\text{diffusion}} + \underbrace{\alpha_V Q}_{\text{production}} - \underbrace{\beta_V n}_{\text{liaison aux récepteurs}} - \underbrace{\delta_V [VEGF]}_{\text{dégradation naturelle}} \quad (13.3)$$

où D_V représente le coefficient de diffusion, α_V le taux de production, β_V le taux de liaison aux récepteurs, δ_V le taux de dégradation. D_V , α_V et δ_V sont des constantes positives.

Comme nous l'avons vu précédemment, l'endostatine est un inhibiteur compétitif du VEGF pour le récepteur Flk-1. Le taux de liaison du VEGF à ces récepteurs est donc influencé par la présence d'endostatine. Nous avons modélisé ce taux de liaison en utilisant l'équation de Michaelis-Menten, d'où l'expression :

$$\beta_V = \frac{\beta_{max,V}}{1 + \frac{K_{D,VEGF}}{[VEGF]} \left(1 + \frac{[endos]}{K_{D,endos}} \right)}$$

où $\beta_{max,V}$ représente le taux maximal de liaison du VEGF aux récepteurs Flk-1, $K_{D,VEGF}$ (resp. $K_{D,endos}$) la constante de dissociation du VEGF (resp. de l'endostatine) pour le récepteur Flk-1. $\beta_{max,V}$, $K_{D,VEGF}$ et $K_{D,endos}$ sont des constantes positives. On remarquera ainsi qu'une forte concentration en endostatine induit une diminution du taux de liaison du VEGF aux récepteurs Flk-1, conformément aux observations biologiques.

13.2.3 Concentration en endostatine

L'endostatine est sécrétée par les cellules tumorales (proliférantes et quiescentes), diffuse dans le tissu environnant, se lie aux récepteurs membranaires Flk-1, et est naturellement dégradée. Tout comme pour le VEGF, nous avons supposé que la concentration en endostatine atteignait un état d'équilibre instantanément, d'où l'équation :

$$0 = \frac{\partial[endos]}{\partial t} = \underbrace{\nabla \cdot (D_{endos} \nabla[endos])}_{\text{diffusion}} + \underbrace{\alpha_{endos} (P + Q)}_{\text{production}} - \underbrace{\beta_{endos} n}_{\text{liaison aux récepteurs}} - \underbrace{\delta_{endos} [endos]}_{\text{dégradation naturelle}} \quad (13.4)$$

où D_{endos} représente le coefficient de diffusion, α_{endos} le taux de production, β_{endos} le taux de liaison aux récepteurs Flk-1, δ_{endos} le taux de dégradation naturelle. D_{endos} , α_{endos} et δ_{endos} sont des constantes positives.

Le VEGF et l'endostatine étant des inhibiteurs compétitifs pour le récepteur Flk-1, le taux de liaison de l'endostatine aux récepteurs Flk-1 est donné par :

$$\beta_{endos} = \frac{\beta_{max,endos}}{1 + \frac{K_{D,endos}}{[endos]} \left(1 + \frac{[VEGF]}{K_{D,VEGF}}\right)}$$

où $\beta_{max,endos}$ représente le taux maximal de liaison de l'endostatine aux récepteurs Flk-1, $K_{D,endos}$ (resp. $K_{D,VEGF}$) la constante de dissociation de l'endostatine (resp. du VEGF) pour le récepteur Flk-1. Comme pour le VEGF précédemment, $\beta_{max,endos}$, $K_{D,endos}$, et $K_{D,VEGF}$ sont des constantes positives.

13.2.4 Concentration en angiopoïétines

L'angiopoïétine-1 est sécrétée par les cellules murales, cellules intervenant dans le processus de maturation des néo-vaisseaux (cf Chapitre 5). Notre modèle n'intégrant pas ce type de population cellulaire pour des raisons de complexité, nous avons supposé que la concentration en

angiopoïétine-1 était uniformément constante, égale à $[Ang1]_0$ sur notre domaine d'étude :

$$[Ang1] = [Ang1]_0 \quad (13.5)$$

Une telle hypothèse est conforme à certaines données de la littérature [157].

L'angiopoïétine-2, quant à elle, est sécrétée par les cellules tumorales ainsi que par les cellules endothéliales instables (cf Chapitre 5). Ses molécules diffusent dans le tissu environnant, se lient aux récepteurs Tie2 situés sur la membrane des cellules endothéliales instables, et sont naturellement dégradées. Nous avons supposé que la concentration en angiopoïétine-2 atteignait un état d'équilibre instantanément. L'évolution de la concentration en angiopoïétine-2 est ainsi donnée par l'équation :

$$0 = \frac{\partial [Ang2]}{\partial t} = \underbrace{\nabla \cdot (D_{A2} \nabla [Ang2])}_{\text{diffusion}} + \underbrace{\alpha_{1,A2} (P + Q) + \alpha_{2,A2} n}_{\text{production}} - \underbrace{\beta_{A2} n}_{\text{liaison aux récepteurs}} - \underbrace{\delta_{A2} [Ang2]}_{\text{dégradation naturelle}} \quad (13.6)$$

où D_{A2} représente le coefficient de diffusion, $\alpha_{1,A2}$ et $\alpha_{2,A2}$ les taux de production par les cellules tumorales et les cellules endothéliales instables respectivement, β_{A2} le taux de liaison aux récepteurs Tie2, δ_{A2} le taux de dégradation naturelle. D_{A2} , $\alpha_{1,A2}$, $\alpha_{2,A2}$ et δ_{A2} sont des constantes positives. Comme précédemment, les angiopoïétines -1 et -2 étant des inhibiteurs compétitifs pour le récepteur Tie2, le taux de liaison de l'angiopoïétine-2 aux récepteurs Tie2 peut être modélisé par :

$$\beta_{A2} = \frac{\beta_{max,A2}}{1 + \frac{K_{D,A2}}{[Ang2]} \left(1 + \frac{[Ang1]}{K_{D,A1}} \right)}$$

où $\beta_{max,A2}$ représente le taux maximal de liaison de l'angiopoïétine-2 aux récepteurs Tie2, $K_{D,A2}$ (resp. $K_{D,A1}$) la constante de dissociation de l'angiopoïétine-2 (resp. de l'angiopoïétine-1) pour le récepteur Tie2. $\beta_{max,A2}$, $K_{D,A1}$ et $K_{D,A2}$ sont des constantes positives.

13.2.5 Concentration en oxygène

Les sous-modèles d'angiogenèse et de croissance tumorale sont couplés par l'intermédiaire du VEGF, mais également par l'intermédiaire de l'oxygène (cf Chapitre 12). L'oxygène diffuse dans le tissu environnant depuis les vaisseaux sanguins préexistants, ainsi que depuis les néo-vaisseaux résultant de l'angiogenèse. Une partie est consommée par les cellules saines et par les cellules tumorales, et une partie est naturellement dégradée (cette dégradation peut, par exemple, être induite par l'oxydation de composés non-cellulaires tels que les radicaux libres). Nous avons supposé qu'un vaisseau sanguin était fonctionnel, et donc source d'oxygène, dès lors que les cellules endothéliales composant sa paroi étaient stables. La source d'oxygène est alors supposée correspondre à l'emplacement des vaisseaux fonctionnels ($n_S \neq 0$), de valeur constante égale à $[O_2]_{max}$. Comme pour les autres substances biochimiques du modèle, la concentration en oxygène est supposée atteindre un état d'équilibre instantanément.

La concentration en oxygène est ainsi supposée évoluer selon l'équation :

$$\left\{ \begin{array}{l} 0 = \frac{\partial [O_2]}{\partial t} = \underbrace{\nabla \cdot (D_O \nabla [O_2])}_{\text{diffusion}} - \underbrace{(\beta_{1,O} P + \beta_{2,O} Q + \beta_{3,O} M) [O_2]}_{\text{consommation}} - \underbrace{\delta_O [O_2]}_{\text{dégradation naturelle}} \\ [O_2] = [O_2]_{max} \quad \text{où } n_S \neq 0 \end{array} \right. \quad (13.7)$$

où D_O représente le coefficient de diffusion, $\beta_{1,O}$, $\beta_{2,O}$ et $\beta_{3,O}$ les taux de consommation par les cellules respectivement proliférantes, quiescentes et saines, δ_O le taux de dégradation naturelle. D_O , $\beta_{1,O}$, $\beta_{2,O}$, $\beta_{3,O}$, δ_O et $[O_2]_{max}$ sont des constantes positives.

13.2.6 Densité de cellules tumorales et de cellules saines

Le modèle mathématique de croissance tumorale que nous avons couplé au modèle d'angiogenèse présenté ci-dessus se base sur un modèle multiphasique développé par Bresch et al. [84, 158, 159]. Dans notre modèle, la tumeur est décrite par les densités de cellules tumorales dans trois phases distinctes : proliférante, quiescente, et apoptotique. Plus précisément, la phase

proliférante est divisée en deux afin de permettre la modélisation du point de vérification, situé à la fin de la phase biologique G_1 . Ces deux phases de prolifération correspondent aux phases biologiques G_1 pour l'une et $S-G_2-M$ pour l'autre (cf Chapitre 7). Nous noterons ainsi P_1 et P_2 les densités de cellules dans les phases proliférantes, Q la densité de cellules dans la phase quiescente, et A la densité de cellules dans la phase apoptotique. Par extension, et lorsqu'aucune confusion n'est possible, nous nommerons les phases par la densité de cellules correspondante; nous parlerons ainsi indifféremment de phase P_1 ou de densité P_1 .

Ce modèle tient compte de la progression des cellules tumorales dans le cycle cellulaire, en intégrant la notion d'âge (noté a). Les cellules quiescentes et apoptotiques ne se divisant pas, seules les phases proliférantes sont structurées en âge. Ainsi, les densités P_1 et P_2 dépendent de \mathbf{x} , t , et a , alors que les densités Q et A ne dépendent que de \mathbf{x} et t .

La densité totale de cellules proliférantes est alors donnée par :

$$P(\mathbf{x}, t) \stackrel{def}{=} \int_0^{a_{max,P_1}} P_1(\mathbf{x}, t, a) da + \int_0^{a_{max,P_2}} P_2(\mathbf{x}, t, a) da \quad \forall \mathbf{x} \in \Omega, \quad \forall t \geq 0$$

où a_{max,P_1} et a_{max,P_2} représentent l'âge maximal atteint par les cellules respectivement dans les phases P_1 et P_2 .

Par ailleurs, la division cellulaire est supposée engendrer un mouvement d'advection des cellules tumorales et des cellules saines, comme si ces cellules étaient passivement transportées par un fluide.

Dans notre modèle, l'évolution des cellules dans le cycle cellulaire est régulée par les conditions environnementales. Plus précisément, la transition entre les phases proliférantes et la phase quiescente dépend de la concentration en oxygène, i.e. du degré d'hypoxie, et de la densité de cellules tumorales, i.e. du degré de surpopulation. La transition entre les phases proliférante P_1 et quiescente et la phase apoptotique dépend, quant à elle, uniquement du degré d'hypoxie. Ainsi,

la vérification de ces conditions est modélisée par les fonctions f et g , définies par :

$$f(\mathbf{x}, t) = \begin{cases} 1 & \text{si } \int_0^{a_{max, P_1}} P_1(\mathbf{x}, t, a) da + 2 \int_0^{a_{max, P_2}} P_2(\mathbf{x}, t, a) da + Q(\mathbf{x}, t) \leq \tau_o \\ & \text{ou } [O_2](\mathbf{x}, t) \geq \tau_{1,h} \\ 0 & \text{sinon} \end{cases}$$

et $g(\mathbf{x}, t) = \begin{cases} 1 & \text{si } [O_2](\mathbf{x}, t) \geq \tau_{2,h} \\ 0 & \text{sinon} \end{cases}$

où τ_o représente le seuil de densité cellulaire au delà duquel il y a surpopulation, $\tau_{1,h}$ et $\tau_{2,h}$ les seuils de concentration en oxygène en dessous desquels il y a respectivement hypoxie et hypoxie sévère, i.e. respectivement quiescence et apoptose des cellules tumorales (avec $\tau_{1,h} > \tau_{2,h}$). Le coefficient 2 devant l'intégrale dans la définition de la fonction f permet de prendre en compte la division cellulaire, et le fait que celle-ci soit inconditionnelle.

La Figure 13.2 résume schématiquement cette régulation.

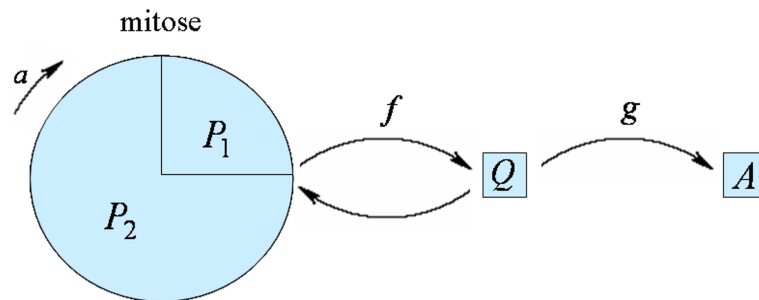


FIGURE 13.2 – Représentation schématique du modèle de cycle cellulaire structuré en âge. Ce modèle intègre deux phases proliférantes, P_1 et P_2 , une phase quiescente Q , et une phase apoptotique A . À la fin de la phase P_1 , la vérification des conditions environnementales est modélisée par les fonctions f et g . Si l'hypoxie ou la surpopulation sont détectées, les cellules tumorales proliférantes deviennent quiescentes ; si le degré d'hypoxie est trop élevé, ces cellules meurent. En revanche, si l'hypoxie et la surpopulation disparaissent, les cellules quiescentes redeviennent proliférantes. Nous supposons que le processus de mitose se produit à la fin de la phase P_2 .

Ainsi, l'évolution des densités de cellules tumorales dans les différentes phases est donnée par

le système d'équations suivant :

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{\partial P_1}{\partial t} + \frac{\partial P_1}{\partial a} + \nabla \cdot (\mathbf{v}_{P_1} P_1) = 0 \\ \frac{\partial P_2}{\partial t} + \frac{\partial P_2}{\partial a} + \nabla \cdot (\mathbf{v}_{P_2} P_2) = 0 \\ \frac{\partial Q}{\partial t} + \nabla \cdot (\mathbf{v}_Q Q) = g (1 - f) P_1(a = a_{max,P_1}) - \left[\frac{\partial f}{\partial t} \right]^+ Q(t^-) + \left[\frac{\partial g}{\partial t} \right]^- Q(t^-) \\ \frac{\partial A}{\partial t} + \nabla \cdot (\mathbf{v}_A A) = (1 - g) P_1(a = a_{max,P_1}) - \left[\frac{\partial g}{\partial t} \right]^- Q(t^-) \end{array} \right. \quad (13.8)$$

où le symbole $\left[\frac{\partial \cdot}{\partial t} \right]^+$ (resp. $\left[\frac{\partial \cdot}{\partial t} \right]^-$) représente la partie positive (resp. négative) de $\frac{\partial \cdot}{\partial t}$, et \mathbf{v}_{P_1} , \mathbf{v}_{P_2} , \mathbf{v}_Q , \mathbf{v}_A représentent la vitesse des cellules tumorales dans les phases respectivement proliférantes, quiescente, et apoptotique. Le mouvement d'advection étant supposé passif, nous considérons que la vitesse des cellules est la même quelque soit le phase, i.e. $\mathbf{v}_{P_1} = \mathbf{v}_{P_2} = \mathbf{v}_Q = \mathbf{v}_A$. Par la suite, nous noterons \mathbf{v} cette vitesse.

De plus, la transition entre les deux phases proliférantes est donnée par les conditions aux limites en âge suivantes :

$$\left\{ \begin{array}{l} P_1(a = 0) = 2P_2(a = a_{max,P_2}) \\ P_2(a = 0) = fP_1(a = a_{max,P_1}) + \left[\frac{\partial f}{\partial t} \right]^+ Q(t^-) \end{array} \right. \quad (13.9)$$

Le mouvement d'advection des cellules tumorales induit le même mouvement au sein de la population de cellules saines, d'où l'équation régissant l'évolution de la densité de cellules saines :

$$\frac{\partial M}{\partial t} + \nabla \cdot (\mathbf{v}_M M) = 0 \quad (13.10)$$

où \mathbf{v}_M représente la vitesse de la phase de cellules saines, avec $\mathbf{v}_M = \mathbf{v}$.

Les cellules mortes étant prises en compte dans la phase apoptotique, nous supposons qu'il y a conservation du nombre de cellules tumorales et saines, soit :

$$M + P + Q + A = N_0 \quad (13.11)$$

En dérivant l'égalité (13.11) par rapport au temps, et en utilisant le système d'équations

(13.8), et l'équation (13.10), ainsi que les conditions aux limites (13.9), nous obtenons :

$$\nabla \cdot \mathbf{v} = \frac{1}{N_0} P_2(a_{max}, P_2) \quad (13.12)$$

d'où $\nabla \cdot \mathbf{v} \geq 0$, ce qui signifie bien que le volume tumoral augmente (et ne peut diminuer).

Pour déterminer la vitesse \mathbf{v} , nous utilisons classiquement une loi de type Darcy [84, 158, 159, 160] :

$$\mathbf{v} = -\nabla \psi \quad (13.13)$$

où ψ est un potentiel (i.e. $\psi = 0$ sur $\partial\Omega$).

Ainsi, à partir des équations (13.12) and (13.13), nous obtenons :

$$\begin{cases} \Delta \psi = -\frac{1}{N_0} P_2(a_{max}, P_2) \\ \psi = 0 \quad \text{sur } \partial\Omega \end{cases} \quad (13.14)$$

Ainsi, grâce à cette équation de diffusion, nous pouvons déterminer le potentiel ψ , et donc la vitesse \mathbf{v} , ce qui nous permet donc de résoudre les équations du système (13.8), et l'équation (13.10).

13.2.7 Traitements anti-angiogéniques

Notre modèle intègre deux sous-modèles de traitements anti-angiogéniques. Nous appellerons "traitement A" le traitement basé sur les anticorps anti-VEGF, et "traitement B" le traitement basé sur l'endostatine.

13.2.7.1 Traitement A : anticorps anti-VEGF

L'intérêt des anticorps anti-VEGF est de se lier aux molécules de VEGF libre et d'en empêcher ainsi la liaison aux récepteurs Flk-1 des cellules endothéliales. Nous avons supposé que ces anticorps étaient produits uniformément dans le domaine d'étude, disparaissaient par liaison

aux molécules de VEGF libre et par dégradation naturelle, et qu'ils diffusaient dans le tissu environnant.

En supposant que les anticorps font partie de la famille des immunoglobulines G (ce qui est le cas de la majorité des anticorps), nous supposons que leur poids moléculaire est supérieur à celui des autres substances biochimiques du modèle ; la diffusion des anticorps est donc plus lente que celle du VEGF par exemple. De plus, contrairement aux autres substances biochimiques du modèle qui ont une demi-vie d'élimination très courte (de l'ordre de quelques minutes pour le VEGF par exemple), la demi-vie d'élimination des anticorps peut être assez longue (environ 20 jours par exemple pour le bevacizumab). Dans le cas des anticorps anti-VEGF, nous ne pouvons donc pas supposer que la concentration atteint instantanément un état d'équilibre comme nous l'avons fait pour les autres substances biochimiques.

L'équation régissant l'évolution de la concentration en anticorps anti-VEGF est alors :

$$\frac{\partial [Ac]}{\partial t} = \underbrace{\nabla \cdot (D_{Ac} \nabla [Ac])}_{\text{diffusion}} - \underbrace{\delta_{Ac} [Ac]}_{\text{dégradation naturelle}} - \underbrace{\beta_{V-Ac} [Ac]}_{\text{liaison au VEGF}} + \underbrace{\alpha_{Ac} \Gamma}_{\text{production}} \quad (13.15)$$

où D_{Ac} représente le coefficient de diffusion, α_{Ac} le taux de production, δ_{Ac} le taux de dégradation naturelle, β_{V-Ac} le taux de liaison aux molécules de VEGF, et Γ le schéma thérapeutique (par exemple $\Gamma = \mathbb{1}_{t=t_1}$ pour une administration du traitement au temps t_1). D_{Ac} , α_{Ac} , δ_{Ac} et β_{V-Ac} sont des constantes positives.

Les anticorps faisant partie de la famille des immunoglobulines, ils se comportent, vis-à-vis du VEGF, comme des récepteurs. Nous avons supposé que chaque anticorps possédait deux sites de liaison au VEGF. Le taux de disparition des anticorps due à la liaison aux molécules de VEGF est donc déterminé par l'équation de Michaelis-Menten :

$$\beta_{V-Ac} = \frac{\beta_{max,V-Ac}}{1 + \frac{K_{D,V-Ac}}{[VEGF]}}$$

où $\beta_{max,V-Ac}$ représente le taux maximal de liaison du VEGF aux anticorps, $K_{D,V-Ac}$ la constante de dissociation du VEGF pour les anticorps.

Le taux de production α_{Ac} est à relier à la dose du traitement.

La disparition du VEGF par liaison aux anticorps se traduit par l'ajout d'un terme de dégradation dans l'équation (13.3), qui devient donc :

$$0 = \nabla \cdot (D_V \nabla [VEGF]) + \alpha_V Q - \beta_V n - \delta_V [VEGF] - \underbrace{2 \beta_{V-Ac} [Ac]}_{\text{liaison aux anticorps}} \quad (13.16)$$

13.2.7.2 Traitement B : endostatine

Concernant le traitement B, nous avons considéré une unique administration intratumorale d'un adénovirus codant pour le gène de l'endostatine. Nous avons supposé que ce traitement induisait une augmentation de la production d'endostatine par les cellules tumorales proliférantes et quiescentes. Nous avons donc modélisé ce traitement en ajoutant un terme de production dans l'équation (13.4) :

$$0 = \nabla \cdot (D_{endos} \nabla [endos]) + \alpha_{endos} (P + Q) - \beta_{endos} n - \delta_{endos} [endos] + \underbrace{C_{endos} \alpha_{endos} (P + Q) \mathbb{1}_{[t_2; t_3]}}_{\text{surproduction liée au traitement}} \quad (13.17)$$

où C_{endos} représente le taux de surproduction, et $[t_2; t_3]$ représente l'intervalle de temps pendant lequel la production d'endostatine est augmentée.

Le taux de surproduction est à relier à la dose (ou puissance) du traitement, et l'intervalle de surproduction est à relier à la durée du traitement.

13.2.8 Résumé des équations du modèle

Le Tableau 13.2 regroupe les équations du modèles macroscopique, et le Tableau 13.3 résume les relations existant à l'échelle moléculaire.

Entité	Equation
Densité de cellules endothéliales (CEs) instables	$\partial_t n = \nabla \cdot (D_e \nabla n) + \alpha n \left(1 - \frac{n+n_S}{N_{max}}\right) - \nabla \cdot \left(\chi n \left(1 - \frac{n+n_S}{N_{max}}\right) \nabla [VEGF]\right) - \partial_t n_S$ (13.1)
Densité de CEs stables	$n_S(t + \delta t) = n_S(t) + \mu H(E_{Ang1} - E_{Ang1, min}) H(n + n_S - N_{min}) n(t)$ (13.2)
Concentration en VEGF	$0 = \nabla \cdot (D_V \nabla [VEGF]) + \alpha_V Q - \beta_V n - \delta_V [VEGF] - 2\beta_{V-Ac} [Ac]$ (13.16)
Concentration en endostatine	$0 = \nabla \cdot (D_{endos} \nabla [endos]) + \alpha_{endos} (P + Q) - \beta_{endos} n - \delta_{endos} [endos]$ (13.4)
Concentration en angiopoïétine-1	$[Ang1] = [Ang1]_0 + C_{endos} \alpha_{endos} (P + Q) \mathbb{1}_{[t_2; t_3]}$ (13.17)
Concentration en angiopoïétine-2	$0 = \nabla \cdot (D_{A2} \nabla [Ang2]) + \alpha_{1, A2} (P + Q) + \alpha_{2, A2} n - \beta_{A2} n - \delta_{A2} [Ang2]$ (13.6)
Concentration en anticorps anti-VEGF	$\partial_t [Ac] = \nabla \cdot (D_{Ac} \nabla [Ac]) - \delta_{Ac} [Ac] - \beta_{V-Ac} [Ac] + \alpha_{Ac} \Gamma$ (13.15)
Concentration en oxygène	$0 = \nabla \cdot (D_O \nabla [O_2]) - (\beta_{1, O} P + \beta_{2, O} Q + \beta_{3, O} M) [O_2] - \delta_O [O_2]$ (13.7)
Densité de cellules tumorales (CTs) proliférantes	$[O_2] = [O_2]_{max}$ où $n_S \neq 0$ (13.7)
	$\partial_t P_1 + \partial_a P_1 + \nabla \cdot (v P_1) = 0$ (13.8)
	$\partial_t P_2 + \partial_a P_2 + \nabla \cdot (v P_2) = 0$ (13.8)
Densité de CTs quiescentes	$P_1(a=0) = 2P_2(a = a_{max, P_2})$ (13.9)
Densité de CTs apoptotiques	$P_2(a=0) = f P_1(a = a_{max, P_1}) + [\partial_t f]^+ Q(t^-)$ (13.9)
Densité de cellules saines	$\partial_t Q + \nabla \cdot (v Q) = g(1-f) P_1(a = a_{max, P_1}) - [\partial_t f]^+ Q(t^-) + [\partial_t g]^- Q(t^-)$ (13.8)
	$\partial_t A + \nabla \cdot (v A) = (1-g) P_1(a = a_{max, P_1}) - [\partial_t g]^- Q(t^-)$ (13.8)
	$\partial_t M + \nabla \cdot (v M) = 0$ (13.10)

TABLE 13.2 – Résumé des équations du modèle macroscopique.

Paramètre	Description	Expression	Eq.
D_e	Taux de diffusion des cellules endothéliales (CEs)	$C_e * \lambda_{e,d}$	(13.1)
α	Taux de prolifération des CEs	$PA(E_{VEGF,prolif}) * \lambda_{e,p}$	(13.1)
χ	Taux de chemotaxie des CEs	où $E_{VEGF,prolif} = \frac{E_{maxVEGF,prolif}}{1 + \frac{K_{D,VEGF}}{[VEGF]} \left(1 + \frac{[endos]}{K_{D,endos}}\right)}$	(13.1)
E_{Ang1}	Effet de l'angiopoïétine-1 sur la maturation	$\lambda_{e,c} \frac{E_{maxVEGF,chemo}}{1 + \frac{K_{D,VEGF}}{[VEGF]} \left(1 + \frac{[endos]}{K_{D,endos}}\right)}$	(13.2)
β_V	Taux de liaison du VEGF aux récepteurs Flk-1	$\frac{E_{maxAng1}}{1 + \frac{K_{D,Ang1}}{[Ang1]} \left(1 + \frac{[Ang2]}{K_{D,Ang2}}\right)}$	(13.3)
β_{endos}	Taux de liaison de l'endostatine aux récepteurs Flk-1	$\frac{\beta_{max,V}}{1 + \frac{K_{D,VEGF}}{[VEGF]} \left(1 + \frac{[endos]}{K_{D,endos}}\right)}$	(13.3)
β_{A2}	Taux de liaison de l'angiopoïétine-2 aux récepteurs Tie2	$\frac{\beta_{max,endos}}{1 + \frac{K_{D,endos}}{[endos]} \left(1 + \frac{[VEGF]}{K_{D,VEGF}}\right)}$	(13.4)
β_{V-Ac}	Taux de liaison du VEGF aux anticorps	$\frac{\beta_{max,A2}}{1 + \frac{K_{D,A2}}{[Ang2]} \left(1 + \frac{[Ang1]}{K_{D,A1}}\right)}$	(13.6)
		$\frac{\beta_{max,V-Ac}}{1 + \frac{K_{D,V-Ac}}{[VEGF]}}$	(13.15)(13.16)

TABLE 13.3 – Résumé des relations du modèle moléculaire.

13.3 Conditions initiales et conditions au bord

La définition complète du modèle nécessite de prescrire des conditions initiales ainsi que des conditions au bord du domaine d'étude (Ω) pour chacune des entités considérées dans le modèle.

13.3.1 Conditions initiales

Nous avons choisi d'effectuer des simulations en deux dimensions d'espace. Ainsi, le domaine d'étude considéré est un carré. Une tumeur circulaire est située au centre de ce domaine, et est initialement entourée de quatre vaisseaux sanguins préexistants, représentés par de petits domaines circulaires, composés de cellules endothéliales stables et instables (cf Figure 13.3).

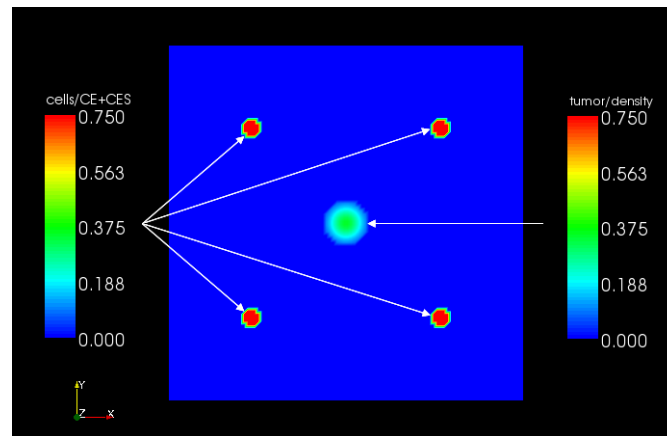


FIGURE 13.3 – Densités initiales de cellules endothéliales stables et instables, et de cellules tumorales. La tumeur est située au centre du domaine, et entourée de quatre vaisseaux sanguins préexistants.

Nous avons également supposé que la densité tumorale suivait initialement une distribution gaussienne, et que la tumeur se composait de cellules à la fois quiescentes et proliférantes, telle que :

$$P_1(\mathbf{x}, t = 0, a) = P_2(\mathbf{x}, t = 0, a) \leq Q(\mathbf{x}, t = 0) \quad \forall \mathbf{x} \in \Omega, \quad \forall a \quad (13.18)$$

Les cellules endothéliales sont, quant à elles, supposées initialement uniformément réparties

dans les domaines définissant les vaisseaux sanguins préexistants, avec :

$$n_S(\mathbf{x}, t = 0) = 2n(\mathbf{x}, t = 0) = \frac{N_{max}}{2} \quad \forall \mathbf{x} \in \Omega \quad (13.19)$$

La diffusion des molécules (de substances pro- et anti-angiogéniques et d'oxygène) étant supposée plus rapide que la division cellulaire, nous avons supposé que les concentrations en VEGF, endostatine, angiopoïétine-2, et oxygène étaient initialement à l'équilibre (cf équations (13.3)-(13.7)).

13.3.2 Conditions au bord

Nous avons supposé que les différentes entités considérées ne pouvaient sortir du domaine d'étude (Ω). Cette hypothèse se traduit, dans notre modèle, par l'emploi de conditions aux bords de type Neumann :

$$\frac{\partial n}{\partial \vec{\nu}} \Big|_{\partial\Omega} = 0, \quad \frac{\partial n_S}{\partial \vec{\nu}} \Big|_{\partial\Omega} = 0, \quad \frac{\partial [VEGF]}{\partial \vec{\nu}} \Big|_{\partial\Omega} = 0, \quad \frac{\partial [endos]}{\partial \vec{\nu}} \Big|_{\partial\Omega} = 0, \quad \frac{\partial [Ang2]}{\partial \vec{\nu}} \Big|_{\partial\Omega} = 0, \quad \frac{\partial [O_2]}{\partial \vec{\nu}} \Big|_{\partial\Omega} = 0$$

où $\vec{\nu}$ représente le vecteur sortant normal au bord de Ω (noté $\partial\Omega$), et où l'opérateur $\frac{\partial}{\partial \vec{\nu}}$ est défini par :

$$\frac{\partial \zeta}{\partial \vec{\nu}} = \nabla \zeta \cdot \vec{\nu} \quad \text{pour toute fonction } \zeta \text{ définie sur } \Omega.$$

13.4 Evaluation des effets thérapeutiques

Les traitements anti-angiogéniques ont pour but de retarder, voire arrêter la croissance tumorale. Afin de pouvoir comparer les effets des différents protocoles des traitements A et B, nous avons introduit deux critères d'efficacité.

Nous avons tout d'abord considéré le temps mis par la tumeur pour dépasser une taille donnée, représentée par un seuil sur le nombre de cellules tumorales noté τ_g (critère 1). Cependant,

dans le cas du traitement B, ce critère comprend la durée du traitement, i.e. l'intervalle de temps $[t_2; t_3]$ mentionné dans l'équation (13.17) (dans le cas du traitement A, la durée du traitement est directement liée à la dose initiale). Nous avons donc également défini un critère n'intégrant pas cette durée. Ainsi, le second critère d'efficacité représente la durée entre la fin du traitement, i.e. le temps t_2 , et le temps où le nombre de cellules tumorales dépasse le seuil τ_g (critère 2).

Ces critères sont représentés sur la Figure 13.4 (dans le cas du traitement B).

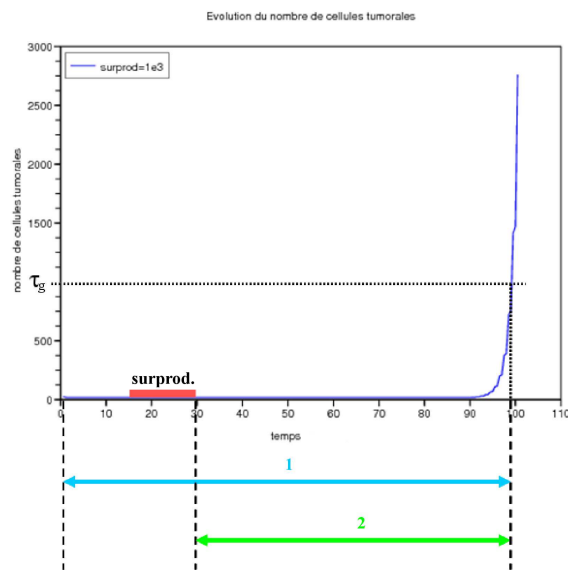


FIGURE 13.4 – Critères permettant de mesurer l'efficacité d'un traitement anti-angiogénique. Le critère 1 représente le temps mis par la tumeur pour dépasser le seuil τ_g . Ce temps inclut la période du traitement. Le critère 2 représente le temps entre la fin du traitement et le temps mis par la tumeur pour dépasser le seuil τ_g .

Ainsi, plus la valeur de ces critères est élevée, plus le traitement considéré est efficace sur la croissance tumorale.

13.5 Valorisation des paramètres

La valorisation des paramètres est une étape importante, et parfois difficile, dans l'élaboration d'un modèle. C'est en effet en partie sur cette étape que repose le caractère réaliste du modèle ainsi que sa robustesse.

13.5.1 Coefficients de diffusion des substances chimiques

D'une manière générale, le coefficient de diffusion D d'une molécule peut être déterminé par la relation d'Einstein-Stokes [161] :

$$D = \frac{k_B T}{6\Pi\eta R_h} \quad (13.20)$$

où k_B représente la constante de Boltzmann, T la température absolue du milieu, η la viscosité du milieu, et R_h le rayon hydrodynamique de la particule.

Le rayon hydrodynamique d'une molécule est défini comme le rayon d'une sphère solide ayant des propriétés hydrodynamiques équivalentes à celles de la molécule. Nous avons supposé que la masse moléculaire d'une molécule était proportionnelle à son volume, et donc au cube de son rayon hydrodynamique; nous avons donc ainsi supposé que le rayon hydrodynamique était proportionnel à la racine cubique de la masse moléculaire.

Ainsi, le coefficient de diffusion D d'une molécule est inversement proportionnel à la racine cubique de la masse moléculaire m de cette molécule :

$$D = \alpha \frac{1}{\sqrt[3]{m}} \quad \text{où } \alpha \text{ est une constante positive.}$$

Connaissant le coefficient de diffusion (D_V) et le poids moléculaire (m_V) du VEGF, ainsi que le poids moléculaire de l'endostatine (m_{endos}), de l'angiopoïétine-2 (m_{A2}) et des anticorps anti-VEGF (m_{Ac}), nous avons pu déterminer leur coefficient de diffusion à l'aide des rapports suivants :

$$\frac{D_{endos}}{D_V} = \sqrt[3]{\frac{m_V}{m_{endos}}}, \quad \frac{D_{A2}}{D_V} = \sqrt[3]{\frac{m_V}{m_{A2}}}, \quad \text{et} \quad \frac{D_{Ac}}{D_V} = \sqrt[3]{\frac{m_V}{m_{Ac}}}$$

$$\text{d'où : } D_{endos} = D_V \sqrt[3]{\frac{m_V}{m_{endos}}}, \quad D_{A2} = D_V \sqrt[3]{\frac{m_V}{m_{A2}}}, \quad \text{et } D_{Ac} = D_V \sqrt[3]{\frac{m_V}{m_{Ac}}}. \quad (13.21)$$

13.5.2 Autres coefficients

Les autres coefficients intervenant dans notre modèle (taux de dégradation, effets du VEGF, ...) sont déterminés à l'aide de données disponibles dans la littérature pour les uns, et par estimation (en conservant si possible l'ordre de grandeur biologique) pour les autres afin que les résultats numériques soient en accord avec la réalité.

Les valeurs de paramètres utilisées pour les simulations numériques se trouvent dans le Tableau A.1 de l'annexe A.

13.6 Implémentation du modèle

Une fois notre modèle entièrement défini, sa résolution explicite n'étant pas possible, nous l'avons implémenté sur ordinateur. Nous avons tout d'abord validé les sous-modèles d'angiogenèse et de croissance tumorale séparément. Cette première validation s'est faite à l'aide du logiciel Scilab. Cependant, la nécessité d'optimiser la résolution de nos équations est rapidement apparue, les temps de calculs ne permettant plus une analyse optimale du modèle global. Nous avons donc choisi d'utiliser le langage de programmation C++.

Les équations d'évolution des densités de cellules, endothéliales, tumorales et saines (équations (13.1), (13.8), (13.10)), n'étant pas stationnaires, elles ont été résolues par la méthode de splitting, i.e. les différents termes de ces équations ont été traités séparément. Par exemple, l'équation régissant l'évolution de la densité de cellules endothéliales (équation (13.1)) a été résolue en cinq étapes :

- résolution de $\partial_t n = \nabla \cdot (D_e \nabla n)$ (équation de diffusion)
- résolution de $\partial_t n = \alpha n \left(1 - \frac{n + n_S}{N_{max}}\right)$ (équation de réaction)

- résolution de $\partial_t n = -n \nabla \cdot \left(\chi \left(1 - \frac{n + n_S}{N_{max}} \right) \nabla [VEGF] \right)$ (équation d'amplification)
- résolution de $\partial_t n = - \left(\chi \left(1 - \frac{n + n_S}{N_{max}} \right) \nabla [VEGF] \right) \cdot \nabla n$ (équation de transport)
- résolution de $\partial_t n = -\partial_t n_S$

Le membre de droite des équations régissant l'évolution de la densité de cellules tumorales et saines (équations (13.8), (13.10)) peut s'écrire sous la forme générale :

$$\partial_t u + \omega \partial_a u + \mathbf{v} \cdot \nabla u + u \nabla \cdot \mathbf{v} = B \quad (13.22)$$

où $u \in \{P_1, P_2, Q, A, M\}$, $\omega = \mathbb{1}_{\{u \in \{P_1, P_2\}\}}$

La méthode de splitting a alors consisté à résoudre, à chaque pas de temps, les équations de transport $\partial_t u + \mathbf{v} \cdot \nabla u = 0$, et $\partial_t u + \partial_a u = B$, et l'équation d'amplification $\partial_t u + u \nabla \cdot \mathbf{v} = 0$.

Dans le cas d'un modèle à trois dimensions d'espace, chaque entité dépend d'au moins quatre variables : le temps t , les variables d'espace x, y, z (et éventuellement l'âge dans le cycle cellulaire a). Pour une fonction u définie sur la grille de discrétisation, nous noterons $u_{i,j,k}^n$ la valeur approchée de la fonction u au temps t^n , et au point (x_i, y_j, z_k) , où $t^n = n\delta t$, $x_i = i\delta x$, $y_j = j\delta y$, $z_k = k\delta z$, δt étant le pas de temps, et $\delta x, \delta y, \delta z$ les pas d'espace.

13.6.1 Equations de diffusion

Dans notre modèle, les équations gouvernant l'évolution des concentrations en VEGF, endostatine, angiopoïétine-2, oxygène et anticorps anti-VEGF (équations (13.6), (13.7), (13.16), (13.17)), ainsi que l'équation (13.14) sur le potentiel ψ , sont des équations de diffusion stationnaires. La partie diffusion de l'équation (13.1) et l'équation (13.15) sont, quant à elles, non-stationnaires.

Ces équations ont été intégrées sur chaque maille du maillage, la formule de Stokes permettant d'obtenir l'intégrale sur le bord de chaque maille. En discrétisant l'équation obtenue à l'aide d'un schéma de Crank-Nicolson en temps si besoin, et d'un schéma de type MAC (Marker and

Cell, [162]) en espace, nous avons obtenu un système linéaire, résolu à chaque pas de temps. La discrétisation en espace à l'aide du schéma MAC fait apparaître la valeur des entités considérées au centre de chaque maille. Dans le cas de deux dimensions d'espace par exemple, l'équation d'inconnue $u_{i+\frac{1}{2},j+\frac{1}{2}}^{n+1}$ nécessite les valeurs des coefficients de diffusion $D_{i,j+\frac{1}{2}}^{n+1}$, $D_{i+1,j+\frac{1}{2}}^{n+1}$, $D_{i+\frac{1}{2},j}^{n+1}$, $D_{i+\frac{1}{2},j+1}^{n+1}$. Ces coefficients sont approchés par une moyenne harmonique : $D_{i,j+\frac{1}{2}}^{n+1}$ est, par exemple, approché par $\frac{2D_{i-\frac{1}{2},j+\frac{1}{2}}^{n+1} D_{i+\frac{1}{2},j+\frac{1}{2}}^{n+1}}{D_{i-\frac{1}{2},j+\frac{1}{2}}^{n+1} + D_{i+\frac{1}{2},j+\frac{1}{2}}^{n+1}}$.

Remarque : Lorsque le coefficient de diffusion est considéré comme constant, ces calculs sont considérablement simplifiés.

La résolution numérique des systèmes linéaires ainsi obtenus a été réalisée à l'aide de l'outil PETSc ([163], [164]).

La résolution de l'équation (13.7) régissant l'évolution de la concentration en oxygène nécessite que cette dernière soit constante, égale à $[O_2]_{max}$, dans les parties du domaine où la densité de cellules endothéliales stables n'est pas nulle. Afin de respecter cette condition, nous avons utilisé une méthode de pénalisation. Cette méthode consiste à résoudre l'équation :

$$0 = \nabla \cdot (D_O \nabla [O_2]) - (\beta_{1,O} P + \beta_{2,O} Q + \beta_{3,O} M) [O_2] - \delta_O [O_2] + \frac{1}{\varepsilon} ([O_2]_{max} - [O_2]) \mathbb{1}_{\{\mathbf{x} \in \Omega \text{ tq } n_S(\mathbf{x},t) > 0 \forall t \geq 0\}} \quad (13.23)$$

où ε est choisi suffisamment petit (typiquement $\varepsilon = 10^{-10}$). ε étant très petit, la seule situation possible pour résoudre l'équation (13.23) est que $[O_2] = [O_2]_{max}$ sur $\{\mathbf{x} \in \Omega \text{ tq } n_S(\mathbf{x}, t) > 0 \forall t \geq 0\}$.

Cette équation a été résolue de la même manière que les autres équations de diffusion stationnaires (cf ci-dessus).

13.6.2 Equations de transport

Les équations de transport (ou advection) de notre modèle sont de type $\partial_t u + V \cdot \nabla u = 0$ ou $\partial_t u + \partial_a u = 0$. Elles interviennent pour modéliser les processus de chemotaxie des cellules endothéliales instables (cf équation (13.1)), de migration des cellules tumorales et saines (cf système d'équations (13.8), équation (13.10)), et d'évolution en âge des cellules tumorales proliférantes dans le cycle cellulaire (cf deux premières équations du système (13.8)).

L'équation d'évolution en âge des cellules tumorales proliférantes (équivalente à une équation de transport en une dimension d'espace) est résolue par la méthode des différences finies, à l'aide d'un schéma explicite décentré amont, avec $\delta t = \delta a$ (la vitesse de transport étant constante; la condition CFL est ainsi satisfaite).

La discrétisation en espace des autres équations de transport est réalisée à l'aide d'un schéma numérique de type WENO (Weighed Essentially Non-Oscillatory) d'ordre 5 [165], et la discrétisation en temps à l'aide d'un schéma de Runge-Kutta d'ordre 3 [166].

Le schéma de type WENO d'ordre 5 permet d'approcher la solution avec un ordre suffisamment élevé, et donc d'éviter une diffusion numérique trop importante. Il permet également de résoudre les discontinuités du problème. Ce schéma consiste à déterminer une approximation du flux (∇u ou $\partial_a u$) sur le bord de chaque maille à l'aide d'une combinaison convexe de flux sur trois stencils (regroupements de mailles voisines) de trois mailles, les poids de cette combinaison étant choisis de sorte à minimiser l'influence des discontinuités. Une fois la discrétisation en espace effectuée, la discrétisation en temps s'effectue à l'aide d'un schéma de Runge-Kutta d'ordre 3, le pas de temps étant recalculé à chaque itération afin de vérifier la condition CFL :

$$\delta t = C_{CFL} \min\left(\frac{\delta x}{|V_x|_\infty}, \frac{\delta y}{|V_y|_\infty}, \frac{\delta z}{|V_z|_\infty}\right)$$

V_x, V_y, V_z , représentant les composantes du vecteur vitesse V , et $|\cdot|_\infty$ la norme infinie.

13.6.3 Equations d'amplification

Les équations d'amplification de notre modèle sont de type $\partial_t u + u \nabla \cdot \mathbf{V} = 0$. Elles interviennent dans la modélisation du processus de chemotaxie des cellules endothéliales (cf équation (13.1)), ainsi que dans le mouvement d'advection des cellules tumorales et saines (cf équations (13.8), (13.10)). Une équation de ce type se résout explicitement à chaque pas de temps :

$$u^{n+1} = u^n \exp\left(-\int_{t^n}^{t^{n+1}} \nabla \cdot \mathbf{V} dt\right)$$

Dans le cas des cellules tumorales, nous savons que $\nabla \cdot \mathbf{V} = \nabla \cdot \mathbf{v} = \frac{1}{N_0} P_2(a_{max}, P_2)$ d'où $u^{n+1} = \exp\left(-\frac{1}{N_0} P_2(a_{max}, P_2) \delta t\right) u^n$.

Dans le cas des cellules endothéliales, l'expression de V est plus complexe et nécessite une discrétisation en espace (par différences finies décentrées).

13.6.4 Equation de réaction

L'équation de réaction modélisant la prolifération des cellules endothéliales, $\partial_t n = \alpha n \left(1 - \frac{n + n_S}{N_{max}}\right)$, ne fait intervenir que la dérivée partielle en temps. Elle est donc classiquement résolue à l'aide d'un schéma d'Euler explicite en temps.

13.6.5 Echelles de temps

Comme nous l'avons évoqué précédemment, les différents phénomènes que nous considérons dans notre modèle (division cellulaire, diffusion, transport, ...) ne se déroulent pas à la même vitesse. Le transport de cellules se produit sur une échelle de temps environ dix fois plus rapide que la diffusion de molécules / cellules, qui se produit, quant à elle, sur une échelle de temps environ dix fois plus rapide que la division cellulaire dont la durée est de l'ordre du jour. De plus, l'élimination des anticorps se déroule sur une échelle de temps de l'ordre d'un mois. Notre

modèle intègre ainsi quatre échelles de temps.

Afin de gérer au mieux ces différentes échelles, nous avons utilisé une méthode de "subcycling". Nous avons défini trois pas de temps caractéristiques : l'un correspondant à la résolution des équations d'évolution des cellules tumorales dans le cycle cellulaire, le second, dix fois plus petit, correspondant à la résolution des équations de diffusion et de réaction, et le troisième, cent fois plus petit que le premier (et respectant la condition CFL), correspondant à la résolution des équations de transport et d'amplification.

Notre modèle est un modèle continu basé sur des équations aux dérivées partielles de réaction-diffusion, de transport, et d'amplification.

Ce modèle décrit l'évolution spatio-temporelle des densités de cellules endothéliales (stables et instables), de cellules tumorales, ainsi que des concentrations en VEGF, endostatine, angiopoïétines, oxygène et anticorps anti-VEGF.

L'une des particularités de ce modèle est de prendre en compte les propriétés moléculaires des différentes substances biochimiques en modélisant la liaison de ces substances à des récepteurs membranaires spécifiques à l'aide de lois classiquement utilisées en modélisation pharmacologique.

Par ailleurs, des méthodes de résolution numérique adaptées permettent de gérer au mieux les différentes échelles d'espace et de temps.

Cinquième partie

Résultats numériques

Chapitre 14

Visualisation des résultats numériques

Pour visualiser les résultats de nos simulations numériques, nous avons choisi d'utiliser le logiciel ParaView [167], logiciel "Open-Source" multi-plateforme d'analyse et de visualisation de données.

Nous avons cependant rencontré une difficulté dans l'utilisation de ce logiciel qu'il convient de mentionner ici. En effet, au cours de notre étude, la visualisation des fichiers de résultats de simulations a révélé des "stries" sur la représentation de la densité de cellules endothéliales (cf Figure 14.1). Nous avons donc vérifié les codes C++, une erreur de codage pouvant éventuellement expliquer un tel problème. Ne trouvant pas d'explication dans l'implémentation du modèle, nous nous sommes aperçus que le phénomène de "stries" n'était pas reproduit de la même manière (orientation des "stries" inversée) suivant l'environnement de travail (Windows ou Linux). Une visualisation de nos résultats de simulations à l'aide du logiciel Gnuplot a permis de comprendre que le problème de "stries" était purement graphique, et lié au logiciel ParaView (cf Figure 14.1). La création d'un algorithme basique de représentation graphique de nos données numériques, indépendant de Gnuplot, a confirmé l'hypothèse d'une origine purement graphique du problème initial. Ce phénomène ne se produisant pas systématiquement, et conscients qu'il

n'altérerait pas la validité de notre modèle, nous avons décidé de continuer à utiliser le logiciel ParaView pour son intérêt pratique.

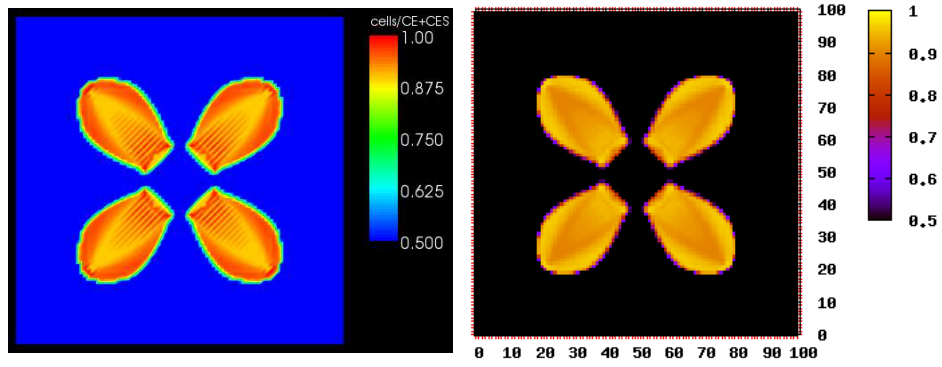


FIGURE 14.1 – Visualisation d’un fichier représentant la densité de cellules endothéliales. A gauche, fichier .vti visualisé avec ParaView (présence de stries). A droite, fichier .dat visualisé avec Gnuplot (absence de strie).

Chapitre 15

Etude de la robustesse du modèle

Afin de vérifier la robustesse du modèle, nous avons testé différents jeux de paramètres. Nous avons fait varier raisonnablement les valeurs des coefficients du modèle qui n'étaient pas fixées par la littérature et vérifié la cohérence des résultats de simulations *in silico*. Ainsi, différentes valeurs des coefficients de production, de dégradation des substances biochimiques, différentes valeurs des paramètres pharmacologiques intervenant dans l'effet du VEGF sur les cellules endothéliales, différentes durées de cycle cellulaire,... ont permis de modifier la dynamique d'évolution des entités du modèle. Toutes les valeurs testées ont fourni des résultats numériques cohérents avec les modifications effectuées.

Nous avons également considéré différentes configurations spatiales initiales. En effet, nous avons testé plusieurs rayons tumoraux, plusieurs répartitions non symétriques des vaisseaux sanguins préexistants autour de la tumeur.

L'évolution des densités de cellules endothéliales et tumorales à partir de conditions initiales non symétriques étant conforme à la définition du modèle, nous avons choisi de travailler sur une configuration symétrique (cf section 13.3.1), permettant de plus de détecter un éventuel problème numérique ultérieur (en cas d'obtention de résultats de simulation *in silico* non symétriques).

Chapitre 16

Etude *in silico* du développement du réseau vasculaire et de la croissance tumorale

Nous avons tout d'abord simulé le processus angiogénique et son impact sur la croissance tumorale sans traitement anti-angiogénique (cf Figure 16.1).

Initialement, les cellules tumorales consomment l'oxygène disponible dans leur environnement pour se diviser, cet oxygène diffusant depuis les vaisseaux préexistants. Rapidement, la quantité d'oxygène "naturellement" disponible devient insuffisante, et le phénomène d'hypoxie survient. Les cellules tumorales proliférantes arrêtent alors de se diviser et deviennent quiescentes. Les cellules les plus au centre de la tumeur sont les plus soumises au manque d'oxygène puisque plus éloignées des sources. Ces cellules meurent, i.e. elles entrent dans la phase apoptotique de notre modèle, phase qui n'est pas représentée sur les résultats de la Figure 16.1. Dès lors, les cellules quiescentes sécrètent du VEGF. Ce VEGF diffuse dans le domaine considéré. Atteignant les vaisseaux sanguins préexistants, le VEGF stimule les cellules endothéliales instables de leur paroi. Ces dernières commencent alors à proliférer et migrer en direction du gradient de concentration en VEGF, i.e. en direction des cellules tumorales quiescentes, et donc de la masse tumorale (cf

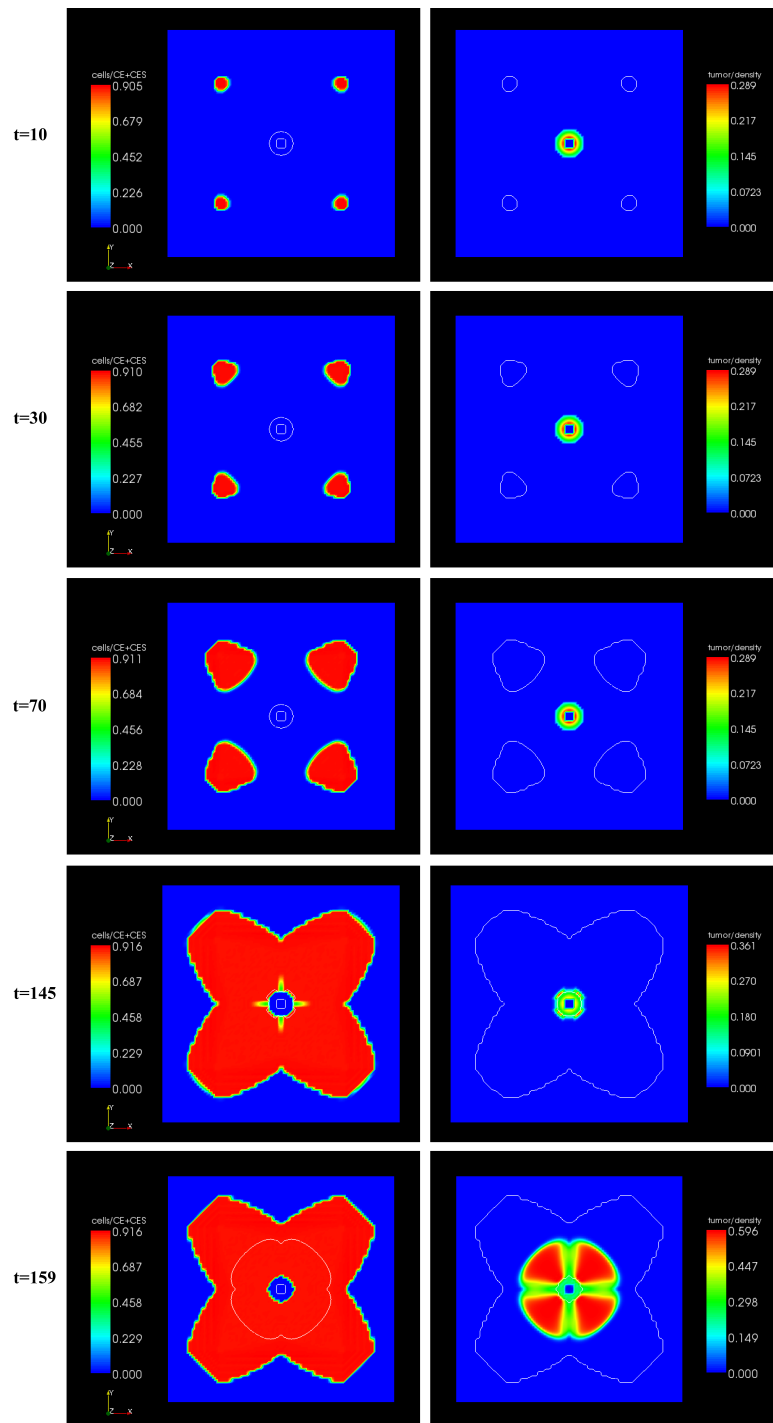


FIGURE 16.1 – De haut en bas : évolution spatio-temporelle des densités de cellules endothéliales (stables et instables) et tumorales. Les images de gauche montrent l'évolution de la densité de cellules endothéliales proliférant et migrant depuis les vaisseaux préexistants vers la tumeur. Le contour de la tumeur est représenté par un trait fin. Les images de droite montrent l'évolution de la densité de cellules tumorales (proliférantes et quiescentes). Le contour de la distribution de cellules endothéliales est représenté par un trait fin.

Figure 16.1, $t=10$).

Le processus de maturation permet de stabiliser, sous certaines conditions, les cellules instables, et d'aboutir à des vaisseaux sanguins fonctionnels (représentés par les cellules stables) constituant de nouvelles sources d'oxygène. Cependant, tant que ces néo-vaisseaux n'ont pas atteint le voisinage de la tumeur, l'oxygène disponible à proximité de la masse tumorale reste insuffisant. Les cellules quiescentes continuent donc à sécréter du VEGF, engendrant ainsi le développement du réseau vasculaire dans leur direction (cf Figure 16.1, $t=30$ et $t=70$).

Dès que les néo-vaisseaux sont suffisamment proches de la tumeur, la quantité d'oxygène disponible au voisinage de celle-ci augmente, ce qui permet aux cellules tumorales situées sur le bord de la tumeur, jusque là quiescentes, de reprendre leur cycle de division (cf Figure 16.1, $t=145$). Cependant, ces néo-vaisseaux ne pouvant pénétrer jusqu'au centre de la tumeur (cf section 12.2), les cellules tumorales les plus éloignées du bord de la tumeur ne perçoivent pas ce nouvel apport en oxygène et restent quiescentes, voire deviennent apoptotiques.

A la fin de notre expérience *in silico*, la tumeur se compose d'un centre apoptotique, entouré d'une zone de cellules quiescentes, elle-même entourée d'une zone de cellules proliférantes (cf Figure 16.1, $t=159$). Cette composition est cohérente avec les observations biologiques de croissance *in vitro* de tumeurs sphéroïdes [168].

Les résultats de simulations *in silico* sans médicaments étant conformes à la définition du modèle et aux résultats d'expérimentations *in vitro*, nous avons donc simulé l'action de différentes thérapies anti-angiogéniques sur le développement du réseau vasculaire, et leurs conséquences sur la croissance tumorale.

Chapitre 17

Etude *in silico* de l'effet de traitements anti-angiogéniques

Comme nous l'avons vu précédemment (cf section 12.3), les traitements anti-angiogéniques que nous avons considérés sont basés sur l'inhibition de l'action du VEGF sur les cellules endothéliales. Ces deux traitements consistent, d'une part, à capter les molécules de VEGF libre à l'aide d'anticorps anti-VEGF (traitement A), et, d'autre part, à empêcher la liaison du VEGF aux récepteurs membranaires des cellules endothéliales, au moyen d'un inhibiteur compétitif endogène, l'endostatine (traitement B).

17.1 Effet d'anticorps anti-VEGF (Traitement A)

17.1.1 Effet du traitement sur la croissance tumorale

Nous avons simulé l'action d'anticorps anti-VEGF capables de se lier aux molécules de VEGF libre, et donc de prévenir la fixation de ces dernières aux récepteurs membranaires des cellules endothéliales, et d'inhiber ainsi la prolifération et la migration de ces cellules, mécanismes clés de l'angiogenèse.

Nous avons supposé que des anticorps anti-VEGF apparaissent uniformément dans le domaine étudié, jouant un rôle de récepteur pour le VEGF. Afin d'analyser l'effet de ce traitement sur le processus angiogénique, nous avons simulé l'apparition quasi-instantanée d'anticorps anti-VEGF, modélisant une perfusion rapide du traitement, à $t = 30$, avec une dose correspondant à $\alpha_{Ac} = 1$.

Avant l'administration du traitement, il n'y a pas de différence d'évolution entre les deux simulations (cf Figure 17.1, $t=25$). Suite à l'administration du traitement, le développement du réseau vasculaire ralentit (cf Figure 17.1, $t=45$). En effet, les molécules de VEGF libre se liant aux anticorps, il ne reste plus suffisamment de molécules de VEGF libre pour permettre une stimulation "normale" des cellules endothéliales déstabilisées. Ces dernières prolifèrent moins, voire meurent progressivement, d'où un ralentissement dans le développement du réseau vasculaire. Tant que la quantité d'anticorps anti-VEGF est suffisante, les cellules endothéliales déstabilisées continuent à moins proliférer et migrer. Le réseau se développe plus lentement que dans le cas de la tumeur traitée. Puis, les anticorps se dégradent naturellement, et le VEGF continuant à être produit par les cellules tumorales quiescentes, la concentration en molécules de VEGF libre augmente à nouveau régulièrement jusqu'à atteindre un niveau permettant une stimulation suffisante des cellules endothéliales déstabilisées restantes. Les anticorps ont alors de moins en moins d'effet sur le VEGF, et le processus angiogénique redémarre progressivement jusqu'à retrouver un fonctionnement "normal".(cf Figure 17.1, $t=65$).

A la fin de la simulation *in silico*, le réseau vasculaire de la tumeur traitée est moins développé que celui de la tumeur non traitée. Le traitement par anticorps anti-VEGF a ainsi permis de retarder le développement du réseau vasculaire tumoral (cf Figure 17.1, $t=159$).

Ce retard de développement du réseau vasculaire induit par le traitement a pour conséquence de retarder l'apport d'oxygène aux cellules tumorales quiescentes, et donc de retarder le processus global de croissance tumorale. Ainsi, à la fin de l'expérience, la tumeur traitée est beaucoup moins développée que la tumeur non traitée (cf Figure 17.2).

Afin d'effectuer une étude plus "quantitative" que la précédente, nous avons comparé l'évolution temporelle des quantités totales d'anticorps et de VEGF (cf Figure 17.3), ainsi que celle du nombre total de cellules tumorales proliférantes et quiescentes et du nombre total de cellules endothéliales, stables et instables, sur tout le domaine d'étude (cf Figure 17.4). Cette méthode permet

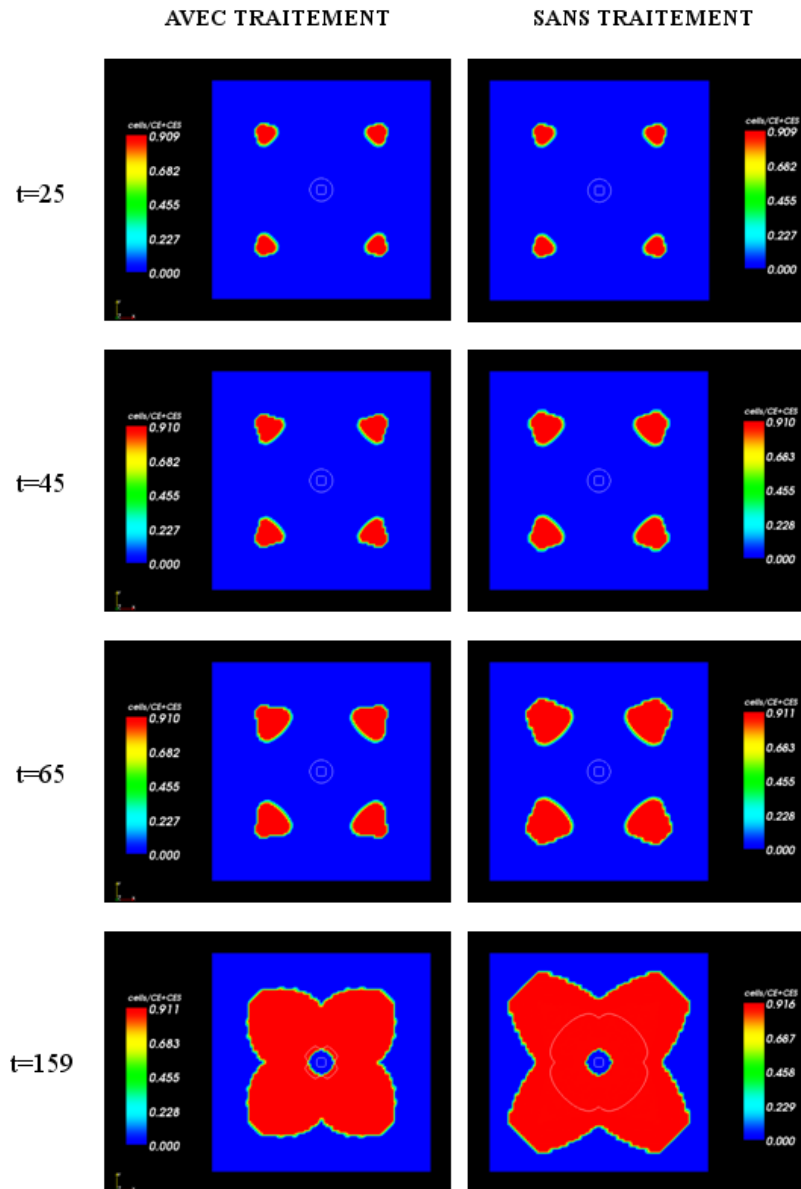


FIGURE 17.1 – De haut en bas : évolution spatio-temporelle de la densité de cellules endothéliales (stables et instables) avec (à gauche) et sans (à droite) administration d'anticorps anti-VEGF à $t=30$. Le trait fin représente le contour de la tumeur.

de visualiser la dynamique temporelle du système, mais présente l'inconvénient de délaisser la dimension spatiale du problème; les deux méthodes de comparaison sont donc complémentaires.

La comparaison de l'évolution temporelle des quantités totales d'anticorps et de VEGF, dans

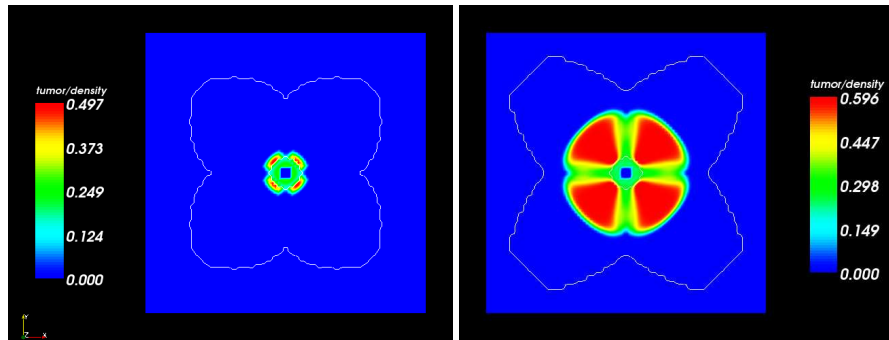


FIGURE 17.2 – Densité de cellules tumorales au temps $t=159$ (fin de la simulation) avec (à gauche) et sans (à droite) production d'anticorps anti-VEGF. Le trait fin représente le contour de la densité de cellules endothéliales. Le volume de la tumeur traitée est beaucoup plus faible que celui de la tumeur non traitée.

le cas traité et dans le cas non traité, nous permet d'analyser l'effet de la liaison du VEGF aux anticorps. Ainsi, après le début du traitement (i.e. après $t=30$), la quantité totale d'anticorps est classiquement de type exponentiellement décroissante (cf Figure 17.3, image de gauche). L'apparition quasi-instantanée d'anticorps engendre une diminution brutale de la quantité de VEGF libre. Cette diminution est fonction de la quantité d'anticorps administrée. Puis, les anticorps se dégradent naturellement, leur quantité diminue; la quantité de VEGF libre réaugmente donc progressivement du fait de sa production continue par les cellules tumorales quiescentes (cf Figure 17.3, image de droite).

L'étude de l'évolution temporelle du nombre total de cellules endothéliales permet de retrouver le phénomène de ralentissement du développement du réseau vasculaire précédemment décrit, ce phénomène étant directement liée à l'évolution de la concentration en VEGF (cf Figure 17.4, image de droite). Le ralentissement du développement du réseau vasculaire retarde l'apport en oxygène, et diffère donc d'autant la croissance tumorale (cf Figure 17.4, image de gauche).

17.1.2 Influence du schéma thérapeutique

Dans notre modèle, le traitement par anticorps anti-VEGF est caractérisé par la dose d'anticorps, représentée par le taux de production de ces anticorps (coefficient α_{Ac} dans l'équation (13.15)). Différentes valeurs de ce taux de production permettent donc de définir plusieurs

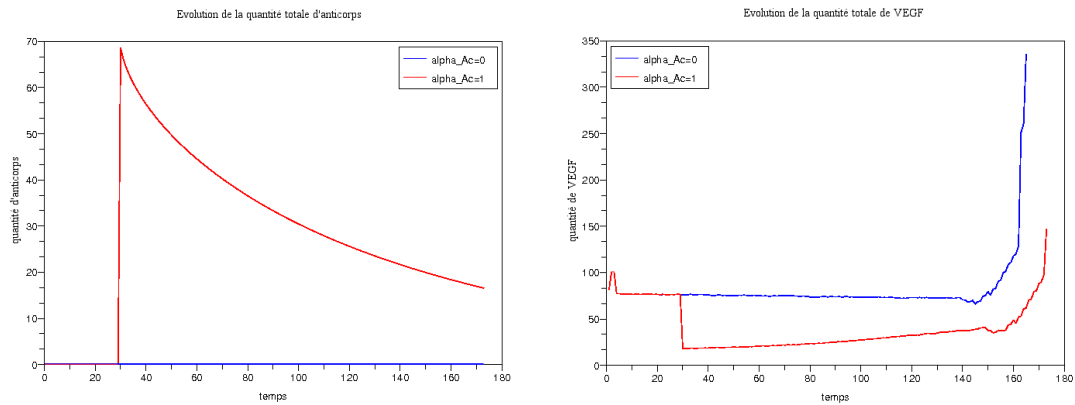


FIGURE 17.3 – A gauche : évolution temporelle de la quantité totale d'anticorps anti-VEGF avec (courbe rouge) et sans (courbe bleue) administration d'anticorps. A droite : idem pour la quantité totale de VEGF.

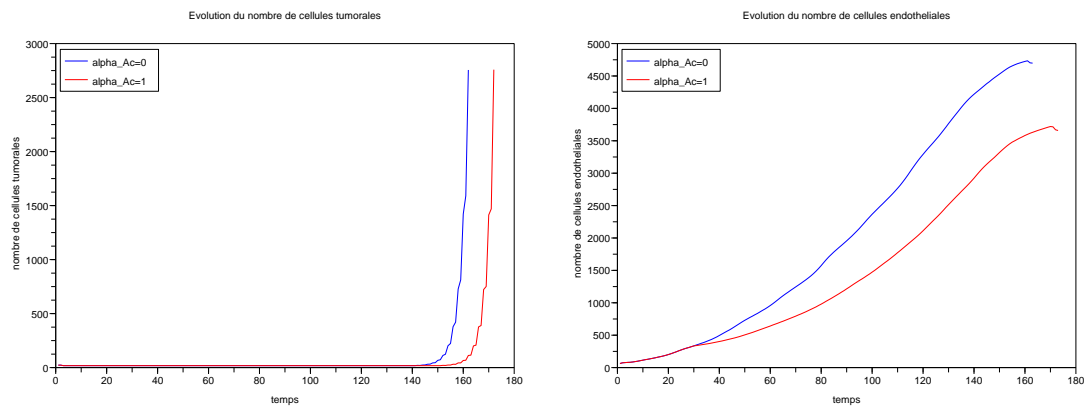


FIGURE 17.4 – A gauche : évolution temporelle du nombre total de cellules tumorales avec (courbe rouge) et sans (courbe bleue) administration d'anticorps. A droite : idem pour le nombre total de cellules endothéliales (stables et instables).

doses de traitement. Afin de pouvoir comparer l'efficacité de ces traitements sur la croissance tumorale, nous avons utilisé le critère d'efficacité 1 défini à la section 13.4. Ce critère représente la durée entre le début de la simulation et le début de la croissance tumorale (représenté par le temps à partir duquel le nombre de cellules tumorales dépasse un seuil donné).

La Figure 17.5 représente l'évolution du critère d'efficacité 1 en fonction du taux de production des anticorps anti-VEGF, i.e. en fonction de la dose du traitement. On remarque alors que l'efficacité du traitement dépend quasi-linéairement de sa dose.

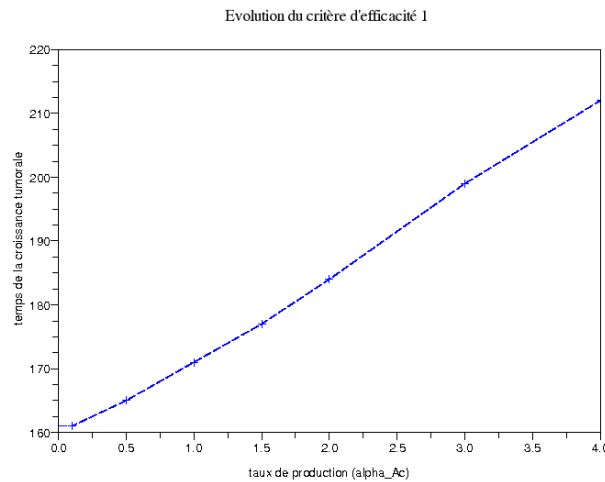


FIGURE 17.5 – Evolution du critère d'efficacité 1 (délai entre le début de la simulation et le début de la croissance tumorale) en fonction du taux de production (ou dose) des anticorps anti-VEGF. Plus la dose augmente, plus la croissance tumorale est retardée.

17.2 Effet d'une thérapie génique (Traitement B)

17.2.1 Effet du traitement sur la croissance tumorale

Nous avons également simulé l'effet d'une thérapie génique basée sur la production d'endostatine (cf section 12.3). Nous avons supposé que ce traitement induisait une surproduction d'endostatine par les cellules tumorales. Afin d'analyser l'effet d'un tel traitement sur l'angiogenèse tumorale, nous avons comparé les résultats numériques obtenus pour une dose correspondant à $C_{endos} = 100$ et un intervalle de traitement $[t_2; t_3] = [30; 60]$ à ceux obtenus en l'absence de traitement (présentés Chapitre 16) (cf Figure 17.6).

Initialement (i.e. avant $t=30$), le système se comporte à l'identique dans les deux cas (ce qui n'est pas surprenant puisque le traitement n'a pas encore été administré) (cf Figure 17.6, $t=25$). Puis, la surproduction d'endostatine engendre la régression du réseau vasculaire (cf Figure 17.6, $t=45$). En effet, les molécules d'endostatine produites en excès se lient aux récepteurs Flk-1 à la place des molécules de VEGF. Les cellules endothéliales instables ne sont donc plus suffisamment stimulées, elles arrêtent leur migration et leur prolifération, et meurent petit à petit. Cependant, dès que la surproduction d'endostatine s'arrête, l'angiogenèse redémarre (cf Figure 17.6, $t=65$).

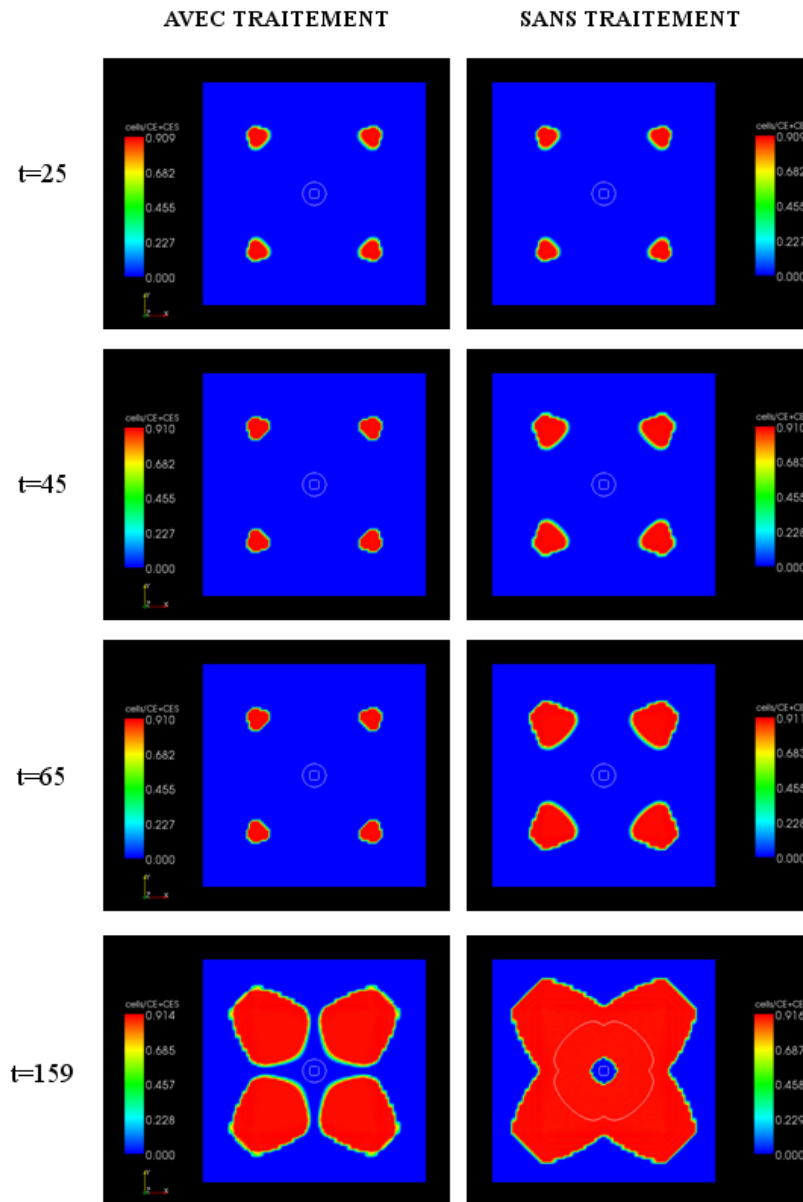


FIGURE 17.6 – De haut en bas : évolution spatio-temporelle de la densité de cellules endothéliales avec (à gauche) et sans (à droite) surproduction d'endostatine (entre $t=30$ et $t=60$). Le trait fin représente le contour de la tumeur.

Néanmoins, le traitement a permis de retarder le développement du néo-réseau vasculaire. A la fin de notre simulation, le réseau vasculaire tumoral est donc moins développé dans le cas traité qu'il ne l'est dans le cas non traité (cf Figure 17.6, $t=159$).

L'une des conséquences directes de ce ralentissement du développement du réseau vasculaire dû à la surproduction d'endostatine est un ralentissement de la croissance tumorale : la tumeur concernée par la surproduction d'endostatine ne s'est pas développée, alors que la tumeur non concernée a, quant à elle, commencé à croître (cf Figure 17.7).

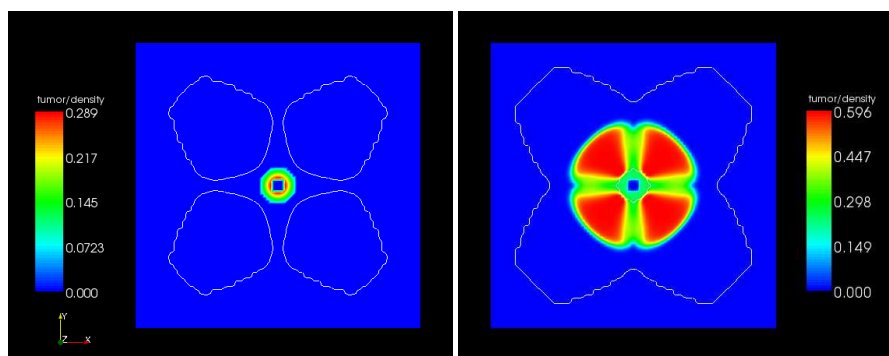


FIGURE 17.7 – Densité de cellules tumorales au temps $t=159$ (fin de la simulation) avec (à gauche) et sans (à droite) surproduction d'endostatine. Le trait fin représente le contour de la densité de cellules endothéliales.

Comme nous l'avions fait pour le traitement basé sur les anticorps anti-VEGF, nous avons comparé l'évolution temporelle du nombre total de cellules tumorales proliférantes et quiescentes, ainsi que celle du nombre total de cellules endothéliales, stables et instables, sur tout le domaine d'étude (cf Figure 17.8). Cette méthode permet de visualiser la dynamique temporelle du système, mais présente l'inconvénient de délaissier la dimension spatiale du problème ; les deux méthodes de comparaison sont donc complémentaires. Cette étude nous permet d'apprécier la régression du réseau vasculaire précédemment observée suite à la surproduction d'endostatine, traduite par une baisse du nombre total de cellules endothéliales (due à l'apoptose de cellules endothéliales instables) (cf Figure 17.8, image de droite). Cette baisse du nombre de cellules endothéliales ralentit la formation des néo-vaisseaux, et prive donc un peu plus longtemps la tumeur d'oxygène, d'où son retard de croissance (cf Figure 17.8, image de gauche).

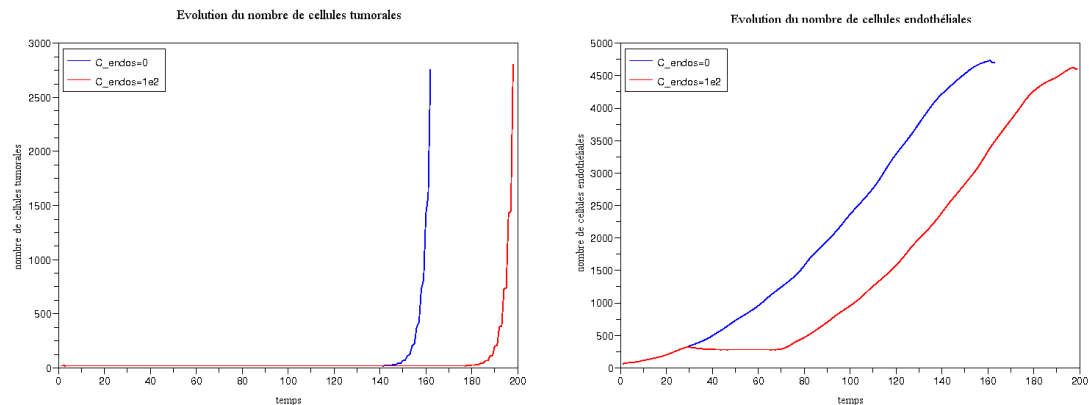


FIGURE 17.8 – A gauche : évolution temporelle du nombre total de cellules tumorales avec (courbe rouge) et sans (courbe bleue) surproduction d'endostatine. A droite : idem pour le nombre total de cellules endothéliales (stables et instables).

17.2.2 Influence du schéma thérapeutique

Dans notre modèle, le traitement basé sur l'endostatine est caractérisé par deux paramètres : la durée de la surproduction (représentée par l'intervalle de temps $[t_2; t_3]$ dans l'équation (13.17)), et le taux de surproduction (représenté par le coefficient C_{endos} dans l'équation (13.17)). La durée de surproduction peut être interprétée comme la durée du traitement. Nous parlerons donc indifféremment de durée de surproduction et de durée de traitement. Le taux (ou coefficient) de surproduction peut, quant à lui, être interprété comme la dose de traitement. Différentes valeurs de ces deux paramètres permettent donc de définir plusieurs schémas thérapeutiques. Le temps auquel le traitement débute restant le même pour les différents schémas.

La Figure 17.9 représente l'évolution temporelle du nombre de cellules tumorales et du nombre de cellules endothéliales (stables et instables) pour différents schémas thérapeutiques, i.e, pour différentes doses et différentes durées de traitement, la quantité d'endostatine surproduite restant la même. Ces résultats permettent de constater que, pour une même quantité d'endostatine surproduite, le traitement diffère plus le développement du réseau vasculaire, et donc la croissance tumorale lorsque la dose est faible sur une durée longue, que lorsque la dose est plus forte mais

sur une durée plus courte. Ces résultats sont en accord avec les résultats d'expérimentations biologiques selon lesquels une perfusion d'endostatine continue serait plus efficace pour retarder la croissance tumorale qu'une administration en bolus [146, 147].

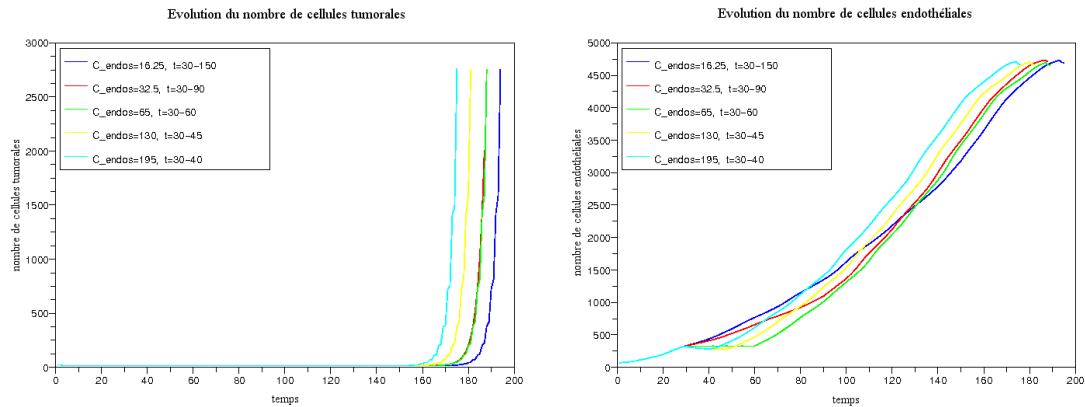


FIGURE 17.9 – Evolution temporelle du nombre de cellules tumorales (à gauche) et du nombre de cellules endothéliales (à droite) pour différents schémas thérapeutiques : le taux de surproduction augmente lorsque la durée de surproduction diminue afin d'avoir toujours la même quantité d'endostatine surproduite. Une dose faible sur une durée longue permet de retarder l'évolution des cellules endothéliales, et donc la croissance tumorale, plus longtemps qu'une dose plus forte sur une durée plus courte.

Afin de pouvoir comparer l'influence du schéma thérapeutique d'un tel traitement sur la croissance tumorale, nous avons utilisé les critères d'efficacité définis dans la section 13.4. Rappelons que le critère 1 représente la durée entre le début de la simulation et le début de la croissance tumorale (i.e. le temps au delà duquel le nombre total de cellules tumorales dépasse un seuil donné). Le critère 2 représente la durée entre la fin du traitement et le début de la croissance tumorale. Ce critère 2 permet ainsi d'"éliminer" la durée du traitement.

17.2.2.1 Evolution du critère d'efficacité 1

La Figure 17.10 présente l'évolution du critère 1 en fonction du taux de surproduction, pour différentes durées de surproduction, chaque courbe correspondant à une durée donnée. Les courbes représentées sur cette figure possèdent toutes le même comportement triphasique : une phase de croissance modérée, suivie d'une phase de croissance plus forte, puis d'une phase de stabilisation.

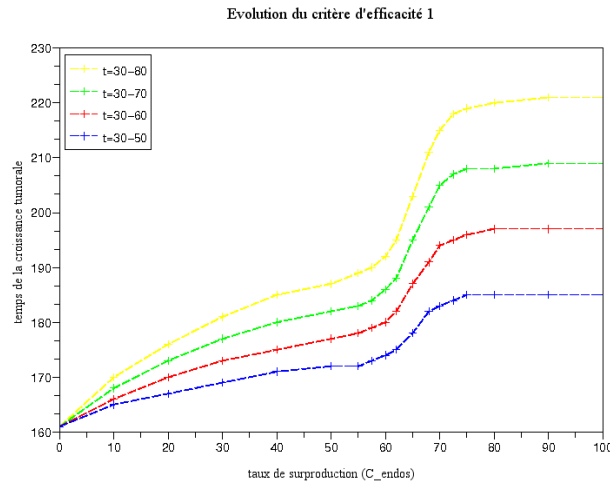


FIGURE 17.10 – Evolution du critère d'efficacité 1 (délai entre le début de la simulation et le début de la croissance tumorale) en fonction du coefficient de surproduction (abscisses), pour différentes durées de surproduction (couleurs).

Pour des taux de surproduction faibles, l'évolution du critère suit un modèle classique de compétition entre un agoniste et son antagoniste. En effet, dans notre modèle, le VEGF et l'endostatine sont en compétition pour la liaison aux récepteurs membranaires Flk-1 (cf section 12.2). Cette compétition dépend des concentrations en VEGF et endostatine, ainsi que de leurs affinités respectives pour les récepteurs Flk-1. Les taux de prolifération et de migration des cellules endothéliales sont donc fonction de cette compétition.

Lorsque le taux de surproduction augmente, la concentration en endostatine augmente, et les cellules endothéliales sont de moins en moins stimulées par le VEGF (cf section 13.2.1). Lorsque cette concentration devient plus importante que celle du VEGF (en tenant compte de leurs affinités respectives), les récepteurs Flk-1 sont de plus en plus occupés par les molécules d'endostatine. Les cellules endothéliales sont alors de moins en moins stimulées par le VEGF, et tendent à mourir (cf Figure 13.1). La formation des néo-vaisseaux est donc nettement retardée, d'où la forte croissance du critère d'efficacité.

Puis, pour des taux de surproduction plus importants, l'effet du VEGF sur la prolifération des cellules endothéliales est quasiment nul. Le taux de prolifération des cellules endothéliales atteint donc sa valeur la plus faible (négative) (cf Figure 13.1) ; le taux d'apoptose des cellules endothéliales est alors maximal. L'augmentation de la concentration en endostatine ne modifie

alors plus le comportement du système, d'où la phase de saturation.

D'après ces courbes d'évolution, il serait plus efficace (au sens du critère d'efficacité 1) d'augmenter la durée du traitement plutôt que sa dose. En effet, une augmentation de la durée du traitement induit une plus forte augmentation du critère d'efficacité 1 qu'une augmentation de la dose. On retrouve donc bien les résultats de la Figure 17.9.

17.2.2.2 Evolution du critère d'efficacité 2

Le critère d'efficacité 2 permet de ne pas tenir compte de la durée du traitement, et d'étudier ainsi le délai entre l'arrêt du traitement et le début de la croissance tumorale.

La Figure 17.11 présente l'évolution du critère d'efficacité 2 en fonction du taux de surproduction, pour différentes durées de surproduction, chaque courbe correspondant à une durée donnée.

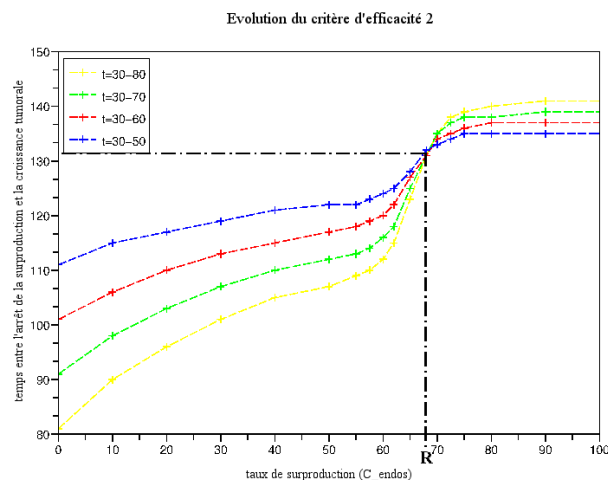


FIGURE 17.11 – Evolution du critère d'efficacité 2 (délai entre l'arrêt du traitement et le début de la croissance tumorale) en fonction du coefficient de surproduction (abscisses), pour différentes durées de surproduction (couleurs). Toutes les courbes s'intersectent en un même point, correspondant à un coefficient de surproduction noté "R".

L'allure des courbes prises individuellement est la même que pour le critère d'efficacité 1 (comportement triphasique). Cependant, leur allure globale est différente. En effet, toutes les

courbes se coupent en un même et unique point. Il existe donc un coefficient de surproduction, que nous noterons "R" par la suite, pour lequel la valeur du critère d'efficacité 2 est la même quelque soit la durée de la surproduction. Ainsi, pour ce taux de surproduction "R", le délai entre l'arrêt du traitement et le début de la croissance tumorale reste inchangé quelque soit la durée du traitement. Une analyse du modèle nous permet de conclure que ce taux de surproduction "R" correspond à une concentration d'endostatine annulant le taux de prolifération des cellules endothéliales (cf Figure 13.1). Dans ce cas, le processus de prolifération des cellules endothéliales est arrêté. Ainsi, quelque soit la durée du traitement, le réseau vasculaire est dans la même configuration à la fin du traitement qu'au début du traitement (le taux de migration étant très faible du fait de la concentration en endostatine). Pour ce taux de surproduction "R", le délai entre l'arrêt du traitement et le début de la croissance tumorale sera donc le même quelque soit la durée du traitement.

Pour des taux de surproduction inférieurs à "R", l'augmentation de la durée du traitement a des effets néfastes sur l'efficacité du traitement (au sens du critère d'efficacité 2). En effet, plus la durée du traitement augmente, plus la croissance tumorale débute rapidement après l'arrêt du traitement. Ce phénomène est plus connu sous le nom d'"effet rebond". Cet effet est une conséquence directe de l'inhibition de la liaison du VEGF aux récepteurs Flk-1. Pendant la durée du traitement, le processus angiogénique est ralenti, mais les cellules tumorales quiescentes continuent à sécréter du VEGF. Ne pouvant se lier aux récepteurs Flk-1 du fait de la présence d'endostatine, le VEGF libre s'accumule dans le tissu environnant. A l'arrêt du traitement, le VEGF peut à nouveau se lier aux récepteurs Flk-1. Il y a alors une forte stimulation des cellules endothéliales, d'où un développement plus rapide du réseau vasculaire.

Pour des taux de surproduction supérieurs au taux "R", contrairement au cas de taux inférieurs à "R", on observe un avantage thérapeutique (au sens du critère d'efficacité 2) à augmenter la durée du traitement. En effet, pour un taux de surproduction élevé, la forte concentration en endostatine engendre la mort de cellules endothéliales instables, ces dernières n'étant plus suffisamment stimulées par le VEGF (cf Figure 13.1). Cependant, la diminution du nombre de cellules endothéliales instables engendre inévitablement une diminution du nombre de récepteurs membranaires Flk-1. A l'arrêt du traitement, le VEGF libre ne dispose donc que de très peu de récepteurs potentiels : l'"effet rebond" observé pour des taux de surproduction faibles est ainsi

atténué.

Ainsi, notre modèle permet de reproduire le processus d'angiogenèse et ses conséquences sur la croissance tumorale. Ce modèle permet de représenter l'évolution spatio-temporelle des densités de cellules endothéliales et tumorales, ainsi que celle des concentrations en oxygène et en différentes substances pro- et anti-angiogéniques. Les résultats in silico obtenus sont conformes à la définition de notre modèle, et en accord avec les observations biologiques.

De plus, notre modèle permet de simuler l'action de traitements anti-angiogéniques, et plus spécifiquement, des deux principaux modes d'action anti-VEGF, à savoir les anticorps anti-VEGF, et l'endostatine, inhibiteur compétitif du VEGF.

Bien que qualitatifs, les résultats de simulation présentés ci-dessus traduisent la difficulté inhérente à l'élaboration de protocoles thérapeutiques.

Sixième partie

Discussion

Chapitre 18

Propriétés du modèle

L'angiogenèse joue un rôle déterminant dans le développement des cancers. Notre modèle prend en compte les principaux mécanismes en jeu dans l'angiogenèse et la croissance tumorale. Ainsi, notre modèle permet de reproduire le mouvement de la population de cellules endothéliales constituant la paroi des vaisseaux sanguins, soumise au stimulus angiogénique induit par les cellules tumorales. De plus, notre modèle retranscrit la réponse des cellules tumorales aux modifications de la concentration en oxygène induites par la création du nouveau réseau vasculaire. Notre modèle prend également en compte le rôle de différentes substances pro- et anti-angiogéniques.

L'une des particularités de notre modèle est de comporter plusieurs échelles d'espace. En effet, notre modèle prend non seulement en compte des phénomènes se produisant à l'échelle tissulaire, tels que la prolifération et la migration de cellules, usuellement décrits dans les modèles disponibles dans la littérature, mais également des processus se déroulant à l'échelle moléculaire. Ainsi, notre modèle intègre les relations de compétition existant entre le VEGF et l'endostatine pour la liaison au récepteur Flk-1, et entre l'angiopoïétine-1 et l'angiopoïétine-2 pour la liaison au récepteur Tie2. Ces liaisons régulent en grande partie le processus de formation des néo-vaisseaux tumoraux.

Contrairement à la majorité des modèles d'angiogenèse existants, notre modèle permet d'étudier l'activation de l'angiogenèse en fonction des propriétés moléculaires des substances biochi-

miques considérées. Il permet ainsi d'étudier les effets de substances pro- et anti-angiogéniques sur la croissance tumorale. Il offre donc la possibilité de simuler l'action de différents traitements anti-angiogéniques sur la croissance tumorale.

Par ailleurs, l'élaboration de ce modèle a été réalisée en concertation avec des biologistes et des médecins. Ceci nous permet d'assurer la cohérence de notre modèle avec la réalité. Ainsi, les résultats numériques sont qualitativement en accord avec les résultats d'expérimentations biologiques, *in vitro* et *in vivo*. Nous pouvons ainsi considérer que la validation qualitative externe de notre modèle est satisfaisante.

De nombreuses thérapies anti-angiogéniques ont été développées ces dernières années afin d'essayer de faire du cancer une maladie chronique. Notre modèle permet de simuler l'action de telles thérapies. Nous avons choisi de baser notre analyse sur les molécules anti-VEGF représentatives de thérapies anti-angiogéniques actuellement utilisées cliniquement. Ainsi, le bevacizumab est un anticorps monoclonal anti-VEGF qui, en se liant au VEGF, empêche l'activation de la prolifération et la migration des cellules endothéliales. L'endostatine, quant à elle, est capable de se lier aux récepteurs Flk-1 sur les sites de fixation du VEGF, empêchant également l'action du VEGF sur les cellules endothéliales. Les résultats numériques mettent en évidence la possibilité d'apparition d'un effet rebond à l'arrêt du traitement, et traduisent ainsi la difficulté inhérente à l'élaboration de protocoles thérapeutiques qui soient les plus efficaces possible, avec le moins d'effets secondaires possibles pour le patient.

Par ailleurs, l'implémentation du modèle est faite de manière à pouvoir facilement lui intégrer de nouveaux mécanismes biologiques, permettant ainsi d'étudier l'implication d'autres mécanismes dans le processus angiogénique ou de croissance tumorale. Son implémentation permet également une réutilisation des sous-modèles pour modéliser d'autres pathologies impliquant l'angiogenèse, telles que la dégénérescence maculaire liée à l'âge par exemple.

Chapitre 19

Limites du modèle

Les principales limites de notre modèle sont induites par le choix des outils mathématiques, ainsi que par le choix des mécanismes biologiques pris en compte.

19.1 Modélisation

Notre modèle est un modèle qualitatif, et sa complexité rend toute étude quantitative difficile. Cependant, la complexité du processus biologique est si élevée que chaque expérience *in vitro* ou *in vivo* est associée à un contexte bien particulier. Une approche qualitative peut ainsi permettre d'analyser des questions complexes telles que l'effet global de nouvelles thérapies.

Par ailleurs, nous avons choisi de baser notre modèle sur une approche continue. Cette approche permet de prendre en compte l'évolution spatio-temporelle de densités de cellules et de concentrations en substances biochimiques par l'intermédiaire d'équations aux dérivées partielles. Contrairement à l'approche discrète, l'approche continue ne permet pas de représenter la structure du réseau vasculaire. Cependant, cette approche est numériquement moins coûteuse que l'approche discrète qui nécessite, de plus, une connaissance précise des processus étudiés.

L'objectif de notre projet étant d'analyser l'effet de thérapies anti-angiogéniques sur la crois-

sance tumorale, nous avons choisi de privilégier les interactions moléculaires en jeu dans l'angiogenèse, et de ne pas prendre en compte les éventuelles modifications de la structure du réseau vasculaire induites par ces traitements. Par ailleurs, les résultats numériques obtenus par une approche continue sont visuellement plus proches de résultats d'imagerie médicale potentiellement disponibles dans la littérature.

19.2 Biologie

Afin de faire un compromis entre la consistance du modèle et sa complexité, et ce pour permettre une analyse correcte, nous avons également volontairement négligé certains mécanismes biologiques intervenant dans l'angiogenèse et/ou la croissance tumorale.

Tout d'abord, nous avons modélisé le processus de maturation des vaisseaux sanguins de manière plutôt phénoménologique. En effet, nous avons supposé que ce phénomène était directement lié à l'effet de l'angiopoïétine-1, substance dont nous avons considéré la concentration constante. Cependant, le processus de maturation repose biologiquement sur le recrutement de fibroblastes présents dans le tissu environnant. Ces fibroblastes viennent alors, par mouvement de chemotaxie, "gagner" les vaisseaux préexistants (cf Chapitre 5). Prendre en compte cette population de cellules aurait certes permis de rendre le modèle plus réaliste, mais au prix d'une complexification du modèle qui aurait rendu son étude beaucoup plus difficile.

Par ailleurs, nous avons choisi de ne pas prendre en compte certaines contraintes biomécaniques.

Nous avons, par exemple, supposé que l'expansion de la masse tumorale était seulement due au mouvement d'advection engendré par la division des cellules tumorales proliférantes. Cependant, la tumeur est également soumise à des forces biomécaniques telles que le stress exercé par le tissu environnant, l'adhésion cellule-cellule, l'adhésion cellule-matrice extracellulaire [169], affectant sa

croissance.

Des forces biomécaniques peuvent également affecter la croissance du réseau vasculaire. Dans notre modèle, nous avons pris en compte l'affinité des cellules endothéliales l'une pour l'autre (cf section 12.2), ou adhésion cellule-cellule. Notre modèle n'intègre pas l'adhésion cellule-matrice extracellulaire, ni l'action de stress générés par le tissu environnant.

Des interactions biomécaniques existent également entre la tumeur et le réseau vasculaire. Ainsi, les phénomènes de collapsus et régression vasculaires ont été observés expérimentalement à l'intérieur de la tumeur [62]. Ce phénomène est, à ce jour, encore mal expliqué, mais pourrait être induit par des stress biomécaniques, par exemple la pression interstitielle, créés par la masse tumorale croissante [63]. Le collapsus et la régression vasculaires réduisent le flux sanguin, et donc également l'apport en oxygène et nutriments. Ce phénomène peut donc affecter la croissance tumorale, en réduisant la densité de cellules tumorales proliférantes. Dans notre modèle, nous avons supposé que les phénomènes de prolifération et migration des cellules endothéliales étaient réduits lorsque la densité tumorale devenait trop élevée. Cette hypothèse permet de modéliser de manière phénoménologique l'impact de la croissance tumorale sur le développement du réseau vasculaire. Une modélisation plus mécanistique des phénomènes de collapsus et régression vasculaires serait plus accessible par une approche discrète, permettant de décrire l'évolution de la structure des vaisseaux sanguins. Cependant, une telle description n'était pas indispensable compte-tenu des objectifs du projet.

Concernant les traitements anti-angiogéniques, nous avons modélisé deux traitements anti-VEGF différents. Cependant, leur action est décrite de manière plutôt phénoménologique (cf section 12.3).

Dans le cas des anticorps anti-VEGF, nous avons supposé que ces derniers apparaissaient uniformément dans le domaine considéré. Cependant, en milieu clinique, ce type de traitement est, la plupart du temps, injecté par voie intraveineuse, et parvient donc jusqu'à la tumeur par l'intermédiaire du flux sanguin. La répartition des anticorps n'est donc pas obligatoirement uniforme.

Dans le cas de la thérapie génique basée sur l'endostatine, nous avons considéré l'action des adénovirus sur les cellules tumorales, et avons supposé que, initialement injectés dans la masse

tumorale, ils ne diffusaient pas, ou très peu, en dehors de la tumeur. Ainsi, nous avons négligé leur action sur les cellules endothéliales.

De plus, dans les deux cas, nous n'avons simulé qu'une seule période de traitement. Cette hypothèse nous a permis de négliger une éventuelle réponse du système immunitaire à la présence d'anticorps ou de virus dans l'organisme. Cependant, en milieu clinique, les traitements sont, la plupart du temps, administrés plusieurs fois à un même patient. Afin que le modèle soit réaliste, la modélisation de plusieurs périodes de traitement aurait donc dû comprendre la modélisation de la réponse immunitaire. Un tel ajout d'informations dans le modèle nécessiterait de connaître un ordre de grandeur de la valeur des paramètres intervenant dans cette réponse immunitaire, et complexifierait encore davantage l'étude du modèle.

Finalement, notre modèle est actuellement implémenté en deux dimensions d'espace afin de faciliter son étude préliminaire. Les méthodes utilisées permettent de déduire une implémentation en trois dimensions. Des résultats numériques en trois dimensions d'espace pourraient permettre de mieux appréhender les différents mécanismes en jeu. Cependant, la validation de résultats en trois dimensions risque d'être plus difficile, les résultats d'expérimentations biologiques disponibles dans la littérature étant souvent en deux dimensions d'espace.

Septième partie

Conclusion

L'objectif de ce projet était d'élaborer un modèle de croissance tumorale vasculaire afin d'étudier l'effet de traitements anti-angiogéniques sur la croissance tumorale.

Le modèle élaboré au cours de cette thèse intègre les principaux mécanismes en jeu dans le processus de croissance tumorale vasculaire. Ce modèle se compose d'un modèle d'angiogenèse couplé à un modèle de croissance tumorale, ainsi qu'à un modèle de thérapie anti-angiogénique. Ainsi, ce modèle intègre deux types de populations cellulaires : les cellules endothéliales, constituant la paroi des vaisseaux sanguins, et les cellules tumorales. Ce modèle prend également en compte les concentrations en substances pro-angiogéniques telles que le VEGF et l'angiopoïétine-2, et anti-angiogéniques telles que l'endostatine, l'angiopoïétine-1, et des anticorps anti-VEGF.

Ce modèle présente la particularité d'être un modèle multi-échelle. Il intègre en effet plusieurs échelles de temps, et plusieurs échelles d'espace. Ce modèle intègre ainsi des mécanismes se produisant à différentes échelles de temps, la migration cellulaire étant plus rapide que la diffusion des molécules de substances biochimiques (ou de cellules), elle-même plus rapide que la division cellulaire.

Concernant l'échelle spatiale, ce modèle tient non seulement compte des phénomènes se produisant à l'échelle tissulaire tels que la migration de cellules ou la diffusion de molécules par exemple, mais également des interactions moléculaires entre les différentes substances biochimiques. Il intègre en effet les relations de compétition existant entre les différents antagonistes compétitifs, i.e. entre le VEGF et l'endostatine pour la liaison au récepteur membranaire Flk-1, et entre l'angiopoïétine-1 et l'angiopoïétine-2 pour la liaison au récepteur membranaire Tie2. Afin de tenir compte des propriétés moléculaires de chacune de ces substances, les phénomènes de compétition sont modélisés à l'aide de lois pharmacologiques.

Ce modèle permet de simuler l'action de traitements anti-angiogéniques, et d'étudier leur effet sur la croissance tumorale. Ainsi, nous avons modélisé l'action de deux types de molécules anti-VEGF : l'une (anticorps anti-VEGF) se liant directement aux molécules de VEGF libre, l'autre (endostatine) se liant aux récepteurs Flk-1 à la place du VEGF. Dans les deux cas, la stimulation des cellules endothéliales, i.e. l'activation de leur prolifération et migration, par le

VEGF est réduite, voire inhibée.

Dans le cas du traitement par administration d'anticorps anti-VEGF, les résultats de simulations ont permis de démontrer l'efficacité anti-tumorale d'une diminution des molécules de VEGF libre : plus la dose initiale d'anticorps est élevée, plus le traitement sera efficace, i.e. plus la croissance tumorale sera retardée. Suite au traitement, le retour à un fonctionnement "normal" des mécanismes angiogéniques se fait progressivement du fait de la disparition progressive des anticorps.

Dans le cas du traitement basé sur la thérapie génique, les expérimentations *in silico* ont permis de mettre en évidence l'existence d'une dose critique de traitement, i.e. d'une concentration critique d'endostatine surproduite. En effet, pour des doses de traitements supérieures à cette dose critique, une augmentation de la durée du traitement peut rendre ce dernier plus efficace. En revanche, pour des doses de traitement inférieures à cette dose critique, une augmentation de la durée du traitement peut engendrer l'apparition d'un effet rebond sur le processus angiogénique, effet délétère pour le patient. Ces résultats illustrent la complexité inhérente à l'élaboration de protocoles thérapeutiques.

Le modèle de croissance tumorale vasculaire élaboré au cours de cette thèse permet donc de reproduire de façon satisfaisante les principaux mécanismes se produisant au cours de l'angiogenèse, ainsi que ceux intervenant dans la croissance tumorale. Il permet également d'évaluer qualitativement l'effet de traitements anti-angiogéniques sur la croissance tumorale. Ce modèle est ainsi une première étape, qui plus est prometteuse, dans l'élaboration d'un outil permettant d'optimiser concrètement les traitements anti-angiogéniques existants, voire d'en élaborer de nouveaux.

Dans un futur plus ou moins proche, certaines extensions pourraient être apportées à ce modèle afin de permettre une étude plus précise des mécanismes impliqués dans l'angiogenèse.

La comparaison des résultats numériques obtenus grâce à notre modèle à des résultats issus

d'expérimentations biologiques nous a permis de valider qualitativement notre modèle sur des résultats n'ayant pas servi à son élaboration (validation externe). Cependant, afin que cette validation soit complète, il conviendrait d'obtenir des résultats qui soient quantitativement en accord avec les résultats d'expérimentations biologiques. Pour cela, il serait intéressant de pouvoir disposer de données chiffrées, si possible toutes obtenues dans les mêmes conditions expérimentales, permettant de gérer au mieux la valorisation des paramètres du modèle. L'utilisation de la base de données QCDB [170] pourrait également contribuer à améliorer le caractère quantitatif de notre modèle.

De plus, la configuration spatiale initialement choisie (une tumeur sphérique entourée de quatre vaisseaux sanguins préexistants) est plutôt simple, et, plus généralement, les résultats de simulation sont en deux dimensions d'espace. Des résultats numériques en trois dimensions d'espace permettraient d'être plus proche de la réalité. Il serait également intéressant de pouvoir disposer de résultats d'imagerie médicale de type scanner, IRM, ... permettant de définir initialement la forme, voire même la composition, de la tumeur, l'emplacement des différents vaisseaux sanguins, ainsi que les caractéristiques du tissu environnant (hétérogénéités, ...), pour un patient donné. Ainsi, la configuration initiale introduite dans notre modèle serait plus réaliste. Les résultats numériques pourraient alors être comparés à d'autres résultats d'imageries médicales de ce patient, ce qui permettrait d'apprécier concrètement la valeur prédictive du modèle.

Comme nous l'avons vu précédemment, notre modèle intègre une description du processus de maturation assez phénoménologique. Une première étude du modèle ayant été réalisée, il n'est pas exclu d'intégrer, dans une future étude, un sous-modèle de maturation plus complexe permettant d'analyser le rôle de la maturation dans le développement du réseau vasculaire, voire d'étudier des implications thérapeutiques.

A ce jour, l'une des principales limites de notre modèle est de ne pas prendre en compte les contraintes biomécaniques pouvant affecter le développement du réseau vasculaire, ainsi que la croissance tumorale. L'une des prochaines étapes sera donc d'introduire ces phénomènes dans notre modèle. Ainsi, les interactions entre le tissu environnant et les cellules tumorales et endo-

théliales pourraient être introduites dans le modèle. Les sous-modèles de croissance tumorale et d'angiogenèse pourraient alors prendre en compte l'adhésion cellule-cellule et l'adhésion cellule-matrice extracellulaire, comme cela a déjà été fait dans plusieurs modèles disponibles dans la littérature. Nous pourrions, par exemple, nous inspirer des modèles de croissance tumorale développés par Bresch et al. [84, 171] qui intègrent la force élastique créée par la présence d'une membrane basale, Gerisch et Chaplain [105] qui prend en compte l'haptotaxie des cellules tumorales, ou Araujo et MacElwain [107, 108] qui intègre les échanges entre les phases cellulaires et extracellulaires. Ces effets biomécaniques ont également été considérés dans des modèles d'angiogenèse. Par exemple, le modèle d'Anderson et Chaplain [43] intègre le processus d'haptotaxie des cellules endothéliales ; Tosin et al. [172] ont introduit une force interne à la population de cellules endothéliales pour modéliser les interactions cellule-cellule, et une force élastique modélisant les interactions cellule-matrice extracellulaire.

Nous pourrions également prendre en compte, dans notre modèle, les forces mécaniques engendrées par la masse tumorale croissante, et s'exerçant sur le réseau vasculaire. Une manière plutôt phénoménologique serait de considérer que l'évolution de la densité de cellules endothéliales matures dépende de la pression exercée par les cellules tumorales. Les cellules endothéliales stables pourraient alors redevenir instables si cette pression venait à devenir trop importante. La nature et la distribution de ce type de stress ont été étudiées par Araujo et al. [106, 108] à l'aide de modèles mathématiques. L'implication de ces stress dans le collapsus vasculaire, et donc dans l'approvisionnement de la tumeur en oxygène et nutriments, a également été étudiée à l'aide de plusieurs modèles mathématiques dont nous pourrions nous inspirer [134, 173, 174, 175].

Dans notre modèle, les sous-modèles de traitements anti-angiogéniques ont été élaborés de manière plutôt phénoménologique. Afin d'être plus proche de la réalité, nous pourrions avoir recours à une approche plus mécanistique. Nous devrions, par exemple, prendre en compte la réponse immunitaire au traitement afin de pouvoir simuler, de façon plus réaliste, plusieurs cycles de traitements, introduire une certaine hétérogénéité dans l'action des anticorps, des virus, ...

Par ailleurs, il serait intéressant de simuler l'action combinée d'un traitement anti-angiogénique

et d'un traitement cytotoxique (chimiothérapie, radiothérapie). En effet, certaines études récentes [176, 177, 178] ont montré l'apparition d'une résistance, évasive ou intrinsèque, de la tumeur aux traitements anti-angiogéniques. Cette résistance peut ainsi engendrer une augmentation du caractère invasif de la tumeur et de ses éventuelles métastases. Le couplage d'un traitement anti-angiogénique et d'un traitement cytotoxique permettrait donc de mettre en synergie leur efficacité respective, ou au moins de réduire les effets délétères de chaque traitement. Pour modéliser ce phénomène, nous pourrions introduire un mécanisme de résistance des cellules tumorales au traitement anti-angiogénique (en fonction du nombre d'exposition au traitement, de la durée et de l'intensité de chaque exposition, ...), et coupler un modèle de chimiothérapie (ou radiothérapie) à l'un de nos modèles de traitement anti-angiogénique, de nombreux modèles d'action de chimiothérapie (ou radiothérapie) sur la croissance tumorale étant disponibles dans la littérature.

Ces différentes perspectives constituent des extensions possibles du modèle élaboré au cours de cette thèse et permettraient d'aboutir à un modèle couplant angiogenèse et croissance tumorale de manière plus précise et plus complète.

Annexes

Annexe A

Résumé des paramètres du modèle

Dans cette Annexe, les notations utilisées sont les suivantes : h (heure), mm (millimètre), M (molaire), Da (Dalton), cell (cellule).

Le Tableau A.1 regroupe les valeurs des paramètres utilisées pour les simulations *in silico*.

Paramètre	Description	Valeur	Unités	Equation	Ref.
D_e	Taux de diffusion des cellules endothéliales (CEs)	$6.25 * 10^{-8} * \begin{cases} 0.5 & \text{si } P + Q > 0.12 \\ 1 & \text{sinon} \end{cases}$	$\text{mm}^2 \cdot \text{h}^{-1}$	(13.1)	
N_{max}	Densité maximale de CEs	1	$\text{cell} \cdot \text{mm}^{-2}$	(13.1)	
$E_{maxV EGF,prolif}$	Effet maximal du VEGF sur la prolifération des CEs	$5 * 10^{-2}$	h^{-1}	(13.1)	
A_p	Taux maximal de mort des CEs	$-2 * 10^{-2}$	h^{-1}	(13.1)	
$E_{min,prolif}$	Valeur minimale de $E_{V EGF,prolif}$ en-dessous de laquelle le taux de prolifération des CEs devient négatif	$2 * 10^{-2}$	h^{-1}	(13.1)	
$\lambda_{e,p}$	Fonction de restriction de la prolifération des CEs	$\begin{cases} 0.5 & \text{si } P + Q > 0.12 \\ 1 & \text{sinon} \end{cases}$	-	(13.1)	
$E_{maxV EGF,chemo}$	Effet maximal du VEGF sur la chemotaxie des CEs	$1.25 * 10^{-2}$	$\text{mm}^2 \cdot \text{M}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$	(13.1)	
$\lambda_{e,c}$	Fonction de restriction de la chemotaxie des CEs	$\begin{cases} 0.5 & \text{si } P + Q > 0.12 \\ 1 & \text{sinon} \end{cases}$	-	(13.1)	
$E_{maxAng1}$	Effet maximal de l'angiopoïétine-1 sur les CEs	$2 * 10^{-1}$	h^{-1}	(13.2)	
$E_{Ang1,min}$	Valeur maximale de E_{Ang1} requise pour la maturation des CEs	$5 * 10^{-1}$	h^{-1}	(13.2)	
N_{min}	Valeur minimale de la densité de CEs requise pour la maturation des CEs	$9 * 10^{-1}$	$\text{cell} \cdot \text{mm}^{-2}$	(13.2)	
μ	Taux de maturation des CEs	1	h^{-1}	(13.2)	
m_V	Masse moléculaire du VEGF	45	kDa	(13.21)	[179]
D_V	Coefficient de diffusion du VEGF	$1.875 * 10^{-1}$	$\text{mm}^2 \cdot \text{h}^{-1}$	(13.3)	[16][180]
α_V	Taux de production du VEGF	2.11	$\text{M} \cdot \text{cell}^{-1} \cdot \text{mm}^2 \cdot \text{h}^{-1}$	(13.3)	
$\beta_{max,V}$	Taux maximal de liaison du VEGF au récepteur Flk-1	$1.25 * 10^{-3}$	$\text{M} \cdot \text{cell}^{-1} \cdot \text{mm}^2 \cdot \text{h}^{-1}$	(13.3)	
$K_{D,V EGF}$	Constante de dissociation du VEGF pour le récepteur Flk-1	10^{-7}	M	(13.1)(13.3)(13.4)	

TABLE A.1 – Résumé des paramètres du modèle et valeurs utilisées pour les simulations *in silico*.

Paramètre	Description	Valeur	Unités	Equation	Ref.
δ_V	Taux de dégradation du VEGF	$1.25 * 10^{-4}$	h^{-1}	(13.3)	
$\beta_{max,V-Ac}$	Taux maximal de liaison du VEGF à un anticorps anti-VEGF	$1.25 * 10^{-2}$	h^{-1}	(13.15)(13.16)	
$K_{D,V-Ac}$	Constante de dissociation du VEGF pour les anticorps anti-VEGF	10^{-7}	M	(13.15)(13.16)	
m_{endos}	Masse moléculaire de l'endostatine	20	kDa	(13.21)	[141]
D_{endos}	Coefficient de diffusion de l'endostatine	$2.457 * 10^{-1}$	$mm^2.h^{-1}$	(13.4)	
α_{endos}	Taux de production de l'endostatine	10	$M.cell^{-1}.mm^2.h^{-1}$	(13.4)	
$\beta_{max,endos}$	Taux maximal de liaison de l'endostatine au récepteur Flk-1	$1.25 * 10^{-3}$	$M.cell^{-1}.mm^2.h^{-1}$	(13.4)	
$K_{D,endos}$	Constante de dissociation de l'endostatine pour le récepteur Flk-1	$2 * 10^{-4}$	M	(13.1)(13.3)(13.4)	
δ_{endos}	Taux de dégradation de l'endostatine	$1.25 * 10^{-4}$	h^{-1}	(13.4)	
C_{endos}	Taux de surproduction de l'endostatine due au traitement B	variable	$M.cell^{-1}.mm^2.h^{-1}$	(13.17)	
$[Ang1]_0$	Concentration en angiopoïétine-1	$4 * 10^{-2}$	M	-	
$K_{D,Ang1}$	Constante de dissociation de l'angiopoïétine-1 pour le récepteur Tie2	$3 * 10^{-9}$	M	(13.2)	[24]
m_{A2}	Masse moléculaire de l'angiopoïétine-2	70	kDa	(13.21)	
D_{A2}	Coefficient de diffusion de l'angiopoïétine-2	$1.618 * 10^{-1}$	$mm^2.h^{-1}$	(13.6)	
$\alpha_{1,A2}$	Taux de production de l'angiopoïétine-2 par les cellules tumorales	$3 * 10^{-4}$	$M.cell^{-1}.mm^2.h^{-1}$	(13.6)	
$\alpha_{2,A2}$	Taux de production de l'angiopoïétine-2 par les CEs	$1.5 * 10^{-4}$	$M.cell^{-1}.mm^2.h^{-1}$	(13.6)	
$\beta_{max,A2}$	Taux maximal de liaison de l'angiopoïétine-2 au récepteur Tie2	$3 * 10^{-6}$	$M.cell^{-1}.mm^2.h^{-1}$	(13.6)	
$K_{D,Ang2}$	Constante de dissociation de l'angiopoïétine-2 pour le récepteur Tie2	$3 * 10^{-9}$	M	(13.2)(13.6)	[24]
δ_{A2}	Taux de dégradation de l'angiopoïétine-2	$1.25 * 10^{-5}$	h^{-1}	(13.6)	
m_{Ac}	Masse moléculaire des anticorps anti-VEGF	150	kDa	(13.21)	
D_{Ac}	Coefficient de diffusion des anticorps anti-VEGF	$1.255 * 10^{-1}$	$mm^2.h^{-1}$	(13.15)	

TABLE A.1 – Résumé des paramètres du modèle et valeurs utilisées pour les simulations *in silico* (suite).

Paramètre	Description	Valeur	Unités	Equation	Ref.
δ_{Ac}	Taux de dégradation des anticorps anti-VEGF	$1.444 * 10^{-3}$	h^{-1}	(13.15)	
α_{Ac}	Taux de production des anticorps anti-VEGF due au traitement A	variable	$M.h^{-1}$	(13.15)	
D_O	Coefficient de diffusion de l'oxygène	1	$mm^2.h^{-1}$	(13.7)	[181]
$\beta_{1,O}$	Taux de consommation de l'oxygène par les cellules tumorales proliférantes	3	$cell^{-1}.mm^2.h^{-1}$	(13.7)	
$\beta_{2,O}$	Taux de consommation de l'oxygène par les cellules tumorales quiescentes	1.5	$cell^{-1}.mm^2.h^{-1}$	(13.7)	
$\beta_{3,O}$	Taux de consommation de l'oxygène par les cellules saines	$3.75 * 10^{-1}$	$cell^{-1}.mm^2.h^{-1}$	(13.7)	
$[O_2]_{max}$	Concentration en oxygène dans les vaisseaux sanguins fonctionnels	8	M	(13.7)	
δ_O	Taux de dégradation de l'oxygène	10^{-3}	h^{-1}	(13.7)	
a_{max,P_1}	Durée maximale de la phase P_1	12	h	(13.8)-(13.9)	
a_{max,P_2}	Durée maximale de la phase P_2	12	h	(13.9)(13.12)	
τ_0	Seuil de surpopulation	0.8	$cell.mm^{-2}$	(13.8)(13.9)	
$\tau_{1,h}$	Seuil d'hypoxie	5.5	M	(13.8)(13.9)	
$\tau_{2,h}$	Seuil d'hypoxie sévère	1.52	M	(13.8)	
N_0	Densité totale de cellules tumorales et saines	1	$cell.mm^{-2}$	(13.11)(13.12)	
τ_g	Seuil sur le nombre de cellules tumorales pour la définition des critères d'efficacité	1000	cell	-	

TABLE A.1 – Résumé des paramètres du modèle et valeurs utilisées pour les simulations *in silico* (fin).

Annexe B

Publication

Une partie de ce travail de thèse a fait l'objet d'une publication dans la revue *Journal of Theoretical Biology* du 21 Octobre 2009 (volume 260, issue 4, pages 545-562). Cette publication est présentée dans cette Annexe.



A pharmacologically based multiscale mathematical model of angiogenesis and its use in investigating the efficacy of a new cancer treatment strategy

Frédérique Billy^{a,b}, Benjamin Ribba^{c,d,e,*}, Olivier Saut^f, Hélène Morre-Trouilhet^{a,b}, Thierry Colin^f, Didier Bresch^h, Jean-Pierre Boissel^{a,b}, Emmanuel Grenier^{c,d,g}, Jean-Pierre Flandrois^{a,b}

^a Université de Lyon, F-69000 Lyon, France

^b Université Lyon 1; CNRS, UMR5558, Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive, F-69622 Villeurbanne, France

^c Project-team NUMED, INRIA Rhône-Alpes, Ecole Normale Supérieure de Lyon, 46 allée d'Italie, F-69364 Lyon Cedex 07, France

^d Université de Lyon, Lyon F-69003, France

^e Université Lyon 1, EA3738 CTO, faculté de médecine Lyon-Sud, F-69600 Oullins, France

^f Université Bordeaux 1, Institut de Mathématiques de Bordeaux, CNRS, UMR5251 and INRIA Bordeaux Sud-Ouest EPI MC2, 351 cours de la libération, F-33405 Talence Cedex, France

^g ENS Lyon, Unité de Mathématiques Pures et Appliquées, CNRS, UMR5669, 46 allée d'Italie, F-69364 Lyon Cedex, France

^h Université de Savoie, Laboratoire de Mathématiques, CNRS, UMR5127, Campus Scientifique, F-73376 Le Bourget-du-Lac Cedex, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 11 February 2009

Received in revised form

16 June 2009

Accepted 27 June 2009

Available online 15 July 2009

Keywords:

Multiscale mathematical modeling

Angiogenesis

Tumor growth

Cell cycle

Pharmacological law

Optimization of cancer treatments

ABSTRACT

Tumor angiogenesis is the process by which new blood vessels are formed and enhance the oxygenation and growth of tumors. As angiogenesis is recognized as being a critical event in cancer development, considerable efforts have been made to identify inhibitors of this process. Cytostatic treatments that target the molecular events of the angiogenesis process have been developed, and have met with some success. However, it is usually difficult to preclinically assess the effectiveness of targeted therapies, and apparently promising compounds sometimes fail in clinical trials.

We have developed a multiscale mathematical model of angiogenesis and tumor growth. At the molecular level, the model focuses on molecular competition between pro- and anti-angiogenic substances modeled on the basis of pharmacological laws. At the tissue scale, the model uses partial differential equations to describe the spatio-temporal changes in cancer cells during three stages of the cell cycle, as well as those of the endothelial cells that constitute the blood vessel walls.

This model is used to qualitatively assess how efficient endostatin gene therapy is. Endostatin is an anti-angiogenic endogenous substance. The gene therapy entails overexpressing endostatin in the tumor and in the surrounding tissue. Simulations show that there is a critical treatment dose below which increasing the duration of treatment leads to a loss of efficacy.

This theoretical model may be useful to evaluate the efficacy of therapies targeting angiogenesis, and could therefore contribute to designing prospective clinical trials.

© 2009 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Tumor angiogenesis is a process by which new blood vessels are formed from the existing vasculature and carry additional nutrients and oxygen to tumor cells, allowing them to proliferate. The development of the primary tumor mass and the metastatic dissemination of tumor cells require angiogenesis. It is generally

accepted that a tumor, which needs nutrients and oxygen to grow, cannot increase beyond a few millimeters cubed without an enhanced blood supply (Folkman, 1990). During tumor growth, a molecular cascade drives the transition from the avascular stage to the vascular stage: new vessels are formed from the surrounding existing vasculature, migrate towards the tumor cells, and penetrate the tumor mass to deliver oxygen and nutrients to the tumor cells. This also means that some tumor cells can escape from this primary tumor, and enter the bloodstream via the newly formed immature and permeable blood vessels to form new tumor masses, also known as metastases, at distant parts of the body (Zetter, 1998; Folkman, 2002). In most cases, the presence of metastases is correlated with the malignancy of the tumor, and indicates a poor prognosis for the patient (Zetter, 1998).

Indeed, angiogenesis, or new vessel formation, results from a complex molecular balance between numerous pro-angiogenic and anti-angiogenic endogenous substances (Hanahan and

* Corresponding author at: Project-team NUMED, INRIA Rhône-Alpes, Ecole Normale Supérieure de Lyon, 46 allée d'Italie, F-69364 Lyon Cedex 07, France. Tel.: +33 4 72 72 84 24; fax: +33 4 72 72 84 80.

E-mail addresses: billy@biomserv.univ-lyon1.fr (F. Billy), benjamin.ribba@inrialpes.fr, Benjamin.Ribba@recherche.univ-lyon1.fr (B. Ribba), olivier.saut@math.u-bordeaux1.fr (O. Saut), helene.trouilhet@gmail.com (H. Morre-Trouilhet), colin@math.u-bordeaux1.fr (T. Colin), didier.bresch@univ-savoie.fr (D. Bresch), jpb@upcl.univ-lyon1.fr (J.-P. Boissel), emmanuel.grenier@umpa.ens-lyon.fr (E. Grenier), flandros@biomserv.univ-lyon1.fr (J.-P. Flandrois).

Folkman, 1996). The complexity of angiogenesis is partly due to the existence of a number of such factors. In breast cancer for instance, up to seven distinct pro-angiogenic factors can be expressed (Relf et al., 1997).

Over the last 25 years, several mathematical models of angiogenesis have been developed (see Mantzaris et al., 2004 for a review). Discrete mathematical models, based on cellular automata, have usually been used to predict the structure of extra- and intra-tumoral vascular networks. Anderson and Chaplain (1998) have published the first discrete model of tumor-induced angiogenesis. This model was derived from a continuous model. Several more recent publications are based on the same approach (Plank et al., 2004; Kevrekidis et al., 2006). Continuous models of tumor-induced angiogenesis are based on ordinary or partial differential equations governing the change in endothelial cell density, and the concentrations of tumor pro-angiogenic factors and of fibronectin (a component of the extracellular matrix). From the physical point of view, these models focus mainly on the endothelial cell diffusion, chemotaxis and haptotaxis (Anderson and Chaplain, 1998; Kevrekidis et al., 2006). It has also been proposed that mathematical models of angiogenesis can be coupled with those of tumor growth. In Zheng et al. (2005), the authors have proposed a vascular tumor growth model in which the tumor growth model proposed by Byrne and Chaplain (1996) is coupled with a continuous-discrete model of angiogenesis, such as that described by Anderson and Chaplain (1998). In Hoge et al. (2006), the authors have coupled a model of tumor growth with a simplistic continuous model of angiogenesis. Several models of vascular tumor growth also include some mechanical constraints, such as wall shear stress, pressure. For instance, Alarcón et al. (2005) have coupled a cellular automaton with ordinary differential equations (ODEs) to describe some of the interactions that occur between the tissue scale, including vascular structural adaptation, the cellular scale and the intracellular scale. In Bartha and Rieger (2006), Lee et al. (2006), and Welter et al. (2008), the authors have used models based on probabilistic cellular automata to investigate the mechanisms leading to abnormal tumor vasculature, and the effects of such vascular heterogeneities on tumor growth and drug delivery. In order to circumvent the numerical cost of such cellular automata, Macklin et al. (2009) have decided to combine a continuous model of tumor growth with a discrete model of tumor-induced angiogenesis, such as that described by McDougall et al. (2006). Thanks to this combination, they were able to take into account the impact of blood flow on changes in the vascular network. Due to their complexity, these models are only qualitative, and even so can only integrate one or two of the molecular factors that drive the angiogenesis process. Moreover, the underlying tumor growth model is often very simplistic and fails to take cell cycle regulation into account.

Since the angiogenic process was first identified as a key process in tumor development a few years ago, pharmaceutical companies have been looking for inhibitors. Several anti-angiogenic molecules have been identified and tested in clinical trials but, as is all too often the case with targeted therapies, efficacy has been difficult to demonstrate. This makes it rather difficult to assess attempts to optimize treatment. New anti-cancer drugs are designed to target a particular cancer process, unlike standard chemotherapeutic compounds that have a cytotoxic effect on all proliferative cells. Targeted therapies, which are also known as “cytostatic treatments”, act mainly at the molecular level. For instance, some anti-angiogenic drugs, the best known being Bevacizumab (Avastin, Roche), prevent vascular endothelial growth factor (VEGF), a pro-angiogenic endogenous substance, from binding to Flk-1 receptors. These receptors are located on the membrane of endothelial cells, which constitute

blood vessels. Such anti-angiogenic drugs inhibit endothelial cell proliferation and, in consequence, prevent new blood vessels from forming, without any direct toxic effect on healthy cells.

To make it possible to analyze the effect of such molecular-targeted treatments by means of mathematical models, we need to include the main molecular entities in multiscale models of tumor growth. In this paper we describe a pharmacologically based continuous mathematical model of angiogenesis and tumor growth. At the molecular level, we were careful to use pharmacological laws to model the activation of angiogenesis as the result of the binding of major angiogenic molecular substances to their respective receptors. This molecular-level model was embedded in the macroscopic model, based on reaction–diffusion partial differential equations, which described the spatio-temporal change in the densities of the unstable and stable endothelial cells that constitute the blood vessel wall. At each of the time steps in the model, sources of oxygen were defined according to the spatial disposition of the endothelial cells. The oxygen concentration was then computed, and introduced as an input signal into the cell cycle model of tumor cells. Indeed, depending on the local concentration of oxygen, we assumed that cancer cells would proliferate, die, or enter the quiescent compartment. In the model, quiescent cells, deprived of oxygen, secrete vascular endothelial growth factor (VEGF). This in turn activates angiogenesis, and this constitutes the feedback loop of the model.

We applied our model to an analysis of the efficacy of a new anti-angiogenesis treatment. This treatment relies on the overproduction of an endogenous anti-angiogenic substance known as endostatin, which is commonly secreted by tumor cells (O'Reilly et al., 1997). Endostatin is a 20-kDa, C-terminal fragment of collagen XVIII, and has been shown to be a potent endogenous inhibitor of angiogenesis (O'Reilly et al., 1997). Endostatin gene therapy consists of infecting tumor cells with adenoviruses encoding a wild-type endostatin gene (Folkman, 2006). When feasible, these adenoviruses are injected directly into the tumor mass, which induces targeted local overexpression of endostatin. This approach is currently being evaluated in clinical trials (Lin et al., 2007; Li et al., 2008). However, as is often the case for targeted anti-cancer therapies, it is hard to identify the best treatment strategy.

Using the multiscale model of tumor growth and angiogenesis to carry out a qualitative analysis of the effect of this treatment, we provide some indications about the best way to optimize this cancer treatment strategy.

2. Underlying biological hypotheses and an overall view of the mathematical model

Due to the complexity of the problem, we first collected biological information from the literature, and made some simplified hypotheses about the various biological phenomena involved. The diagram shown in Fig. 1 was developed in collaboration with biologists. It provides a schematic description of the relationships between the different entities we will model in this study.

Our model includes two main species of cells. The first is that of the endothelial cells that constitute the wall of blood vessels. We distinguished between unstable and stable endothelial cells, and assumed that only stable endothelial cells could constitute a source of oxygen supply for the tumor. As we discuss below, our approach was a continuous one. This means that we were not modeling blood vessels as discrete objects, but rather as continuous densities of endothelial cells that potentially constitute sources of oxygen. As we describe below, the regulation of stable and unstable endothelial cells results from molecular competition between activators and inhibitors of angiogenesis.

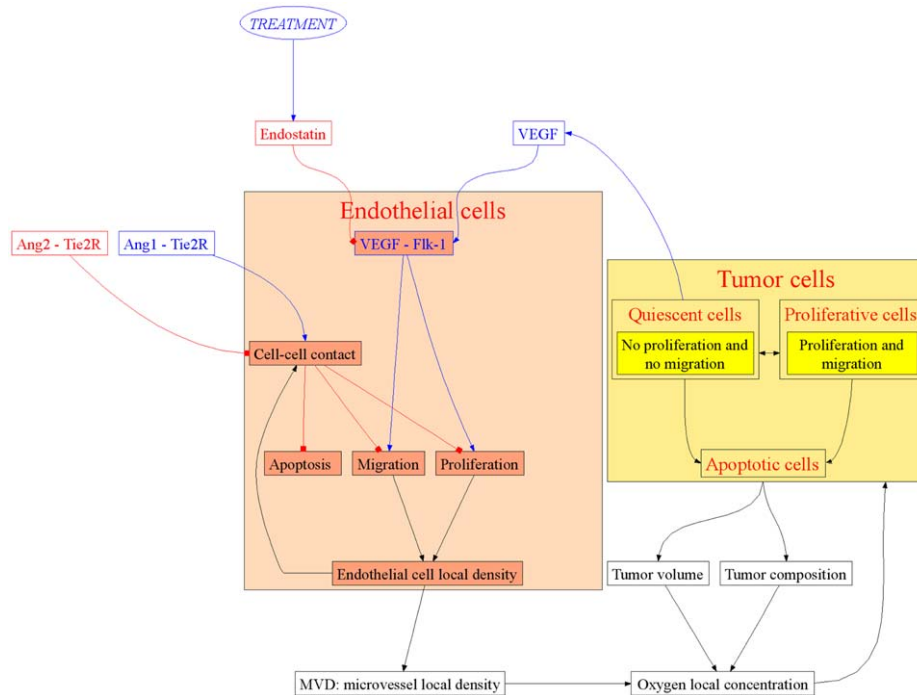


Fig. 1. Summary of the biological entities and interactions taken into account in our mathematical model. The actions of activating substances (VEGF, angiopoietin-1 (Ang1)) are depicted by blue arrows, whereas those of inhibitors (endostatin, angiopoietin-2 (Ang2)) are depicted by red arrows. We distinguished between two species of cells: endothelial cells (unstable and stable), and tumor cells (proliferative, quiescent or hypoxic, and apoptotic). Quiescent tumor cells secrete VEGF molecules that stimulate the proliferation of endothelial cells and their migration towards tumor cells. Moreover, competition between angiopoietin-1 and angiopoietin-2 regulates the stabilization of endothelial cells and, consequently, the maturation of the newly formed blood vessels. These new vessels increase the supply of oxygen to the tumor cells. Finally, we modeled the action of a treatment leading to endostatin overproduction that, as we shall see in this paper, modifies the entire process of tumor growth and angiogenesis. (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

The second type of cells we took into account was cancer cells. In our model, we distinguished between three types of cancer cells: proliferative, quiescent and apoptotic cells. Transitions between these states are mainly governed by the local concentration of oxygen.

We use the word “apoptosis” to refer to cell death of all kinds.

2.1. Model of tumor growth

Our mathematical model of tumor growth is based on a published age-structured model of the cell cycle applied to investigating the therapeutic benefits of various cancer treatment strategies (Ribba et al., 2006a, b, 2009). In our model, tumor cells can be in three different states: proliferative, quiescent, and apoptotic. Proliferative cells progress through the cell cycle, and duplicate. However, if the oxygen concentration is not sufficient for the cells to proliferate, the cells become quiescent (or hypoxic) cells. In this state, cells are assumed to secrete vascular endothelial growth factor (VEGF), an activator of angiogenesis, that diffuses into the surrounding tissue until it reaches the endothelial cells (Ferrara, 2002). If the environmental conditions become more favorable, these quiescent cells can revert to the proliferative state. However, if the oxygen concentration falls below a critical threshold, acute hypoxia will lead to cell apoptosis (Blagosklonny and Pardee, 2002; DeVita et al., 2005). At this stage, we made no attempt to take into account the biomechanical aspects of tumor growth. This hypothesis is discussed in detail in the Discussion section of this paper.

This model therefore consists of a multiscale framework, combining a hypoxia-driven cell cycle regulation model and a macroscopic spatial tumor growth model, in which cell populations are modeled as a multiphase fluid governed by Darcy’s law.

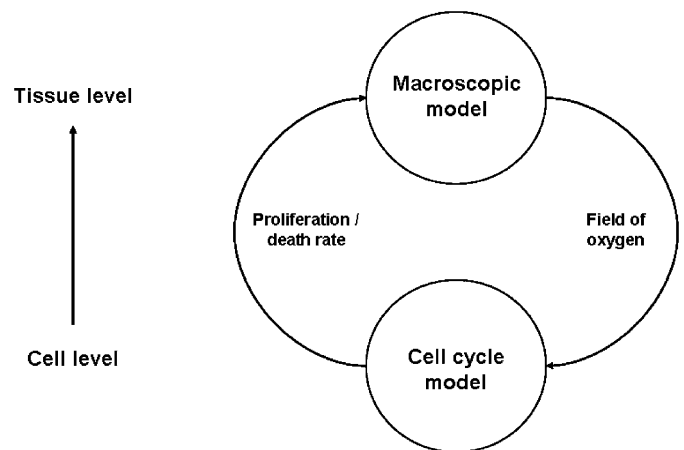


Fig. 2. Multiscale aspect of the model (inspired by Ribba et al., 2009). The motion of tumor cells in the computational domain is computed at the macroscopic level, resulting, through the angiogenesis process, in new sources of oxygen. Thus, the new field of oxygen becomes the input signal of the cell cycle model, which computes the density of proliferative, hypoxic and apoptotic cells.

The output from the cell cycle model is the net proliferation rate of the entire cell population. This information is used at the macroscopic level to compute the motion of tumor cells in the computational domain. The spatial locations of the density of stable endothelial cells are calculated thanks to the macroscopic level of the model. These locations constitute new oxygen sources, and so are used to compute the field of oxygen. This field of oxygen becomes the input signal for the cell cycle model, which computes the densities of proliferative, hypoxic and apoptotic cells, depending on the oxygen available to tumor cells (see Fig. 2).

2.2. Model of angiogenesis

Our angiogenesis model focuses on the spatio-temporal change in the density of endothelial cells. As we have already said, we distinguished between unstable and stable endothelial cells. Unstable endothelial cells naturally undergo random diffusion. They proliferate in response to the stimulus of the VEGF molecules secreted by hypoxic tumor cells. At the molecular level, we used conventional pharmacological laws to model the binding of VEGF to Flk-1 receptors (also known as KDR or VEGFR-2) on the membranes of the unstable endothelial cells (Ferrara, 1999a, 2002). However, VEGF stimulation is modulated by the antagonist endostatin, which is also produced by tumor cells, and which competes with VEGF to bind to Flk-1 receptors (Kim et al., 2002). VEGF-stimulated unstable endothelial cells therefore proliferate and migrate along the gradient of VEGF concentration, i.e. towards the hypoxic cell population (Ausprunk and Folkman, 1977; Paweletz and Knierim, 1989; Ferrara, 1999b). At this stage, we ignored that endothelial cells and extracellular matrix could interact during the process of migration, and could lead to the haptotactic motion. This motion has been modeled in several papers (Anderson and Chaplain, 1998; Zheng et al., 2005; Macklin et al., 2009; McDougall et al., 2006). Non-stimulated, unstable endothelial cells do not proliferate, and eventually die (Benjamin and Keshet, 1997; Ferrara, 1999b).

We assumed, though without modeling this, that unstable cells instantaneously form immature tubular structures that are a prerequisite for the appearance of mature blood vessels able to carry oxygen. In our model, the transition from unstable to stable endothelial cells leads the immature vessels to turn into mature and functional blood vessels. This transition is mediated by cell-to-cell contact, regulated through the competitive binding of angiopoietin-1 and angiopoietin-2 to Tie2 receptors located on the membrane of unstable endothelial cells (Partanen et al., 1992). Angiopoietin-1 is expressed by mural cells, which play an important role in the maturation of new blood vessels (Sundberg et al., 2002). Angiopoietin-2 is produced both by tumor cells and by unstable endothelial cells (Etoh et al., 2001; Ahmad et al., 2001; Koga et al., 2001; Tanaka et al., 2002; Moon et al., 2003; Hu et al., 2003). Angiopoietin-1 is known to promote contact between endothelial cells, whereas angiopoietin-2 blocks the activation of Tie2 by angiopoietin-1 (Davis et al., 1996; Maisonpierre et al., 1997). In our model, when the contact between endothelial cells reaches a sufficient level, proliferation, migration and apoptosis stop, and unstable endothelial cells revert to being stable cells. As we have already pointed out, the presence of stable endothelial cells is a prerequisite for the appearance of functional blood vessels able to carry oxygen to the tumor cells. In our model, we simply assumed that unless the density of stable endothelial cells was zero, a microscopic source would diffuse oxygen into the surrounding tissue. This oxygen would then be consumed by tumor cells. Finally, we assumed that the tumor mass could disrupt the behavior of unstable endothelial cells, but, at this stage, we did not take into account its possible impact on the behavior of the whole vascular network.

In conclusion, we adopted a somewhat phenomenological approach to modeling the angiogenesis process. This is inherent to the continuous approach we chose to use. However, we claim that it suffices to qualitatively study how efficient innovative anti-angiogenic treatments are. We will return to this topic in the Discussion section of this paper.

2.3. Endostatin-based treatment model

Endostatin-based cancer treatment involves enhancing the concentration of the angiogenesis inhibitor endostatin in order to

reduce the binding of VEGF to Flk-1 receptors and, consequently, to reduce the activation of unstable endothelial cells. Endostatin has been shown to promote blood vessel regression (O'Reilly et al., 1997; Folkman, 2006; Kim et al., 2002; Sauter et al., 2000).

In this paper, we are interested in an endostatin gene therapy that involves the local infection of tumor cells with adenoviruses encoding the wild-type endostatin gene. This results in the overproduction of endostatin by the cancer cells. As we were intending to carry out a qualitative analysis of the efficacy of this treatment strategy, we modeled the administration of the adenoviruses rather simply. We assumed that the adenovirus particles had been rendered replication-deficient (Lin et al., 2007), and that this would homogeneously induce the overproduction of endostatin by quiescent and proliferative tumor cells. We also assumed that the diffusion of the adenoviruses outside the tumor could be neglected, and so we did not take into account their possible impact on endothelial and other healthy cells, assuming that it would be negligible compared to their effect on the tumor cells.

In what follows, we studied the effectiveness of a single administration of adenoviruses to avoid the issue of a possible immune response, that can occur following the first administration of treatment, and could therefore modify the efficacy of subsequent administrations.

3. Equations of the mathematical model

Our virtual tumor is described by the densities of tumor cells (number of tumor cells per unit of volume) in the proliferative, quiescent and apoptotic phases.

Newly formed blood vessels are represented by the density of endothelial cells (continuous approach), with a distinction being made between stable and unstable cells. Unstable cells proliferate and migrate towards the source of VEGF, whereas stable cells, which are required for blood to flow, are static.

We modeled the tissue concentrations of the investigated biochemical substances (VEGF, endostatin, angiopoietin-1 and angiopoietin-2) and oxygen.

Our model is based on a set of reaction–diffusion partial differential equations, that describes the evolution of the densities and concentrations of the species we took into account. The interaction between these species and regulation rules are described by a non-linear dependence of the coefficients of the equations.

Table 1 summarizes the notations used in this section.

All variables (local densities and concentrations) are assumed to be functions of space (denoted by \mathbf{x}), and time (denoted by t). To simplify, we will omit symbols indicating time and space dependencies, and will write, for instance, n instead of $n(\mathbf{x}, t)$.

Table 1
Notations used in the mathematical model.

Variable	Description
Ω	Computation domain
n	Density of unstable endothelial cells
n_s	Density of stable endothelial cells
$[VEGF]$	VEGF concentration
$[endos]$	Endostatin concentration
$[Ang1]$	Angiopoietin-1 concentration
$[Ang2]$	Angiopoietin-2 concentration
$[O_2]$	Oxygen concentration
P	Density of proliferative tumor cells
Q	Density of quiescent tumor cells
A	Density of apoptotic tumor cells
M	Density of healthy cells

3.1. Densities of endothelial cells

As we have already explained, unstable endothelial cells undergo four processes: proliferation (until a maximum value denoted by N_{max} is reached), diffusion, chemotaxis in response to VEGF stimuli and depending on the VEGF concentration gradient, and maturation.

Consequently, at the space position \mathbf{x} and time t , the density of unstable endothelial cells is governed by

$$\frac{\partial n}{\partial t} = \underbrace{\nabla \cdot (D_e \nabla n)}_{\text{diffusion}} + \underbrace{\alpha n \left(1 - \frac{n + n_S}{N_{max}}\right)}_{\text{proliferation}} - \underbrace{\nabla \cdot \left(\chi n \left(1 - \frac{n + n_S}{N_{max}}\right) \nabla [VEGF]\right)}_{\text{chemotaxis}} - \underbrace{\frac{\partial n_S}{\partial t}}_{\text{maturation}} \quad (1)$$

where D_e is the diffusion coefficient, α the proliferation rate, χ the chemotaxis rate. (See Eq. (2) for details about $\partial n_S / \partial t$.)

Thus, we modeled the proliferation of unstable endothelial cells using a logistic-type growth model, incorporating a logistic-type inhibition function to describe the fact that the number of endothelial cells cannot exceed the maximum value N_{max} (due to tissue carrying capacities, for instance). This inhibition function was also introduced into the chemotaxis term to model the natural affinity of endothelial cells for one another: the higher the local density of these cells, the fewer endothelial cells move away. Moreover, we assumed that the diffusion of unstable endothelial cells would be sharply reduced in places where the tumor density was too high, as a result of pressure effects and lack of space. To simplify, the diffusion coefficient, D_e , was taken to be usually constant, equal to C_e , but to be multiplied by a constant $c_{e,d} < 1$ in places where the tumor density ($P + Q$) was above a given threshold $\tau_{e,d}$, so we get

$$\forall t, \forall \mathbf{x} \in \Omega \quad D_e(\mathbf{x}, t) = C_e * \lambda_{e,d}(\mathbf{x}, t)$$

where

$$\lambda_{e,d}(\mathbf{x}, t) = \begin{cases} c_{e,d} < 1 & \text{if } P(\mathbf{x}, t) + Q(\mathbf{x}, t) > \tau_{e,d} \\ 1 & \text{else} \end{cases}$$

(see Section 3.6 for details about P and Q).

We assumed that the proliferation and migration rates (α and χ respectively in Eq. (1)) depended on the biochemical species effects on endothelial cells. So, in our model, α and χ depend on VEGF (see below).

Effect of VEGF on the proliferation of unstable endothelial cells: VEGF promotes the proliferation of endothelial cells by binding to Flk-1 receptors. However, this binding is regulated by endostatin, which is a VEGF antagonist at these receptors. This means that the effect of VEGF is regulated by endostatin. To model the effect of VEGF on the proliferation of unstable endothelial cells (denoted by $E_{VEGF,prolif}$) in the presence of endostatin, we used the standard pharmacological E_{max} model in order to take into account the differences between the molecular properties of VEGF and endostatin (see Appendix A for details):

$$E_{VEGF,prolif} = \frac{E_{max_{VEGF,prolif}}}{1 + \frac{K_{D,VEGF}}{[VEGF]} \left(1 + \frac{[endos]}{K_{D,endos}}\right)}$$

where $E_{max_{VEGF,prolif}}$ denotes the maximum effect of VEGF on unstable endothelial cell proliferation, and $K_{D,VEGF}$ (resp. $K_{D,endos}$) the dissociation constant of VEGF (resp. endostatin) at its Flk-1 receptor.

As expected, according to the previous equation, increasing the endostatin concentration induces a decrease in the effect of VEGF on proliferation.

However, unstable endothelial cells are known to die if the proliferation rate is not high enough. Consequently, the proliferation rate becomes negative if $E_{VEGF,prolif}$ is below a given threshold (denoted by $E_{min_{prolif}}$). We modeled this condition using the PA function defined below:

$$PA(u) = \left(\frac{Ap + u}{2}\right) - \left(\frac{Ap - u}{2}\right) \tanh(10^2(u - E_{min_{prolif}})) \quad \forall u \geq 0$$

where $E_{min_{prolif}}$ is the minimum value of $E_{VEGF,prolif}$, below which the proliferation rate becomes negative (value Ap) (Fig. 3).

As for the diffusion process, we assumed that endothelial cells would proliferate less in places where tumor density was too high, because of pressure effects and lack of space. So we assumed the proliferation rate to be multiplied by a given constant $c_{e,p} < 1$ in places where tumor density was above a given threshold $\tau_{e,p}$. This was equivalent to multiplying the proliferation rate by $\lambda_{e,p}$ defined as follows:

$$\lambda_{e,p} = \begin{cases} c_{e,p} < 1 & \text{if } P + Q > \tau_{e,p} \\ 1 & \text{else} \end{cases}$$

The proliferation rate is finally given by the following expression:

$$\alpha = PA(E_{VEGF,prolif}) \lambda_{e,p}$$

Effect of VEGF on the chemotaxis of unstable endothelial cells: We assumed that the chemotactic rate χ depended on VEGF binding to Flk-1 receptors. Using the E_{max} model, as before, we obtained:

$$\chi = \lambda_{e,c} \frac{E_{max_{VEGF,chemo}}}{1 + \frac{K_{D,VEGF}}{[VEGF]} \left(1 + \frac{[endos]}{K_{D,endos}}\right)}$$

where $E_{max_{VEGF,chemo}}$ denotes the maximum effect of VEGF on unstable endothelial cell chemotaxis, and $K_{D,VEGF}$ (resp. $K_{D,endos}$) the dissociation constant of VEGF (resp. endostatin) at its Flk-1 receptor.

As before, we multiplied the chemotactic coefficient by a constant $c_{e,c} < 1$, where the tumor density was above a given

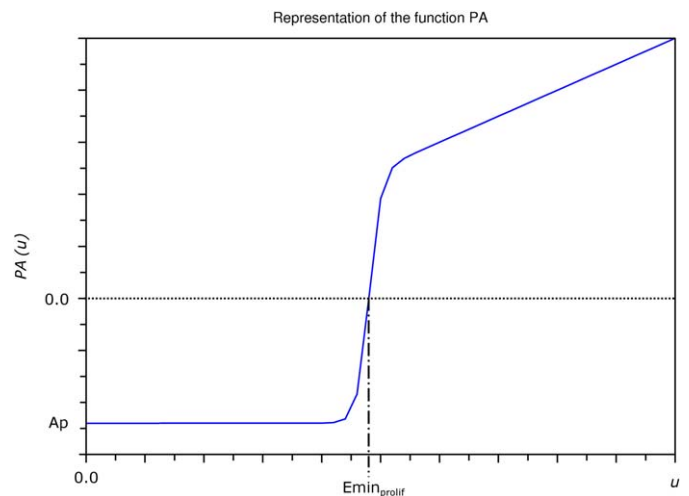


Fig. 3. Representation of the PA function. $E_{min_{prolif}}$ corresponds the minimum value of $E_{VEGF,prolif}$, below which cellular proliferation no longer occurs; Ap is a negative constant representing the cell death rate.

threshold $\tau_{e,c}$:

$$\lambda_{e,c} = \begin{cases} c_{e,c} < 1 & \text{if } P + Q > \tau_{e,c} \\ 1 & \text{else} \end{cases}$$

Moreover, in our model, unstable endothelial cells become stable through the maturation process. This maturation process depends on the effects of angiopoietins as they bind to the Tie2 receptors.

Effect of angiopoietins on endothelial cell maturation: As before, the pharmacological E_{max} model was used to model the combined impact of angiopoietin-1 and its antagonist, angiopoietin-2, on the maturation of unstable endothelial cells:

$$E_{Ang1} = \frac{E_{max,Ang1}}{1 + \frac{K_{D,Ang1}}{[Ang1]} \left(1 + \frac{[Ang2]}{K_{D,Ang2}} \right)}$$

where $E_{max,Ang1}$ represents the maximum effect of angiopoietin-1 on unstable endothelial cells, and $K_{D,Ang1}$ (resp. $K_{D,Ang2}$) the dissociation constant of angiopoietin-1 (resp. -2) at the Tie2 receptor.

We also assumed that endothelial cells matured when E_{Ang1} was above a given threshold $E_{Ang1,min}$. In consequence, the evolution of the density of stable (mature) endothelial cells is given by the following expression:

$$\frac{\partial n_s}{\partial t} = \mu H(E_{Ang1} - E_{Ang1,min}) H(n + n_s - N_{min}) n \quad (2)$$

where μ denotes the maturation rate, H the Heaviside function, $E_{Ang1,min}$ and N_{min} are the minimum value of E_{Ang1} and that of endothelial cell density required for maturation, respectively. We assumed μ , $E_{Ang1,min}$ and N_{min} to be positive constants.

3.2. VEGF concentration

VEGF is secreted by quiescent tumor cells, diffuses into the surrounding tissue, binds to specific receptors located on endothelial cell membranes, and disappears naturally. As in the foregoing tumor modeling framework, we assumed that the process of molecular diffusion occurred on a much shorter time scale than that of cell division (Ribba et al., 2005). Therefore, in our model, the VEGF concentration reaches steady-state instantaneously, and so is supposed to satisfy the following equation:

$$0 = \frac{\partial [VEGF]}{\partial t} = \underbrace{\nabla \cdot (D_V \nabla [VEGF])}_{\text{diffusion}} + \underbrace{\alpha_V Q}_{\text{production}} - \underbrace{\beta_V n}_{\text{binding}} - \underbrace{\delta_V [VEGF]}_{\text{natural decay}} \quad (3)$$

where D_V is the diffusion coefficient, α_V the production rate, β_V the binding rate, δ_V the degradation rate. D_V , α_V and δ_V are taken to be positive constants.

As we said before, endostatin is a competitive inhibitor of VEGF at the Flk-1 receptors. We therefore modeled the binding rate of VEGF to its receptors as follows:

$$\beta_V = \frac{\beta_{max,V}}{1 + \frac{K_{D,VEGF}}{[VEGF]} \left(1 + \frac{[endos]}{K_{D,endos}} \right)}$$

where $\beta_{max,V}$ denotes the maximum binding rate of VEGF to Flk-1 receptors, $K_{D,VEGF}$ (resp. $K_{D,endos}$) is the dissociation constant of VEGF (resp. endostatin) at its Flk-1 receptor. These three parameters are all positive constants.

3.3. Endostatin concentration

Endostatin is released by living tumor cells (proliferative and quiescent), diffuses into the surrounding tissue, binds to specific Flk-1 receptors, and disappears naturally. As for VEGF, we assumed that the endostatin concentration also reached steady-state instantaneously. The endostatin concentration therefore satisfies the following equation:

$$0 = \frac{\partial [endos]}{\partial t} = \underbrace{\nabla \cdot (D_{endos} \nabla [endos])}_{\text{diffusion}} + \underbrace{\alpha_{endos}(P + Q)}_{\text{production}} - \underbrace{\beta_{endos} n}_{\text{binding}} - \underbrace{\delta_{endos} [endos]}_{\text{natural decay}} \quad (4)$$

where D_{endos} is the diffusion coefficient, α_{endos} the production rate, β_{endos} the binding rate, δ_{endos} the degradation rate. D_{endos} , α_{endos} and δ_{endos} are positive constants.

As VEGF and endostatin are competitive inhibitors, the binding rate of endostatin to its Flk-1 receptors is modeled by

$$\beta_{endos} = \frac{\beta_{max,endos}}{1 + \frac{K_{D,endos}}{[endos]} \left(1 + \frac{[VEGF]}{K_{D,VEGF}} \right)}$$

where $\beta_{max,endos}$ denotes the maximum binding rate of endostatin to Flk-1 receptors, $K_{D,endos}$ (resp. $K_{D,VEGF}$) is the dissociation constant of endostatin (resp. VEGF) at its Flk-1 receptor. As before, these three parameters are all positive constants.

3.4. Concentrations of the angiopoietins

As we said above, angiopoietin-1 is expressed by mural cells, which play an important role in the maturation process of new blood vessels. As our model does not integrate mural cells, we will assume the angiopoietin-1 concentration to be uniformly constant (equal to $[Ang1]_0$), which seems a plausible hypothesis (Metheny-Barlow and Li, 2003).

Angiopoietin-2 is produced by tumor cells and by unstable endothelial cells, and it diffuses into the surrounding tissue, binds to specific receptors Tie2, and disappears naturally. Making the same assumptions as for the VEGF equation, we can write

$$0 = \frac{\partial [Ang2]}{\partial t} = \underbrace{\nabla \cdot (D_{A2} \nabla [Ang2])}_{\text{diffusion}} + \underbrace{\alpha_{1,A2}(P + Q) + \alpha_{2,A2} n}_{\text{production}} - \underbrace{\beta_{A2} n}_{\text{binding}} - \underbrace{\delta_{A2} [Ang2]}_{\text{natural decay}} \quad (5)$$

where D_{A2} stands for the diffusion coefficient, $\alpha_{1,A2}$ and $\alpha_{2,A2}$ the production rates, β_{A2} the binding rate, δ_{A2} the degradation rate. D_{A2} , $\alpha_{1,A2}$, $\alpha_{2,A2}$ and δ_{A2} are positive constants. As before, we expressed the binding rate of angiopoietin-2 to Tie2 receptors as follows:

$$\beta_{A2} = \frac{\beta_{max,A2}}{1 + \frac{K_{D,A2}}{[Ang2]} \left(1 + \frac{[Ang1]}{K_{D,A1}} \right)}$$

where $\beta_{max,A2}$ denotes the maximum binding rate, $K_{D,A2}$ (resp. $K_{D,A1}$) is the dissociation constant of angiopoietin-2 (resp. angiopoietin-1) at its Tie2 receptor.

3.5. Oxygen concentration

As we said above, the angiogenesis model is coupled to the tumor growth model by oxygen concentration.

Oxygen is delivered by the pre-existing vasculature and by the vessels newly formed as a result of angiogenesis. We assumed that oxygen diffuses through the vessels wall into the surrounding tissue is consumed by both healthy and tumor cells, and disappears naturally. We also assumed that the new sources of oxygen resulting from the angiogenic process had a constant concentration ($[O_2]_{max}$), and were located in those spaces where the density of stable endothelial cells was strictly positive (represented, for a given time t , by $\{\mathbf{x} \in \Omega | n_S(\mathbf{x}, t) \neq 0\}$).

Moreover, as before, we assumed that the oxygen concentration reached its steady-state instantaneously. Accepting these hypotheses, we wrote the equation governing the oxygen concentration as follows:

$$\begin{cases} 0 = \frac{\partial [O_2]}{\partial t} = \underbrace{\nabla \cdot (D_0 \nabla [O_2])}_{\text{diffusion}} - \underbrace{(\beta_{1,0} P + \beta_{2,0} Q + \beta_{3,0} M)[O_2]}_{\text{consumption}} - \underbrace{\delta_0 [O_2]}_{\text{natural decay}} \\ [O_2] = [O_2]_{max} \quad \text{where } n_S \neq 0 \end{cases} \quad (6)$$

where D_0 is the diffusion coefficient, $\beta_{1,0}$, $\beta_{2,0}$ and $\beta_{3,0}$ the consumption rates, δ_0 the degradation rate. D_0 , $\beta_{1,0}$, $\beta_{2,0}$ and $\beta_{3,0}$, δ_0 and $[O_2]_{max}$ are all positive constants.

3.6. Densities of tumor cells and healthy cells

Our mathematical model of tumor growth, coupled with the angiogenesis model presented above, is based on a model published in several different papers (Ribba et al., 2006a, b, 2009). In our model, the tumor is described by the densities of tumor cells in the proliferative, quiescent, and apoptotic states.

The densities of tumor cells in these states are denoted by P_1 , P_2 for the two proliferative phases, Q for the quiescent phase and A for apoptosis, respectively. This model takes into account the progression of tumor cells in the cell cycle by introducing the notion of age, denoted by a (age-structured model). However, we considered that only proliferative cells actually changed with age, so P_1 and P_2 depend on space \mathbf{x} , time t and age a , whereas Q and A only depend on space \mathbf{x} and time t .

We then supposed the total proliferative cell density to be given by

$$P(\mathbf{x}, t) \stackrel{\text{def}}{=} \int_0^{a_{max,P_1}} P_1(\mathbf{x}, t, a) da + \int_0^{a_{max,P_2}} P_2(\mathbf{x}, t, a) da \quad \forall \mathbf{x} \in \Omega, \forall t$$

where a_{max,P_1} and a_{max,P_2} represent the maximum duration of the proliferative states represented by P_1 and P_2 respectively.

Cell division, leading to new cells, is assumed to create passive advection of tumor and healthy cells.

In our model, the transition between the proliferative (P_1) and the quiescent (Q) phases is governed by both hypoxia and overpopulation (when cells lack the space to proliferate), whereas the transition between the quiescent and apoptotic (A) phases is mediated solely by hypoxia. Fig. 4 shows a schematic illustration of cell cycle regulation.

Functions f and g model the environmental conditions, with

$$f(\mathbf{x}, t) = \begin{cases} 1 & \text{if } \int_0^{a_{max,P_1}} P_1(\mathbf{x}, t, a) da + 2 \int_0^{a_{max,P_2}} P_2(\mathbf{x}, t, a) da + Q(\mathbf{x}, t) \leq \tau_o \text{ and } [O_2](\mathbf{x}, t) \geq \tau_{1,h} \\ 0 & \text{else} \end{cases}$$

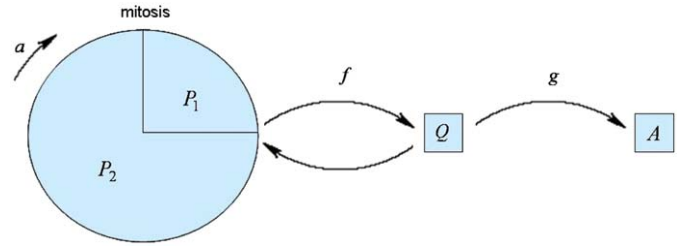


Fig. 4. Schematic representation of our age-structured cell cycle regulation model. We took into account two proliferative phases P_1 and P_2 , one quiescent phase Q , and one apoptotic phase A . At the end of the P_1 phase, environmental conditions are checked; this checking is modeled through functions f and g . In a context of overpopulation or hypoxia, proliferative cells become quiescent (through function f). If the hypoxic stress is too high, cells can become apoptotic (through function g). If the environmental conditions become more favorable, quiescent cells can revert to the proliferative phase. We suppose that mitosis occurs at the end of the P_2 phase, leading to the generation of new cells.

and

$$g(\mathbf{x}, t) = \begin{cases} 1 & \text{if } [O_2](\mathbf{x}, t) \geq \tau_{2,h} \\ 0 & \text{else} \end{cases}$$

where τ_o is the overpopulation threshold, and $\tau_{1,h}$ and $\tau_{2,h}$ the hypoxia thresholds (with $\tau_{1,h} > \tau_{2,h}$).

Let us note that we added a coefficient 2 before the P_2 density in the expression of the function f as cancer cells divide unconditionally once they are in the phase P_2 .

The tumor cell density evolution equations are described below:

$$\frac{\partial P_1}{\partial t} + \frac{\partial P_1}{\partial a} + \nabla \cdot (\mathbf{v}_{P_1} P_1) = 0 \quad (7)$$

$$\frac{\partial P_2}{\partial t} + \frac{\partial P_2}{\partial a} + \nabla \cdot (\mathbf{v}_{P_2} P_2) = 0 \quad (8)$$

$$\begin{aligned} \frac{\partial Q}{\partial t} + \nabla \cdot (\mathbf{v}_Q Q) &= g(1 - f)P_1(a = a_{max,P_1}) \\ &\quad - \left[\frac{\partial f}{\partial t} \right]^+ Q(t^-) + \left[\frac{\partial g}{\partial t} \right]^- Q(t^-) \end{aligned} \quad (9)$$

$$\frac{\partial A}{\partial t} + \nabla \cdot (\mathbf{v}_A A) = (1 - g)P_1(a = a_{max,P_1}) - \left[\frac{\partial g}{\partial t} \right]^- Q(t^-) \quad (10)$$

where $[\partial \cdot / \partial t]^+$ (resp. $[\partial \cdot / \partial t]^-$) represents the positive (resp. negative) part of $\partial \cdot / \partial t$, and \mathbf{v}_{P_1} , \mathbf{v}_{P_2} , \mathbf{v}_Q , \mathbf{v}_A represent the velocity of tumor cells in the proliferative, quiescent and apoptotic states respectively. Since, as we said, the advection movement is passive, we assumed that $\mathbf{v}_{P_1} = \mathbf{v}_{P_2} = \mathbf{v}_Q = \mathbf{v}_A$, denoted by \mathbf{v} in the following.

To model the transition between the two proliferative states, we supposed that the boundary conditions for age were given by

$$\begin{cases} P_1(a = 0) = 2P_2(a = a_{max,P_2}) \\ P_2(a = 0) = fP_1(a = a_{max,P_1}) + \left[\frac{\partial f}{\partial t} \right]^+ Q(t^-) \end{cases} \quad (11)$$

Expansion of tumor cells induces a similar passive movement of healthy cells; so the density of healthy cells is assumed to be governed by

$$\frac{\partial M}{\partial t} + \nabla \cdot (\mathbf{v}_M M) = 0 \quad (12)$$

where \mathbf{v}_M represents the velocity of healthy cells, with $\mathbf{v}_M = \mathbf{v}$.

Note that, in our model, apoptotic cells (cells in phase A) do not disappear. Indeed, assuming the total density of cells (healthy

cells plus tumor cells) to be equal to a constant, N_0 , we set

$$M + P + Q + A = N_0 \tag{13}$$

By deriving this equality with respect to time, we get

$$\nabla \cdot \mathbf{v} = \frac{1}{N_0} P_2(a_{max}, P_2) \tag{14}$$

From this equation, we get $\nabla \cdot \mathbf{v} \geq 0$, which means that tumor volume expands.

To determine the velocity, \mathbf{v} , we use a Darcy-type law:

$$\mathbf{v} = -\nabla \phi \tag{15}$$

where ϕ is a potential.

From Eqs. (14) and (15), we get an expression for the velocity, \mathbf{v} , that enables us to solve Eqs. (7)–(10), (12).

Further details can be found in Ribba et al. (2006a, b, 2009).

3.7. Endostatin-based treatment

We considered a single intratumoral administration of adenoviruses encoding the endostatin gene. We supposed that this

treatment would induce an increase in endostatin production by proliferative and quiescent tumor cells. We therefore modeled this administration by adding a production term to Eq. (4):

$$0 = \nabla \cdot (D_{endos} \nabla [endos]) + \alpha_{endos}(P + Q) - \beta_{endos} n - \delta_{endos} [endos] + \underbrace{C_{endos} \alpha_{endos}(P + Q) \mathbb{1}_{[t_1; t_2]}}_{\text{overproduction due to treatment}} \tag{16}$$

where C_{endos} denotes the overproduction rate, and $[t_1; t_2]$ represents the time interval over which endostatin is overproduced.

The overproduction rate can be linked to the dose or strength of the treatment, whereas the overproduction time interval can be linked to duration of treatment.

3.8. Summary of the model

Table 2 shows a summary of the macroscopic mathematical model, and Table 3 a summary of the molecular model. A summary of the parameters used for the computations is presented in Table 4 of Appendix B.

3.9. Evaluation of therapeutic effects

As intratumoral administrations of adenoviruses encoding the endostatin gene are intended to slow tumor growth by delaying the

Table 2
Summary of the equations of the macroscopic model.

Entity	Model equation
Density of unstable endothelial cells (ECs)	$\partial_t n = \nabla \cdot (D_e \nabla n) + \alpha n \left(1 - \frac{n + n_S}{N_{max}}\right) - \nabla \cdot \left(\chi n \left(1 - \frac{n + n_S}{N_{max}}\right) \nabla [VEGF]\right) - \partial_t n_S$
Density of stable ECs	$\partial_t n_S = \mu H(E_{Ang1} - E_{Ang1, min}) H(n + n_S - N_{min}) n$
Concentration of VEGF	$0 = \nabla \cdot (D_V \nabla [VEGF]) + \alpha_V Q - \beta_V n - \delta_V [VEGF]$
Concentration of endostatin	$0 = \nabla \cdot (D_{endos} \nabla [endos]) + \alpha_{endos}(P + Q) - \beta_{endos} n - \delta_{endos} [endos] + C_{endos} \alpha_{endos}(P + Q) \mathbb{1}_{[t_1; t_2]}$
Concentration of angiotensin-1	$[Ang1] = [Ang1]_0$
Concentration of angiotensin-2	$0 = \nabla \cdot (D_{A2} \nabla [Ang2]) + \alpha_{1, A2}(P + Q) + \alpha_{2, A2} n - \beta_{A2} n - \delta_{A2} [Ang2]$
Concentration of oxygen	$0 = \nabla \cdot (D_O \nabla [O_2]) - (\beta_{1, O} P + \beta_{2, O} Q + \beta_{3, O} M) [O_2] - \delta_O [O_2]$
Density of proliferative tumor cells	$[O_2] = [O_2]_{max}$ where $n_S \neq 0$ $\partial_t P_1 + \partial_a P_1 + \nabla \cdot (\mathbf{v} P_1) = 0$ $\partial_t P_2 + \partial_a P_2 + \nabla \cdot (\mathbf{v} P_2) = 0$ $P_1(a = 0) = 2P_2(a = a_{max, P_2})$ $P_2(a = 0) = f P_1(a = a_{max, P_1}) + [\partial_t f]^+ Q(t^-)$
Density of quiescent tumor cells	$\partial_t Q + \nabla \cdot (\mathbf{v} Q) = g(1 - f) P_1(a = a_{max, P_1}) - [\partial_t f]^+ Q(t^-) + [\partial_t g]^- Q(t^-)$
Density of apoptotic tumor cells	$\partial_t A + \nabla \cdot (\mathbf{v} A) = (1 - g) P_1(a = a_{max, P_1}) - [\partial_t g]^- Q(t^-)$
Density of healthy cells	$\partial_t M + \nabla \cdot (\mathbf{v} M) = 0$

Table 3
Summary of the molecular model.

Parameter	Description	Expression	Equation
D_e	Rate of diffusion of endothelial cells (ECs)	$C_e * \lambda_{e,d}$	(1)
α	Rate of proliferation of ECs	$PA(E_{VEGF,prolif}) * \lambda_{e,p}$ where $E_{VEGF,prolif} = \frac{E_{max,VEGF,prolif}}{1 + \frac{K_{D,VEGF}}{[VEGF]} \left(1 + \frac{[endos]}{K_{D,endos}}\right)}$	(1)
χ	Rate of chemotaxis of ECs	$\lambda_{e,c} \frac{E_{max,VEGF,chemo}}{1 + \frac{K_{D,VEGF}}{[VEGF]} \left(1 + \frac{[endos]}{K_{D,endos}}\right)}$	(1)
E_{Ang1}	Effect of angiotensin-1 on maturation	$\frac{E_{max,Ang1}}{1 + \frac{K_{D,Ang1}}{[Ang1]} \left(1 + \frac{[Ang2]}{K_{D,Ang2}}\right)}$	(2)
β_V	Binding rate of VEGF to Flk-1	$\frac{\beta_{max,V}}{1 + \frac{K_{D,VEGF}}{[VEGF]} \left(1 + \frac{[endos]}{K_{D,endos}}\right)}$	(3)
β_{endos}	Binding rate of endostatin to Flk-1	$\frac{\beta_{max,endos}}{1 + \frac{K_{D,endos}}{[endos]} \left(1 + \frac{[VEGF]}{K_{D,VEGF}}\right)}$	(4)
β_{A2}	Binding rate of angiotensin-2 to Tie2	$\frac{\beta_{max,A2}}{1 + \frac{K_{D,A2}}{[Ang2]} \left(1 + \frac{[Ang1]}{K_{D,A1}}\right)}$	(5)

development of a vascular network, we have introduced two criteria for the comparison of the benefits of treatment, illustrated in Fig. 5.

Simulating the treatment administration at the very early stage of tumor growth, we first considered the time taken for the tumor to grow to more than a given size represented by the threshold τ_g . In this criterion, the duration of treatment (interval $[t_1; t_2]$ in Eq. (16)) was integrated into the time considered. Consequently, we also considered the time between the end of treatment (i.e. t_2) and the time when the tumor size exceeded the threshold τ_g .

Obviously, the greater these criteria, the more effective the treatment.

3.10. Boundary and initial conditions

Boundary conditions: We assumed that the various quantities in our mathematical model did not cross the boundary of the computational domain (Ω). This can be modeled by setting Neumann conditions at the boundary of the model:

$$\frac{\partial n}{\partial \bar{\nu}} \Big|_{\partial\Omega} = 0, \quad \frac{\partial n_S}{\partial \bar{\nu}} \Big|_{\partial\Omega} = 0, \quad \frac{\partial [VEGF]}{\partial \bar{\nu}} \Big|_{\partial\Omega} = 0, \quad \frac{\partial [endos]}{\partial \bar{\nu}} \Big|_{\partial\Omega} = 0,$$

$$\frac{\partial [Ang2]}{\partial \bar{\nu}} \Big|_{\partial\Omega} = 0, \quad \frac{\partial [O_2]}{\partial \bar{\nu}} \Big|_{\partial\Omega} = 0$$

where $\bar{\nu}$ represents the outgoing normal vector to Ω boundary and $\partial/\partial \bar{\nu}$ is defined by

$$\frac{\partial \zeta}{\partial \bar{\nu}} = \nabla \zeta \cdot \bar{\nu} \quad \text{for all function } \zeta \text{ defined on } \Omega$$

Initial conditions: We simulated the mathematical model presented here in two dimensions. The computational domain was a square.

In our simulation settings, the tumor is circular and stands in the middle of the domain. We considered the tumor to be

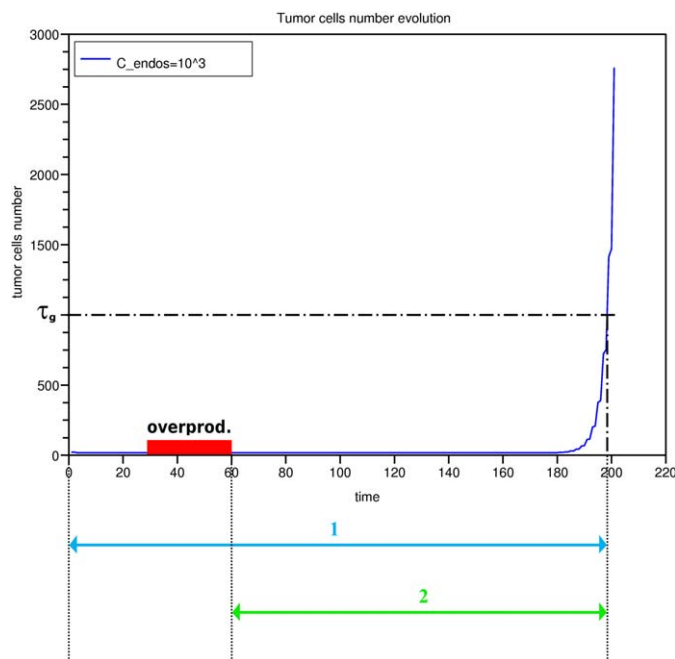


Fig. 5. The two criteria used to evaluate treatment efficacy. Criterion 1 represents the time required by the tumor to exceed a given size threshold (denoted by τ_g). This time includes the treatment period. Criterion 2 is the time interval between the end of treatment and growth of the tumor above the threshold τ_g .

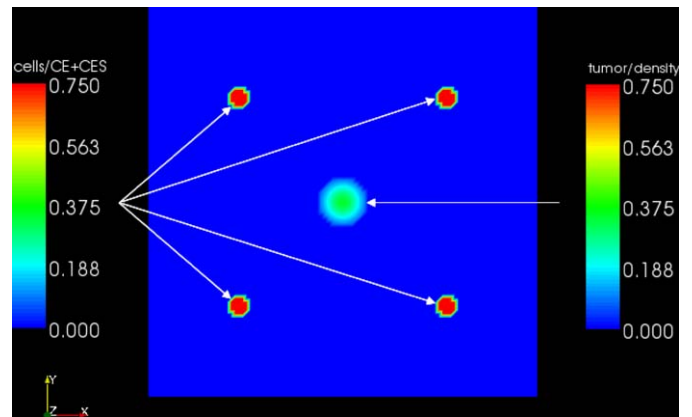


Fig. 6. Initial conditions of the densities of unstable and stable endothelial cells and of tumor cells. Tumor cells are located in the middle of the domain. Four existing blood vessels composed of endothelial cells surround the tumor.

surrounded by four pre-existing blood vessels composed of both stable and unstable endothelial cells (Fig. 6).

At time zero of simulation, tumor density in the central cluster is given by a Gaussian distribution (see color degradation in the central tumor cluster in Fig. 6). We also supposed that this tumor was composed of both proliferative and quiescent cells with

$$P_1(\mathbf{x}, t = 0, a) = P_2(\mathbf{x}, t = 0, a) \leq Q(\mathbf{x}, t = 0) \quad \forall \mathbf{x} \in \Omega, \forall a \quad (17)$$

Initially, the endothelial cells are uniformly distributed in the clusters representing existing blood vessels, with

$$n_S(\mathbf{x}, t = 0) = 2n(\mathbf{x}, t = 0) = \frac{N_{max}}{2} \quad \forall \mathbf{x} \in \Omega \quad (18)$$

The initial concentrations of VEGF, endostatin, angiopoietin-2 and oxygen are set to be equal to the steady-state solution of their respective equations (Eqs. (3)–(6)).

4. Numerical results

We simulated the computational model, with the initial conditions mentioned above, on a 100×100 discrete elements grid. The partial differential equations of our model were discretized using a finite volume method. We also used a penalization method to ensure that the concentration of oxygen was fixed in the functional blood vessels. Our time unit is the half-day (12 hours (h)), and our space unit is the millimeter (mm).

4.1. Tumor growth and angiogenesis without treatment

We first present simulation results of the model in the absence of treatment (see Fig. 7).

Initially, the tumor cells consume the oxygen available in their environment as a result of diffusion from the existing oxygen sources. As the tumor cells proliferate, the local oxygen concentration soon becomes inadequate, and hypoxia occurs. Proliferative tumor cells revert to the quiescent state, and those subjected to the most severe hypoxia (primarily in the center of the tumor) simply die (they move into the apoptotic compartment and no longer appear in any of the pictures). In response to hypoxic stress, quiescent cells secrete VEGF. VEGF molecules diffuse into the domain, reach the endothelial cells, and stimulate the unstable cells to proliferate and migrate towards tumor cells (see Fig. 7, $t = 10$). Through the process of maturation described above,

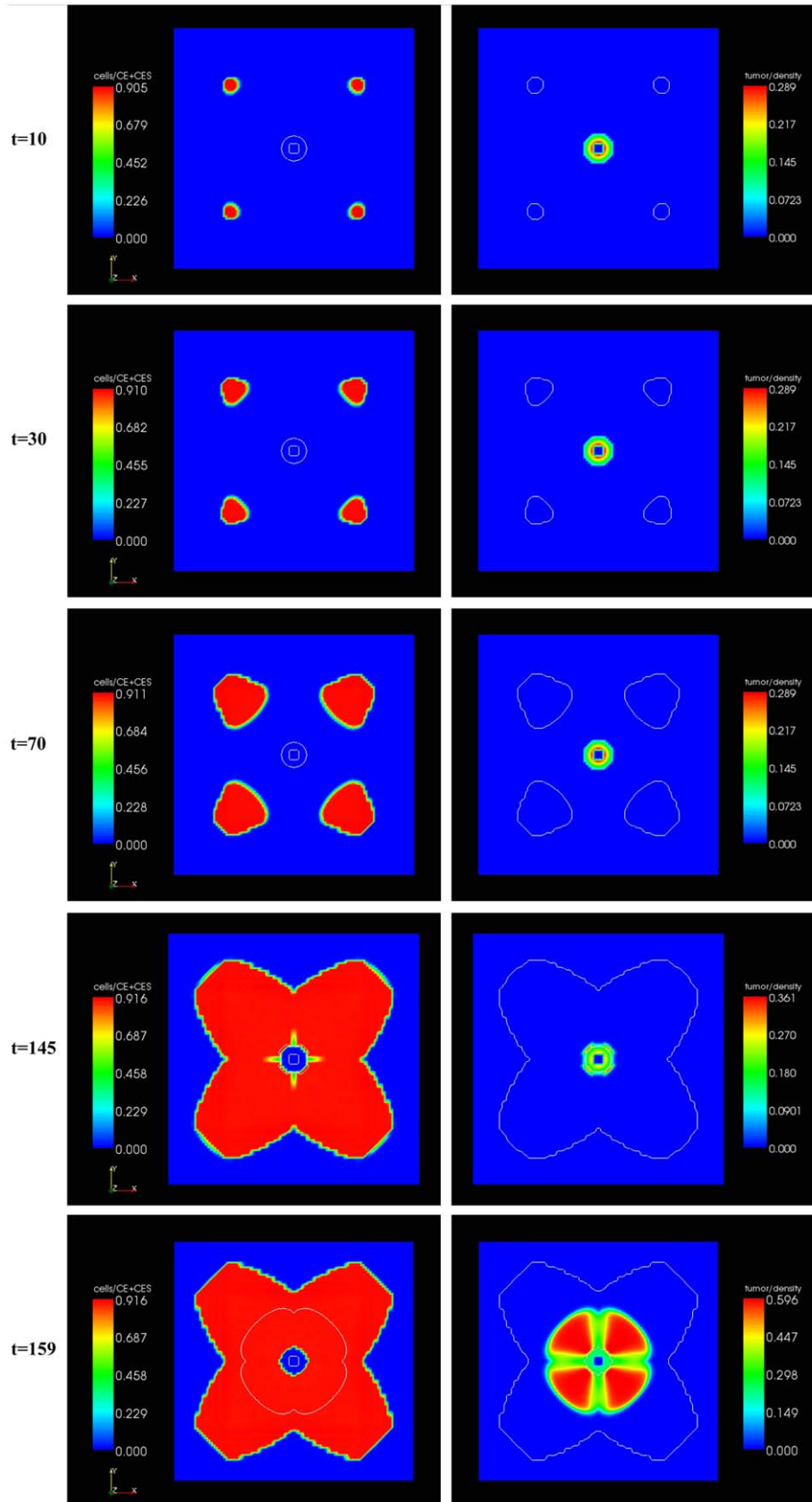


Fig. 7. From top to bottom: spatio-temporal evolution of the densities of endothelial cells (unstable plus stable) and tumor cells. Left panel, pictures show the spatio-temporal evolution of endothelial cells (density) proliferating and migrating from the existing vessels towards the tumor cells. The fine contour line demarcates the area of the tumor. Right panel, pictures show the spatio-temporal evolution of tumor cell density. The fine contour line demarcates the distribution of endothelial cells.

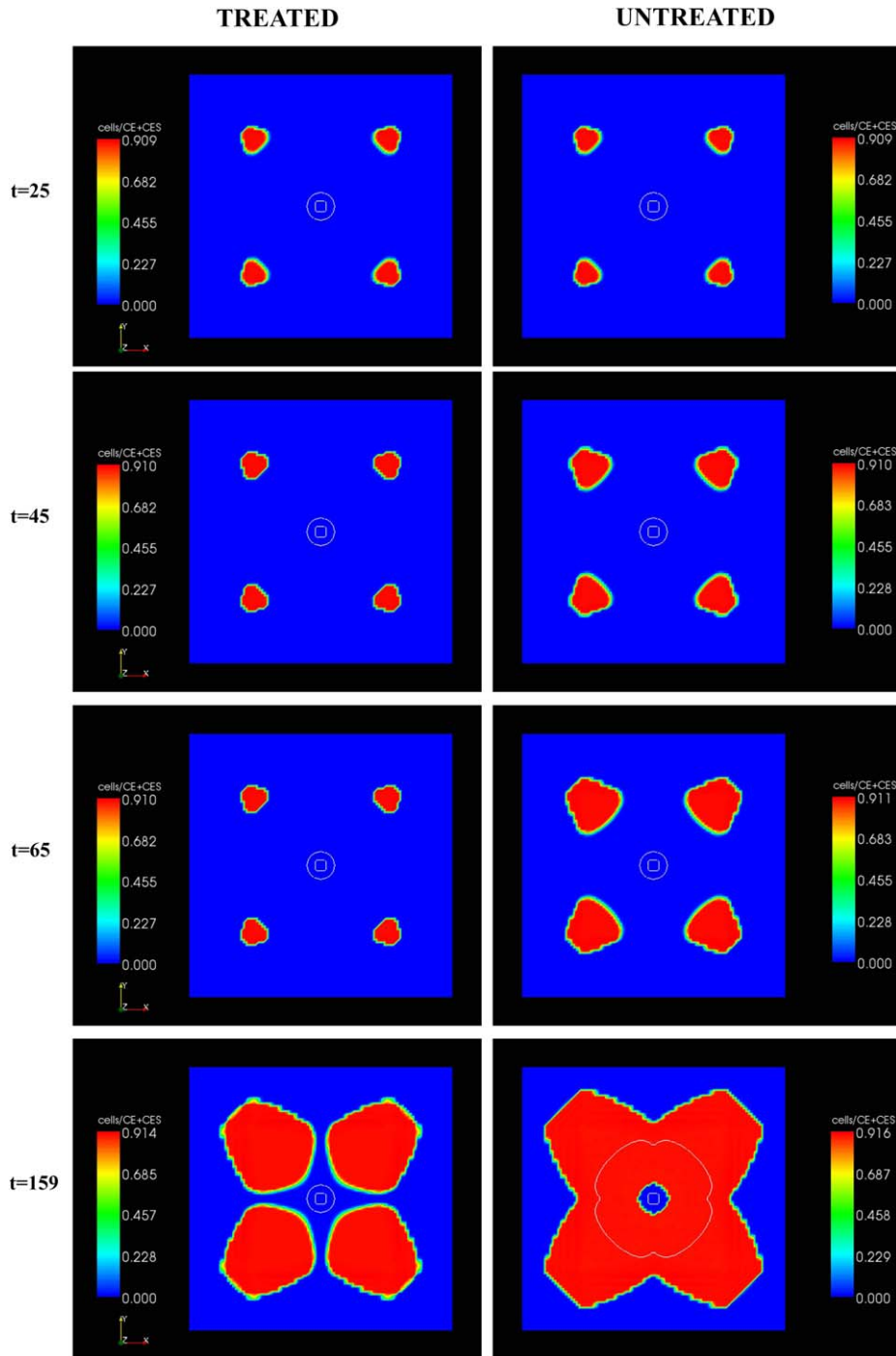


Fig. 8. From top to bottom: spatio-temporal evolution of endothelial cell density with (left panel) and without (right panel) endostatin overproduction (from $t = 30$ to 60). The fine contour line outlines the tumor.

endothelial cells form functional blood vessels (see Fig. 7, $t = 30$ and 70).

As soon as the local concentration of oxygen increases in the tumor region as a result of the formation of new vessels, the peripheral tumor cells begin to proliferate (see Fig. 7, $t = 145$).

At the end of this simulation, the tumor is composed of an apoptotic center, surrounded by quiescent cells, which in turn are surrounded by proliferative cells (see Fig. 7, $t = 159$). This configuration is consistent, for instance, with conventional subcutaneous xenografted mouse models.

4.2. Endostatin-based treatment effects

The model was then used to simulate the effect of endostatin overproduction from $t = 30$ to 60 , as described in Section 3.7 ($C_{endos} = 100$). Fig. 8 depicts the change in endothelial cell density during simulated treatment (left panel) compared to the untreated condition (right panel).

In the early stages of simulation, there is no change in the behavior of the system (see Fig. 8, $t = 25$). Subsequently, endostatin overproduction leads to regression of the vasculature

(see Fig. 8, $t = 45$). This results from the binding of endostatin molecules to Flk-1 receptors instead of VEGF molecules. As a consequence, the unstable endothelial cells are no longer sufficiently stimulated, and some of them die. However, as soon as endostatin overproduction stops, angiogenesis starts again (see Fig. 8, $t = 65$). Nevertheless, the treatment has induced a delay in vessel growth, and at the end of the simulation phase, as expected, tumor vasculature is less developed in the treated condition, as a consequence of endostatin overproduction (see Fig. 8, $t = 159$). This delay in blood vessel formation leads to slower tumor growth, as shown in Fig. 9.

We further compared the change in tumor density in the presence and absence of endostatin overproduction by analyzing the change in the sum of proliferative and quiescent tumor cells and that in the sum of endothelial cells throughout the whole computation model. As shown in Fig. 10, endostatin overproduction delays endothelial cell proliferation, and in consequence slows tumor growth.

4.3. Influence of treatment design

In what follows, we use the treatment efficacy criteria presented in Section 3.9 to analyze the influence of treatment design on tumor growth. In our computation model, treatment or endostatin overproduction, is characterized by two factors: the duration of overproduction and the degree of overproduction (coefficient C_{endos} in Eq. (16)). The former can be assimilated to

treatment duration and the latter to the dose or strength of the treatment.

Fig. 11 shows the time course of efficacy criterion 1 (the total time taken for the tumor to grow above a given threshold after treatment stops) with respect to the degree of overproduction (or overproduction rate) and for different overproduction durations. It soon becomes apparent that it might be more effective to increase the duration of overproduction rather than increasing its degree.

All the curves depicted display three phases: a gradual increase, followed by a transient sharp increase and finally a plateau. At low overproduction rates, the time course of the efficacy criterion evolution is the outcome of a classical model of competition between agonists and antagonists at a given receptor. In our model, endostatin competes with VEGF, which activates the proliferation and migration of endothelial cells, to bind to the Flk-1 receptor (see Section 3.1). A switch occurs when the concentration of endostatin becomes too high relative to that of VEGF. Consequently, the unstable endothelial cells proliferate less, and tend to die (see Fig. 3), leading to a sharp increase in the efficacy criterion. Finally, the system tends towards a classical saturation phase, during which the endostatin concentration is such that VEGF cannot bind to Flk-1 receptors anymore. The proliferation rate of the endothelial cells reaches its lowest (negative) value (see Fig. 3).

Interestingly, analyzing the same behavior for criterion 2 (time between stopping treatment and the tumor's reaching a size above a given threshold) leads to a different overall curve pattern (see Fig. 12).

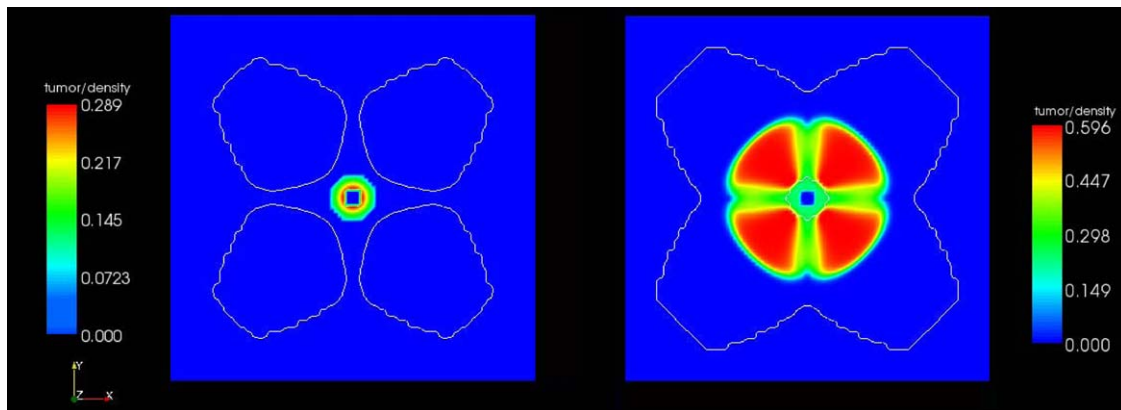


Fig. 9. Tumor density at time $t = 159$ (end of simulation) with (left panel) and without (right panel) endostatin overproduction. The fine contour line outlines the endothelial cells.

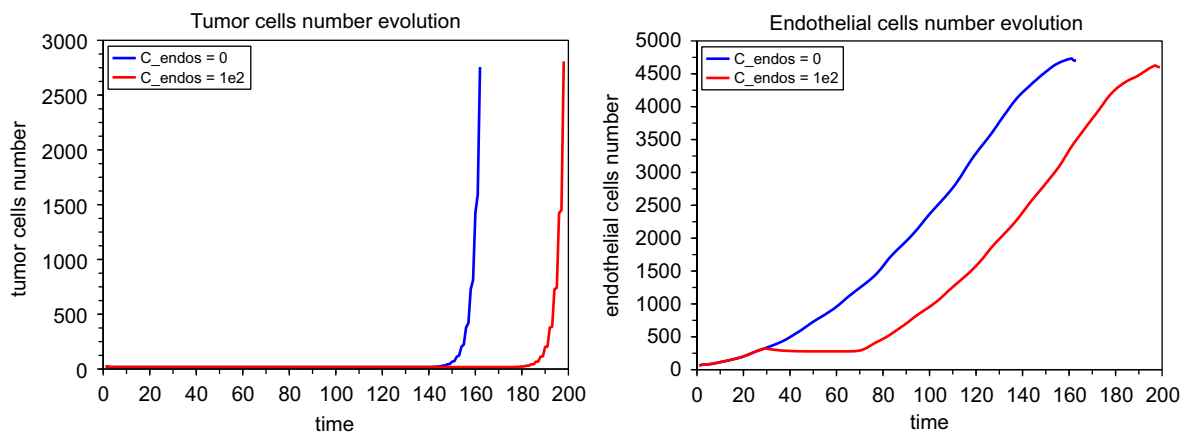


Fig. 10. Left: time course of the total number of tumor cells with (red curve) and without (blue curve) treatment. Right: the same for the total number of endothelial cells (unstable plus stable). (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

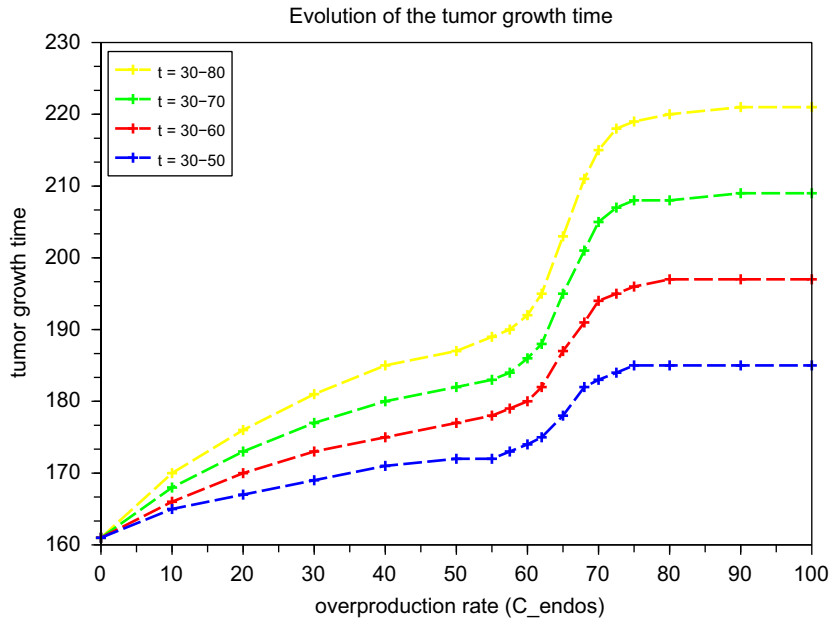


Fig. 11. Change in the tumor growth time criterion depending on variations in the degree and duration of the overproduction (one curve for each duration).

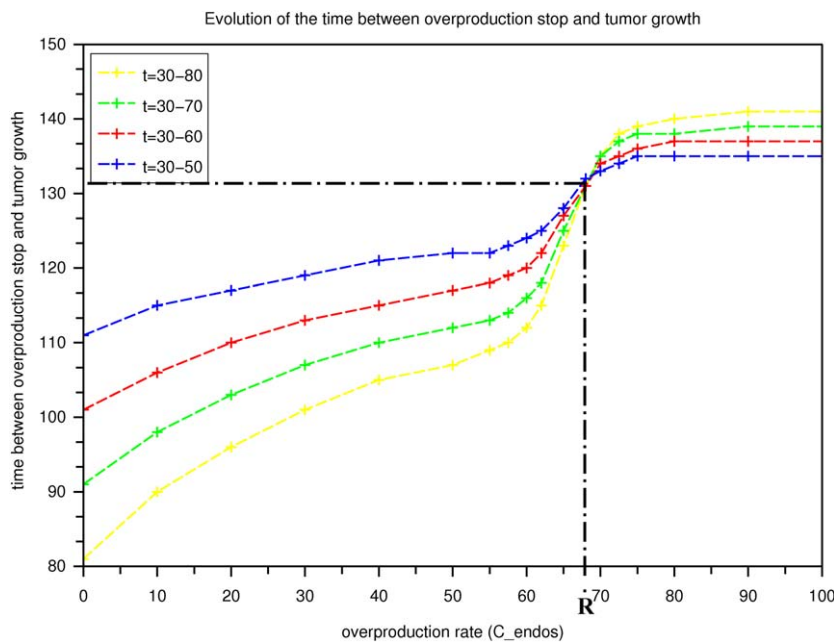


Fig. 12. Change in the time between the cessation of overproduction and reaching a tumor size above the critical threshold, depending on variations in the rate and duration of the overproduction. All the curves intersect at one point corresponding to an overproduction rate denoted by “R”.

As can be seen in Fig. 12, the curves intersect at a single point. This means that there is an overproduction rate (referred to as “R” in what follows) for which efficacy criterion 2 remains unchanged despite an increase in the duration of treatment. “R” corresponds to the endostatin overproduction rate that leads to an unstable endothelial cell proliferation rate equal to 0. If this happens, angiogenesis is not simply reduced, but stops completely; consequently, however long the treatment lasts, angiogenesis starts again under the same conditions as pertained when it stopped. Analyzing the system using criterion 2, which “eliminates” the duration of treatment, naturally leads to a steady state situation at this point. For overproduction rates of less than “R”, lengthening the duration of treatment has a deleterious effect, as

the tumor starts growing more quickly after treatment stops. This is known as the “rebound” effect. In our model, this results from inhibition of VEGF binding to Flk-1 receptors, thus increasing the concentration of free VEGF (since, although angiogenesis is slowed, the quiescent tumor cells still produce VEGF). As soon as the treatment stops, VEGF massively binds to Flk-1 receptors, leading to rapid endothelial cell proliferation and powerful activation of the angiogenic process. In contrast, for endostatin overproduction rates above “R”, simulations indicate that there is a slight therapeutic advantage as a result of lengthening the duration of treatment. This results from the decrease in the number of unstable endothelial cells as a result of a high concentration of endostatin (see Fig. 3), leading to a decrease in

the number of Flk-1 receptors. In consequence, the rebound effect is damped down.

This simple analysis highlights the difficulty of optimizing treatment design, as efficacy may depend on the multiscale features of the processes of tumor growth and angiogenesis.

5. Discussion

The process of tumor angiogenesis is recognized as being a key process in tumor development. In consequence, anti-angiogenesis therapies are being investigated throughout the world as a promising way to treat cancer patients. In this paper, we propose a mathematical model of angiogenesis and tumor growth. This model is based on a set of partial differential equations that describe the behavior of endothelial cells, that constitute blood vessel walls, tumor cells, as well as of some major pro- and anti-angiogenic substances, such as vascular endothelial growth factor (VEGF), endostatin, angiopoietin-1 and angiopoietin-2. At the molecular level, the model focuses on VEGF/endostatin competition to bind to Flk-1 receptors, and on angiopoietin-1/angiopoietin-2 competition to bind to Tie2 receptors. These binding processes regulate the whole process of blood vessel formation. At the macroscopic level, the model describes the spatio-temporal patterns of stable and unstable endothelial cells and tumor cells during the different phases of the cell cycle.

Compared to most of the existing models, this new model of angiogenesis offers an extra degree of complexity, particularly at the molecular level. This makes it possible to study the activation of angiogenesis related to the molecular properties of the main pro- and anti-angiogenic endogenous substances. As a result, this model could be used to analyze the impact of the molecular mechanisms of angiogenesis on the dynamics of tumor growth.

By injecting adenoviruses directly into the tumor mass, endostatin gene therapy triggers an increase in the production of endostatin by tumor cells, thus resulting in higher local expression of this VEGF antagonist. By simulating the effect of endostatin gene therapy on the system, we highlighted the existence of a critical treatment dose (referred to as a critical rate of endostatin overproduction). Below this threshold dose, increasing the duration of the treatment can actually have a deleterious effect due to the emergence of a rebound effect in the angiogenesis process. In contrast, above this critical dose, increasing the duration of treatment may improve its efficacy. Interestingly, these results show some similarity to those reported by Ribba et al. (2006b), where the authors used a multiscale, avascular tumor growth model to investigate the effects of anti-invasive treatments.

At this point, we should point out the main limitations of our work. First of all, the study presented here is a qualitative study. The model used is so complex, in particular due to its spatial structure, that it cannot be used as a quantitative tool. Nevertheless, a qualitative analysis of this type can still be used in a multiscale manner to investigate complex questions, such as how to optimize innovative anti-cancer drug delivery. However, some of the parameters, in particular those used in the pharmacological laws, can be estimated or quantified on the basis of existing published results.

One of the major discussion issues relates to our decision to model the angiogenesis process by means of continuous partial differential equations. Several previous publications have presented continuous angiogenesis models, but discrete models seemed to be more relevant for modeling the formation of blood vessels. However, as in any modeling experiment, the choice of mathematics should depend on the objective of the study. In our case, we claim that a continuous model is sufficient to

qualitatively analyze how efficient molecular-targeting angiogenesis drugs are. Obviously, in some cases, this may not be the case. For instance, some anti-VEGF drugs, such as Bevacizumab (Avastin, Roche), are known to modify vessel structure and are also thought to homogenize tumor vasculature. In this particular case, discrete models would be required, in particular to integrate important factors such as the permeability of blood vessels. However, most innovative cytostatic drugs impact on the molecular mechanisms of angiogenesis rather than directly affecting the structure of newly formed blood vessels.

Some of the modeling hypotheses we used are also open to question. From a biological point of view, we are aware that we chose to ignore some phenomena that could be seen as key processes in vascular tumor growth but, for this first study, we had to compromise between the consistency of the model and its complexity. For this first step in our investigations, we chose to focus on the main mechanisms involved in vascular tumor growth in order to be able to analyze the global impact of anti-angiogenic substances. Nevertheless, we implemented the model in a way that would make it easier in the future to include additional biological phenomena.

In future work, we plan to consider several extensions of the model proposed in this paper. For instance, we have not so far taken various biomechanical aspects into account. These aspects can affect the growth both of the tumor and of the vascular network. We currently assume that the motion of the tumor cells is solely due to cell division. In fact, some biomechanical phenomena, such as the mechanical stress exerted by the surrounding host tissue, and cell–cell and cell–extracellular matrix adhesion, are also known to impact on tumor growth (see Kumar and Weaver, 2009 for a review). We could take these biomechanical effects on tumor growth into account on the basis of the work of Bresch et al. (2009a, b), Gerisch and Chaplain (2008), or Araujo and McElwain (2005a, b). Stress, cell–cell and cell–extracellular matrix adhesion can also affect endothelial cells, and, in our work, we took the natural affinity of endothelial cells for one another into account (see Section 3 for details). We could also consider haptotaxis as Anderson and Chaplain (1998) did, haptotaxis being the sensitivity of endothelial cells to the concentration gradient of some endogenous substances promoting adhesion to the extracellular matrix. We could also draw inspiration from the work of Tosin et al. (2006), where the authors introduced an internal force within the population of endothelial cells, and modeled the interactions between the endothelial cells and the extracellular matrix involving an elastic force.

We could also take biomechanical interactions between the tumor and the vascular network into account. For instance, a phenomenon of vascular collapse and regression in tumors has been experimentally observed (Goldacre and Sylven, 1962). This phenomenon is still poorly understood, but could be a consequence of the interstitial pressure, or of biomechanical stresses more generally, created by the growing tumor mass (Boucher et al., 1990). Vascular collapse and regression is responsible for reducing the supply of nutrients and oxygen and so, potentially, for inducing quiescence in tumor cells. Starting from the model we propose in this paper, we could assume that the behavior of the density of mature endothelial cells depends on the pressure created by the growing tumor mass. If this pressure becomes too high, mature endothelial cells might return to the immature state and die. Araujo et al. (2005b, c) have developed some mathematical models of the genesis of stress in growing tumors to analyze the nature and the distribution of the biomechanical stresses induced by the growth of the tumor mass. Moreover, the role of such biomechanical stresses in vessel collapse and regression, and so in the supply of nutrients and oxygen, has already been studied using various mathematical models (Baxter and Jain, 1989; Araujo

and McElwain, 2004, 2006; Macklin et al., 2009), which we could draw on to extend our present model. This could be a good way to model vessel regression, and thus to analyze the effect of such biomechanical stresses on the development of the vascular network and so on the efficacy of anti-angiogenic treatment.

Moreover, on the basis of the equations we propose in this paper, a three-dimensional model could be more realistic. It would also be interesting to test other kinds of two-dimensional geometries, as these might produce different results.

Finally, with regard to modeling the action of the treatment, it could be interesting to develop a more mechanistic approach by taking adenovirus diffusion inside the tumor mass into account, as well as the immune response, and to investigate the influence of such treatment-related parameters on the overall efficacy on tumor growth and angiogenesis.

Nevertheless, we believe that this modeling approach can be considered for use as a first qualitative investigation of the effect of a treatment strategy. If our results are confirmed, it will be important for clinicians to identify the critical dose in order to optimize endostatin-based treatment delivery.

More generally, our present study highlights the difficulty of determining the appropriate anti-angiogenic treatment strategy. We note that, depending on the treatment schedule, anti-angiogenic treatment can actually be responsible for increasing the local invasiveness of the tumor. This is one of the adverse consequences of anti-angiogenic therapies recently described in Bergers and Hanahan (2008), Ebos et al. (2009), and Pàez-Ribes et al. (2009). In Bergers and Hanahan (2008), the authors proposed some explanations of the fact that anti-VEGF therapies can have both favorable and deleterious effects on patients' health as a result of increasing the growth of both the primary tumor and its metastases. Collecting data from the literature, they hypothesized two modes of resistance to anti-VEGF treatment: evasive resistance, i.e. an adaptation of the tumor to the presence of the angiogenesis inhibitor, and intrinsic resistance, i.e. a pre-existing lack of responsiveness of the tumor. Pàez-Ribes et al. (2009) have also demonstrated the evasive resistance to anti-VEGF in two mouse models of cancer. Ebos et al. (2009) have shown that, depending on the duration and dose of the treatment, the inhibition of the VEGF receptor by the same drug can lead to opposite effects on tumor growth. They illustrated the fact that microenvironmental changes in organs, possibly due, for instance, to previous cancer treatments, could induce intrinsic resistance in the tumor to an angiogenesis inhibitor.

These studies tend to suggest that anti-angiogenic molecules should be combined with cytotoxic therapy, for instance with chemotherapy, as is usually indicated for Bevacizumab, in order to improve their efficacy against cancer development, i.e. against the development of both the primary tumor and its metastases, or at least to reduce the occurrence of some deleterious events. The model we propose in this paper could provide a way of optimizing cancer treatment by investigating the optimum combination of anti-angiogenic molecules with chemotherapy.

Acknowledgments

F.B. is funded by Institut National du Cancer (INCa), the French National Cancer Institute. The authors wish to thank the teams Evaluation and Modelization of Therapeutic Effects (of CNRS UMR5558), and Therapeutic targeting in Oncology (EA3738) from the University of Lyon (France) for valuable advice, J.Y. Scoazec (Inserm U865, Lyon) for relevant discussions, and the Camille Jordan Institute (CNRS UMR5208) from the University of Lyon for computation resources. The authors are also grateful to M. Ghosh for reviewing the English text.

Appendix A. The *E_{max}* model

A.1. Effect of an agonist

A ligand can activate or inhibit the receptor to which it binds. If binding results in activation, the ligand is called an agonist, and if it results in inhibition, it is called an antagonist. The binding of an agonist to a receptor induces a specific effect. This effect depends on the ligand's binding capacities, also known as the affinity of the ligand for the receptor. This affinity is measured in terms of the dissociation constant (usually denoted by K_D), which is the concentration of agonist bound to 50% of the receptors of a cell membrane.

The relation between the concentration of agonist (dose) and the effect induced is given by the following expression, also known as the *E_{max}* model (Fig. 13):

$$E = \varepsilon \frac{E_{max}}{1 + \frac{K_D}{[C]}}$$

where:

- E denotes the effect of the agonist;
- $\varepsilon \leq 1$ models the agonist intrinsic activity, i.e. its ability to activate the receptor; if $\varepsilon = 1$, the intrinsic activity is maximal and the agonist is said to be a complete agonist; if $\varepsilon < 1$, the agonist is said to be a partial agonist;
- E_{max} is the maximum effect the agonist can induce by binding to the receptor;
- K_D is the dissociation constant of the agonist at the receptor;
- $[C]$ denotes the agonist concentration.

For instance, in the case of tumor-induced angiogenesis, VEGF acts as an agonist at the Flk-1 receptor, and angiopoietin-1 is an agonist at the Tie2 receptor. We assumed that both VEGF and angiopoietin-1 are complete agonists ($\varepsilon = 1$).

A.2. Effect of an agonist in the presence of a competitive antagonist

A competitive antagonist is a substance that can bind to the receptor at the same binding site as the agonist. When it does so, this prevents the agonist from binding to this receptor, and thus decreases the effect produced by the agonist by reducing its affinity for the receptor (that is by shifting the dose–effect

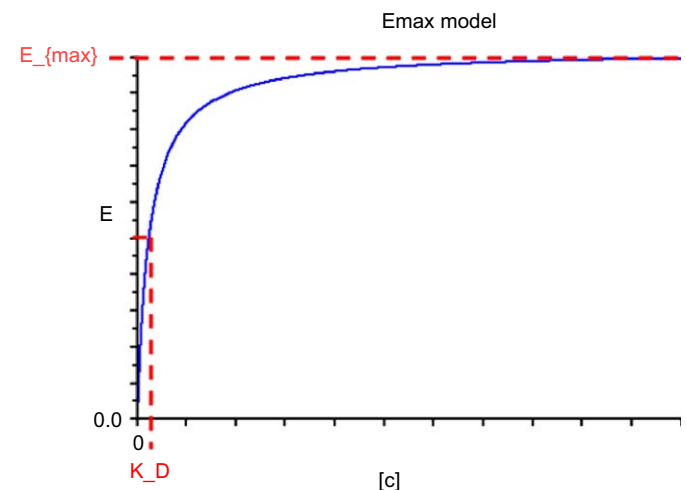


Fig. 13. Change of the effect (E) with agonist concentration ($[C]$). E_{max} denotes the maximum effect; K_D is the dissociation constant of the agonist at the receptor.

relationship (described in Appendix A.1) to the right). So, the effect (E) of an agonist in the presence of a competitive antagonist is given by

$$E = \varepsilon \frac{E_{max}}{1 + \frac{K_D}{[C]} \left(1 + \frac{[A]}{K_{D,A}} \right)}$$

where:

- ε , E_{max} , K_D , $[C]$ are described in Appendix A.1;
- $[A]$ denotes the concentration of the antagonist;

- $K_{D,A}$ is the dissociation constant of the antagonist at the receptor.

For instance, in the case of angiogenesis, endostatin is a competitive antagonist of VEGF at the Flk-1 receptor, and angiopoietin-2 is a competitive antagonist of angiopoietin-1 at the Tie2 receptor.

Unlike competitive antagonists, some substances can decrease the effect of the agonist by binding to a different binding site: they are known as noncompetitive antagonists. The antagonists we consider in our model are all competitive antagonists, and so we

Table 4
Summary of the model parameters.

Parameter	Description	Value	Units	Equation	Reference
D_e	Rate of diffusion of endothelial cells (ECs)	6.25e-8 * $\begin{cases} 0.5 & \text{if } P + Q > 0.12 \\ 1 & \text{else} \end{cases}$	$\text{mm}^2 \text{h}^{-1}$	(1)	
N_{max}	Maximum density of ECs	1	cells mm^{-2}	(1)	
$E_{max,VEGF,prolif}$	Maximum effect of VEGF on EC proliferation	5×10^{-2}	h^{-1}	(1)	
A_p	Maximum death rate of ECs	-2×10^{-2}	h^{-1}	(1)	
$E_{min,prolif}$	Minimum value of $E_{VEGF,prolif}$ below which the EC proliferation rate becomes negative	2×10^{-2}	h^{-1}	(1)	
$\lambda_{e,p}$	Restriction function of EC proliferation	$\begin{cases} 0.5 & \text{if } P + Q > 0.12 \\ 1 & \text{else} \end{cases}$	–	(1)	
$E_{max,VEGF,chemo}$	Maximum effect of VEGF on EC chemotaxis	1.25×10^{-2}	$\text{mm}^2 \text{M}^{-1} \text{h}^{-1}$	(1)	
$\lambda_{e,c}$	Restriction function of EC chemotaxis	$\begin{cases} 0.5 & \text{if } P + Q > 0.12 \\ 1 & \text{else} \end{cases}$	–	(1)	
$E_{max,Ang1}$	Maximum effect of angiopoietin-1 on ECs	2×10^{-1}	h^{-1}	(2)	
$E_{Ang1,min}$	Minimum value of E_{Ang1} required for maturation	5×10^{-1}	h^{-1}	(2)	
N_{min}	Minimum value of EC density required for maturation	9×10^{-1}	cells mm^{-2}	(2)	
μ	Maturation rate of ECs	1	h^{-1}	(2)	
D_V	Diffusion rate of VEGF	1.875×10^{-1}	$\text{mm}^2 \text{h}^{-1}$	(3)	Gabhann and Popel (2005), Addison-Smith et al. (2008)
α_V	Production rate of VEGF	2.11	$\text{M cells}^{-1} \text{mm}^2 \text{h}^{-1}$	(3)	
$\beta_{max,V}$	Maximum binding rate of VEGF to Flk-1	1.25×10^{-3}	$\text{M cells}^{-1} \text{mm}^2 \text{h}^{-1}$	(3)	
$K_{D,VEGF}$	Dissociation constant of VEGF at Flk-1	10^{-7}	M	(1), (3), (4)	
δ_V	Degradation rate of VEGF	1.25×10^{-4}	h^{-1}	(3)	
D_{endos}	Diffusion rate of endostatin	2.38×10^{-1}	$\text{mm}^2 \text{h}^{-1}$	(4)	
α_{endos}	Production rate of endostatin	10	$\text{M cells}^{-1} \text{mm}^2 \text{h}^{-1}$	(4)	
$\beta_{max,endos}$	Maximum binding rate of endostatin to Flk-1	1.25×10^{-3}	$\text{M cells}^{-1} \text{mm}^2 \text{h}^{-1}$	(4)	
$K_{D,endos}$	Dissociation constant of endostatin at Flk-1	2×10^{-4}	M	(1), (3), (4)	
δ_{endos}	Degradation rate of endostatin	1.25×10^{-4}	h^{-1}	(4)	
C_{endos}	Rate of endostatin overproduction due to treatment	Variable	$\text{M cells}^{-1} \text{mm}^2 \text{h}^{-1}$	(16)	
$[Ang1]_0$	Concentration of angiopoietin-1	4×10^{-2}	M	–	
$K_{D,Ang1}$	Dissociation constant of angiopoietin-1 at Tie2	3×10^{-9}	M	(2)	Maisonpierre et al. (1997)
D_{A2}	Diffusion rate of angiopoietin-2	4.5×10^{-3}	$\text{mm}^2 \text{h}^{-1}$	(5)	
$\alpha_{1,A2}$	Rate of angiopoietin-2 production by tumor cells	3×10^{-4}	$\text{M cells}^{-1} \text{mm}^2 \text{h}^{-1}$	(5)	
$\alpha_{2,A2}$	Rate of angiopoietin-2 production by ECs	1.5×10^{-4}	$\text{M cells}^{-1} \text{mm}^2 \text{h}^{-1}$	(5)	
$\beta_{max,A2}$	Maximum binding rate of angiopoietin-2 to Tie2	3×10^{-6}	$\text{M cells}^{-1} \text{mm}^2 \text{h}^{-1}$	(5)	
$K_{D,Ang2}$	Dissociation constant of angiopoietin-2 at Tie2	3×10^{-9}	M	(2), (5)	Maisonpierre et al. (1997)
δ_{A2}	Degradation rate of angiopoietin-2	1.25×10^{-5}	h^{-1}	(5)	
D_O	Diffusion rate of oxygen	1	$\text{mm}^2 \text{h}^{-1}$	(6)	Takahashi et al. (1966)
$\beta_{1,O}$	Rate of oxygen consumption by proliferative tumor cells	3	$\text{cells}^{-1} \text{mm}^2 \text{h}^{-1}$	(6)	
$\beta_{2,O}$	Rate of oxygen consumption by quiescent tumor cells	1.5	$\text{cells}^{-1} \text{mm}^2 \text{h}^{-1}$	(6)	
$\beta_{3,O}$	Rate of oxygen consumption by healthy cells	3.75×10^{-1}	$\text{cells}^{-1} \text{mm}^2 \text{h}^{-1}$	(6)	
$[O_2]_{max}$	Oxygen concentration in functional blood vessels	8	M	(6)	
δ_O	Degradation rate of oxygen	10^{-3}	h^{-1}	(6)	
a_{max,P_1}	Maximum duration of phase P_1	12	h	(9)–(11)	
a_{max,P_2}	Maximum duration of phase P_2	12	h	(11)–(14)	
τ_0	Threshold of overpopulation	0.8	cells mm^{-2}	(9)–(11)	
$\tau_{1,h}$	Threshold of hypoxia	5.5	M	(9)–(11)	
$\tau_{2,h}$	Threshold of severe hypoxia	1.52	M	(9)(10)	
N_0	Total density of tumor cells	1	cells mm^{-2}	(13)(14)	
τ_g	Threshold number of tumor cells for efficacy criteria definitions	1000	cells	–	

will not describe the effect of an agonist in the presence of an uncompetitive antagonist.

Appendix B. Summary of the model parameters

In this section, we use the following notations: h (hour), mm (millimeter), M (molarity).

Table 4 shows a summary of the parameters used for the computations.

References

- Addison-Smith, B., McElwain, D.L.S., Maini, P.K., 2008. A simple mechanistic model of sprout spacing in tumour-associated angiogenesis. *J. Theor. Biol.* 250 (1), 1–15.
- Ahmad, S.A., Liu, W., Jung, Y.D., Fan, F., Reinmuth, N., Bucana, C.D., Ellis, L.M., 2001. Differential expression of angiopoietin-1 and angiopoietin-2 in colon carcinoma. A possible mechanism for the initiation of angiogenesis. *Cancer* 92 (5), 1138–1143.
- Alarcón, T., Byrne, H., Maini, P., 2005. A multiple scale model for tumor growth. *Multiscale Model Simul.* 3, 440–475.
- Anderson, A.R.A., Chaplain, M.A.J., 1998. Continuous and discrete mathematical models of tumor-induced angiogenesis. *Bull. Math. Biol.* 60 (5), 857–899.
- Araujo, R.P., McElwain, D.L.S., 2004. New insights into vascular collapse and growth dynamics in solid tumors. *J. Theor. Biol.* 228 (3), 335–346.
- Araujo, R.P., McElwain, D.L.S., 2005a. A mixture theory for the genesis of residual stresses in growing tissues I: a general formulation. *SIAM J. Appl. Math.* 65, 1261–1284.
- Araujo, R.P., McElwain, D.L.S., 2005b. A mixture theory for the genesis of residual stresses in growing tissues II: solutions to the biphasic equations for a multicell spheroid. *SIAM J. Appl. Math.* 66 (2), 447–467.
- Araujo, R.P., McElwain, D.L.S., 2005c. The nature of the stresses induced during tissue growth. *Appl. Math. Lett.* 18, 1081–1088.
- Araujo, R.P., McElwain, D.L.S., 2006. The role of mechanical host–tumour interactions in the collapse of tumour blood vessels and tumour growth dynamics. *J. Theor. Biol.* 238 (4), 817–827.
- Ausprunk, D.H., Folkman, J., 1977. Migration and proliferation of endothelial cells in preformed and newly formed blood vessels during tumor angiogenesis. *Microvasc. Res.* 14 (1), 53–65.
- Bartha, K., Rieger, H., 2006. Vascular network remodeling via vessel cooption, regression and growth in tumors. *J. Theor. Biol.* 241 (4), 903–918.
- Baxter, L.T., Jain, R.K., 1989. Transport of fluid and macromolecules in tumors. I. Role of interstitial pressure and convection. *Microvasc. Res.* 37 (1), 77–104.
- Benjamin, L.E., Keshet, E., 1997. Conditional switching of vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in tumors: induction of endothelial cell shedding and regression of hemangioblastoma-like vessels by VEGF withdrawal. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94 (16), 8761–8766.
- Bergers, G., Hanahan, D., 2008. Modes of resistance to anti-angiogenic therapy. *Nat. Rev. Cancer* 8 (8), 592–603.
- Blagosklonny, M.V., Pardee, A.B., 2002. The restriction point of the cell cycle. *Cell Cycle* 1 (2), 103–110.
- Boucher, Y., Baxter, L.T., Jain, R.K., 1990. Interstitial pressure gradients in tissue-isolated and subcutaneous tumors: implications for therapy. *Cancer Res.* 50 (15), 4478–4484.
- Bresch, D., Colin, T., Grenier, E., Ribba, B., Saut, O., 2009a. Computational modeling of solid tumor growth: the avascular stage. Submitted.
- Bresch, D., Colin, T., Grenier, E., Ribba, B., Saut, O., 2009b. A viscoelastic model for avascular tumor growth. Submitted.
- Byrne, H.M., Chaplain, M.A., 1996. Growth of necrotic tumors in the presence and absence of inhibitors. *Math. Biosci.* 135 (15), 187–216.
- Davis, S., Aldrich, T.H., Jones, P.F., Acheson, A., Compton, D.L., Jain, V., Ryan, T.E., Bruno, J., Radziejewski, C., Maisonpierre, P.C., Yancopoulos, G.D., 1996. Isolation of angiopoietin-1, a ligand for the Tie2 receptor, by secretion-trap expression cloning. *Cell* 87 (7), 1161–1169.
- DeVita, V.T., Hellman, S., Rosenberg, S.A., 2005. *Cancer—Principles and Practice of Oncology*, seventh ed Lippincott Williams and Wilkins.
- Ebos, J.M.L., Lee, C.R., Cruz-Munoz, W., Bjarnason, G.A., Christensen, J.G., Kerbel, R.S., 2009. Accelerated metastasis after short-term treatment with a potent inhibitor of tumor angiogenesis. *Cancer Cell* 15 (3), 232–239.
- Etoh, T., Inoue, H., Tanaka, S., Barnard, G.F., Kitano, S., Mori, M., 2001. Angiopoietin-2 is related to tumor angiogenesis in gastric carcinoma: possible in vivo regulation via induction of proteases. *Cancer Res.* 61 (5), 2145–2153.
- Ferrara, N., 1999a. Molecular and biological properties of vascular endothelial growth factor. *J. Mol. Med.* 77 (7), 527–543.
- Ferrara, N., 1999b. Role of vascular endothelial growth factor in the regulation of angiogenesis. *Kidney Int.* 56 (3), 794–814.
- Ferrara, N., 2002. VEGF and the quest for tumour angiogenesis factors. *Nat. Rev. Cancer* 2 (10), 795–803.
- Folkman, J., 1990. What is the evidence that tumors are angiogenesis dependent?. *J. Natl. Cancer Inst.* 82 (1), 4–6.
- Folkman, J., 2002. Role of angiogenesis in tumor growth and metastasis. *Semin. Oncol.* 29 (6 Suppl. 16), 15–18.
- Folkman, J., 2006. Antiangiogenesis in cancer therapy—endostatin and its mechanisms of action. *Exp. Cell Res.* 312 (5), 594–607.
- Gabhann, F.M., Popel, A.S., 2005. Differential binding of VEGF isoforms to VEGF receptor 2 in the presence of neuropilin-1: a computational model. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 288 (6), H2851–H2860.
- Gerisch, A., Chaplain, M.A.J., 2008. 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.
- Goldacre, R.J., Sylven, B., 1962. On the access of blood-borne dyes to various tumour regions. *Br. J. Cancer* 16, 306–322.
- Hanahan, D., Folkman, J., 1996. Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis. *Cell* 86 (3), 353–364.
- Hogea, C.S., Murray, B.T., Sethian, J.A., 2006. Simulating complex tumor dynamics from avascular to vascular growth using a general level-set method. *J. Math. Biol.* 53 (1), 86–134.
- Hu, B., Guo, P., Fang, Q., Tao, H.-Q., Wang, D., Nagane, M., Huang, H.-J.S., Gunji, Y., Nishikawa, R., Alitalo, K., Cavenee, W.K., Cheng, S.-Y., 2003. Angiopoietin-2 induces human glioma invasion through the activation of matrix metalloproteinase-2. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100 (15), 8904–8909.
- Kevrekidis, P.G., Whitaker, N., Good, D.J., Herring, G.J., 2006. Minimal model for tumor angiogenesis. *Phys. Rev. E Stat. Nonlin. Soft Matter Phys.* 73 (6 Pt 1), 061926.
- Kim, Y.-M., Hwang, S., Kim, Y.-M., Pyun, B.-J., Kim, T.-Y., Lee, S.-T., Gho, Y.S., Kwon, Y.-G., 2002. Endostatin blocks vascular endothelial growth factor-mediated signaling via direct interaction with kdr/Flk-1. *J. Biol. Chem.* 277 (31), 27872–27879.
- Koga, K., Todaka, T., Morioka, M., Hamada, J., Kai, Y., Yano, S., Okamura, A., Takakura, N., Suda, T., Ushio, Y., 2001. Expression of angiopoietin-2 in human glioma cells and its role for angiogenesis. *Cancer Res.* 61 (16), 6248–6254.
- Kumar, S., Weaver, V.M., 2009. Mechanics, malignancy, and metastasis: the force journey of a tumor cell. *Cancer Metastasis Rev.* 28 (1–2), 113–127.
- Lee, D.-S., Rieger, H., Bartha, K., 2006. Flow correlated percolation during vascular remodeling in growing tumors. *Phys. Rev. Lett.* 96 (5), 058104.
- Li, H.-L., Li, S., Shao, J.-Y., Lin, X.-B., Cao, Y., Jiang, W.-Q., Liu, R.-Y., Zhao, P., Zhu, X.-F., Zeng, M.-S., Guan, Z.-Z., Huang, W., 2008. Pharmacokinetic and pharmacodynamic study of intratumoral injection of an adenovirus encoding endostatin in patients with advanced tumors. *Gene Ther.* 15 (4), 247–256.
- Lin, X., Huang, H., Li, S., Li, H., Li, Y., Cao, Y., Zhang, D., Xia, Y., Guo, Y., Huang, W., Jiang, W., 2007. A phase I clinical trial of an adenovirus-mediated endostatin gene (e10a) in patients with solid tumors. *Cancer Biol. Ther.* 6 (5), 648–653.
- Macklin, P., McDougall, S., Anderson, A.R.A., Chaplain, M.A.J., Cristini, V., Lowengrub, J., 2009. Multiscale modelling and nonlinear simulation of vascular tumour growth. *J. Math. Biol.* 58 (4–5), 765–798.
- Maisonpierre, P.C., Suri, C., Jones, P.F., Bartunkova, S., Wiegand, S.J., Radziejewski, C., Compton, D., McClain, J., Aldrich, T.H., Papadopoulos, N., Daly, T.J., Davis, S., Sato, T.N., Yancopoulos, G.D., 1997. Angiopoietin-2, a natural antagonist for Tie2 that disrupts in vivo angiogenesis. *Science* 277 (5322), 55–60.
- Mantzaris, N.V., Webb, S., Othmer, H.G., 2004. Mathematical modeling of tumor-induced angiogenesis. *J. Math. Biol.* 49 (2), 111–187.
- 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 (3), 564–589.
- Metheny-Barlow, L.J., Li, L.Y., 2003. The enigmatic role of angiopoietin-1 in tumor angiogenesis. *Cell Res.* 13 (5), 309–317.
- Moon, W.S., Rhyu, K.H., Kang, M.J., Lee, D.G., Yu, H.C., Yeum, J.H., Koh, G.Y., Tarnawski, A.S., 2003. Overexpression of VEGF and angiopoietin 2: a key to high vascularity of hepatocellular carcinoma?. *Mod. Pathol.* 16 (6), 552–557.
- O'Reilly, M.S., Boehm, T., Shing, Y., Fukai, N., Vasios, G., Lane, W.S., Flynn, E., Birkhead, J.R., Olsen, B.R., Folkman, J., 1997. Endostatin: an endogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth. *Cell* 88 (2), 277–285.
- Partanen, J., Armstrong, E., Mäkelä, T.P., Korhonen, J., Sandberg, M., Renkonen, R., Knuutila, S., Huebner, K., Alitalo, K., 1992. A novel endothelial cell surface receptor tyrosine kinase with extracellular epidermal growth factor homology domains. *Mol. Cell Biol.* 12 (4), 1698–1707.
- Pawletz, N., Knierim, M., 1989. Tumor-related angiogenesis. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 9 (3), 197–242.
- Pàez-Ribes, M., Allen, E., Hudock, J., Takeda, T., Okuyama, H., Viñals, F., Inoue, M., Bergers, G., Hanahan, D., Casanovas, O., 2009. Antiangiogenic therapy elicits malignant progression of tumors to increased local invasion and distant metastasis. *Cancer Cell* 15 (3), 220–231.
- 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 (4), 435–454.
- Relf, M., Lejeune, S., Scott, P.A., Fox, S., Smith, K., Leek, R., Moghaddam, A., Whitehouse, R., Bicknell, R., Harris, A.L., 1997. Expression of the angiogenic factors vascular endothelial cell growth factor, acidic and basic fibroblast growth factor, tumor growth factor beta-1, platelet-derived endothelial cell growth factor, placenta growth factor, and pleiotrophin in human primary breast cancer and its relation to angiogenesis. *Cancer Res.* 57 (5), 963–969.
- Ribba, B., Colin, T., Schnell, S., 2006a. A multiscale mathematical model of cancer, and its use in analyzing irradiation therapies. *Theor. Biol. Med. Model.* 3, 7.
- Ribba, B., Marron, K., Agur, Z., Alarcón, T., Maini, P.K., 2005. 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.

- Ribba, B., Saut, O., Colin, T., Bresch, D., Grenier, E., Boissel, J.P., 2006b. A multiscale mathematical model of avascular tumor growth to investigate the therapeutic benefit of anti-invasive agents. *J. Theor. Biol.* 243 (4), 532–541.
- Ribba, B., You, B., Tod, M., Girard, P., Tranchand, B., Trillet-Lenoir, V., Freyer, G., 2009. Chemotherapy may be delivered upon an integrated view of tumor dynamics. *IET Syst. Biol.* 3, 180–190.
- Sauter, B.V., Martinet, O., Zhang, W.J., Mandeli, J., Woo, S.L., 2000. Adenovirus-mediated gene transfer of endostatin in vivo results in high level of transgene expression and inhibition of tumor growth and metastases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97 (9), 4802–4807.
- Sundberg, C., Kowanetz, M., Brown, L.F., Detmar, M., Dvorak, H.F., 2002. Stable expression of angiopoietin-1 and other markers by cultured pericytes: phenotypic similarities to a subpopulation of cells in maturing vessels during later stages of angiogenesis in vivo. *Lab. Invest.* 82 (4), 387–401.
- Takahashi, G.H., Fatt, I., Goldstick, T.K., 1966. Oxygen consumption rate of tissue measured by a micropolarographic method. *J. Gen. Physiol.* 50 (2), 317–335.
- Tanaka, F., Ishikawa, S., Yanagihara, K., Miyahara, R., Kawano, Y., Li, M., Otake, Y., Wada, H., 2002. Expression of angiopoietins and its clinical significance in non-small cell lung cancer. *Cancer Res.* 62 (23), 7124–7129.
- Tosin, A., Ambrosi, D., Preziosi, L., 2006. Mechanics and chemotaxis in the morphogenesis of vascular networks. *Bull. Math. Biol.* 68 (7), 1819–1836.
- Welter, M., Bartha, K., Rieger, H., 2008. Emergent vascular network inhomogeneities and resulting blood flow patterns in a growing tumor. *J. Theor. Biol.* 250 (2), 257–280.
- Zetter, B.R., 1998. Angiogenesis and tumor metastasis. *Annu. Rev. Med.* 49, 407–424.
- Zheng, X., Wise, S.M., Cristini, V., 2005. Nonlinear simulation of tumor necrosis, neo-vascularization and tissue invasion via an adaptive finite-element/level-set method. *Bull. Math. Biol.* 67 (2), 211–259.

Bibliographie

- [1] A. Aouba, F. Péquignot, A. Le Toullec, and E. Jouglu. Les causes médicales de décès en france en 2004 et leur évolution 1980-2004 / medical causes of death in france in 2004 and trends 1980-2004. *Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire de l'INVS*, 35-36, 18 septembre 2007.
- [2] <http://www.e-cancer.fr>.
- [3] G. Weng, U.S. Bhalla, and R. Iyengar. Complexity in biological signaling systems. *Science*, 284(5411) :92–96, Apr 1999.
- [4] J.-P. Boissel, B. Ribba, E. Grenier, G. Chapuisat, and M.-A. Dronne. Modelling methodology in physiopathology. *Prog Biophys Mol Biol*, 97(1) :28–39, May 2008.
- [5] C.P. Page, M.J. Curtis, M.C. Sutter, M.J. Walker, and B.B. Hoffman. *Pharmacologie intégrée*. 1999.
- [6] Johan Gabrielsson and Daniel Weiner. *Pharmacokinetic and pharmacodynamic data analysis : concepts and applications*. 3rd edition, 2000.
- [7] J.D. Gordon, J.L. Shifren, R.A. Foulk, R.N. Taylor, and R.B. Jaffe. Angiogenesis in the human female reproductive tract. *Obstet Gynecol Surv*, 50(9) :688–697, Sep 1995.
- [8] G. Pettet, M.A. Chaplain, D.L. McElwain, and H.M. Byrne. On the role of angiogenesis in wound healing. *Proc Biol Sci*, 263(1376) :1487–1493, Nov 1996.
- [9] J. Folkman. Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease. *Nat Med*, 1(1) :27–31, Jan 1995.
- [10] B.R. Zetter. Angiogenesis and tumor metastasis. *Annu Rev Med*, 49 :407–424, 1998.
- [11] J. Folkman. Role of angiogenesis in tumor growth and metastasis. *Semin Oncol*, 29(6 Suppl 16) :15–18, Dec 2002.
- [12] J. Folkman. Tumor angiogenesis : therapeutic implications. *N Engl J Med*, 285(21) :1182–1186, Nov 1971.
- [13] D.W. Leung, G. Cachianes, W.J. Kuang, D.V. Goeddel, and N. Ferrara. Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen. *Science*, 246(4935) :1306–1309, Dec 1989.

- [14] D. Hanahan and J. Folkman. Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis. *Cell*, 86(3) :353–364, Aug 1996.
- [15] M. Relf, S. LeJeune, P.A. Scott, S. Fox, K. Smith, R. Leek, A. Moghaddam, R. Whitehouse, R. Bicknell, and A.L. Harris. Expression of the angiogenic factors vascular endothelial cell growth factor, acidic and basic fibroblast growth factor, tumor growth factor beta-1, platelet-derived endothelial cell growth factor, placenta growth factor, and pleiotrophin in human primary breast cancer and its relation to angiogenesis. *Cancer Res*, 57(5) :963–969, Mar 1997.
- [16] N. Ferrara. Molecular and biological properties of vascular endothelial growth factor. *J Mol Med*, 77(7) :527–543, Jul 1999.
- [17] C. de Vries, J.A. Escobedo, H. Ueno, K. Houck, N. Ferrara, and L.T. Williams. The fms-like tyrosine kinase, a receptor for vascular endothelial growth factor. *Science*, 255(5047) :989–991, Feb 1992.
- [18] B.I. Terman, M. Dougher-Vermazen, M.E. Carrion, D. Dimitrov, D.C. Armellino, D. Gospodarowicz, and P. Böhlen. Identification of the kdr tyrosine kinase as a receptor for vascular endothelial cell growth factor. *Biochem Biophys Res Commun*, 187(3) :1579–1586, Sep 1992.
- [19] C. Sundberg, M. Kowanetz, L.F. Brown, M. Detmar, and H.F. Dvorak. Stable expression of angiopoietin-1 and other markers by cultured pericytes : phenotypic similarities to a subpopulation of cells in maturing vessels during later stages of angiogenesis in vivo. *Lab Invest*, 82(4) :387–401, Apr 2002.
- [20] C. Suri, P. F. Jones, S. Patan, S. Bartunkova, P. C. Maisonpierre, S. Davis, T. N. Sato, and G. D. Yancopoulos. Requisite role of angiopoietin-1, a ligand for the tie2 receptor, during embryonic angiogenesis. *Cell*, 87(7) :1171–1180, Dec 1996.
- [21] D.J. Dumont, T.P. Yamaguchi, R.A. Conlon, J. Rossant, and M.L. Breitman. tek, a novel tyrosine kinase gene located on mouse chromosome 4, is expressed in endothelial cells and their presumptive precursors. *Oncogene*, 7(8) :1471–1480, Aug 1992.
- [22] A. Iwama, I. Hamaguchi, M. Hashiyama, Y. Murayama, K. Yasunaga, and T. Suda. Molecular cloning and characterization of mouse tie and tek receptor tyrosine kinase genes and their expression in hematopoietic stem cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 195(1) :301–309, Aug 1993.
- [23] J. Partanen, E. Armstrong, T.P. Mäkelä, J. Korhonen, M. Sandberg, R. Renkonen, S. Knuutila, K. Huebner, and K. Alitalo. A novel endothelial cell surface receptor tyrosine kinase with extracellular epidermal growth factor homology domains. *Mol Cell Biol*, 12(4) :1698–1707, Apr 1992.
- [24] 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.
- [25] T. Etoh, H. Inoue, S. Tanaka, G.F. Barnard, S. Kitano, and M. Mori. Angiopoietin-2 is related to tumor angiogenesis in gastric carcinoma : possible in vivo regulation via induction of proteases. *Cancer Res*, 61(5) :2145–2153, Mar 2001.
- [26] S.A. Ahmad, W. Liu, Y.D. Jung, F. Fan, N. Reinmuth, C.D. Bucana, and L.M. Ellis. Differential expression of angiopoietin-1 and angiopoietin-2 in colon carcinoma. a possible mechanism for the initiation of angiogenesis. *Cancer*, 92(5) :1138–1143, Sep 2001.
- [27] K. Koga, T. Todaka, M. Morioka, J. Hamada, Y. Kai, S. Yano, A. Okamura, N. Takakura, T. Suda, and Y. Ushio. Expression of angiopoietin-2 in human glioma cells and its role for angiogenesis. *Cancer Res*, 61(16) :6248–6254, Aug 2001.
- [28] F. Tanaka, S. Ishikawa, K. Yanagihara, R. Miyahara, Y. Kawano, M. Li, Y. Otake, and H. Wada. Expression of angiopoietins and its clinical significance in non-small cell lung cancer. *Cancer Res*, 62(23) :7124–7129, Dec 2002.
- [29] W.S. Moon, K.H. Rhyu, M.J. Kang, D.G. Lee, H.C. Yu, J.H. Yeum, G.Y. Koh, and A.S. Tarnawski. Overexpression of vegf and angiopoietin 2 : a key to high vascularity of hepatocellular carcinoma? *Mod Pathol*, 16(6) :552–557, Jun 2003.
- [30] B. Hu, P. Guo, Q. Fang, H.-Q. Tao, D. Wang, M. Nagane, H.-J.S. Huang, Y. Gunji, R. Nishikawa, K. Alitalo, W.K. Cavenee, and S.-Y. Cheng. Angiopoietin-2 induces human glioma invasion through the activation of matrix metalloprotease-2. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 100(15) :8904–8909, Jul 2003.
- [31] S. Davis, T.H. Aldrich, P.F. Jones, A. Acheson, D.L. Compton, V. Jain, T.E. Ryan, J. Bruno, C. Radziejewski, P.C. Maisonpierre, and G.D. Yancopoulos. Isolation of angiopoietin-1, a ligand for the tie2 receptor, by secretion-trap expression cloning. *Cell*, 87(7) :1161–1169, Dec 1996.
- [32] H.F. Dvorak, J.A. Nagy, D. Feng, L.F. Brown, and A.M. Dvorak. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor and the significance of microvascular hyperpermeability in angiogenesis. *Curr Top Microbiol Immunol*, 237 :97–132, 1999.
- [33] H. Hashizume, P. Baluk, S. Morikawa, J.W. McLean, G. Thurston, S. Roberge, R.K. Jain, and D.M. McDonald. Openings between defective endothelial cells explain tumor vessel leakiness. *Am J Pathol*, 156(4) :1363–1380, Apr 2000.
- [34] D. Leclers. *Conception de récepteurs circulants anti-lymphangiogéniques par clonage de la séquence codante du gène humain VEGFR-3. Application en cancérologie*. PhD thesis, Université de Limoges, 2005.
- [35] J.D. Murray. *Mathematical biology. I : An introduction*. 3rd edition, 2002.
- [36] M.A. Chaplain, S.M. Giles, B.D. Sleeman, and R.J. Jarvis. A mathematical analysis of a model for tumour angiogenesis. *J Math Biol*, 33(7) :744–770, 1995.

- [37] D. Balding and D.L. McElwain. A mathematical model of tumour-induced capillary growth. *J Theor Biol*, 114(1) :53–73, May 1985.
- [38] M.A. Chaplain and A.M. Stuart. A model mechanism for the chemotactic response of endothelial cells to tumour angiogenesis factor. *IMA J Math Appl Med Biol*, 10(3) :149–168, 1993.
- [39] H.M. Byrne and M.A. Chaplain. Mathematical models for tumour angiogenesis : numerical simulations and nonlinear wave solutions. *Bull Math Biol*, 57(3) :461–486, May 1995.
- [40] 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.
- [41] M.E. Orme and M.A.J. Chaplain. A mathematical model of vascular tumour growth and invasion. *Math. Comput. Modelling*, 23(10) :43–60, 1996.
- [42] M.A. Chaplain. The mathematical modelling of tumour angiogenesis and invasion. *Acta Biotheor*, 43(4) :387–402, Dec 1995.
- [43] A.R.A. Anderson and M.A.J. Chaplain. Continuous and discrete mathematical models of tumor-induced angiogenesis. *Bull Math Biol*, 60(5) :857–899, Sep 1998.
- [44] 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.
- [45] P.G. Kevrekidis, N. Whitaker, D.J. Good, and G.J. Herring. Minimal model for tumor angiogenesis. *Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys*, 73(6 Pt 1) :061926, Jun 2006.
- [46] C.L. Stokes and D.A. Lauffenburger. Analysis of the roles of microvessel endothelial cell random motility and chemotaxis in angiogenesis. *J Theor Biol*, 152(3) :377–403, Oct 1991.
- [47] 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.
- [48] H.G. Othmer and A. Stevens. Aggregation, blowup, and collapse : the abc’s of taxis in reinforced random walks. *SIAM J. Appl. Math.*, 57(4) :1044–1081, 1997.
- [49] 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.
- [50] T. Alarcón, 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.
- [51] 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 :1137–1156, 2005.

- [52] M.A.J. Chaplain, L. Graziano, and L. Preziosi. Mathematical modelling of the loss of tissue compression responsiveness and its role in solid tumour development. *Math Med Biol*, 23(3) :197–229, Sep 2006.
- [53] M.A.J. Chaplain, S.R. McDougall, and A.R.A. Anderson. Mathematical modeling of tumor-induced angiogenesis. *Annu Rev Biomed Eng*, Apr 2006.
- [54] 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.
- [55] 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.
- [56] M. Welter, K. Bartha, and H. Rieger. Emergent vascular network inhomogeneities and resulting blood flow patterns in a growing tumor. *J Theor Biol*, 250(2) :257–280, Jan 2008.
- [57] V.D. Gordon, M.T. Valentine, M.L. Gardel, D. Andor-Ardó, S. Dennison, A.A. Bogdanov, D.A. Weitz, and T.S. Deisboeck. Measuring the mechanical stress induced by an expanding multicellular tumor system : a case study. *Exp Cell Res*, 289(1) :58–66, Sep 2003.
- [58] H. Yamaguchi, J. Wyckoff, and J. Condeelis. Cell migration in tumors. *Curr Opin Cell Biol*, 17(5) :559–564, Oct 2005.
- [59] K. Wolf and P. Friedl. Mapping proteolytic cancer cell-extracellular matrix interfaces. *Clin Exp Metastasis*, 26(4) :289–298, 2009.
- [60] J.M. Andrieu (coordinateur). *Biologie des cancers*. Universités Francophones, 1991.
- [61] G. Helmlinger, P.A. Netti, H.C. Lichtenbeld, R.J. Melder, and R.K. Jain. Solid stress inhibits the growth of multicellular tumor spheroids. *Nat Biotechnol*, 15(8) :778–783, Aug 1997.
- [62] R.J. Goldacre and B. Sylven. On the access of blood-borne dyes to various tumour regions. *Br J Cancer*, 16 :306–322, Jun 1962.
- [63] Y. Boucher, L.T. Baxter, and R.K. Jain. Interstitial pressure gradients in tissue-isolated and subcutaneous tumors : implications for therapy. *Cancer Res*, 50(15) :4478–4484, Aug 1990.
- [64] A.K. Laird. Dynamics of tumor growth. *Br. J. Cancer*, 13 :490–502, 1964.
- [65] C. P. Winsor. The gompertz curve as a growth curve. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 18(1) :1–8, Jan 1932.
- [66] M.W. Retsky, D.E. Swartzendruber, R.H. Wardwell, and P.D. Bame. Is gompertzian or exponential kinetics a valid description of individual human cancer growth? *Med Hypotheses*, 33(2) :95–106, Oct 1990.
- [67] M. Marusić, Z. Bajzer, J.P. Freyer, and S. Vuk-Pavlović. Analysis of growth of multicellular tumour spheroids by mathematical models. *Cell Prolif.*, 27(2) :73–94, Feb. 1994.
- [68] C. Guiot, P.G. Degiorgis, P.P. Delsanto, P. Gabriele, and T.S. Deisboeck. Does tumor growth follow a "universal law" ? *J Theor Biol*, 225(2) :147–151, Nov 2003.

- [69] M. Gyllenberg and G.F. Webb. Quiescence as an explanation of gompertzian tumor growth. *Growth Dev Aging*, 53(1-2) :25–33, 1989.
- [70] F. Kozusko and Z. Bajzer. Combining gompertzian growth and cell population dynamics. *Math Biosci*, 185(2) :153–167, Oct 2003.
- [71] H.P. Greenspan. Models for the growth of a solid tumor by diffusion. *Stud. Appl. Math.*, 52 :317–340, 1972.
- [72] A.S. Deakin. Model for the growth of a solid in vitro tumor. *Growth*, 39(1) :159–165, Mar 1975.
- [73] R.M. Shymko. Cellular and geometric control of tissue growth and mitotic instability. *J Theor Biol*, 63(2) :355–374, Dec 1976.
- [74] D.L.S. McElwain and P.J. Ponzio. A model for the growth of a solid tumor with non-uniform oxygen consumption. *Math. Biosci.*, 35 :267–279, 1977.
- [75] 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.
- [76] H.M. Byrne and M.A. Chaplain. Growth of necrotic tumors in the presence and absence of inhibitors. *Math Biosci*, 135(15) :187–216, Jul 1996.
- [77] J.P. Ward and J.R. King. Mathematical modelling of avascular-tumour growth. *IMA J Math Appl Med Biol*, 14(1) :39–69, Mar 1997.
- [78] J.P. Ward and J.R. King. Mathematical modelling of avascular-tumour growth. ii : Modelling growth saturation. *IMA J Math Appl Med Biol*, 16(2) :171–211, Jun 1999.
- [79] B.P. Marchant, J. Norbury, and J. A. Sherratt. Travelling wave solutions to a haptotaxis-dominated model of malignant invasion. *Nonlinearity*, 14 :1653–1671, 2001.
- [80] J.M. Stewart, P. Broadbridge, and J.M. Goard. Symmetry analysis and numerical modelling of invasion by malignant tumor tissue. *Nonlinear Dynamics*, 28 :175–193, 2002.
- [81] J.D. Murray. *Mathematical biology. II : Spatial models and biomedical applications*. 3rd edition, 2003.
- [82] R.A. Gatenby, P.K. Maini, and E.T. Gawlinski. Analysis of tumor as an inverse problem provides a novel theoretical framework for understanding tumor biology and therapy. *Applied Mathematics Letters*, 15 :339–345, 2002.
- [83] J.J. Casciari, S.V. Sotirchos, and R.M. Sutherland. Mathematical modelling of microenvironment and growth in emt6/ro multicellular tumour spheroids. *Cell Prolif*, 25(1) :1–22, Jan 1992.
- [84] D. Bresch, T. Colin, E. Grenier, B. Ribba, and O. Saut. Computational modeling of solid tumor growth : the avascular stage. *SIAM Journal on Scientific Computing (in revision)*, 2009.
- [85] J. Landry, J.P. Freyer, and R.M. Sutherland. A model for the growth of multicellular spheroids. *Cell Tissue Kinet*, 15(6) :585–594, Nov 1982.

- [86] J.A. Adam. A simplified mathematical model of tumor growth. *Math. Biosci.*, 81 :229–244, 1986.
- [87] J.A. Adam. A mathematical model of tumor growth. ii. effects of geometry and spatial nonuniformity on stability. *Math. Biosci.*, 86 :183–211, 1987.
- [88] J.A. Adam. A mathematical model of tumor growth. iii. comparison with experiment. *Math. Biosci.*, 86 :213–227, 1987.
- [89] M.A.J. Chaplain and N.F. Britton. On the concentration profile of a growth inhibitory factor in multicell spheroids. *Math. Biosci.*, 115(2) :233–243, 1993.
- [90] M.A.J. Chaplain, D.L. Benson, and P.K. Maini. Nonlinear diffusion of a growth inhibitory factor in multicell spheroids. *Math. Biosci.*, 121(1) :1–13, 1994.
- [91] M.A.J. Chaplain. Avascular growth, angiogenesis and vascular growth in solid tumours : the mathematical modelling of the stages of tumour development. *Mathl. Comput. Modelling*, Vol.23, No.6 :pp. 47–87, 1996.
- [92] N.F. Britton and M.A.J. Chaplain. A qualitative analysis of some models of tissue growth. *Math. Biosci.*, 113(1) :77–89, 1993.
- [93] H.P. Greenspan. On the growth and stability of cell cultures and solid tumors. *J. Theor. Biol.*, 56(1) :229–242, January 1976.
- [94] C.P. Please, G. Pettet, and D.L.S. McElwain. A new approach to modelling the formation of necrotic regions in tumours. *Appl. Math. Lett.*, 11(3) :89–94, 1998.
- [95] C.P. Please, G.J. Pettet, and D.L.S. McElwain. Avascular tumour dynamics and necrosis. *Math. Models Methods Appl. Sci.*, 9(4) :569–579, 1999.
- [96] H.M. Byrne and M.A.J. Chaplain. Modelling the role of cell-cell adhesion in the growth and development of carcinomas. *Math. Comput. Modelling*, 24(12) :1–17, 1996.
- [97] 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, 2002.
- [98] H.M. Byrne, J.R. King, D.L.S. McElwain, and L. Preziosi. A two-phase model of solid tumour growth. *Appl. Math. Lett.*, 16(4) :567–573, 2003.
- [99] H. Byrne and L. Preziosi. Modelling solid tumour growth using the theory of mixtures. *IMA J. Math. Appl. Med. Biol.*, 20(4) :341–366, 2003.
- [100] V. Cristini, J. Lowengrub, and Q. Nie. Nonlinear simulation of tumor growth. *J Math Biol*, 46(3) :191–224, Mar 2003.
- [101] P. Macklin and J. Lowengrub. Nonlinear simulation of the effect of microenvironment on tumor growth. *J Theor Biol*, 245(4) :677–704, Apr 2007.
- [102] 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.

- [103] 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.
- [104] A.R.A. Anderson, M.A.J. Chaplain, E.L. Newman, R.J.C. Steele, and A.M. Thompson. Mathematical modelling of tumour invasion and metastasis. *Journal of Theoretical Medicine*, 2 :129–154, 2000.
- [105] 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.
- [106] R.P. Araujo and D.L.S. McElwain. The nature of the stresses induced during tissue growth. *Applied Mathematics Letters*, 18 :1081–1088, 2005.
- [107] R.P. Araujo and D.L.S. McElwain. A mixture theory for the genesis of residual stresses in growing tissues I : a general formulation. *SIAM J Appl Math*, 65 :1261–1284, 2005.
- [108] R.P. Araujo and D.L.S. McElwain. A mixture theory for the genesis of residual stresses in growing tissues II : solutions to the biphasic equations for a multicell spheroid. *SIAM J Appl Math*, 66 (2) :447–467, 2005.
- [109] D. Ambrosi and F. Mollica. On the mechanics of a growing tumor. *International Journal of Engineering Science*, 40 :1297–1316, 2002.
- [110] W. Düchting. Cancer, an unstable control loop. attempt at a system analysis. *Kybernetik*, 5(2) :70–82, Aug 1968.
- [111] W. Düchting and D. Dehl. Simulation of two-dimensional cell growth with application to tumor kinetics. *Mathematics and Computers in Simulation*, 22 :81–90, 1980.
- [112] 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.
- [113] A.R. Kansal, S. Torquato, E.A. Chiocca, and T.S. Deisboeck. Emergence of a subpopulation in a computational model of tumor growth. *J Theor Biol*, 207(3) :431–441, Dec 2000.
- [114] D. Drasdo, R. Kree, and J. S. McCaskill. Monte carlo approach to tissue-cell populations. *Phys. Rev. E*, 52(6) :6635–6657, Dec 1995.
- [115] D. Drasdo and Höhme. Individual-based approaches to birth and death in avascular tumors. *Math. Comput. Modelling*, 37(11) :1163–1175, 2003.
- [116] W. Düchting and T. Vogelsaenger. Recent progress in modelling and simulation of three-dimensional tumor growth and treatment. *Biosystems*, 18(1) :79–91, 1985.
- [117] A.S. Qi, X. Zheng, C.Y. Du, and B.S. An. A cellular automaton model of cancerous growth. *J Theor Biol*, 161(1) :1–12, Mar 1993.
- [118] S.C. Ferreira Junior, M.L. Martins, and M.J. Vilela. A growth model for primary cancer. *Physica A*, 261 :569–580, 1998.

- [119] S.C. Ferreira Jr, M.L. Martins, and M.J. Vilela. A growth model for primary cancer (ii). new rules, progress curves and morphology transitions. *Physica A*, 272 :245–256, 1999.
- [120] S.C. Ferreira, M.L. Martins, and M.J. Vilela. Reaction-diffusion model for the growth of avascular tumor. *Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys*, 65(2 Pt 1) :021907, Feb 2002.
- [121] S. Dormann and A. Deutsch. Modeling of self-organized avascular tumor growth with a hybrid cellular automaton. *In Silico Biology*, 2(3) :393–406 (article complet disponible en ligne uniquement), 2002.
- [122] A.R.A. Anderson. A hybrid mathematical model of solid tumour invasion : the importance of cell adhesion. *Math. Med. Biol.*, 22(2) :163–186, 2005.
- [123] 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.
- [124] Y. Mansury, M. Kimura, J. Lobo, and T.S. Deisboeck. Emerging patterns in tumor systems : simulating the dynamics of multicellular clusters with an agent-based spatial agglomeration model. *J Theor Biol*, 219(3) :343–370, Dec 2002.
- [125] D. Drasdo and S. Höhme. A single-cell-based model of tumor growth in vitro : monolayers and spheroids. *Phys Biol*, 2(3) :133–147, Sep 2005.
- [126] L. Zhang, Z. Wang, J.A. Sagotsky, and T.S. Deisboeck. Multiscale agent-based cancer modeling. *J Math Biol*, 58 :545–559, Sep 2009.
- [127] E.L. Stott, N.F. Britton, J.A. Glazier, and M. Zajac. Stochastic simulation of benign avascular tumour growth using the potts model. *Mathematical and Computer Modelling*, 30(5-6) :183–198, September 1999.
- [128] S. Turner and J.A. Sherratt. Intercellular adhesion and cancer invasion : a discrete simulation using the extended potts model. *J Theor Biol*, 216(1) :85–100, May 2002.
- [129] C.J.W. Beward, H.M. Byrne, and C.E. Lewis. A multiphase model describing vascular tumour growth. *Bull Math Biol*, 65(4) :609–640, Jul 2003.
- [130] I.J. Stamper, H.M. Byrne, M.R. Owen, and P.K. Maini. Modelling the role of angiogenesis and vasculogenesis in solid tumour growth. *Bull Math Biol*, 69(8) :2737–2772, Nov 2007.
- [131] 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.
- [132] E. De Angelis and L. Preziosi. Advection-diffusion models for solid tumour evolution in vivo and related free boundary problem. *Math. Models Methods Appl. Sci.*, 10(3) :379–407, 2000.
- [133] X. Zheng, S.M. Wise, and V. Cristini. Nonlinear simulation of tumor necrosis, neo-vascularization and tissue invasion via an adaptive finite-element/level-set method. *Bull Math Biol*, 67(2) :211–259, Mar 2005.

- [134] P. Macklin, S. McDougall, A.R.A. Anderson, M.A.J. Chaplain, V. Cristini, and J. Lowengrub. Multiscale modelling and nonlinear simulation of vascular tumour growth. *J Math Biol*, 58(4-5) :765–798, Apr 2009.
- [135] 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.
- [136] L. Arakelyan, V. Vainstein, and Z. Agur. A computer algorithm describing the process of vessel formation and maturation, and its use for predicting the effects of anti-angiogenic and anti-maturation therapy on vascular tumor growth. *Angiogenesis*, 5(3) :203–214, 2002.
- [137] 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.
- [138] T. Alarcón, H.M. Byrne, and P.K. Maini. A multiple scale model for tumor growth. *Multiscale Model Simul*, 3 :440–475, 2005.
- [139] D. Levêque. Pharmacokinetics of monoclonal antibodies. *Journal de Pharmacie Clinique*, 21(4) :271–277, Decembre 2002.
- [140] T. Shih and C. Lindley. Bevacizumab : an angiogenesis inhibitor for the treatment of solid malignancies. *Clinical Therapeutics*, 28(11) :1779–1802, November 2006.
- [141] M.S. O’Reilly, T. Boehm, Y. Shing, N. Fukai, G. Vasios, W.S. Lane, E. Flynn, J.R. Birkhead, B.R. Olsen, and J. Folkman. Endostatin : an endogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth. *Cell*, 88(2) :277–285, Jan 1997.
- [142] Y.-M. Kim, S. Hwang, Y.-M. Kim, B.-J. Pyun, T.-Y. Kim, S.-T. Lee, Y. S. Gho, and Y.-G. Kwon. Endostatin blocks vascular endothelial growth factor-mediated signaling via direct interaction with kdr/flk-1. *J Biol Chem*, 277(31) :27872–27879, Aug 2002.
- [143] J.P. Thomas, R.Z. Arzoomanian, D. Alberti, R. Marnocha, F. Lee, A. Friedl, K. Tutsch, A. Dresen, P. Geiger, J. Pluda, W. Fogler, J.H. Schiller, and G. Wilding. Phase i pharmacokinetic and pharmacodynamic study of recombinant human endostatin in patients with advanced solid tumors. *J Clin Oncol*, 21(2) :223–231, Jan 2003.
- [144] J. Folkman. Endogenous angiogenesis inhibitors. *APMIS*, 112(7-8) :496–507, 2004.
- [145] Y. Ling, Y. Yang, N. Lu, Q.-D. You, S. Wang, Y. Gao, Y. Chen, and Q.-L. Guo. Endostar, a novel recombinant human endostatin, exerts antiangiogenic effect via blocking vegf-induced tyrosine phosphorylation of kdr/flk-1 of endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 361(1) :79–84, Sep 2007.
- [146] M. Capillo, P. Mancuso, A. Gobbi, S. Monestiroli, G. Pruneri, C. Dell’Agnola, G. Martinelli, L. Shultz, and F. Bertolini. Continuous infusion of endostatin inhibits differentiation, mobilization, and clonogenic potential of endothelial cell progenitors. *Clin Cancer Res*, 9(1) :377–382, Jan 2003.

- [147] O. Kisker, C.M. Becker, D. Prox, M. Fannon, R. D'Amato, E. Flynn, W.E. Fogler, B.K. Sim, E.N. Allred, S.R. Pirie-Shepherd, and J. Folkman. Continuous administration of endostatin by intraperitoneally implanted osmotic pump improves the efficacy and potency of therapy in a mouse xenograft tumor model. *Cancer Res*, 61(20) :7669–7674, Oct 2001.
- [148] J. Folkman. Antiangiogenesis in cancer therapy—endostatin and its mechanisms of action. *Exp Cell Res*, 312(5) :594–607, Mar 2006.
- [149] <http://www.clinicaltrials.gov>.
- [150] X. Lin, H. Huang, S. Li, H. Li, Y. Li, Y. Cao, D. Zhang, Y. Xia, Y. Guo, W. Huang, and W. Jiang. A phase i clinical trial of an adenovirus-mediated endostatin gene (e10a) in patients with solid tumors. *Cancer Biol Ther*, 6(5) :648–653, May 2007.
- [151] H.A. Levine, B.D. Sleeman, and M. Nilsen-Hamilton. Mathematical modeling of the onset of capillary formation initiating angiogenesis. *J Math Biol*, 42(3) :195–238, Mar 2001.
- [152] H.A. Levine, B.D. Sleeman, and M. Nilsen-Hamilton. A mathematical model for the roles of pericytes and macrophages in the initiation of angiogenesis. i : The role of protease inhibitors in preventing angiogenesis. *Math. Biosci.*, 168(1) :77–115, 2000.
- [153] 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.
- [154] F. Winkler, S.V. Kozin, R.T. Tong, S.-S. Chae, M.F. Booth, I. Garkavtsev, L. Xu, D.J. Hicklin, D. Fukumura, E. di Tomaso, L.L. Munn, and R.K. Jain. Kinetics of vascular normalization by vegfr2 blockade governs brain tumor response to radiation : role of oxygenation, angiopoietin-1, and matrix metalloproteinases. *Cancer Cell*, 6(6) :553–563, Dec 2004.
- [155] 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.
- [156] M.J. Plank, B.D. Sleeman, and P.F. Jones. The role of the angiopoietins in tumour angiogenesis. *Growth Factors*, 22(1) :1–11, Mar 2004.
- [157] L.J. Metheny-Barlow and L.Y. Li. The enigmatic role of angiopoietin-1 in tumor angiogenesis. *Cell Res*, 13(5) :309–317, Oct 2003.
- [158] B. Ribba, O. Saut, T. Colin, D. Bresch, E. Grenier, and J.-P. Boissel. A multiscale mathematical model of avascular tumor growth to investigate the therapeutic benefit of anti-invasive agents. *J Theor Biol*, 243(4) :532–541, Dec 2006.
- [159] B. Ribba, B. You, M. Tod, P. Girard, B. Tranchand, V. Trillet-Lenoir, and G. Freyer. Chemotherapy may be delivered upon an integrated view of tumor dynamics. *IET Systems Biology*. Accepted, 2009.

- [160] D. Ambrosi and L. Preziosi. On the closure of mass balance models for tumor growth. *Math. Models Methods Appl. Sci.*, 12(5) :737–754, 2002.
- [161] B. Addison-Smith, D.L.S. McElwain, and P.K. Maini. A simple mechanistic model of sprout spacing in tumour-associated angiogenesis. *J Theor Biol*, 250(1) :1–15, Jan 2008.
- [162] S.V. Patankar. *Numerical Heat Transfer and Fluid Flow*. Hemisphere Publishing Corporation, 1980.
- [163] S. Balay, W.D. Gropp, L.C. McInnes, and B.F. Smith. Petsc users manual. Technical Report ANL-95/11 - Revision 2.1.3, Argonne National Laboratory, 2002.
- [164] S. Balay, W.D. Gropp, L.C. McInnes, and B.F. Smith. Petsc home page, 2001. <http://www.mcs.anl.gov/petsc>.
- [165] G.-S. Jiang and D. Peng. Weighted eno schemes for hamilton-jacobi equations. *SIAM J. Sci. Comput.*, 21(6) :2126–2143, 2000.
- [166] R.P. Fedkiw, B. Merriman, and S. Osher. Simplified discretization of systems of hyperbolic conservation laws containing advection equations. *J. Comput. Phys.*, 157(1) :302–326, 2000.
- [167] <http://www.paraview.org>.
- [168] K. Groebe and W. Mueller-Klieser. On the relation between size of necrosis and diameter of tumor spheroids. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 34(2) :395–401, Jan 1996.
- [169] S. Kumar and V.M. Weaver. Mechanics, malignancy, and metastasis : the force journey of a tumor cell. *Cancer Metastasis Rev*, 28(1-2) :113–127, Jun 2009.
- [170] B. Ribba, P. Tracqui, J.-L. Boix, J.-P. Boissel, and S.R. Thomas. QxDB : a generic database to support mathematical modelling in biology. *Philos Transact A Math Phys Eng Sci*, 364(1843) :1517–1532, Jun 2006.
- [171] D. Bresch, T. Colin, E. Grenier, B. Ribba, and O. Saut. A viscoelastic model for avascular tumor growth. *Discrete and Continuous Dynamical Systems (submitted)*, 2009.
- [172] A. Tosin, D. Ambrosi, and L. Preziosi. Mechanics and chemotaxis in the morphogenesis of vascular networks. *Bull Math Biol*, 68(7) :1819–1836, Oct 2006.
- [173] L.T. Baxter and R.K. Jain. Transport of fluid and macromolecules in tumors. i. role of interstitial pressure and convection. *Microvasc Res*, 37(1) :77–104, Jan 1989.
- [174] R.P. Araujo and D.L.S. McElwain. New insights into vascular collapse and growth dynamics in solid tumors. *J Theor Biol*, 228(3) :335–346, Jun 2004.
- [175] R.P. Araujo and D.L.S. McElwain. The role of mechanical host-tumour interactions in the collapse of tumour blood vessels and tumour growth dynamics. *J Theor Biol*, 238(4) :817–827, Feb 2006.
- [176] G. Bergers and D. Hanahan. Modes of resistance to anti-angiogenic therapy. *Nat Rev Cancer*, 8(8) :592–603, Aug 2008.

- [177] J.M.L. Ebos, C.R. Lee, W. Cruz-Munoz, G.A. Bjarnason, J.G. Christensen, and R.S. Kerbel. Accelerated metastasis after short-term treatment with a potent inhibitor of tumor angiogenesis. *Cancer Cell*, 15(3) :232–239, Mar 2009.
- [178] M. Pàez-Ribes, E. Allen, J. Hudock, T. Takeda, H. Okuyama, F. Vinals, M. Inoue, G. Bergers, D. Hanahan, and O. Casanovas. Antiangiogenic therapy elicits malignant progression of tumors to increased local invasion and distant metastasis. *Cancer Cell*, 15(3) :220–231, Mar 2009.
- [179] N. Ferrara and W.J. Henzel. Pituitary follicular cells secrete a novel heparin-binding growth factor specific for vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 161(2) :851–858, Jun 1989.
- [180] F. Mac Gabhann and A.S. Popel. Differential binding of vegf isoforms to vegf receptor 2 in the presence of neuropilin-1 : a computational model. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 288(6) :H2851–H2860, Jun 2005.
- [181] G. H. Takahashi, I. Fatt, and T. K. Goldstick. Oxygen consumption rate of tissue measured by a micropolarographic method. *J Gen Physiol*, 50(2) :317–335, Nov 1966.

Table des figures

3.1	Evolution de l'effet (E) en fonction de la concentration en agoniste ($[C]$) selon le modèle du E_{max} . E_{max} désigne l'effet maximal; K_D est la constante de dissociation du complexe ligand-récepteur.	31
5.1	Balance angiogénique. L'angiogenèse est activée (balance sur "on") lorsque l'effet des activateurs prédomine sur l'effet des inhibiteurs, et inhibée (balance sur "off") dans le cas contraire.	39
5.2	Représentation schématique d'une coupe de vaisseau sanguin. La paroi d'un vaisseau sanguin est constituée de trois régions concentriques. L'intima borde la lumière du vaisseau et se compose principalement de cellules endothéliales et d'une membrane basale. La média se compose de cellules musculaires lisses, de péricytes, et d'une matrice conjonctive. L'adventice, couche la plus externe, est formée d'un tissu conjonctif.	40
5.3	Représentation schématique des principaux mécanismes de l'angiogenèse. Destabilisées, les cellules endothéliales (CEs) sont capables de dégrader la membrane basale, puis de proliférer et migrer en direction du gradient de concentration en VEGF. Ces cellules s'organisent alors en une structure en forme de tube, et sécrètent des molécules de PDGF afin de recruter des fibroblastes, indispensables à la maturation du néo-vaisseau. D'après [34].	42
6.1	Comparaison de l'évolution spatio-temporelle de la densité de cellules endothéliales selon le modèle continu développé par Anderson et Chaplain [43], sans haptotaxie (en haut), et avec haptotaxie (en bas). Le vaisseau parent est situé sur la bande $\{0\} \times [0; 1]$, la tumeur sur la bande $\{1\} \times [0; 1]$. L'haptotaxie a pour effet de ralentir la migration des cellules endothéliales et d'induire un mouvement de migration latérale entre les groupes de cellules. D'après [43].	48
6.2	Grille de discrétisation spatiale du système d'équations (6.3).	52

6.3	Comparaison de l'évolution spatio-temporelle du réseau vasculaire selon le modèle discret développé par Anderson et Chaplain [43], sans haptotaxie (en haut), et avec haptotaxie (en bas). Le vaisseau parent est situé sur la bande $\{0\} \times [0; 1]$, la tumeur sur la bande $\{1\} \times [0; 1]$. Des anastomoses et branchements se produisent dans les deux cas, mais plus fréquemment lorsque l'haptotaxie est pris en compte. L'haptotaxie induit également une réduction de la vitesse de migration des cellules endothéliales. D'après [43].	53
7.1	Schéma du cycle cellulaire. Le cycle de prolifération se compose des phases G_1 , S , G_2 , M . Les cellules qui ne prolifèrent pas sont en phase G_0 . Des points de vérification entre les phases G_1 et S , et G_2 et M vérifient l'intégrité de la cellule.	57
7.2	Principales caractéristiques d'une cellule cancéreuse.	59
8.1	Comparaison de l'évolution temporelle du nombre de cellules tumorales pour les modèles exponentiel, logistique, et de Laird-Gompertz. Seuls les modèles logistique et de Laird-Gompertz permettent de prendre en compte la limitation de la croissance tumorale par des facteurs environnementaux. Dans le modèle de Laird-Gompertz, le taux de croissance maximal (correspondant au point d'inflexion de la courbe ci-dessus, marqué d'une *) est toujours atteint pour un nombre de cellules tumorales inférieur à celui correspondant au taux de croissance maximal du modèle logistique, correspondant lui à $N = N_\infty/2$	62
10.1	Représentation schématique du mode d'action des anticorps anti-VEGF. Les anticorps anti-VEGF sont capables de neutraliser les molécules de VEGF, empêchant ainsi l'activation des cellules endothéliales.	85
10.2	Représentation schématique du mode d'action de l'endostatine. Les molécules d'endostatine se lient aux récepteurs Flk-1 à la place des molécules de VEGF, inhibant ainsi la prolifération et la migration des cellules endothéliales.	86
12.1	Schéma discursif : résumé des entités et interactions biologiques prises en compte dans le modèle. Les actions activatrices sont représentées par des flèches bleues, les actions inhibitrices par des flèches rouges. Le modèle distingue deux types de cellules : les cellules endothéliales (stables et instables), et les cellules tumorales (proliférantes, quiescentes et apoptotiques). Les cellules quiescentes sécrètent du VEGF qui, par diffusion, stimule la prolifération et la migration des cellules endothéliales en direction de la tumeur. Un phénomène de compétition pour le récepteur Tie2 entre les angiopoïétines -1 (Ang1) et -2 (Ang2) régule le contact entre cellules endothéliales, et donc la maturation des vaisseaux concernés. Les néo-vaisseaux fournissent alors, par l'intermédiaire du flux sanguin, un apport en oxygène à la tumeur. Ce modèle intègre également deux sous-modèles de traitements anti-angiogéniques (notés "A" et "B").	95

13.1	Représentation de la fonction PA . $E_{min_{prolif}}$ représente la valeur minimale de $E_{VEGF,prolif}$ en dessous de laquelle les cellules endothéliales ne prolifèrent plus, et meurent avec un taux maximal $ Ap $ ($Ap < 0$).	106
13.2	Représentation schématique du modèle de cycle cellulaire structuré en âge. Ce modèle intègre deux phases proliférantes, P_1 et P_2 , une phase quiescente Q , et une phase apoptotique A . A la fin de la phase P_1 , la vérification des conditions environnementales est modélisée par les fonctions f et g . Si l'hypoxie ou la surpopulation sont détectées, les cellules tumorales proliférantes deviennent quiescentes; si le degré d'hypoxie est trop élevé, ces cellules meurent. En revanche, si l'hypoxie et la surpopulation disparaissent, les cellules quiescentes redeviennent proliférantes. Nous supposons que le processus de mitose se produit à la fin de la phase P_2 . . .	114
13.3	Densités initiales de cellules endothéliales stables et instables, et de cellules tumorales. La tumeur est située au centre du domaine, et entourée de quatre vaisseaux sanguins préexistants.	121
13.4	Critères permettant de mesurer l'efficacité d'un traitement anti-angiogénique. Le critère 1 représente le temps mis par la tumeur pour dépasser le seuil τ_g . Ce temps inclus la période du traitement. Le critère 2 représente le temps entre la fin du traitement et le temps mis par la tumeur pour dépasser le seuil τ_g	123
14.1	Visualisation d'un fichier représentant la densité de cellules endothéliales. A gauche, fichier .vti visualisé avec ParaView (présence de stries). A droite, fichier .dat visualisé avec Gnuplot (absence de strie).	134
16.1	De haut en bas : évolution spatio-temporelle des densités de cellules endothéliales (stables et instables) et tumorales. Les images de gauche montrent l'évolution de la densité de cellules endothéliales proliférant et migrant depuis les vaisseaux préexistants vers la tumeur. Le contour de la tumeur est représenté par un trait fin. Les images de droite montrent l'évolution de la densité de cellules tumorales (proliférantes et quiescentes). Le contour de la distribution de cellules endothéliales est représenté par un trait fin.	137
17.1	De haut en bas : évolution spatio-temporelle de la densité de cellules endothéliales (stables et instables) avec (à gauche) et sans (à droite) administration d'anticorps anti-VEGF à $t=30$. Le trait fin représente le contour de la tumeur.	141
17.2	Densité de cellules tumorales au temps $t=159$ (fin de la simulation) avec (à gauche) et sans (à droite) production d'anticorps anti-VEGF. Le trait fin représente le contour de la densité de cellules endothéliales. Le volume de la tumeur traitée est beaucoup plus faible que celui de la tumeur non traitée.	142

17.3	A gauche : évolution temporelle de la quantité totale d'anticorps anti-VEGF avec (courbe rouge) et sans (courbe bleue) administration d'anticorps. A droite : idem pour la quantité totale de VEGF.	143
17.4	A gauche : évolution temporelle du nombre total de cellules tumorales avec (courbe rouge) et sans (courbe bleue) administration d'anticorps. A droite : idem pour le nombre total de cellules endothéliales (stables et instables).	143
17.5	Evolution du critère d'efficacité 1 (délai entre le début de la simulation et le début de la croissance tumorale) en fonction du taux de production (ou dose) des anticorps anti-VEGF. Plus la dose augmente, plus la croissance tumorale est retardée.	144
17.6	De haut en bas : évolution spatio-temporelle de la densité de cellules endothéliales avec (à gauche) et sans (à droite) surproduction d'endostatine (entre $t=30$ et $t=60$). Le trait fin représente le contour de la tumeur.	145
17.7	Densité de cellules tumorales au temps $t=159$ (fin de la simulation) avec (à gauche) et sans (à droite) surproduction d'endostatine. Le trait fin représente le contour de la densité de cellules endothéliales.	146
17.8	A gauche : evolution temporelle du nombre total de cellules tumorales avec (courbe rouge) et sans (courbe bleue) surproduction d'endostatine. A droite : idem pour le nombre total de cellules endothéliales (stables et instables).	147
17.9	Evolution temporelle du nombre de cellules tumorales (à gauche) et du nombre de cellules endothéliales (à droite) pour différents schémas thérapeutiques : le taux de surproduction augmente lorsque la durée de surproduction diminue afin d'avoir toujours la même quantité d'endostatine surproduite. Une dose faible sur une durée longue permet de retarder l'évolution des cellules endothéliales, et donc la croissance tumorale, plus longtemps qu'une dose plus forte sur une durée plus courte.	148
17.10	Evolution du critère d'efficacité 1 (délai entre le début de la simulation et le début de la croissance tumorale) en fonction du coefficient de surproduction (abscisses), pour différentes durées de surproduction (couleurs).	149
17.11	Evolution du critère d'efficacité 2 (délai entre l'arrêt du traitement et le début de la croissance tumorale) en fonction du coefficient de surproduction (abscisses), pour différentes durées de surproduction (couleurs). Toutes les courbes s'intersectent en un même point, correspondant à un coefficient de surproduction noté "R".	150

Liste des tableaux

12.1 Principales hypothèses biologiques du modèle	101
13.1 Notations utilisées dans le modèle mathématique.	103
13.2 Résumé des équations du modèle macroscopique.	119
13.3 Résumé des relations du modèle moléculaire.	120
A.1 Résumé des paramètres du modèle et valeurs utilisées pour les simulations <i>in silico</i> .	170
A.1 Résumé des paramètres du modèle et valeurs utilisées pour les simulations <i>in silico</i> (suite).	171
A.1 Résumé des paramètres du modèle et valeurs utilisées pour les simulations <i>in silico</i> (fin).	172

