



HAL
open science

Modélisation de l'hétérogénéité tumorale par processus de branchement : cas du glioblastome

Tiphaine Obara

► **To cite this version:**

Tiphaine Obara. Modélisation de l'hétérogénéité tumorale par processus de branchement : cas du glioblastome. Modélisation et simulation. Université de Lorraine, 2016. Français. NNT : 2016LORR0186 . tel-01526677v2

HAL Id: tel-01526677

<https://hal.science/tel-01526677v2>

Submitted on 20 Mar 2017

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Copyright



Modélisation de l'hétérogénéité tumorale par processus de branchement : cas du glioblastome

THÈSE

présentée et soutenue publiquement le 07 octobre 2016

pour l'obtention du

Doctorat de l'Université de Lorraine

(mention Automatique, Traitement du signal et des images, Génie informatique)

par

Tiphaine Obara

Composition du jury

<i>Président :</i>	Jean CLAIRAMBAULT	Directeur de recherches, INRIA Paris-Rocquencourt
<i>Rapporteurs :</i>	Christian HEINRICH	Professeur, Université de Strasbourg
	Régis LENGELLE	Professeur, Université Technologique de Troyes
<i>Examineur :</i>	Luc TAILLANDIER	Professeur, Praticien hospitalier, CHU Nancy
<i>Invité :</i>	Pierre VALLOIS	Professeur, Université de Lorraine
<i>Encadrants :</i>	Alain RICHARD	Professeur, Université de Lorraine
	Magalie THOMASSIN	Maître de conférences, Université de Lorraine

Ces travaux ont reçu le soutien financier du CNRS, de la région Lorraine ainsi que de l'Université de Lorraine.



Remerciements

L'exercice périlleux des remerciements, nous y voilà ! D'un côté, c'est une bonne nouvelle, d'un autre, je prends conscience de la lourde tâche qui m'incombe. Il est temps de remercier tous ceux qui m'ont encouragée, ceux qui m'ont donné les moyens, l'envie et le courage d'oser me lancer dans cette drôle d'aventure qu'est le doctorat.

Je remercie mes rapporteurs, Christian Heinrich et Régis Lengelle pour le temps qu'ils ont consacré à mes travaux. Vos remarques m'ont permis de pousser la réflexion et de prendre du recul sur ma thèse. Merci à Jean Clairambault et Luc Taillandier d'avoir accepté, spontanément, de contribuer au jugement de ce travail. Je suis honorée que Pierre Vallois ait accepté de participer à mon jury et je le remercie d'être un chercheur aussi impliqué, laissant sa porte toujours ouverte pour d'éventuelles questions.

Je remercie mes encadrants, Alain Richard et Magalie Thomassin, d'avoir proposé ce sujet interdisciplinaire et de m'avoir fait confiance. Magalie, tu es celle qui a accompagné mes premiers pas de chercheuse et sans qui je n'aurais pas pu débiter cette thèse. Alain, j'aimerais vous dire à quel point j'ai apprécié le respect et l'enthousiasme avec lesquels vous avez dirigé cette thèse. Je vous suis reconnaissante, à tous les deux d'avoir respecté mes choix, même les plus incongrus. Si j'ai pu affronter les conditions de cette dernière année, c'est parce que je ne me savais pas seule.

Ce travail n'aurait pas vu le jour sans le soutien de Cédric Boura et Sophie Pinel, tous les deux enseignants-chercheurs en biologie au CRAN. Merci d'avoir eu la patience de m'expliquer des notions dont j'ignorais tout, même l'orthographe ! Ce fut un réel plaisir d'apprendre à vos côtés. J'adresse également mes remerciements à Dominique Meng et Alicia Chateau pour la réalisation des expérimentations biologiques. Sans vous, une partie de cette thèse n'existerait tout simplement pas. J'ai pu, grâce à vous tous, effectuer un vrai travail interdisciplinaire.

La thèse est souvent l'occasion de rencontres inattendues, de partages et d'échanges scientifiques. Certaines discussions ont donné lieu à de nouveaux paragraphes. Je tiens à remercier en particulier Béatrice Faivre pour le temps qu'elle m'a accordé lors de notre échange autour des cellules souches. Votre présence lors de ma soutenance m'a touchée. Je pense également à Géraldine Reppel, dont j'ai fait la connaissance grâce au pouvoir de la transitivité des rencontres. Merci pour ta bonne humeur toujours communicative !

Au delà du travail de recherche, j'ai passé quatre années à enseigner auprès de vous, collègues et étudiants de l'ESSTIN. C'était une expérience formidable. Merci à Julie Valein, enseignante en mathématiques, de m'avoir soumis l'idée de devenir Esstinienne à ses côtés. Un grand merci aux autres enseignants : Jean-Rodolphe, Renaud, Kholéhè, Agnès, Thomas, Frédéric, Michaël, Marie-Christine, Floriane. . . Vous m'avez tous accueillie avec beaucoup de chaleur, de bienveillance et d'humour. Renaud, nos discussions philo-socio-logico-mathématique vont me manquer. Merci pour ta bonne humeur et l'aide, matérielle et morale, que tu m'as apportée. Enfin, il m'est impossible de ne pas remercier mes étudiants. Ils m'ont prouvé que l'humain est probablement la matière première la plus difficile à travailler, mais sans aucun doute la plus fascinante.

Sans les qualités pédagogiques et humaines de quelques-uns de mes enseignants, je n'aurais pas eu l'idée d'emprunter ce chemin hasardeux. Je remercie Mr Duchaine qui m'a transmis le sens de la rigueur mathématique et qui a piqué ma curiosité avec ces histoires d'intégrales un

peu trop bornées à mon goût.

Alors que je voulais "m'expatrier" du côté de la Bretagne, Samy Tindel m'a fait découvrir les bio-mathématiques. La suite de l'histoire on la connaît, j'ai dû affronter la grisaille Lorraine et abandonner l'idée des crêpes et du caramel au beurre salé. Mais la Lorraine recèle bien d'autres secrets. J'ai pu y faire de merveilleuses rencontres. Entre autres, merci à Céline Lacaux qui ne manque jamais de prendre de mes nouvelles et de m'encourager malgré les nombreux kilomètres qui nous séparent.

Enfin, je mesure la chance que j'ai eue de croiser Olivier Garet. Je crois que tu le sais déjà, l'approche mathématique et humaine de ton enseignement a largement guidé mes choix. Merci d'avoir rendu tes cours aussi passionnants. Merci pour tout le soutien que tu as témoigné à mon égard.

L'environnement dans lequel évolue un doctorant est fortement corrélé à son capital "bonne humeur", lui même corrélé à l'état de sa santé mentale. Merci à tous les membres de l'équipe SBS du CRAN pour leur accueil chaleureux. Plus particulièrement, merci à mes co-bureaux, JB, Paul, Amine, Meriem pour la bonne ambiance qui régnait dans le bureau au fond du couloir à droite, puis au début du couloir à gauche. Karima et Magali, merci de m'avoir laissé une place parmi les biologistes. J'ai rencontré bien plus que de sérieuses concurrentes boulimiques de chocolats! La première fait les meilleures pâtisseries de Nancy (et de loin) tandis que la seconde assure mes chutes (en toutes circonstances). La justesse de vos mots dans les moments difficiles, la subtilité de vos blagues dans ceux, plus légers, m'ont fait garder le cap. C'est à vous de jouer maintenant!

Malgré mon éloignement ces dernières années, ils sont toujours à mes côtés. Vous êtes la définition parfaite de l'amitié. Je ne savais pas comment vous remercier, alors j'ai balancé, au fil de mes idées, ce qui m'a semblé être le résumé de tant d'années d'amitié.

De Nancy, de Minorville	Vos sourires, nos délires	Apprécier, espérer
De Laon, de Dranguignan	Nos secrets, vos pensées	Profiter, déconner
De Toulouse, de Paris	Nos soirées, vos projets	Taquiner, défier
De Bar-le-Duc, de Lyon	Vos fou-rires, nos souvenirs	S'apprivoiser, s'aimer

Vivre juste. Et juste vivre... Merci d'être là.

Un immense merci à toute ma famille pour son soutien. Même s'ils n'y comprenaient pas grand chose à "toutes ces équations", ils ont compris que l'essentiel était ailleurs.

J'ai une tendre pensée pour toi Noélie, te voir grandir et t'épanouir me rend chaque jour plus fière d'être ta marraine.

Nicolas, peut-être que cette thèse te donnera des idées! J'espère que tu as prévu ma chambre dans tous les pays que tu as l'intention de visiter.

Enfin, le merci le plus difficile tant les mots me manquent, s'adresse à mes parents sans qui rien n'aurait été possible. Votre amour, votre confiance, votre soutien m'ont portée bien plus haut que vous ne pouvez l'imaginer. Tracer ma route, croire en mes rêves, c'est la plus belle leçon, celle que j'aurais été incapable d'apprendre seule. Merci d'être vous. Je vous aime.

Je termine en ayant une pensée pour tous ceux qui ont écrit une page de mon histoire, qui ne verront pas la fin de celle-ci mais qui auraient été, je crois, fiers.

Table des matières

Introduction	3
Chapitre 1 Introduction aux tumeurs cérébrales	7
1.1 Qu'est-ce qu'une tumeur cancéreuse?	8
1.1.1 La cellule	8
1.1.2 Le cycle cellulaire	8
1.1.3 Les mécanismes du développement tumoral	9
1.2 Tumeurs cérébrales	10
1.2.1 Anatomie du cerveau	10
1.2.2 Les tumeurs cérébrales	11
1.2.3 Les gliomes de haut grade	12
1.3 Traitement des tumeurs cérébrales	13
1.3.1 La chirurgie	13
1.3.2 La radiothérapie	13
1.4 Hétérogénéité cellulaire intra-tumorale	17
1.4.1 Qu'est-ce qu'une cellule souche cancéreuse? (CSC)	17
1.4.2 Modèles d'hétérogénéité cellulaire intra-tumorale	17
1.4.3 Preuves et limites de la théorie des CSC	18
1.4.4 CSC et thérapies ciblées	19
Chapitre 2 Modèles mathématiques de croissance tumorale : un état de l'art	21
2.1 Les premiers modèles de croissance tumorale	22
2.1.1 Le modèle de Malthus	22
2.1.2 Le modèle de Gompertz	22
2.2 Les modèles généraux de croissance tumorale	23
2.2.1 Les modèles à l'échelle microscopique	23
2.2.2 Les modèles à l'échelle macroscopique	29
2.2.3 Les modèles hybrides	33
2.3 Discussion	33

Chapitre 3	Prise en compte de l'hétérogénéité cellulaire dans la modélisation de la croissance tumorale	37
3.1	Processus de branchement pour modéliser la prolifération cellulaire	38
3.1.1	Introduction	38
3.1.2	Définitions des principaux types de processus de branchement	38
3.1.3	Processus de Bellman-Harris à un type	40
3.1.4	Processus de Bellman-Harris multi-type	42
3.2	Application à l'hétérogénéité intra-tumorale	45
3.2.1	Choix du modèle	45
3.2.2	Hypothèses biologiques	45
3.2.3	Formulation mathématique	46
3.2.4	Fonction génératrice et espérance	48
3.3	Preuve des propositions	50
3.3.1	Preuve de la proposition 3.1.12	50
3.3.2	Preuve de la proposition 3.2.1	50
3.4	Discussion	51
Chapitre 4	Modélisation numérique de l'hétérogénéité intra-tumorale	53
4.1	Objectifs du simulateur	54
4.2	Modélisation de la prolifération cellulaire	54
4.2.1	Hypothèses biologiques	54
4.2.2	Description de l'algorithme	55
4.2.3	Choix des paramètres du modèle de simulation	55
4.2.4	Résultats numériques	58
4.2.5	Ajustement d'un modèle exponentiel aux données simulées	61
4.2.6	Premiers éléments de comparaison avec les données biologiques	63
4.3	Modélisation d'un traitement par radiothérapie	64
4.3.1	Le modèle linéaire quadratique	64
4.3.2	Intégration de l'effet du traitement dans le modèle numérique	65
4.3.3	Choix des paramètres	66
4.3.4	Résultats numériques	66
4.4	Discussion	66
Chapitre 5	Estimation des paramètres par la méthode du pseudo-maximum de vraisemblance	69
5.1	Introduction	70
5.2	Principe du pseudo-maximum de vraisemblance	70

5.2.1	Notations et définitions	70
5.2.2	Les familles exponentielles linéaires	72
5.2.3	Le pseudo-maximum de vraisemblance simulé (PMVS)	73
5.3	Application du PMVS au cas des processus de Bellman-Harris	74
5.3.1	Formulation du modèle	74
5.3.2	Objectif de l'étude	75
5.3.3	Application	75
5.3.4	Conditions de simulations	77
5.3.5	Présentation des résultats	77
5.4	Discussion	79
Chapitre 6 Expérimentations biologiques		81
6.1	Objectifs et principes généraux des expérimentations	82
6.2	Matériel et méthodes	82
6.2.1	Xénogreffes hétérotopiques sous-cutanées de gliomes malins	82
6.2.2	Détection immunohistochimique de la caspase-3 clivée et de l'antigène de prolifération Ki-67	84
6.2.3	Dissociation tumorale pour les essais clonogéniques	85
6.3	Résultats des expérimentations biologiques	86
6.3.1	Détermination de l'indice de prolifération	86
6.3.2	Détermination de l'indice apoptotique	88
6.3.3	Evolution de la proportion de clones	88
6.4	Discussion	90
Conclusion et perspectives		93
Bibliographie		95

Table des figures

1.1	La cellule et ses différentes composantes	8
1.2	Les différentes phases du cycle cellulaire menant à la formation de deux cellules filles.	9
1.3	Les différents mécanismes impliqués dans la formation d'une tumeur cancéreuse .	10
1.4	Les différentes zones du cerveau et leurs fonctions.	11
1.5	Images IRM d'une patiente atteinte d'un glioblastome.	13
1.6	Image IRM d'un gliome de bas grade.	14
1.7	Evolution d'un gliome de bas grade après un traitement par radiothérapie (RT). .	15
1.8	Radiosensibilité en fonction de la pression partielle en oxygène dans l'environnement cellulaire.	16
1.9	Deux modèles généraux pour expliquer l'hétérogénéité cellulaire intra-tumorale des tumeurs solides.	18
1.10	Observation macroscopique d'une neurosphère obtenue à partir d'un gliome xéno-greffé	19
1.11	Effets d'une thérapie ciblée sur les CSC.	20
2.1	Comparaison des modèles de Malthus, Gompertz et Verhultz.	23
2.2	Exemple d'automate cellulaire modélisant la croissance tumorale au cours du temps.	25
2.3	Comparaison du modèle hiérarchique avec le modèle classique.	26
2.4	Exemple d'un processus de Galton-Watson.	27
2.5	Exemple d'un processus de branchement de Bellman-Harris multi-type.	27
2.6	Modèle hiérarchique et système d'équations associées.	28
2.7	Exemple d'un modèle à deux compartiments.	32
2.8	Évolution des sphéroïdes dans un modèle d'AC.	32
2.9	Modèle hybride de l'évolution d'une sphéroïde.	34
3.1	Exemple d'un processus de branchement de Bellman-Harris multi-type.	40
3.2	Règles de prolifération cellulaire dans un modèle hiérarchique à trois types de cellules.	46
4.1	Schéma explicatif du stockage des cellules.	56
4.2	Schéma de principe de l'organigramme de croissance tumorale.	57
4.3	Evolution du nombre de cellules au cours du temps pour $p_1 = 0.1$	59
4.4	Evolution de la fréquence relative au cours du temps pour $p_1 = 0.1$	59
4.5	Histogramme des fréquences relatives pour $p_1 = 0.1$	60
4.6	Evolution du nombre de cellules au cours du temps pour $p_1 = 0.8$	60
4.7	Evolution de la fréquence relative au cours du temps pour $p_1 = 0.8$	61
4.8	Histogramme des fréquences relatives.	61

4.9	Ajustement d'un modèle exponentiel à l'évolution du nombre moyen de cellules T pour $p_1 = 0.1$	62
4.10	Simulation du modèle exponentiel de la croissance des cellules T sur 25 jours. . .	62
4.11	Histogramme de la fréquence relative des CSC.	63
4.12	Fréquence relative de CSC en fonction de p_1 à 25 jours.	64
4.13	Evolution de la fraction de survie des cellules tumorales en fonction de la dose délivrée.	65
4.14	Valeurs des paramètres relatifs au traitement intervenant dans l'algorithme de croissance tumorale.	66
4.15	Evolution du nombre de cellules lors d'un traitement fractionné pour $p_1 = 0.3$. . .	67
4.16	Evolution du nombre de cellules lors d'un traitement fractionné pour $p_1 = 0.4$. . .	68
5.1	Représentation graphique d'une trajectoire y_t^h	73
5.2	Histogrammes des estimées de p_1	78
5.3	Erreur quadratique moyenne en fonction de p_1	79
6.1	Ensemble des étapes réalisées depuis la greffe jusqu'au comptage des clones . . .	83
6.2	Une souris <i>nude</i>	83
6.3	Essai clonogénique sur des cellules de neurosphères en soft agar.	86
6.4	Evaluation de l'indice de prolifération par marquage au Ki67.	87
6.5	Evolution de l'indice de prolifération.	87
6.6	Evaluation de l'indice apoptotique à la caspase-3 clivée.	88
6.7	Evolution de l'indice apoptotique.	89
6.8	(a) Evolution du pourcentage de clones selon le délai post-greffe. (b) Représentation des données sous forme de boxplot.	89
6.9	(a) Evolution du pourcentage de CSC selon le délai post-greffe. (b) Représentation des données sous forme de boxplot.	90
6.10	Evolution du pourcentage de CSC en fonction du volume des tumeurs.	92

Introduction

Le glioblastome est la tumeur cérébrale la plus fréquente et la plus agressive. Son évolution est rapide et il survient à tout âge. En France, environ 2400 nouveaux cas sont diagnostiqués chaque année. De nombreux phénomènes tels que les mécanismes de prolifération cellulaire, d'angiogenèse et de résistance aux traitements interviennent dans son développement. Si la tumeur est accessible, le traitement est d'abord chirurgical avec une exérèse la plus large possible. En général, le chirurgien est dans l'impossibilité d'enlever la totalité de la tumeur en raison de la fragilité du tissu cérébral qui l'avoisine et des risques neurologiques pour le patient. Dans ce cas, l'action thérapeutique consiste en des séances de radiothérapie associées à une chimiothérapie pour tenter d'éradiquer le reste de la tumeur. Malgré tout, le pronostic du glioblastome reste parmi les plus défavorables de la cancérologie avec une survie médiane autour de 14 mois et des récurrences fréquentes [113].

Ces dernières années, la compréhension de la biologie des tumeurs a beaucoup progressé ouvrant de nouvelles perspectives de recherche dans ce domaine. Désormais, nous savons que les tumeurs ne sont pas constituées par un ensemble de cellules homogènes mais qu'elles constituent un système complexe très hétérogène, qui s'adapte et évolue en fonction de l'environnement dans lequel il se trouve [41]. Cette hétérogénéité tumorale se caractérise par une disparité morphologique, phénotypique ou encore biologique des cellules cancéreuses de la tumeur. Des équipes de chercheurs ont réussi à mettre en évidence une sous-population de cellules fortement radio-résistantes [53, 82] qui seraient les principales responsables de l'échec thérapeutique actuel et des récurrences. Ces cellules, qualifiées de cellules souches cancéreuses (CSC) ou cellules initiatrices de tumeur, possèdent des propriétés communes avec les cellules souches saines, à savoir la capacité d'auto-renouvellement, le maintien d'un stade indifférencié et la possibilité de reformer n'importe quel tissu composant la tumeur. De récentes études prouvent la présence de telles cellules au sein de différentes tumeurs solides telles que les tumeurs du sein [2], du cerveau [29], de la peau [16, 87, 89], de la prostate [25, 68] ou encore du côlon [75]. Les études rapportent que la proportion de CSC au sein d'une tumeur est très variable selon la localisation de la tumeur. Cependant, il apparaît que pour les tumeurs cérébrales, cette proportion est faible (de l'ordre de 1 % [61]). Ce n'est donc pas tant leur nombre qui inquiète les médecins mais plutôt leur caractère agressif et leur résistance aux différents traitements (chimiothérapie, radiothérapie) que l'on ne sait toujours pas expliquer.

L'utilisation d'un modèle mathématique par les scientifiques est nécessaire dès lors que la complexité d'un phénomène observé ne leur permet plus d'en comprendre le fonctionnement, ni d'en prédire l'évolution. Un modèle peut donc se définir comme étant une représentation simplifiée et idéalisée de la réalité. Des équipes pluridisciplinaires mettent au point des modèles mathématiques et numériques de croissance tumorale qui offrent la possibilité de réaliser des études *in silico* limitant ainsi le nombre et le coût des expériences biologiques nécessaires. Les

objectifs de cette modélisation sont multiples. A l'échelle cellulaire, ils permettent de décrire et d'aider à la compréhension des mécanismes de prolifération, et plus particulièrement aux phénomènes complexes d'hétérogénéité cellulaire. A une plus large échelle, ils peuvent également avoir une vocation prédictive et aider les médecins à ajuster leur pronostic et orienter la mise en place d'une stratégie thérapeutique.

Du point de vue de la modélisation, une tumeur peut être vue comme un système dynamique, en constante évolution. De nombreux modèles mathématiques généraux de croissance tumorale ont déjà été introduits [1, 84]. Ils ont été affinés au fil des découvertes biologiques afin de répondre à une plus grande diversité de questions et d'apporter une description toujours plus précise des tumeurs. Les difficultés rencontrées lors de la modélisation de la croissance tumorale tiennent au nombre et à la complexité des phénomènes imbriqués : prolifération cellulaire, angiogenèse, contraintes mécaniques, apport en nutriments, interaction avec le micro-environnement. Selon que l'on s'intéresse aux mécanismes de la prolifération cellulaire ou à l'évolution globale de la tumeur, on ne considérera pas le même modèle, en particulier à cause du problème d'échelle. Qu'elle soit de temps ou d'espace, l'échelle est souvent le premier critère pris en compte dans l'élaboration d'un modèle. L'échelle microscopique est consacrée à l'étude du comportement individuel des cellules. A cette échelle, les développements de modèles mathématiques de croissance tumorale se sont par exemple appuyés sur des approches de type automates cellulaires [4, 30] ou processus de branchement [8]. A l'opposé, les modèles dits continus décrivent le comportement macroscopique des tumeurs. Les équations différentielles sont très largement employées afin de comprendre l'évolution d'une tumeur déjà composée de plusieurs millions de cellules [12]. Lorsque la caractéristique spatiale est prise en compte, il s'agira de mettre au point des équations aux dérivées partielles [60]. En contrepartie, la description de la cellule est plus limitée et certains phénomènes ne peuvent plus être pris en compte. Enfin, des approches hybrides, mêlant des aspects continus et discrets existent mais un tel couplage reste délicat et problématique à mettre en place et à étudier.

La modélisation de l'hétérogénéité tumorale est devenue un enjeu majeur notamment pour améliorer l'efficacité des traitements, c'est pourquoi nous avons fait le choix de nous y intéresser dans ces travaux. Afin de prendre en compte les incertitudes liées au manque de connaissances biologiques, l'hétérogénéité cellulaire est modélisée de manière probabiliste par un processus de branchement multi-type introduit par Bellman et Harris [11]. Ce dernier reproduit la dynamique de plusieurs sous-populations de cellules tumorales évoluant en temps continu. Nous nous intéressons plus spécifiquement à la population des CSC et nous mettons en place une approche de modélisation mathématique puis numérique afin d'améliorer la compréhension de leur comportement, et notamment de leur mécanisme de prolifération à l'origine de l'hétérogénéité tumorale.

Contexte de la thèse

Ces travaux ont été développés au Centre de Recherche en Automatique de Nancy (CRAN) au sein du département « Santé - Biologie - Signal ». Ils s'inscrivent dans le cadre de la biologie systémique des cancers, qui vise à modéliser mathématiquement ou numériquement le développement de tumeurs à différentes échelles (cellulaire, tissulaire) ainsi que leurs réponses aux traitements thérapeutiques.

Cette thèse, à la frontière des sciences du numérique et de la biologie, vise à améliorer la compréhension du comportement des CSC et leur impact sur la croissance tumorale. Elle est le

premier travail issu d'une collaboration avec une équipe de biologistes pour lequel des expérimentations animales ont été mises au point.

Sur le long terme, les objectifs de l'équipe consistent à améliorer l'efficacité et la reproductibilité des thérapies par rayonnement (radiothérapie et thérapie photodynamique). La modélisation devrait ainsi permettre, d'une part, de prédire la croissance tumorale en réponse au traitement et, d'autre part, de proposer un schéma thérapeutique efficace en optimisant les choix des doses et du fractionnement des rayonnements.

Organisation du manuscrit

Le **chapitre 1** présente les mécanismes biologiques nécessaires à la compréhension des choix réalisés dans notre modélisation. En particulier, nous y décrivons les principaux mécanismes biologiques de la croissance tumorale avant de porter notre attention sur les glioblastomes. Pour terminer, nous présentons les effets cellulaires de la radiothérapie, traitement intervenant dans la prise en charge des patients atteints de glioblastome.

Le **chapitre 2** est un état de l'art des modèles mathématiques de croissance tumorale prenant en compte l'hétérogénéité cellulaire. Le nombre d'articles relatifs à ce type d'études étant considérable, nous n'avons pas réalisé une étude exhaustive, mais nous donnons un aperçu des modèles existants. Dans la mesure du possible, nous avons retenu les études pour lesquelles une confrontation du modèle théorique à des données biologiques a été envisagée. Ce chapitre nous a permis d'affiner nos choix quant au modèle de croissance considéré par la suite.

Au **chapitre 3**, nous proposons un modèle mathématique de dynamique des populations intégrant l'hétérogénéité des cellules tumorales. Il s'agit d'un processus de branchement multi-type de Bellman-Harris. Ce modèle nous permet de traiter plusieurs types de cellules en temps continu. Dans un premier temps, nous rappelons quelques définitions et propriétés mathématiques. Dans un deuxième temps, nous adaptons les équations théoriques au modèle hiérarchique. Nous posons les hypothèses et formulons le problème avant de donner les équations de renouvellement qui en découlent.

Le **chapitre 4** est quant à lui consacré au développement d'un simulateur dont l'objectif est de pallier aux difficultés mathématiques rencontrées dans le chapitre précédent. Ce simulateur traite simultanément 3 sous-populations de cellules d'un glioblastome au sein duquel les comportements cellulaires diffèrent en terme de durée de cycle et de prolifération. La réponse à un traitement par radiothérapie est également intégrée au simulateur.

Le **chapitre 5** met en avant les problèmes d'estimation de paramètres d'un modèle de branchement tel que celui de Bellman-Harris. Les méthodes classiques d'estimation ne pouvant être appliquées à notre modèle, nous avons adapté une approche de type pseudo-maximum de vraisemblance au modèle numérique de croissance dans l'optique d'estimer un paramètre relatif à la division des CSC.

Le **chapitre 6** est consacré à la présentation des expérimentations biologiques qui ont été conduites *in vitro* au laboratoire dans l'optique de fournir des données permettant d'analyser la validité du modèle numérique et d'en ajuster ses paramètres. Les résultats issus de ces expérimentations nous ont permis de déterminer les valeurs de certains des paramètres pris en compte

dans le simulateur. Par ailleurs, nous avons réalisé un analyse statistique des données obtenues.

Chapitre 1

Introduction aux tumeurs cérébrales

Le savant n'est pas l'homme qui fournit
les vraies réponses, c'est celui qui pose les
vraies questions.

C. Lévi-Strauss, *Le Cru et le Cuit*

Sommaire

1.1	Qu'est-ce qu'une tumeur cancéreuse ?	8
1.1.1	La cellule	8
1.1.2	Le cycle cellulaire	8
1.1.3	Les mécanismes du développement tumoral	9
1.2	Tumeurs cérébrales	10
1.2.1	Anatomie du cerveau	10
1.2.2	Les tumeurs cérébrales	11
1.2.3	Les gliomes de haut grade	12
1.3	Traitement des tumeurs cérébrales	13
1.3.1	La chirurgie	13
1.3.2	La radiothérapie	13
1.4	Hétérogénéité cellulaire intra-tumorale	17
1.4.1	Qu'est-ce qu'une cellule souche cancéreuse ? (CSC)	17
1.4.2	Modèles d'hétérogénéité cellulaire intra-tumorale	17
1.4.3	Preuves et limites de la théorie des CSC	18
1.4.4	CSC et thérapies ciblées	19

Dans ce chapitre, nous rappelons quelques notions de biologie et de médecine utiles à la compréhension du modèle de croissance tumorale développé dans les chapitres suivants. Plus particulièrement, nous abordons des notions de biologie cellulaire et de cancérologie relatives aux tumeurs cérébrales. Il s'agit ici uniquement de mettre l'essentiel à disposition d'un public de non biologistes. Pour une lecture plus détaillée du sujet, nous renvoyons à la littérature spécialisée dans le domaine.

1.1 Qu'est-ce qu'une tumeur cancéreuse ?

1.1.1 La cellule

La cellule est l'unité fondamentale de la vie. Elle est délimitée par une membrane qui sépare le milieu extérieur (extracellulaire) du milieu intérieur (milieu intracellulaire ou cytoplasme) et permet les échanges entre la cellule et son environnement. Elle est constituée de divers éléments lui permettant d'être autonome, mais en interaction avec les autres cellules. A l'intérieur d'une cellule eucaryote, on trouve le noyau (qui contient l'information génétique) délimité lui-même par la membrane nucléaire et le cytoplasme. On y trouve aussi de nombreux organites (mitochondries, ribosomes, ...) qui assurent chacun des fonctions particulières nécessaires au bon fonctionnement de la cellule (Fig. 1.1). La plupart des cellules ont une taille d'une dizaine de micromètres.

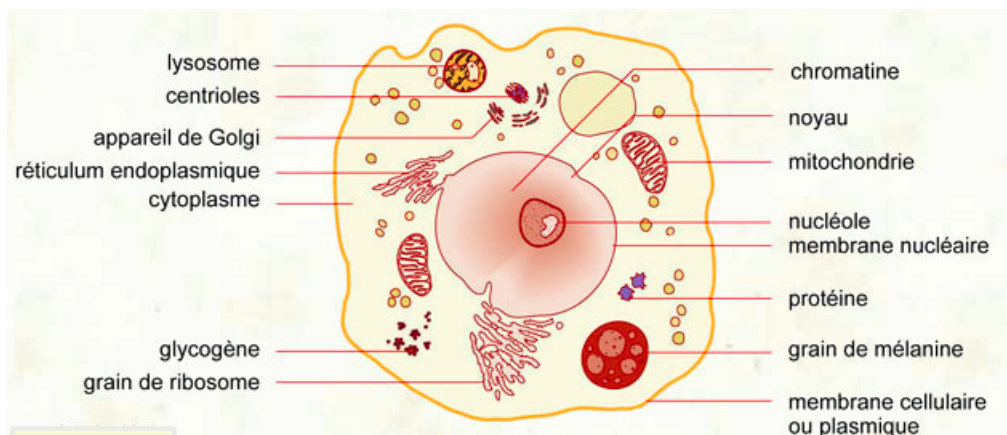


FIGURE 1.1 – La cellule et ses différentes composantes

Toutes les cellules ne sont pas identiques. On distingue deux grands "types" de cellules :

Les cellules souches : ce sont des cellules indifférenciées qui sont capables de s'auto-renouveler, de proliférer indéfiniment et de se différencier en d'autres types cellulaires. Elles sont à la base de tous les types cellulaires de l'organisme.

Les cellules différenciées : leur évolution est terminée dans le sens où elles ne peuvent pas donner des cellules d'un autre type. Ce sont des cellules qui assurent une fonction spéciale de l'organisme, par exemple les cellules nerveuses (neurones) ou encore les cellules musculaires. Les cellules différenciées sont réunies en tissus, eux-mêmes regroupés en organes.

1.1.2 Le cycle cellulaire

Notre corps contient des centaines de milliards de cellules (environ 10^{13}), qui forment les tissus et les organes. La plupart de nos cellules ont une durée de vie limitée pouvant aller de quelques jours pour les cellules tapissant la surface de l'intestin à plusieurs décennies pour les cellules nerveuses. Afin de maintenir l'équilibre, des cellules se divisent quotidiennement pour remplacer les cellules mortes ou permettre la cicatrisation des blessures. Ce processus de division est contrôlé : une cellule ne commence à se diviser que si elle en a reçu l'ordre, via des signaux.

Le cycle cellulaire est l'ensemble des étapes conduisant à la division d'une cellule mère en deux cellules filles. Il est composé de quatre phases qui se succèdent dans un ordre immuable (Fig.

1.2). Elle sont appelées : G1, S, G2, M. Seules les cellules qui sont en phase de prolifération sont concernées par ce cycle, les autres cellules sont dites quiescentes (ou en phase G0). Des points de vérification contrôlent le passage des phases G1 à S et G2 à M. Ils servent à vérifier qu'aucune modification, génétique ou structurale, n'est intervenue au cours du cycle et, le cas échéant, ils induisent l'apoptose ou la mort programmée de la cellule. L'ensemble de ces événements aboutit à la formation de deux cellules filles. Les cellules filles reproduiront ce cycle et ainsi de suite.

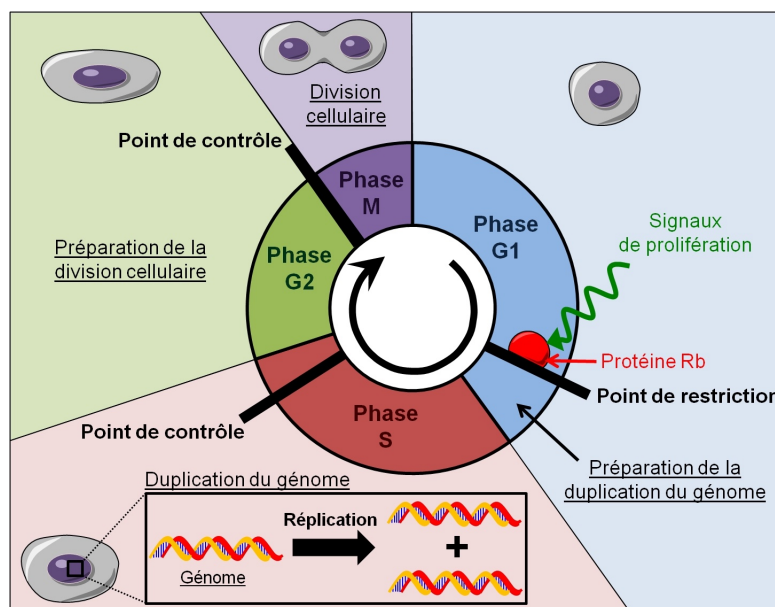


FIGURE 1.2 – Les différentes phases du cycle cellulaire menant à la formation de deux cellules filles. Le cycle cellulaire est divisé en quatre phases. Au cours de la phase G1, la cellule reçoit un signal de prolifération contrôlé par un premier point de vérification. La phase S correspond à l'étape de duplication du génome. Un deuxième point de contrôle permet de s'assurer que la réplication est fidèle. Lors de la phase G2, la cellule se prépare pour la division cellulaire qui a lieu en phase M [90].

1.1.3 Les mécanismes du développement tumoral

Le développement tumoral est un processus qui se développe en plusieurs étapes et à plusieurs échelles. Les différentes étapes identifiées sont l'initiation, la promotion et la progression (Fig. 1.3)

La phase d'initiation correspond à la modification du génome d'une cellule. Une lésion majeure au niveau de son ADN va la transformer en une cellule dite initiée¹. La transformation d'une cellule normale en cellule initiée peut durer des dizaines d'années. La deuxième phase est une phase durant laquelle la cellule initiée se développe et prolifère en formant des cellules filles qui sont également porteuses de lésions au niveau de leur ADN. Enfin, durant la dernière étape la cellule acquiert les propriétés caractéristiques des cellules cancéreuses :

- i) elle est indépendante des signaux qui régulent (favorisent ou freinent) habituellement sa croissance et sa division ;

1. Ces lésions correspondent le plus souvent à des mutations dont certaines sont réparables. Leur accumulation et leur non-réparation induisent la transformation en cellule initiée

- ii) elle échappe au processus de mort cellulaire programmée ;
- iii) elle acquiert des capacités de prolifération indéfinie.

L'évolution se fait d'abord localement, puis une fois que les cellules cancéreuses parviennent à former une petite masse tumorale (de l'ordre de 1 à 2mm³), elles vont alors pouvoir stimuler la formation de nouveaux vaisseaux sanguins qui irrigueront la tumeur et l'alimenteront en oxygène et en nutriments. C'est ce qu'on appelle l'angiogenèse. La tumeur peut ainsi s'étendre à d'autres endroits du corps via la circulation sanguine et lymphatique. Les tumeurs qui se forment à distance de la tumeur initiale sont appelées des métastases.

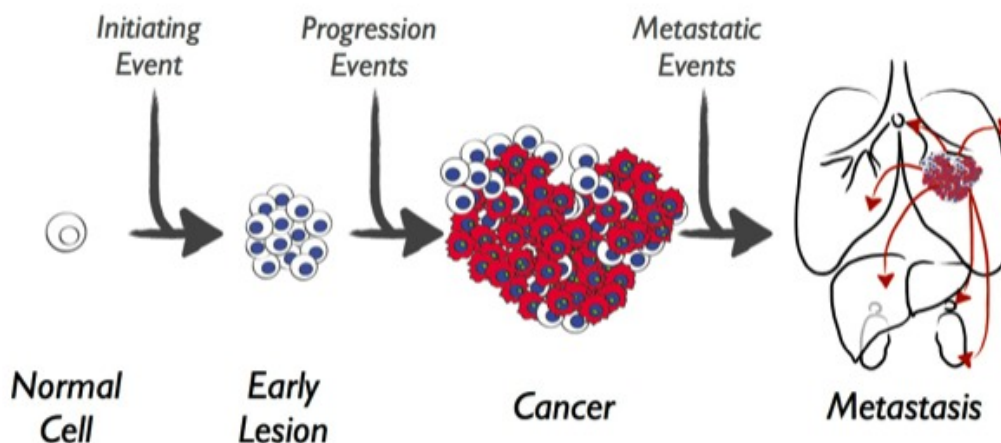


FIGURE 1.3 – Les différents mécanismes impliqués dans la formation d'une tumeur cancéreuse. Le développement tumoral débute par un évènement initiateur au sein d'une cellule qui va perturber sa prolifération et induire la formation d'une masse cellulaire qui va progressivement se transformer en tumeur cancéreuse. Par la suite, certaines cellules vont migrer via la circulation et former de nouveaux foyers tumoraux.

1.2 Tumeurs cérébrales

1.2.1 Anatomie du cerveau

Situé à l'intérieur du crâne, le cerveau gère et coordonne la plupart de nos fonctions (battements du cœur, circulation sanguine, personnalité, vue, goût ...). L'organisation du cerveau n'est pas homogène, cela conduit à la distinction de plusieurs zones qui ont chacune des rôles spécifiques, tout en étant complémentaires. Le cerveau est composé de deux hémisphères (gauche et droit), chacun constitué de quatre lobes, ayant des fonctions bien précises (Fig. 1.4).

Les informations envoyées au cerveau sont analysées et traitées par des cellules nerveuses appelés neurones. Ces neurones sont entourés et nourris par d'autres cellules appelées cellules gliales. Ces dernières sont au moins dix fois plus nombreuses que les neurones. Les cellules gliales représentent environ 50% du volume cérébral et presque 90% de la composition cellulaire du cerveau. On distingue quatre principaux types de cellules gliales : les astrocytes, les oligodendrocytes, les épendymocytes et les cellules microgliales.

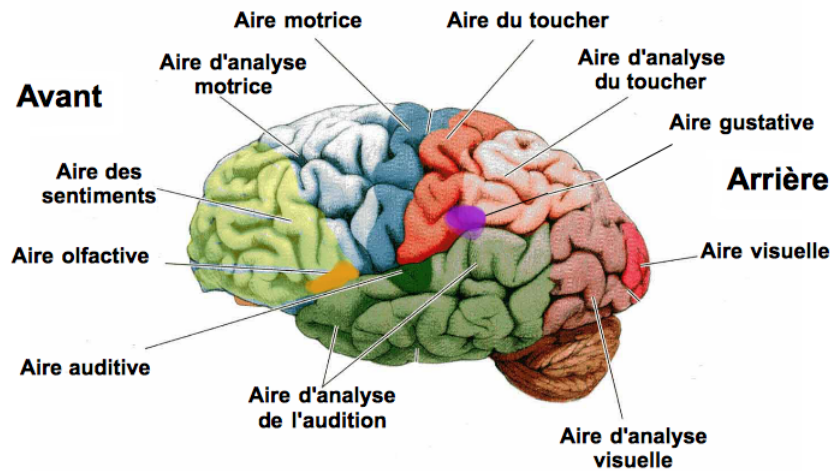


FIGURE 1.4 – Les différents zones du cerveau et leurs fonctions. Le cerveau dont chaque hémisphère est constitué de quatre lobes, traite les informations en provenance des organes sensoriels et contrôle les différentes fonctions du corps. Toutes les zones du cerveau sont étroitement connectées entre elles.

1.2.2 Les tumeurs cérébrales

Une tumeur cérébrale est une masse de cellules anormales qui prolifèrent dans le cerveau de façon incontrôlée. Elle peut se développer dans n'importe quelle zone du cerveau : les hémisphères, le cervelet, le tronc cérébral, l'hypophyse, ... On distingue deux grands types de tumeurs selon leur nature cancéreuse ou non :

- les tumeurs bénignes : elles progressent assez lentement et ne se propagent pas aux tissus voisins ni à d'autres parties du cerveau ou d'autres organes.
- les tumeurs malignes

Il existe une classification des tumeurs cérébrales qui les distingue aussi selon leur provenance et leur localisation (Tab. 1.1) :

- les tumeurs primitives prennent naissance dans le cerveau. Leur dénomination provient du tissu cérébral dans lequel elles se développent, par exemple, les gliomes se développent à partir des cellules gliales. Parmi les gliomes, on distingue principalement les astrocytomes, les épendymomes et les oligodendrogliomes selon le tissu glial dont ils sont issus (astrocytes, cellules épendymaires ou oligodendrocytes). Les astrocytomes constituent 90% des gliomes, soit 50% des tumeurs intracrâniennes ;
- les tumeurs secondaires ou métastatiques. Les tumeurs cérébrales peuvent par exemple être secondaires à une tumeur du sein.

Parmi les gliomes, on distingue les gliomes de haut grade (grade III et IV) dont la croissance est très rapide des gliomes de bas grade (I et II) caractérisés par une croissance beaucoup plus lente. Les glioblastomes font parti des gliomes dits de haut grade.

Tumeurs primitives du cerveau		
Tumeurs gliales	Astrocytome	Astrocytome pilocytaire (I) Astrocytome fibrillaire (II) Astrocytome anaplasique (III) Glioblastome (IV)
	Oligodendrocytome Ependymome	
Tumeurs mésoenchymateuses	Lymphome malin	
Tumeurs vasculaires	Cavernome	

TABLE 1.1 – Classification partielle des tumeurs cérébrales primitives selon l’OMS [66].

1.2.3 Les gliomes de haut grade

Les gliomes sont des tumeurs issues de la transformation des cellules gliales. Ils peuvent siéger dans toute la partie de l’encéphale. Par opposition aux gliomes de bas grade, on parle de gliome de "haut grade" pour signifier que sa croissance est rapide. Les gliomes de haut grade sont des tumeurs de grade III ou IV selon l’échelle de l’Organisation mondiale de la Santé (OMS). En plus de croître rapidement, ces tumeurs ont tendance à se répandre plus vite aux tissus avoisinants que les tumeurs de bas grade.

Nous nous intéressons plus particulièrement aux glioblastomes qui sont des tumeurs de grade IV selon la classification de l’OMS [67]. Chez l’adulte, ce sont les tumeurs cérébrales les plus fréquentes avec une incidence de l’ordre de 1/33330 par an. Les glioblastomes surviennent à tout âge mais dans 70% des cas entre 50 et 60 ans. Chez les enfants, les tumeurs du système nerveux central sont les plus fréquentes des tumeurs solides et représentent environ 20% des cancers. En France, on estime à 2000 le nombre de nouveaux cas de patients atteints de glioblastomes par an [113]. L’incidence des glioblastomes est en constante augmentation. Cette augmentation peut s’expliquer par le vieillissement de la population mais peut également provenir de l’amélioration de l’accès à l’imagerie et du développement des biopsies qui augmentent le nombre de cas dépistés.

Les glioblastomes siègent le plus souvent au niveau des hémisphères cérébraux, dans le cortex et la substance blanche mais peuvent être localisés partout dans le système nerveux central. Sur les données issues de l’imagerie (scanner, IRM), ils se présentent comme des tumeurs volumineuses sans limites très nettes. Au centre de la tumeur, on distingue la présence d’une zone nécrosée. Autour de la lésion, il existe un oedème cérébral en général assez limité dont on sait aujourd’hui qu’il contient de nombreuses cellules tumorales (Fig. 1.5).

Le traitement habituel d’un glioblastome consiste à extraire la tumeur par un geste chirurgical lorsque cela est possible (c’est à dire si la tumeur se situe dans une partie du cerveau accessible) puis de traiter avec des séances de radiothérapie associée à un traitement par chimiothérapie. Malgré ces traitements, le bénéfice en terme de survie est modeste puisque la médiane se situe autour de 14 mois [96].

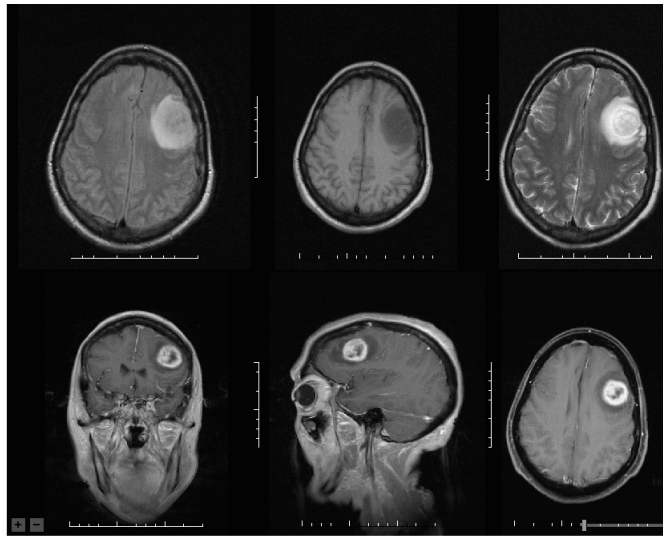


FIGURE 1.5 – Images IRM d’une patiente atteinte d’un glioblastome. Sur les coupes, on distingue l’œdème périphérique ainsi que la partie centrale nécrosée.

1.3 Traitement des tumeurs cérébrales

Différentes stratégies thérapeutiques peuvent être envisagées, le plus souvent associées les unes aux autres : chirurgie, radiothérapie, chimiothérapie. Selon les cas, elles visent à éliminer la totalité de la tumeur, à réduire le risque de récurrence, à freiner la croissance tumorale, à soulager ou encore à prévenir les symptômes provoqués par la tumeur.

1.3.1 La chirurgie

Lorsque la tumeur cérébrale se situe dans une zone accessible du cerveau, il est possible de pratiquer une opération chirurgicale. L’objectif de l’intervention est alors de retirer le plus de tissus cancéreux possible sans toucher le cerveau sain et sans en altérer ses fonctionnalités (langage, mémoire, vue. . .). Si la totalité de la tumeur peut être supprimée, on parle d’exérèse complète, sinon on parle d’exérèse partielle. C’est notamment le cas lorsque les tumeurs sont étendues ou situées dans des zones vitales du cerveau. L’exérèse partielle permet de réduire le volume de la tumeur et de diminuer les symptômes. Une fois réduite, la tumeur pourra être traitée plus facilement et efficacement par radiothérapie et/ou chimiothérapie. La figure 1.6 est une image IRM avant et après l’exérèse d’un gliome de bas grade.

Dans le cas des glioblastomes, le résidu tumoral post opératoire influe directement sur la survie. Ainsi, les patients doivent bénéficier d’une exérèse la plus large possible sans qu’elle entraîne de risque fonctionnel majeur. Il convient de remarquer que les glioblastomes sont des tumeurs infiltrantes et qu’il n’est jamais possible d’effectuer une exérèse complète.

1.3.2 La radiothérapie

La radiothérapie est un traitement qui consiste à utiliser des rayonnements (rayons ionisants) pour détruire les cellules cancéreuses en bloquant leur capacité de prolifération. L’irradiation

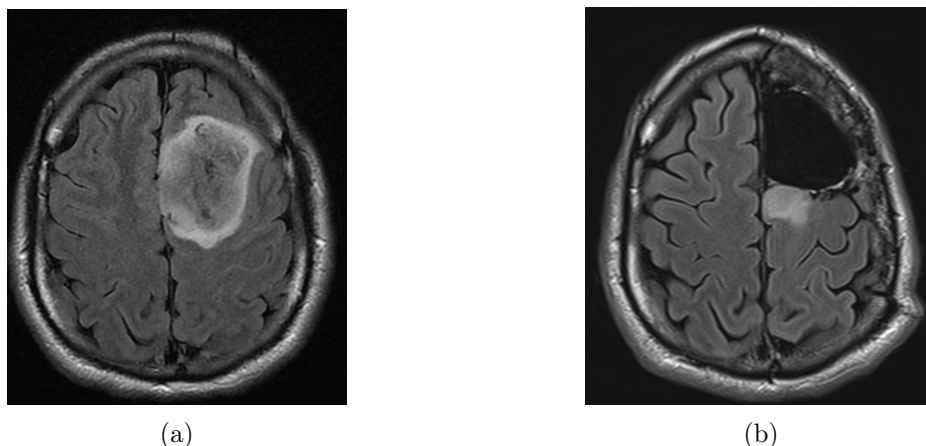


FIGURE 1.6 – Image IRM d’un gliome de bas grade. a) IRM avant chirurgie, la masse tumorale apparaît en blanc. b) IRM après chirurgie, la zone noire correspond à l’exérèse.

a pour but de détruire les cellules cancéreuses tout en préservant le mieux possible les tissus sains et les organes avoisinants. Les rayons sont émis en faisceau par une machine située près du patient. Ils traversent la peau pour atteindre la tumeur. En général, elle est utilisée après une chirurgie. Si la chirurgie n’est pas possible, la radiothérapie est utilisée comme traitement principal, associée à de la chimiothérapie. Dans ce cas, elle permet de détruire la tumeur ou de réduire son volume.

Les rayonnements altèrent les cellules essentiellement au niveau de leur ADN qui se trouve dans le noyau. Quand l’ADN est abîmé, les cellules ne peuvent plus proliférer et finissent par mourir. Cette destruction n’est pas immédiate, elle se produit quand les cellules sont amenées à se diviser. L’une des limites du traitement par radiothérapie est que les rayons provoquent des lésions sur toutes les cellules touchées, y compris les cellules saines. L’enjeu consiste donc à optimiser l’efficacité de la radiothérapie sur la tumeur, tout en minimisant la toxicité sur les tissus sains et les organes. Pour cela, il convient de concentrer le plus précisément possible l’irradiation au niveau de la tumeur.

Par ailleurs, pour chaque patient, il faut déterminer la dose de rayons optimale : elle doit être suffisante pour détruire la tumeur mais tenir compte de la dose de tolérance des organes (dose au-delà de laquelle se manifestent des effets indésirables). La dose en radiothérapie est exprimée en Gray (Gy). Une dose de 1 Gy correspond à une énergie de 1 joule absorbée dans une masse de 1 kilogramme. Ces doses varient selon le type de cancer (on dit que les cancers sont plus ou moins radiosensibles) et selon les organes. Le traitement classique d’un glioblastome consiste à effectuer des séances de radiothérapie tous les jours (exceptés les weekends et jours fériés) à raison d’une dose quotidienne de 2 Gy durant 5 à 6 semaines. La radiothérapie doit être débutée dans un délai de 4 à 6 semaines après le geste chirurgical (Fig. 1.7).

Les lésions cellulaires surviennent suite aux lésions de l’ADN du noyau. Le devenir des cellules dépend des capacités de réparation de leur ADN. Plusieurs effets sont recensés :

1. La réparation complète : les lésions radio-induites, même les plus sérieuses sont susceptibles d’être réparées. Elles sont réparées complètement, permettant ainsi une restitution "*ad integrum*" du génome de la cellule irradiée et donc la poursuite normale de la vie de la

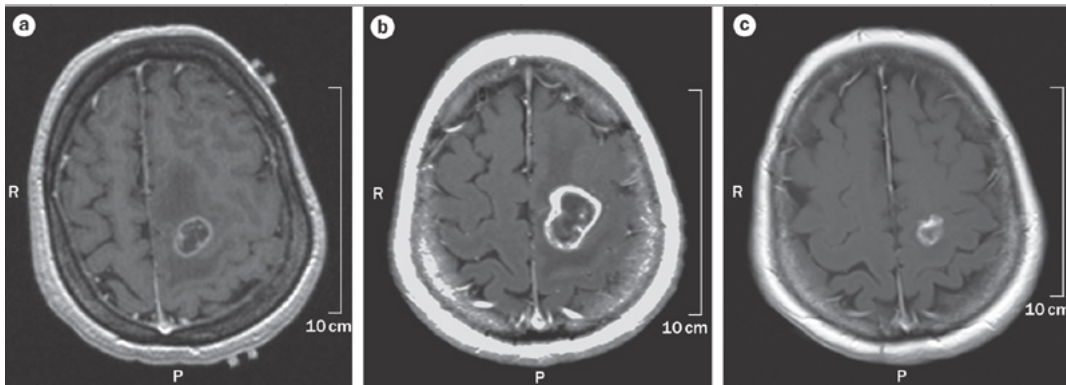


FIGURE 1.7 – Evolution d'un gliome de bas grade après un traitement par radiothérapie (RT). a) avant le traitement par RT, b) trois mois après la fin du traitement RT, on remarque une légère augmentation du volume tumoral, c) un an après la fin du traitement RT, la régression tumorale est nette.

cellule.

2. La réparation fautive : il se peut que les mécanismes de réparation de l'ADN commettent des erreurs de reconstitution de l'ADN. Certaines de ces altérations n'ont aucun impact biologique et n'empêchent pas la cellule de vivre et de se multiplier. Le danger vient des mutations qui vont se transmettre aux cellules filles. Ajoutées à la mutation radio-induite initiale, elles vont entraîner la cellule vers un processus de cancérisation secondaire.
3. La mort cellulaire : en radiothérapie, c'est la mort cellulaire tumorale qui est le but recherché (tout en évitant la mort des cellules saines). Les lésions sont dites létales si elles sont irréparables et touchent des fonctions vitales pour la cellule. Elles sont dites sublétales si elles ne sont pas directement létales. C'est leur accumulation dans une cellule qui aboutit à la mort de celle-ci. Les lésions potentiellement létales entraînent la mort de la cellule après une division rapide, mais peuvent se réparer si les conditions survenant après l'irradiation sont favorables. Après irradiation, différents types de mort cellulaire sont décrits :
 - (a) La mort immédiate est rare et se produit uniquement en cas d'irradiation hautement dosée (plusieurs centaines de Gy), ou si les lésions de l'ADN sont létales d'emblée, ou par l'intermédiaire du phénomène d'apoptose.
 - (b) La mort mitotique différée est plus fréquente. La plupart du temps, la cellule irradiée continue à vivre et cesse de se diviser à la division suivante. Dans certains cas, la cellule peut se diviser un certain nombre de fois, mais n'a plus la capacité de proliférer de façon infinie, elle va finir par mourir après plusieurs mitoses (cela explique le délai observé entre l'irradiation et la régression clinique du volume tumoral).
 - (c) L'apoptose est une mort cellulaire programmée. Elle fait partie du processus normal du développement cellulaire.

L'effet des radiations sur la mort des cellules est influencée par plusieurs facteurs :

La radiosensibilité intrinsèque : il s'agit de la capacité des cellules à réparer leur ADN. Une cellule est dite radiosensible si elle ne répare pas les lésions et radorésistante si elle les

répare.

Le cycle cellulaire : la radiosensibilité est maximale durant les phases G2 et M du cycle, minimale en phase S. L'irradiation provoque un ralentissement temporaire de la durée du cycle cellulaire.

L'apport en oxygène : l'oxygène est indispensable à l'action des radiations ionisantes. En conditions hypoxiques, les cellules acquièrent des propriétés de résistance vis-à-vis des radiations ionisantes [44] comme le montre la figure 1.8. L'apport en oxygène est dépendant des mécanismes d'angiogénèse mis en place par la tumeur afin de conserver ses besoins en nutriments. La dose nécessaire pour détruire une cellule en hypoxie est 2,5 à 3 fois plus importante que celle nécessaire pour détruire la même cellule bien oxygénée.

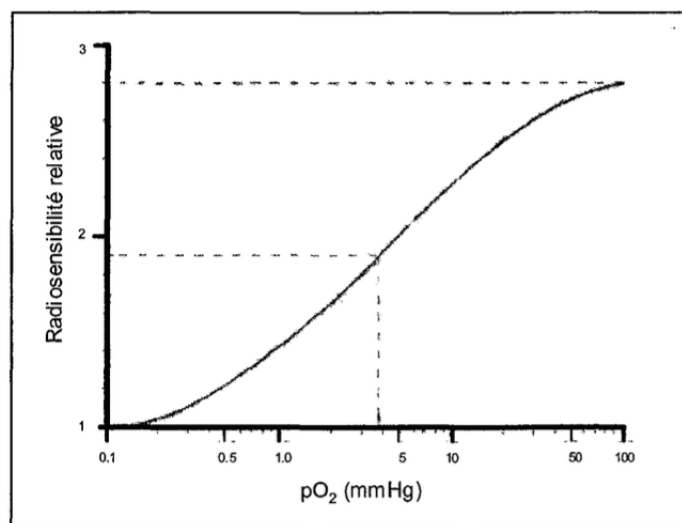


FIGURE 1.8 – Radiosensibilité en fonction de la pression partielle en oxygène dans l'environnement cellulaire [103].

La durée du traitement : le fractionnement et l'étalement d'une irradiation. Le fractionnement est le découpage d'une irradiation en fractions (ou séances). L'intérêt du fractionnement est qu'il permet aux cellules et aux tissus de se régénérer entre chaque fraction de dose administrée. Les cellules hypoxiques vont alors bénéficier d'une oxygénation correcte et redevenir radiosensibles. D'autre part, il va permettre une repopulation, c'est à dire une prolifération des cellules entre les séances. Cette repopulation est bénéfique si elle concerne les cellules saines mais elle devient problématique lorsqu'elle favorise la prolifération des cellules tumorales. L'étalement correspond à la durée totale du traitement.

Le traitement du glioblastome reste un échec face à la faible survie des patients atteints. Malgré des exérèses larges, des traitements par radio-chimiothérapie, les récurrences sont systématiques. Aujourd'hui, les chercheurs s'attendent d'une part à comprendre les causes de ces récurrences et d'autre part, à trouver de nouvelles approches thérapeutiques dans le but d'améliorer la prise en charge des patients. L'une des raisons de ces fréquentes récurrences serait due à l'hétérogénéité cellulaire intra-tumorale.

1.4 Hétérogénéité cellulaire intra-tumorale

De nombreuses preuves suggèrent qu'au sein d'une tumeur, une petite population de cellules connues sous le nom de cellules souches cancéreuses (CSC) sont responsables de la croissance tumorale, de sa propagation et de la formation de métastases [23, 82]. En effet, les cellules cancéreuses au sein d'une même tumeur se caractérisent par une diversité morphologique et fonctionnelle dont on ignore encore en partie les mécanismes expliquant ces différences.

1.4.1 Qu'est-ce qu'une cellule souche cancéreuse ? (CSC)

Durant le développement d'un mammifère, on distingue trois périodes au cours desquelles l'organisme se compose de trois types différents de cellules souches qualifiées de totipotentes, pluripotentes et multipotentes. Pendant les premières divisions cellulaires qui font suite à la fécondation, jusqu'au stade de huit cellules, les cellules embryonnaires sont appelées cellules souches totipotentes. Chacune d'entre elles a la possibilité de donner naissance à un organisme complet. Puis, au cours de l'embryogénèse, les cellules souches pluripotentes vont pouvoir donner naissance à tous les types cellulaires de l'organisme adulte (mais elles sont incapables de régénérer l'organisme en entier). Au fur et à mesure, les cellules souches se différencient et se restreignent à certains tissus seulement. Ainsi, les cellules souches de l'organisme adulte sont appelées les cellules souches multipotentes. Ce sont celles qui permettent la régénération des tissus. Ces cellules souches adultes ont leurs équivalents cancéreux : les cellules souches cancéreuses (CSC). Les CSC de leucémies ne peuvent donner que des leucémies et les CSC de glioblastomes que des glioblastomes. Elles possèdent des capacités similaires aux cellules souches normales. En 2001, Reya *et al* [82] définissent le concept de CSC comme étant de "rares cellules, à la capacité de prolifération illimitée, à l'origine de la formation et de la croissance des tumeurs". Depuis, la notion de CSC a largement été utilisée par les chercheurs sans que le concept n'ait été formellement établi. De façon pratique, cette sous-population de cellules peut être caractérisée par les propriétés suivantes :

- i) la capacité de s'auto-renouveler indéfiniment, c'est-à-dire de produire au moins une nouvelle CSC lors de la division cellulaire ;
- ii) le pouvoir d'induire une hétérogénéité cellulaire par la différenciation cellulaire ;
- iii) la contribution à la formation initiale de la tumeur.

1.4.2 Modèles d'hétérogénéité cellulaire intra-tumorale

Aujourd'hui, deux modèles tentent de fournir une explication à cette hétérogénéité cellulaire intra-tumorale [82]. Le plus ancien, le modèle stochastique suggère que toutes les cellules ont la même capacité de prolifération. A la suite de mutations acquises aléatoirement, n'importe quelle cellule peut proliférer et former un clone tumoral, indépendamment de leur type. Ainsi, la masse tumorale peut alors être conçue comme un ensemble dynamique de plusieurs sous-populations de cellules [74]. Cependant, des études contredisent l'idée d'une chronologie d'apparition des mutations qui s'échelonne sur plusieurs années et décennies et une deuxième hypothèse présuppose l'implication des CSC dont la capacité à donner naissance à différents types cellulaires contribuerait à l'hétérogénéité d'une même tumeur [91]. La figure 1.9 illustre la formation tumorale à partir des deux modèles décrits précédemment. S'il n'y a toujours pas de preuve définitive en faveur de l'une ou l'autre théorie expliquant l'hétérogénéité tumorale, un nombre croissant d'évidences, exposées dans la partie suivante, suggèrent l'existence des CSC dans certains cas de cancers.

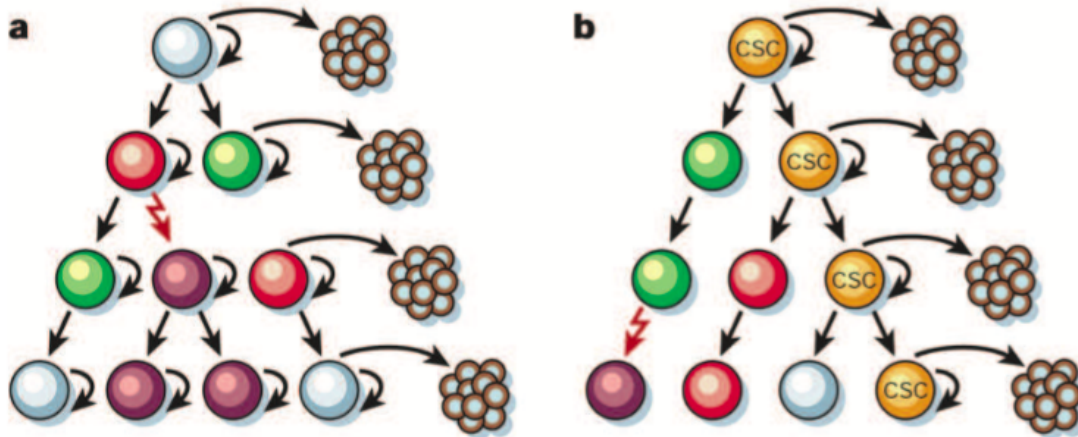


FIGURE 1.9 – Deux modèles généraux pour expliquer l’hétérogénéité cellulaire intra-tumorale des tumeurs solides. a) Le modèle stochastique et b) le modèle hiérarchique (ou modèle des CSC). Dans le modèle hiérarchique, seul le sous-ensemble des CSC (en orange) a la capacité de proliférer et de former de nouvelles tumeurs composé de plusieurs types de cellules. Dans le modèle stochastique, les mutations apparaissent aléatoirement et n’importe quel type de cellule peut mener à la formation de la tumeur [82].

1.4.3 Preuves et limites de la théorie des CSC

La première preuve probante appuyant la théorie des CSC a été apportée par une étude sur la leucémie myéloïde aiguë humaine pour laquelle des chercheurs ont découvert une sous-population de cellules possédant des caractéristiques de cellules souches avec une capacité importante de se propager chez des souris immunodéprimées [105]. Ces découvertes sont à l’origine d’autres travaux qui ont permis d’identifier des CSC dans plusieurs tumeurs solides telles que le cancer du sein, du cerveau, de la peau, de la prostate et du côlon [2, 16, 17, 25, 29, 68, 75, 87, 89].

Cependant, des limites entravent la certitude de l’existence des CSC. Tout d’abord, le repérage des CSC est controversé car la spécificité de leurs marqueurs présents à leur surface et permettant de les repérer est contestée. Si toutes les CSC d’un tissu expriment un marqueur, cela ne signifie pas que d’autres cellules, non souches, puissent également l’exprimer. La seconde limite découle des contraintes expérimentales. Jusqu’ici, les CSC ont en effet été observées à partir de xénotransplantes chez des souris immunodéprimées, c’est à dire que les cellules tumorales d’origine humaine sont transférées et forcées à s’adapter et à survivre dans le corps d’une souris. Ce changement d’environnement peut éventuellement modifier le comportement des cellules implantées, laissant planer le doute sur leur réel caractère des CSC. A l’heure actuelle, l’un des principaux enjeux pour les biologistes est de trouver un moyen suffisamment fiable de caractériser les CSC pour pouvoir les reconnaître, les isoler, et ainsi comprendre leurs mécanismes de fonctionnement.

Ces dernières années, trois études pré-cliniques mettent en évidence ces CSC dans plusieurs tumeurs solides [21, 32, 88]. Ces études montrent clairement une hiérarchie dans les cellules tumorales avec des CSC responsables de la production de nouvelles cellules cancéreuses. L’étude de Schepers *et al* [88] fournit des preuves de l’activité de CSC dans les adénomes (tumeurs bénignes) de l’intestin tandis que celle menée par Blanpain *et al* [32] porte sur le cancer de la

peau. Enfin, de récents travaux ont mis en évidence une sous-population de cellules qui semblent être la source des récives après un traitement par chimiothérapie dans le cas d'une tumeur au cerveau de type glioblastome [21]. Ces différentes équipes ont mis en œuvre des techniques basées sur des analyses génétiques permettant de suivre et de tracer individuellement des cellules dans des tumeurs intactes au sein de leur environnement d'origine. Ces techniques récentes et nécessitant des moyens évolués ne peuvent pas encore être utilisées dans tous les laboratoires de biologie.

La présence de CSC est le plus souvent rendue possible grâce à des techniques de marquages de protéines. En effet, plusieurs protéines exprimées à la surface des CSC ont été identifiées et sont actuellement utilisées afin de visualiser ces cellules. Le marqueur CD34 fut le premier marqueur utilisé pour l'identification des CSC dans des cellules de leucémie myéloïde aiguë [26]. CD133 est quant à lui exprimé dans les CSC d'un grand nombre de tissus tels que le pancréas, la prostate, les ovaires, le côlon, le foie, les reins, les poumons, la peau ainsi que le cerveau. En particulier, CD133 est très fortement exprimé dans les CSC issues de médulloblastomes [7] et de glioblastomes [65, 85]. La figure 1.10 met en évidence une population de cellules marquées au CD133 qui apparaissent en brun.

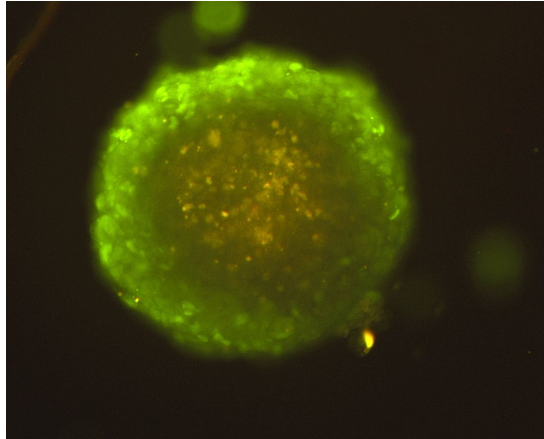


FIGURE 1.10 – Observation macroscopique d'une neurosphère obtenue à partir de cellules issues d'un gliome xéno-greffé. L'ensemble des cellules du gliome exprime l'EGFR (vert). L'hétérogénéité cellulaire est révélée par le marqueur spécifique des cellules souches CD133 (brun) [80].

1.4.4 CSC et thérapies ciblées

La découverte des CSC modifie l'approche thérapeutique du cancer : afin de détruire la tumeur, il s'avère crucial d'éradiquer cette sous-population de cellules résistantes aux différents traitements. La figure 1.11 illustre la façon dont les CSC pourraient être la clé d'une thérapie efficace. Les thérapies conventionnelles réduisent les tumeurs en tuant surtout les cellules dont le potentiel de prolifération est réduit. Si les CSC sont moins sensibles à ces thérapies, alors elles resteront en vie après la thérapie et entraîneront des récives. Au contraire, si les thérapies ciblent les CSC, alors elles pourraient les tuer plus efficacement et ainsi rendre les tumeurs incapables de s'auto-entretenir et de se développer. De ce fait, même si les thérapies dirigées contre les CSC ne réduisent pas les tumeurs initialement, elles pourraient éventuellement finir à long terme par mener à des guérisons.

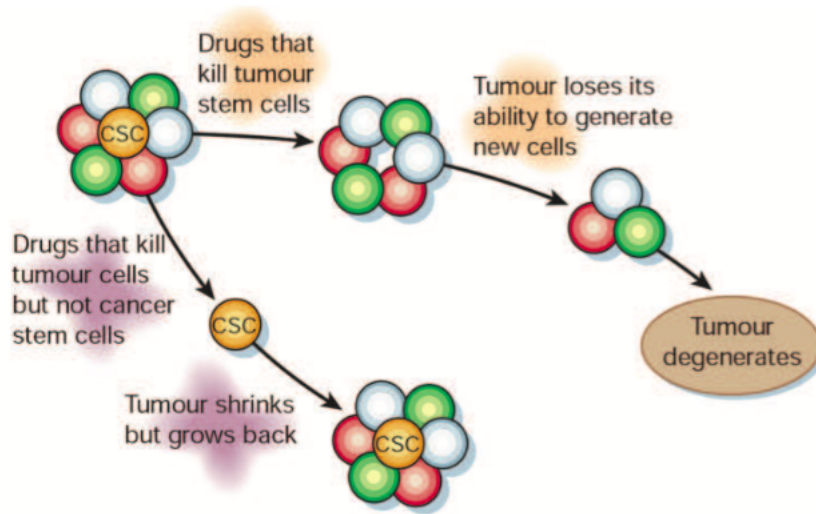


FIGURE 1.11 – Effets d’une thérapie ciblée sur les CSC. Les thérapies conventionnelles pourraient réduire les tumeurs en tuant les cellules dont le potentiel de prolifération est réduit. Au contraire, les thérapies ciblant les CSC pourraient être plus efficaces en empêchant la tumeur de récidiver [82].

Chapitre 2

Modèles mathématiques de croissance tumorale : un état de l'art

Soit A , un succès dans la vie. Alors
 $A = x + y + z$. Où $x =$ travailler, $y =$
s'amuser, $z =$ se taire.

A. Einstein

Sommaire

2.1	Les premiers modèles de croissance tumorale	22
2.1.1	Le modèle de Malthus	22
2.1.2	Le modèle de Gompertz	22
2.2	Les modèles généraux de croissance tumorale	23
2.2.1	Les modèles à l'échelle microscopique	23
2.2.2	Les modèles à l'échelle macroscopique	29
2.2.3	Les modèles hybrides	33
2.3	Discussion	33

De nombreux modèles de croissance tumorale proviennent de modèles de dynamique de populations qui visent à expliquer, et éventuellement à prévoir, les évolutions d'une population dans un environnement donné. La plupart du temps, ces modèles se limitent à la description des variations de taille de la population. Dans le cadre de la cancérologie, une tumeur est modélisée comme un ensemble de cellules qui prolifèrent et meurent tout en étant soumises à certaines contraintes de survie telles que l'apport en nutriments. Ce chapitre est un état de l'art des modèles de dynamique de populations appliqués à la croissance tumorale. Il ne prétend pas contenir une présentation exhaustive mais vise plutôt à dresser un aperçu des approches existantes car la littérature sur le sujet est très importante.

Trois parties structurent ce chapitre. La première rappelle les principaux modèles de dynamique des populations qui ont par la suite été utilisés par les cliniciens pour la description de la croissance des tumeurs. La seconde partie est une classification des modèles généraux adaptés au cadre de la cancérologie. La classification est faite selon l'échelle d'intérêt considérée. Ces modèles généraux prennent en compte une ou plusieurs sous-populations de cellules. Ils ont fait l'objet de nombreux travaux dont certains sont détaillés dans ce chapitre. Nous nous efforcerons,

dans la mesure du possible, de présenter les études récentes qui prennent en compte l'hétérogénéité tumorale. Pour terminer ce chapitre, une discussion résume les principales contributions en terme de modélisation dans le domaine de la croissance tumorale et apporte des éléments de perspectives.

2.1 Les premiers modèles de croissance tumorale

2.1.1 Le modèle de Malthus

Dans la première moitié du 19^{ème} siècle, l'analyse d'observations biologiques et de données expérimentales a conduit à envisager une croissance exponentielle de la tumeur. Ainsi, si $N(t)$ représente le nombre de cellules tumorales vivantes à l'instant t , alors l'évolution de ce nombre de cellules est donnée par l'équation suivante² :

$$\frac{dN(t)}{dt} = aN(t)$$

où $a \in \mathbb{R}$ représente la vitesse de croissance de la tumeur (supposée constante). La solution de cette équation est de la forme $N(t) = N(0)e^{at}$ avec $N(0)$ le nombre de cellules au temps $t = 0$. Selon les valeurs de a , la taille de la population croît, stagne ou diminue. Dans ce modèle, les cellules sont autorisées à proliférer à l'infini. Toutefois, dans le cas où la tumeur est soumise à des contraintes mécaniques et environnementales, cette prolifération illimitée n'est pas possible. En effet, la tumeur, ne pouvant pas grossir continuellement, verra sa taille limitée par des contraintes mécaniques, environnementales (problème de diffusion de l'oxygène, des nutriments) et/ou d'espérance de vie et des phénomènes d'autorégulation vont se mettre en place. Ces phénomènes sont pris en compte dans le modèle de Gompertz.

2.1.2 Le modèle de Gompertz

En 1825, Benjamin Gompertz établit un modèle de croissance qui sera par la suite l'un des plus utilisés en biologie et en médecine. Particulièrement réaliste et en adéquation avec les observations *in vivo* réalisées, le modèle de Gompertz décrit d'abord une croissance lente de la tumeur, suivie d'une accélération exponentielle sous l'effet de la division cellulaire avant de finir par se stabiliser et atteindre sa taille maximale. Ce modèle est dit sigmoïde. Si $N(t)$ désigne le nombre de cellules cancéreuses d'une tumeur à l'instant t , le modèle de Gompertz est décrit par l'équation suivante :

$$\frac{dN(t)}{dt} = a \ln \left(\frac{b}{N(t)} \right) N(t) \quad (2.1)$$

où $a \in \mathbb{R}$ est la vitesse de croissance de la tumeur et $b \in \mathbb{R}$ la capacité d'accueil du milieu, c'est à dire le nombre maximal de cellules cancéreuses toléré en tenant compte de l'espace ainsi que des ressources disponibles. La solution de l'équation (2.1) est donnée par :

$$N(t) = be^{ce^{-at}} \quad \text{avec } c = \ln \left(\frac{N(0)}{b} \right)$$

D'autres modèles, proches de celui de Gompertz, ont été étudiés mais ne sont pas utilisés en médecine. Parmi eux, le modèle logistique introduit en 1840 par Verhulst [104], qui est également

2. Cette équation est celle du modèle de Malthus qui est l'un des tout premiers modèles de dynamique des populations. Il repose sur le principe de base que la variation du nombre de cellules est la différence entre le nombre de naissances et le nombre de morts.

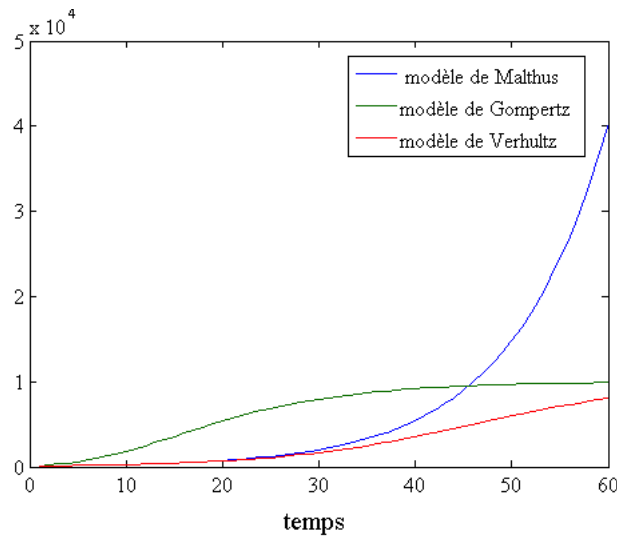


FIGURE 2.1 – Comparaison des modèles de Malthus, Gompertz et Verhulst. La croissance tumorale est de 60 jours avec les paramètres suivants : $a = 0,15$, $b = 10^4$ et $N(0) = 100$.

un modèle sigmoïde mais différent de celui de Gompertz par deux aspects : la croissance s'accélère très lentement et le ralentissement est brutal. Toujours avec les mêmes notations, l'équation différentielle s'écrit :

$$\frac{dN(t)}{dt} = aN(t) \left(1 - \frac{N(t)}{b} \right)$$

et admet pour solution

$$N(t) = b \frac{1}{1 + \left(\frac{b}{N(0)} - 1 \right) e^{-at}} \quad (2.2)$$

On voit sur la figure 2.1 que les solutions du modèle de Verhulst croissent plus rapidement que celles du modèle de Gompertz.

L'accroissement permanent des connaissances biologiques a conduit les chercheurs à mettre au point de nouveaux modèles intégrant de nouvelles informations telles que le mécanisme d'angiogenèse et de métastases.

2.2 Les modèles généraux de croissance tumorale

2.2.1 Les modèles à l'échelle microscopique

Dans le langage courant, l'échelle microscopique s'intéresse aux phénomènes qu'un homme ne peut pas observer sans des outils adaptés. En modélisation, le terme renvoie plus facilement à l'état d'un système qu'à sa taille. Par exemple, en dynamique des populations, l'étude d'un seul individu est une étude à l'échelle microscopique, l'échelle macroscopique étant réservée à l'ensemble (ou une partie) des individus de la population. Les modèles de croissance tumorale microscopiques s'intéressent principalement aux comportements moléculaires et cellulaires des tumeurs et les problématiques sont innombrables. Il s'agit, par exemple, de déterminer les effets d'une substance chimique sur l'activité de prolifération des cellules, la déformation des cellules soumises à la pression de la tumeur ou encore les mécanismes d'interactions des cellules entre

elles. Un modèle pertinent devra tenir compte du comportement individuel des cellules et ne conserver que les informations utiles afin de ne pas rendre le modèle trop complexe et inutilisable. A cette échelle, il est possible de confronter le modèle à des données recueillies *in vitro*.

Ces modèles décrivent l'évolution individuelle des cellules d'une population tumorale et offrent la possibilité de prendre en compte les interactions des cellules entre elles ainsi qu'avec leur micro-environnement [3, 54, 55, 79]. Dans la littérature, on trouve fréquemment la notion de *modèles discrets* pour faire référence à l'espace sur lequel les cellules évoluent. Parmi ces modèles, on retrouve les automates cellulaires ainsi que les processus de branchement. Ces modèles sont décrits dans les parties suivantes.

Les automates cellulaires

Les automates cellulaires (AC) sont des modèles dynamiques microscopiques consistant à discrétiser l'espace en cellules. Notons que le terme "cellule" est la terminologie exacte pour désigner les sous-parties de l'automate (d'où le nom d'automate cellulaire). Pour éviter toute confusion avec la cellule biologique, nous utiliserons le terme "site" dans la suite. L'AC est un modèle numérique, discret en temps et en espace, c'est à dire que l'on s'intéresse seulement à un nombre fini de points de l'intervalle de temps et l'espace étudié peut se réduire à un maillage. Les sites peuvent représenter différents types de cellules : cellules saines, cellules tumorales prolifératives, cellules tumorales non prolifératives, cellules quiescentes, cellules nécrosées. Si un site prend deux états, on dit que c'est un site binaire mais un site peut être beaucoup plus complexe et son nombre d'états aussi grand que l'on souhaite. Un AC consiste en des sites disposés sur un graphe \mathcal{G} , souvent \mathbb{Z} , \mathbb{Z}^2 ou \mathbb{Z}^3 selon la dimension dans laquelle on choisit la modélisation. Ce graphe permet d'introduire la notion de voisinage \mathcal{V} d'un site comme étant l'ensemble des autres sites susceptibles d'interagir avec lui. Dans la plupart des modèles d'AC, tous les sites évoluent de manière synchrone et de la même façon à chaque pas de temps selon des règles de transition qui peuvent être déterministes ou stochastiques. Une règle de transition calcule l'état suivant de chaque site en fonction de son état actuel et de l'état des sites de son voisinage \mathcal{V} .

Les AC offrent la possibilité de suivre l'évolution individuelle des cellules et d'inclure des informations précises (taux d'oxygène, type de cellules, capacité à migrer...). Par ailleurs, il s'agit d'un outil parfaitement adapté à la prise en compte de la géométrie de la tumeur. C'est pourquoi les AC sont largement utilisés pour la modélisation de phénomènes physiques ou biologiques comme la croissance tumorale qui a déjà fait l'objet de nombreux travaux [31, 33, 39, 52, 54, 55, 81]. Une revue de la modélisation de la croissance tumorale par des AC est présentée dans [71]. En particulier, notons que Kansal et son équipe [54, 55] ont développé un AC en trois dimensions dans le but de modéliser la croissance des tumeurs cérébrales. Ils montrent que le comportement de la tumeur macroscopique peut être modélisé à l'aide des paramètres microscopiques de chaque cellule. En utilisant seulement quatre paramètres, ce modèle simule la croissance gompertzienne d'un gliome. Les données numériques ont été comparées avec les données expérimentales de la littérature d'un glioblastome non traité. La figure 2.2 illustre l'évolution de leur automate cellulaire au cours du temps.

Si les AC sont idéalement exploités pour modéliser l'hétérogénéité cellulaire, il existe relativement peu d'études autour des CSC. L'état actuel des recherches de modélisation concernent surtout la compréhension du comportement des CSC, leur rôle et leur réponse à une thérapie. Parmi elles, nous pouvons citer [34, 72, 73, 76, 92]. La plupart de ces modèles tiennent compte

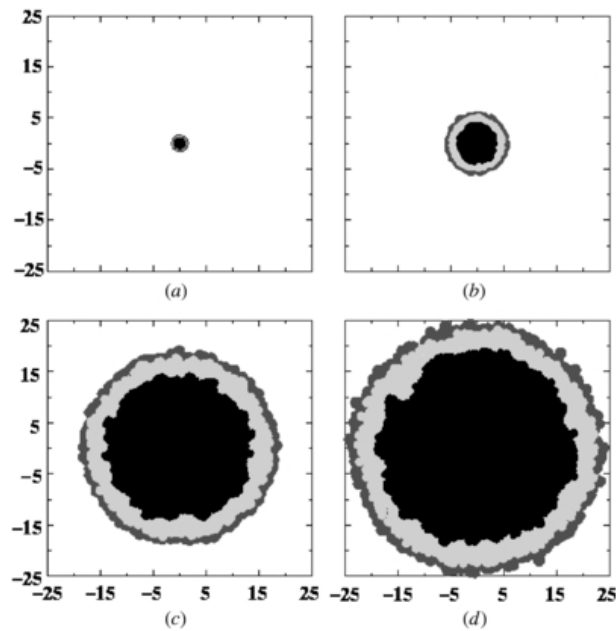


FIGURE 2.2 – Exemple d’automate cellulaire pour modéliser la croissance tumorale au cours du temps. (a) Phase sphéroïde de la tumeur, (b) Lésion dont la taille est détectable par imagerie, (c) Lésion au moment du diagnostic (d) Lésion à la fin de la croissance. La région extérieure en gris foncé est composé de cellules prolifératives, la région en gris clair correspond aux cellules non prolifératives et la région noire est la zone de nécrose [54].

de deux sous-populations de cellules : les CSC et les cellules non souches cancéreuses, que nous appellerons cellules cancéreuses (CC). Conformément au modèle hiérarchique présenté dans le chapitre 1, les CSC sont à l’origine de l’hétérogénéité intra-tumorale et de nombreuses études s’intéressent aux mécanismes de division des CSC qui selon les modèles se divisent symétriquement, c’est à dire que les cellules filles sont du même type que la cellule mère, ou asymétriquement, une cellule fille du même type que la cellule mère et la seconde d’un autre type. Les CC prolifèrent sans pouvoir donner de nouveaux types cellulaires. En général, elles effectuent plusieurs mitoses avant de se différencier. La cellule mère garde sa position initiale tandis que sa cellule fille se place sur l’un des sites de voisinage libres. Des études récentes concernant la division symétrique des CSC ont été menées [40, 76] et révèlent que l’enrichissement en CSC peut résulter d’un taux d’auto-renouvellement des CSC important mais aussi d’une possible réversibilité des CC en CSC, notamment après un traitement par radiothérapie.

L’utilisation des AC pour modéliser l’hétérogénéité tumorale est également envisagée afin de tenir compte du caractère spatial de l’évolution des tumeurs. D’un point de vue biologique, nous savons que le centre d’une tumeur a tendance à devenir nécrotique avec l’augmentation du volume tumoral en raison du manque d’oxygène dans cette zone. Au contraire, les cellules qui prolifèrent le plus se trouvent en périphérie, là où les vaisseaux peuvent les alimenter. Le développement de clones initiés par une CSC est modélisé par un AC à la figure (Fig.2.3).

Finalement, la plupart des modèles actuels autour des CSC ont pour finalité une meilleure compréhension de cette sous-population. C’est la raison pour laquelle, les travaux recensés se

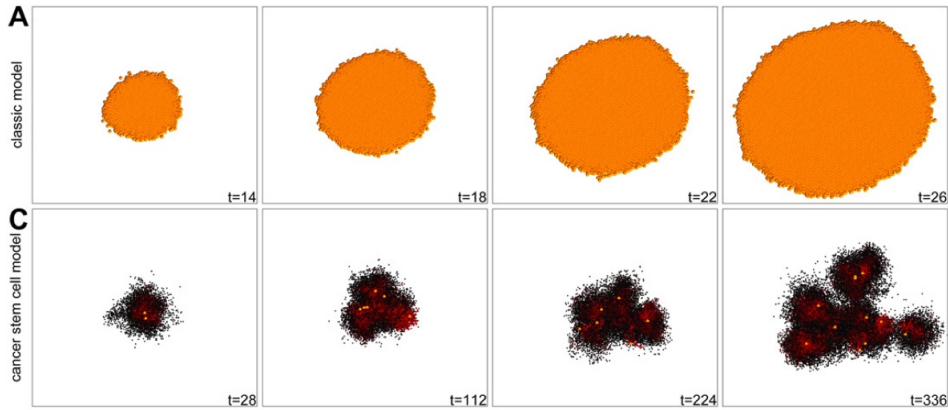


FIGURE 2.3 – Comparaison du modèle hiérarchique avec le modèle classique. A) Dans le modèle classique, toutes les cellules ont le même potentiel de prolifération, on constate une croissance homogène de la tumeur. C) Dans le modèle hiérarchique, la présence de CSC est à l'origine de la formation de plusieurs clones et d'une hétérogénéité cellulaire [34].

penchent plus particulièrement sur le nombre de CSC, ainsi que leur distribution spatiale et temporelle [36, 35, 48, 73]. D'autres modèles à l'échelle microscopique ont été développés en parallèle, il s'agit des processus de branchement qui modélisent l'évolution d'une population composée d'individus qui naissent et meurent au cours du temps.

Les processus de branchement

Les processus de branchement sont des modèles de dynamique des populations. La taille de la population est décrite par un processus aléatoire, à temps discret (pour représenter les générations) ou continu (pour représenter le temps réel) et on cherche alors à connaître le nombre d'individus présents dans la population à un temps donné. Le processus de branchement de Galton-Watson fut introduit en 1874. Il consiste à introduire une suite $(X_n)_{n \in \mathbb{N}}$ de variables aléatoires où X_n représente le nombre d'individus présents à la $n^{\text{ième}}$ génération. Dans ce cas, la relation liant X_n à X_{n+1} est donnée par :

$$X_{n+1} = \sum_{k=1}^{X_n} Y_{n,k}$$

avec $X_0 = 1$ et $Y_{n,k}$ est une suite de variables aléatoires décrivant le nombre de descendants du $k^{\text{ième}}$ individu de la $n^{\text{ième}}$ génération. La figure 2.4 est une représentation de l'arbre associé au processus de Galton-Watson.

Des processus de branchement, beaucoup plus généraux que celui de Galton-Watson (temps continu, multi-type) ont émergé afin de répondre à des problématiques d'un large champ d'applications biologiques, écologiques ou physiques. Pour une vue générale de ces questions, on pourra regarder [45]. Les modèles aléatoires de type processus de branchement sont importants dans la compréhension de la biologie des populations de la croissance des colonies de bactéries à l'évolution des espèces. La population est composée d'individus dont le comportement est aléatoire et soumis à une grande variabilité. Afin de décrire et comprendre comment la population évolue au cours du temps, il faut prendre en compte le comportement de chaque individu. L'approche

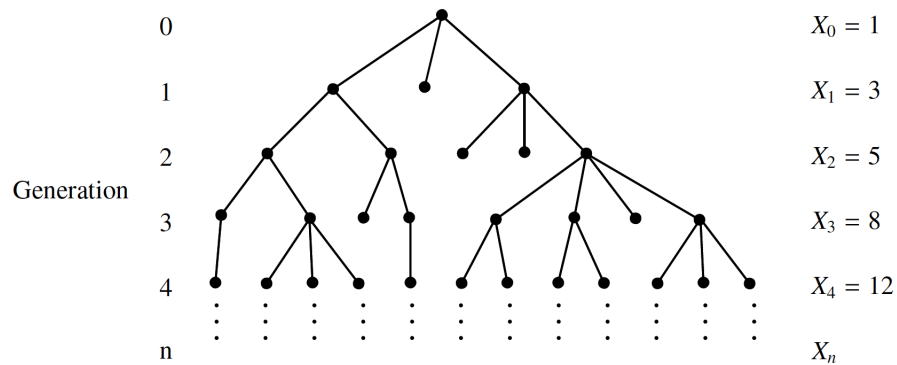


FIGURE 2.4 – Exemple d’un processus de Galton-Watson. A chaque génération n , on compte le nombre d’individus X_n présents.

probabiliste consiste à déduire du comportement de l’individu ou de la cellule, des résultats concernant l’ensemble de la population.

La croissance tumorale modélisée par processus de branchement est plus spécifiquement abordée dans les références [30, 77, 98, 108]. Les applications concernent des domaines aussi variés que les mutations des cellules cancéreuses, leur résistance aux traitements, la vitesse de prolifération ou encore l’hétérogénéité tumorale. Les processus de branchement à temps discret sont privilégiés lorsque la durée de vie des cellules est représentée par des générations. Dans le cas de la prise en compte de l’hétérogénéité tumorale, l’ajout d’un ou plusieurs types de cellules (Fig. 2.5) rend les processus de branchement plus compliqués à analyser et limite souvent leurs applications.

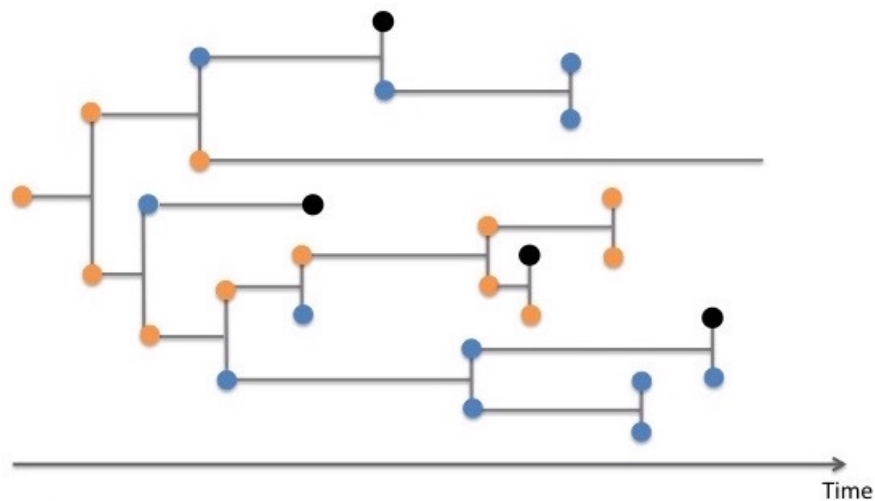
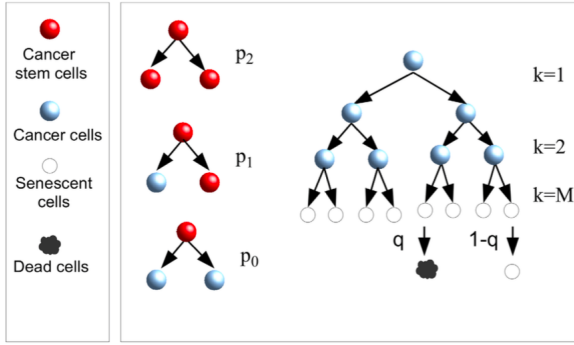


FIGURE 2.5 – Exemple d’un processus de branchement de Bellman-Harris multi-type. Trois types d’individus représentés par des couleurs différentes évoluent en temps continu.

Concernant la prise en compte spécifique des CSC, les travaux de La Porta *et al* [77] portent



$$\begin{cases}
 S^N = (1 + p_2 - p_0)S^{N-1} \\
 C_1^N = (1 - p_2 - p_0)S^{N-1} \\
 \vdots \\
 C_k^N = 2C_{k-1}^{N-1} \\
 D^N = (1 - q)D^{N-1} + 2C_M^{N-1}
 \end{cases} \quad (2.3)$$

FIGURE 2.6 – Modèle hiérarchique et système d'équations associées. Selon [77].

sur un processus de branchement multi-type à trois types de cellules (CSC, CC, cellules sénéscentes) afin d'étudier l'impact de la fréquence de division symétrique des CSC sur la sénescence des cellules d'un mélanome (cancer de la peau). Les CSC peuvent se diviser de façon symétrique ou asymétrique (selon des valeurs de probabilités p_1, p_2 et p_3) tandis que les CC se divisent un nombre fini de fois avant de devenir sénéscentes. Les probabilités de division vraient ainsi que le pourcentage initial de CSC dans la tumeur. L'objectif de l'étude est de comprendre quels sont les effets du modèle hiérarchique sur le mécanisme de sénescence tumorale. Une relation récursive (équation (2.3)) fait le lien entre le nombre moyen de chacun des types de cellules, S^N représente le nombre moyen de CSC après N générations, C_k^N le nombre moyen de CC à la $N^{\text{ième}}$ génération, D^N le nombre moyen de cellules sénéscentes et q le taux de mort (Fig. 2.6).

La cinétique de croissance décrite par l'équation (2.3) montre que la fraction de cellules sénéscentes augmente considérablement après quelques mois de croissance, faisant chuter progressivement le nombre de cellules cancéreuses. Malheureusement, ce phénomène ne dure pas et la sénescence disparaît au profit d'une forte augmentation du nombre de cellules cancéreuses (tous types confondus). Par ailleurs, un modèle numérique teste les effets d'un traitement suivant deux stratégies : la première consiste à faire croître la fraction de cellules sénéscentes en variant le paramètre qui contrôle le nombre de générations nécessaires à une CC avant de devenir sénéscente. La deuxième consiste à introduire un nouveau paramètre de mort cellulaire et concerne uniquement les cellules qui ne sont pas sénéscentes. Les deux stratégies amènent à la même conclusion : pour stopper la croissance, il est nécessaire que la thérapie cible les CSC.

Dans tous les travaux cités jusqu'à présent, le temps, discret, représente les différentes générations de cellules qui se succèdent. D'un point de vue biologique, il est plus réaliste de considérer que la division cellulaire est un processus qui s'effectue en temps continu. La durée de vie des cellules peut être choisie aléatoirement ou bien de façon déterministe. Le processus de Bellman-harris multi-type permet de modéliser plusieurs sous-populations de cellules évoluant continuellement dans le temps. Il s'agit du plus général des processus de branchement. Mathématiquement, la formulation du problème s'écrit comme suit : on suppose qu'il existe r types de cellules possibles et on note $Z_i(t)$ le nombre de cellules de type i ($i = 1, 2, \dots, r$) présentes au temps t . Considérons le processus stochastique de dimension r , $Z(t) = (Z_1(t), \dots, Z_r(t))$ et introduisons $M_{ij}(t)$ le nombre moyen de cellules de type j présentes au temps t et issues d'une cellule initiale de type i . En notant $G_i(t)$ la fonction de répartition relative à la durée de vie d'une cellule de type i et h_i la fonction génératrice de la loi de reproduction alors $M_{ij}(t)$ satisfait l'équation intégrale suivante :

$$M_{ij}(t) = (1 - G_i(t))\delta_{ij} + \sum_{\nu=1}^r \int_0^t \frac{\partial}{\partial s_\nu} h_i(s) \Big|_{s=1} M_{\nu j}(t-u) dG_i(u) \quad (2.4)$$

Dans certains cas particuliers, notamment pour les processus de Markov, l'équation (2.4) peut se résoudre par le calcul. Cependant, dans le cas où la solution de l'équation n'admet pas de forme analytique, des approches numériques doivent être envisagées et seule un comportement asymptotique peut en être déduit. Peu de travaux ont été réalisés autour des processus de branchement de Bellman-Harris multi-type appliqués à la croissance tumorale. Parmi eux, nous pouvons citer ceux de Zorin *et al* [112] ainsi que ceux d'Hyrien *et al* [50].

Dès lors que la taille de la population devient grande, il est impossible de décrire le comportement microscopique de la population, en prenant en compte chaque cellule. Pour contourner ce problème, un changement d'échelle s'impose. Cela implique de se ramener à des modèles plus approximatifs mais aussi plus facilement manipulables mathématiquement et pour lesquels il est en général plus aisé d'établir des résultats théoriques.

Les avantages et les limites des modèle microscopiques

Les AC et les processus de branchement permettent de modéliser l'évolution de la tumeur dans le cas où les cellules sont étudiées de façon individuelle (ou par petits groupes). L'avantage des AC est qu'ils rendent possible la visualisation spatiale des différentes zones d'une tumeur en tenant compte du microenvironnement. L'utilisation de tels modèles permet de comprendre et d'expliquer les mécanismes mis en jeu lors du développement des tumeurs. Cependant, il est en général impossible de voir l'évolution complète de la tumeur, les simulations associées étant trop coûteuses en temps de calcul. Un modèle microscopique est difficilement compatible avec des questions de prédiction concernant le choix de la stratégie thérapeutique à apporter au patient. Toutefois, il peut répondre à des questions fondamentales dont l'enjeu sera de fournir des réponses sur le plan clinique à plus long terme. Notons également que, dans la littérature actuelle, la confrontation des données issues du modèle avec des données issues d'expérimentations biologiques est rare. La mesure de certaines variables biologiques telle que le taux d'oxygène n'est pas toujours réalisable. De même, la difficulté à visualiser correctement une masse tumorale ne dépassant pas quelques millimètres empêche pour l'instant la validation de modèles spatiaux microscopiques.

2.2.2 Les modèles à l'échelle macroscopique

Au sens large, cette échelle est couramment utilisée pour étudier tout ce qu'un homme peut "facilement" observer (une tumeur, un organe, un membre, un individu). Ces modèles ne s'intéressent plus au comportement individuel des cellules mais à leur comportement global. En modélisation, les problématiques de croissance tumorale concernent surtout l'évolution de la taille d'une tumeur en présence d'un traitement, de la mise en place de l'angiogenèse, des mécanismes d'invasion et de métastase. A cette échelle, le modèle ne fait pas apparaître les phénomènes microscopiques qui ont pourtant d'importantes conséquences sur le système biologique global. Un bon modèle devra donc reproduire de façon précise le comportement du système concerné (organe, tumeur) en y intégrant les informations microscopiques disponibles. Comme pour l'échelle microscopique, un nombre réduit de paramètres facilitera son ajustement et son usage.

La tumeur est désormais vue comme un ensemble de cellules. Dans la littérature, ces modèles sont souvent qualifiés de *modèles continus* par opposition aux *modèles discrets*. Le passage du discret au continu présente différents avantages :

- une étude à l'échelle macroscopique ;
- un nombre de paramètres plus petit ;
- des modèles facilement comparables aux données biologiques disponibles ;
- un temps de calcul raisonnable lors de la simulation.

Les équations aux dérivées partielles

Les équations aux dérivées partielles (EDP) sont des modèles qui font intervenir plusieurs variables. En général, il s'agit d'une variable de temps et une autre d'espace. En biologie, elles interviennent pour modéliser des phénomènes de diffusion (oxygène, nutriments, médicaments) et des phénomènes de propagation (invasion, migration). Dans la plupart des cas, il est très difficile, voire impossible, d'exprimer les solutions d'une EDP et des approximations numériques sont nécessaires.

Les premiers modèles de croissance tumorale basés sur des EDP apparaissent dans les années 1990 [6, 100, 109]. Un système général d'équations de réaction-diffusion décrit l'évolution des densités cellulaires :

$$\frac{\partial c(x, t)}{\partial t} = \nabla(D\nabla c(x, t)) + \rho c(x, t) \quad (2.5)$$

où

- $c(x, t)$ désigne la concentration de cellules tumorales au point x à l'instant t ;
- ρ est le taux de prolifération ;
- D représente le coefficient de diffusion ;
- ∇ désigne l'opérateur de dérivation.

Les travaux de Tracqui *et al* [100] tiennent également compte d'une réponse au traitement avec l'introduction d'un terme de perte $K(t)$ représentant la mort cellulaire :

$$\frac{\partial c(x, t)}{\partial t} = \nabla(D\nabla c(x, t)) + \rho c(x, t) - K(t)c(x, t) \quad (2.6)$$

Le modèle établi ci-dessus fait aujourd'hui figure de référence et a servi de point de départ à d'autres travaux [97, 58, 59] qui explorent la piste de la médecine personnalisée en intégrant des données issues d'images IRM de patients atteints de gliomes. La médecine personnalisée est un défi aux enjeux majeurs pour les médecins car elle permettrait d'adapter les traitements à chaque patient.

Pour décrire la dynamique de tumeurs hétérogènes, il est nécessaire de développer des équations plus sophistiquées. Considérant deux sous-populations, soit $u(x, t)$ la densité des CSC et $v(x, t)$ la densité des CC à l'instant t et à la position x , les deux équations intégral-différentielles décrivant la dynamique des deux sous-populations de cellules ont la forme suivante [48] :

$$\frac{\partial u(x, t)}{\partial t} = D_u \Delta u + \delta \gamma \int_{\Omega} k(x, y, p(x, t)) u(y, t) dy \quad (2.7)$$

et

$$\frac{\partial v(x, t)}{\partial t} = D_v \Delta v + (1 - \delta) \gamma \int_{\Omega} k(x, y, p(x, t)) u(y, t) dy - \alpha v + \rho \int_{\Omega} k(x, y, p(x, t)) v(y, t) dy \quad (2.8)$$

où δ représente le taux d'auto-renouvellement des CSC, D_u, D_v les coefficients de diffusion, γ, ρ désignent le nombre de cycles cellulaires par unité de temps. Le noyau de la distribution spatiale $k(x, y, p)$ décrit le taux de contribution de la descendance à l'emplacement x à partir d'une cellule à l'emplacement y . Malheureusement, ce système d'EDP n'admet pas de solution analytique explicite et Enderling *et al* [49] ont dû faire des hypothèses simplificatrices pour réduire le modèle à un système de deux équations différentielles ordinaires.

Récemment, d'autres travaux exploitent les systèmes d'EDP pour modéliser l'hétérogénéité intra-tumorale [18, 60, 83, 99]. Lagaert [60] s'est penché sur la croissance d'un glioblastome en incluant de nombreux phénomènes biologiques dans son modèle : diffusion, angiogenèse, hétérogénéité cellulaire. Il évalue la densité cellulaire de deux groupes distincts : les cellules proliférantes et les cellules quiescentes dont l'évolution est conditionnée par le micro-environnement en particulier l'oxygène et les nutriments. La distribution de l'oxygène dépend d'un réseau vasculaire obtenu par le biais d'un modèle d'angiogenèse mis au point par Billy *et al* [15]. Les auteurs ont également testé l'influence de plusieurs traitements (radiothérapie, chimiothérapie). Le modèle donne une description précise de l'évolution des deux sous-populations de cellules, mais dans la pratique, il est difficilement utilisable en clinique puisque les valeurs des paramètres utilisés pour un patient particulier et une tumeur particulière sont inconnues.

D'autres modèles à l'échelle tissulaire de dynamique des populations ont été développés pour l'étude des systèmes hétérogènes. Ce sont les modèles à compartiments aussi appelés modèles compartimentaux.

Les modèles compartimentaux

Les modèles compartimentaux sont des modèles dynamiques de population développés spécialement pour étudier les systèmes hétérogènes. Ils se composent d'un nombre fixé de compartiments, chacun d'eux contenant du matériel (individus, cellules, médicaments . . .) qui peut passer d'un compartiment à un autre, être ajouté par une source extérieure ou encore supprimé. La figure 2.7 schématise un tel système avec deux compartiments. Les compartiments sont représentés par des boîtes et les flux sont représentés par des flèches. Les modèles à compartiments sont surtout utilisés en épidémiologie pour prédire l'étendue d'une épidémie ou le temps nécessaire à l'extinction d'un virus. La plupart de ces modèles se définissent à l'aide d'équations différentielles ordinaires (EDO) ou stochastiques. La notion d'espace ici n'est pas prise en compte, bien qu'il soit tout à fait possible de la prendre en considération, au prix d'un modèle beaucoup plus complexe et d'un grand nombre de paramètres à estimer.

Selon la figure 2.7, l'évolution de chaque compartiment peut être exprimée par le système d'EDO suivant :

$$\begin{cases} \frac{dP(t)}{dt} = [\alpha_P - \rho_P - \beta]P(t) + \gamma Q(t) \\ \frac{dQ(t)}{dt} = [\alpha_Q - \rho_Q - \gamma]Q(t) + \beta P(t) \end{cases} \quad (2.9)$$

où α_P, α_Q sont des taux de prolifération, ρ_P, ρ_Q les taux de mortalité et β, γ les taux liés aux

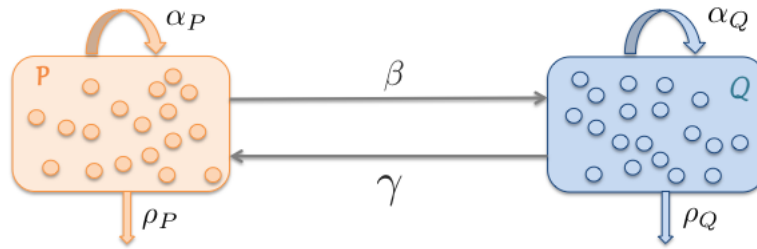


FIGURE 2.7 – Exemple d'un modèle à deux compartiments. Les deux compartiments sont notés P et Q .

flux entre les compartiments.

Le rôle des CSC dans la croissance tumorale peut être étudiée par de tels modèles avec, dans la plupart des cas, deux compartiments (CSC et CC). Comprendre les relations cinétiques entre les différents processus dans les tumeurs solides est maintenant une question majeure [64, 70, 107].

Tenant compte de la variable d'espace, Bugallo *et al* [19] décrivent la formation et l'évolution de sphéroïdes à travers un modèle à deux compartiments. L'originalité de leur approche réside dans la prise en compte de l'évolution spatiale des cellules. Des simulations numériques en trois dimensions ont démontré le potentiel de leur modèle (Fig. 2.8).

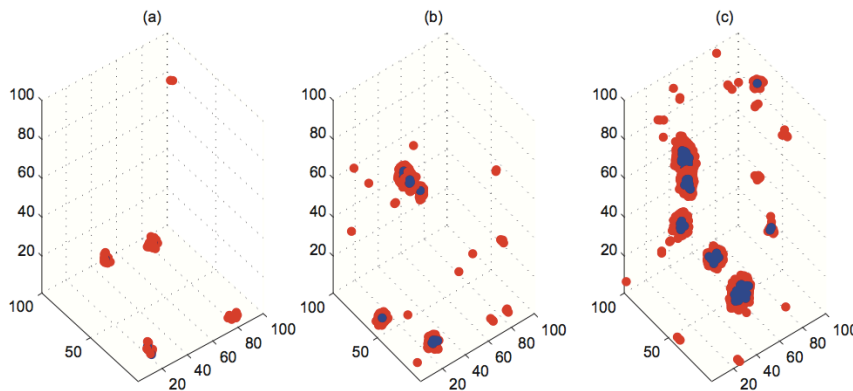


FIGURE 2.8 – Évolution des sphéroïdes dans un modèle d'AC. (a) 10 jours, (b) 30 jours, (c) 50 jours. Bleu = CSC, rouge = cellule différenciée.

La modélisation d'une thérapie est facilement prise en compte dans un système d'EDO en ajoutant un terme de perte pour modéliser les mécanismes de mort cellulaire. Récemment, Leder *et al* [64] ont testé différentes stratégies thérapeutiques (radiothérapie) afin de déterminer la meilleure approche pour traiter un glioblastome. Le modèle à deux compartiments prend en compte l'hétérogénéité cellulaire (CSC et cellules différenciées) et le traitement est modélisé par un modèle quadratique linéaire : si S est la fraction de cellules survivantes après une dose de rayonnement équivalent à d Gy, alors $S = e^{\alpha D - \beta d^2}$ où α et β sont des paramètres du modèle. L'intérêt de leur approche est que chacune des deux sous-populations répond différemment au traitement (arrêt du cycle cellulaire, mort mitotique, mort apoptotique, quiescence, réver-

sibilité...). Des expériences biologiques préalables *in vivo* ont été réalisées afin de déterminer plusieurs valeurs de paramètres, en particulier la dose de rayonnement optimale (pour un jour). La combinaison des approches théorique et expérimentale leur a permis d'identifier deux plans de traitement qui ont été testé sur des souris. Les résultats obtenus *in vivo* ont démontré une augmentation significative de la survie des souris traitées.

Les avantages et les limites des modèle macroscopiques

Les modèles macroscopiques permettent de suivre la croissance tumorale sur le long terme mais aussi de mettre en évidence des mécanismes d'invasion des tissus avoisinants ou plus lointains (métastases). L'un des points forts des modèles EDP est qu'on peut facilement les comparer à des données expérimentales issues de l'imagerie : IRM, scanner ...

Cependant, il y a une perte du contrôle des phénomènes propres à chaque cellule (cycle cellulaire, type, prolifération ...) qui sont des phénomènes indispensables à la compréhension de l'évolution globale de la tumeur. Avant d'utiliser ce type de modèle, il est indispensable de s'assurer de la fiabilité des hypothèses biologiques faites à l'échelle microscopique.

2.2.3 Les modèles hybrides

Les modèles hybrides permettent de faire la connexion entre les échelles cellulaire et tumorale. Ils font partie d'une classe de modèles qui mélangent les aspects discrets et continus. L'approche continue permet de décrire l'évolution de populations cellulaires et moléculaires tandis que l'approche discrète considère chaque entité individuellement en tenant compte des interactions avec son microenvironnement. Seuls les phénomènes qui contribuent significativement à la croissance tumorale sont pris en compte dans une approche discrète, réduisant ainsi la complexité des modèles discrets sans pour autant perdre les informations nécessaires.

Les modèles hybrides sont récents dans l'étude de la croissance tumorale [52, 56, 106, 95]. En 2004, Alarcon *et al* sont parmi les premiers à mettre au point un modèle mathématique pour la croissance d'une tumeur avasculaire qui s'étend sur trois échelles distinctes : cellulaire (prolifération, adhésion), subcellulaire (protéines) et extracellulaire (nutriments). Leur modèle est hybride au sens où il permet de passer d'une échelle à une autre (du subcellulaire au cellulaire). Cependant l'application de ce modèle ne peut pas se faire à l'échelle tumorale et les effets d'un traitement sur l'évolution de la tumeur sont difficiles à prendre en considération. Quelques années plus tard, une approche macroscopique est proposée par [56] et vise à suivre l'évolution de la tumeur en tenant compte de l'hétérogénéité des cellules (proliférantes, quiescentes) tout en incluant des facteurs environnementaux tels que l'oxygène. Une équation de diffusion modélise le comportement des cellules nécrotiques tandis qu'un AC supervise la dynamique des cellules proliférantes (Fig. 2.9).

2.3 Discussion

Rappelons que l'objectif de ce chapitre était de donner un aperçu des études récentes relatives à la modélisation de la croissance tumorale. Plus particulièrement, notre intérêt s'est porté vers les modèles d'hétérogénéité cellulaire. L'abondance du nombre de travaux destinés à l'étude de la cinétique de la croissance tumorale rend le choix d'un modèle difficile. L'échelle microscopique contribue davantage à une meilleure compréhension des mécanismes de croissance tumorale tandis que l'échelle macroscopique renvoie des informations sur le comportement global de la tumeur

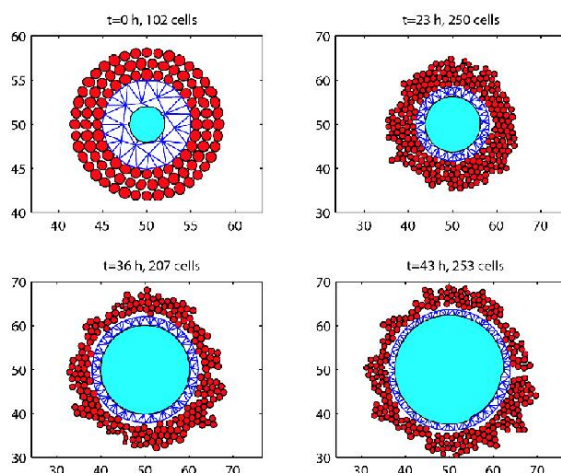


FIGURE 2.9 – Modèle hybride de l'évolution d'un sphéroïde. La région bleue représente les cellules nécrotiques tandis que la périphérie de la tumeur, en rouge, décrit la prolifération des cellules [56].

offrant la possibilité d'effectuer des études de prédictions.

Aujourd'hui différentes communautés scientifiques collaborent faisant émerger de plus en plus de travaux pluridisciplinaire. Malgré cette tendance à l'interdisciplinarité, très peu d'études confrontent les résultats de leur modèle à des données expérimentales. Le tableau 2.1 est un résumé des principales contributions des modèles mathématiques pour la croissance de tumeurs. Nous précisons les types de sous-populations de cellules étudiées, l'inclusion ou non d'une thérapie, ainsi que la validation du modèle et le type de données utilisées le cas échéant.

Nous avons choisi de développer un processus de branchement multi-type afin de mieux comprendre les dynamiques d'évolution des différentes sous-populations cellulaires d'un glioblastome. Notre étude se concentre sur le comportement d'une petite partie de la population cellulaire (les CSC) pour laquelle la possibilité de divisions symétrique et asymétrique nous semble un point fondamental à exploiter.

Autour de la croissance tumorale, les défis et perspectives des futurs modèles sont multiples :

1. **Modèles multi-échelle** : connecter l'échelle cellulaire avec l'échelle de la tumeur est l'un des défis les plus ambitieux. De nouveaux modèles, appelés modèles multi-échelles, émergent pour combler l'écart entre le niveau microscopique et l'échelle macroscopique. Cette approche multi-échelle est plus appropriée, d'un point de vue biologique, pour la description de la dynamique des cancers qui débute par l'instabilité de quelques cellules et finit par une masse de plusieurs millions de cellules.
2. **Estimation des paramètres** : les modèles incorporent des informations très précises et dont les paramètres ne sont pas toujours disponibles expérimentalement ou même mesurables avec les techniques actuelles. Certains de ces paramètres doivent être estimés. Des techniques existent déjà, mais l'application au contexte biologique les rendent souvent complexes. Cependant, sous certaines restrictions sur les paramètres, nous pouvons obtenir une

solution unique.

3. **Simulations numériques :** l'une des principales limites des simulations numériques reste le temps de calcul. Les modèles discrets sont davantage concernés par cette contrainte car ce sont généralement des modèles très détaillés et l'énorme quantité de données à stocker à terme conduit à des problèmes de "big data". La manipulation de telles quantités de données nécessite le développement d'algorithmes informatiques adaptés.
4. **Validation du modèle :** pour valider les modèles mathématiques, il faut croiser les différentes données cliniques (imagerie...) avec celles du modèle théorique. Cependant, la faible disponibilité des données médicales (IRM, scanner) rend la validation des modèles compliquée et leurs utilisations limitées.

Modèles de croissance tumorale	Hétérogénéité tumorale	Objectif de la modélisation	Type de données pour la validation du modèle	Type de traitement	Références
Automate cellulaire	CSC et DC	Meilleure compréhension	<i>in vitro</i>	non spécifié	Sottoriva-2010
	CSC et CC	Meilleure compréhension	modèle partiellement validé à partir de travaux antérieurs (<i>in vitro</i>)	radiothérapie	Gao-2014
	CSC et CC	Meilleure compréhension	-	non spécifié	Morton-2011
	CSC et CC	Prédiction de la réponse au traitement		radiothérapie	Ederling-2009
Processus de branchement	CSC, CC et DC	Meilleure compréhension	comparé à des données de croissance tumorale issues de la littérature	non spécifié	La Porta-2012
	cellules sensibles et résistantes	Prédiction de la réponse au traitement	-	chimiothérapie	Iwassa-2006
	cellules saines et CSC	Amélioration de la thérapie	-	non spécifié	Sehl-2009
EDPs	cellules prolifératives et quiescentes	Amélioration de la thérapie	-	chimiothérapie	Ribba-2006
	cellules prolifératives et quiescentes	Prédiction de la croissance tumorale	<i>in vivo</i> (images IRM)	non considéré	Colin-2012
EDOs	CSC et CC	Amélioration de la thérapie	<i>in vitro</i>	radiothérapie	Leder-2014
	CSC et différentes générations de CC	Meilleure compréhension	-	non considéré	Weekes-2014
	cellules sensibles et résistantes	Amélioration de la thérapie		chimiothérapie	Hadjiandreou-2014

TABLE 2.1 – Principales contributions des modèles de croissance tumorale. CSC= cellules souches cancéreuses, CC= cellules cancéreuses, DC= cellules différenciées.

Chapitre 3

Prise en compte de l'hétérogénéité cellulaire dans la modélisation de la croissance tumorale

Un destin dépend de tant de choses !
Brassage génétique, brassage des idées,
brassage des expériences et des
rencontres [...] Ni les gènes, ni
l'environnement ne peuvent tout
expliquer, et c'est bien ainsi.

C. Villani

Sommaire

3.1	Processus de branchement pour modéliser la prolifération cellulaire	38
3.1.1	Introduction	38
3.1.2	Définitions des principaux types de processus de branchement	38
3.1.3	Processus de Bellman-Harris à un type	40
3.1.4	Processus de Bellman-Harris multi-type	42
3.2	Application à l'hétérogénéité intra-tumorale	45
3.2.1	Choix du modèle	45
3.2.2	Hypothèses biologiques	45
3.2.3	Formulation mathématique	46
3.2.4	Fonction génératrice et espérance	48
3.3	Preuve des propositions	50
3.3.1	Preuve de la proposition 3.1.12	50
3.3.2	Preuve de la proposition 3.2.1	50
3.4	Discussion	51

Ce chapitre traite de la modélisation mathématique de la croissance de tumeurs composées d'une population hétérogène de cellules. Le modèle que nous avons choisi pour appréhender la croissance tumorale est un processus de Bellman-Harris multi-type. Sa particularité réside dans la prise en compte de plusieurs sous-populations de cellules cancéreuses étudiées en temps continu et dont les temps de vie sont modélisés par des variables aléatoires. Nous nous intéressons plus

particulièrement à l'évolution du nombre moyen de chacun des types cellulaires.

Ce chapitre est divisé en deux parties. Après un bref aperçu des processus de branchement existants, une partie théorique permet de mettre en place les équations régissant l'évolution du nombre moyen de cellules d'un processus de Bellman-Harris ainsi que les propriétés asymptotiques qui en découlent. Le cas à un type est étudié afin de faciliter la compréhension du cas multi-type. La deuxième partie est consacrée à l'application de ces résultats théoriques au cas du modèle hiérarchique décrit au chapitre 1. Nous posons les hypothèses et formulons le problème mathématique avant de décrire le comportement du système via l'évolution des fonctions génératrices de la loi des effectifs et de faire le lien avec les équations de renouvellement.

3.1 Processus de branchement pour modéliser la prolifération cellulaire

3.1.1 Introduction

Les processus de branchement ont été introduits en 1845 par Bienaymé dans l'article intitulé *De la loi de la multiplication et de la durée des familles*. Dans cette courte note, il considère un modèle à temps discret où l'ensemble des individus a la même probabilité d'avoir un nombre de descendants donné. Bienaymé s'interrogeait sur la probabilité qu'un homme ait encore des descendants portant son nom après plusieurs générations. Ce problème est connu sous le nom de processus de Galton-Watson, car ce sont eux qui, quelques années plus tard, ont modélisé la question : si un homme a une probabilité p_0 de n'avoir aucun fils, p_1 d'avoir exactement un fils, p_2 d'en avoir exactement deux . . . et si chacun de ses fils se reproduit de la même façon, et ainsi de suite ; quelle est la probabilité pour qu'à terme, cette branche de la famille s'éteigne ?

Depuis cette époque, l'étude des processus de branchement a continué de se développer répondant ainsi à une diversité de problématiques biologiques [57]. Du processus de Galton-Watson à temps discret au processus de naissance et de mort à temps continu, les processus de branchement fournissent un outil mathématique intéressant, particulièrement pour les biologistes, car ils permettent en autres d'étudier de nombreux problèmes de dynamiques de population. Nous présentons ci-dessous les différents processus de branchement qui peuvent être appliqués à l'étude de la croissance tumorale.

3.1.2 Définitions des principaux types de processus de branchement

Processus de branchement de Galton-Watson

Pour une description complète de ces processus, on se réfère à [9].

Définition 3.1.1. *Un processus de branchement de Galton-Watson représente une population dans laquelle les individus se reproduisent selon les règles suivantes :*

1. *le processus est initialisé par un seul individu*
2. *chaque individu a une durée de vie d'une unité (une génération)*
3. *à chaque unité de temps, chaque individu produit un nombre aléatoire d'enfants*
4. *le nombre d'enfants est indépendant du temps et du nombre total d'individus dans la population*

En notant X_n le nombre d'individus à la génération n , le nombre d'individus dans la population à la génération $n + 1$ est donné par

$$X_{n+1} = \sum_{k=1}^{X_n} Y_{n,k}$$

avec $X_0 = 1$ et $\forall 1 \leq k \leq X_n$, $Y_{n,k}$ correspond au nombre de descendants du $k^{\text{ième}}$ individu de la $n^{\text{ième}}$ génération.

Processus de branchement de Galton-Watson multi-type

Le processus de branchement de Galton-Watson à un seul type a été modifié afin d'inclure plusieurs types d'individus. Il s'agit de modéliser des individus dont le comportement diffère selon le type. Pour une description complète de ces processus, on se réfère à [46, 69].

Définition 3.1.2. *Un processus de branchement de Galton-Watson multi-type se définit de la façon suivante :*

1. le processus est initialisé par un seul individu de type aléatoire
2. chaque individu a une durée de vie d'une unité
3. à chaque unité de temps, chaque individu produit un nombre aléatoire d'enfants dont le type est également aléatoire
4. le nombre et le type des individus sont des variables aléatoires indépendantes du temps et du nombre total d'individus dans la population

Processus de branchement de Bellman-Harris

Le processus de Galton-Watson est un outil puissant limité par le temps qui est discret. Le processus de Bellman-Harris a été développé pour palier cette limite. C'est le plus général des processus de branchement. Il s'agit d'un modèle stochastique dans lequel une population d'individus évolue à partir d'un individu initial dont la durée de vie est aléatoire. De ce fait, on dit que le processus est dépendant de l'âge.

Définition 3.1.3. *Un processus de branchement de Bellman-Harris est tel que :*

1. le processus est initialisé par un seul individu
2. chaque individu a une durée de vie modélisée par une variable aléatoire T
3. à la fin de sa vie, chaque individu produit un nombre aléatoire d'enfants
4. le nombre et le type des individus sont indépendants du temps et du nombre total d'individus dans la population

Processus de branchement de Bellman-Harris multi-type

Tout comme le processus de branchement de Galton-Watson, le processus de Bellman-Harris tel que décrit ci-dessus permet d'étudier l'évolution d'une population d'individus tous identiques ce qui limite son champs d'application. C'est pourquoi, une version généralisée introduite par Mode *et al* [69] permet de faire varier le type des individus (Fig. 3.1). Ce processus est appelé processus de branchement de Bellman-Harris multi-type.

Définition 3.1.4. *Un processus de branchement de Bellman-Harris multi-type est tel que :*

1. le processus est initialisé par un seul individu de type aléatoire
2. chaque individu a une durée de vie modélisée par une variable aléatoire T
3. à la fin de sa vie, chaque individu produit un nombre aléatoire d'enfants dont le type est également aléatoire
4. le nombre et le type des individus sont des variables aléatoires indépendantes du temps et du nombre total d'individus dans la population

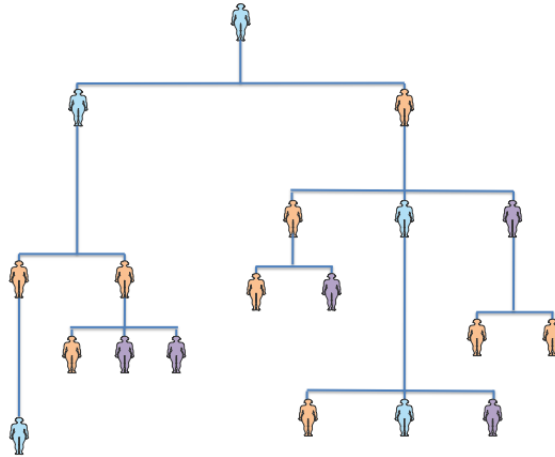


FIGURE 3.1 – Exemple d'un processus de branchement de Bellman-Harris multi-type. L'individu initial a donné naissance à des enfants qui ne sont pas nécessairement du même type produisant une hétérogénéité de la population finale.

3.1.3 Processus de Bellman-Harris à un type

Le processus de Bellman-Harris est décrit comme suit : un individu initial né au temps $t = 0$ vit durant une période déterminée par une variable aléatoire dont la fonction de répartition est donnée par $G(t)$. On suppose que $G(0^+) = 0$, c'est à dire que l'on exclut le cas d'une mort instantanée. A la fin de sa vie, l'individu meurt en donnant naissance à un nombre aléatoire ξ d'individus selon la loi de reproduction $(p_k)_{k \geq 0}$ où $p_k = \mathbb{P}(\xi = k)$ est la probabilité que cet individu produise k enfants. La fonction génératrice de la loi de reproduction est donnée par $f(s)$. La reproduction de chaque individu est indépendante de sa durée de vie et de celle des autres individus présents dans la population.

En notant $Z(t)$ le nombre d'individus vivants au temps t alors $(Z(t))_{t \geq 0}$ définit un processus de Bellman-Harris. Il est en général non markovien, sauf dans le cas où les durées de vie des individus sont déterminées par des lois exponentielles. Notons

$$m = \sum_{k=1}^{\infty} k p_k = \sum_{k=1}^{\infty} k \mathbb{P}(\xi = k \mid Z(0) = 1),$$

le nombre moyen de descendants d'un individu. Le processus de Bellman-Harris est dit sous-critique, critique ou sur-critique selon que $m < 1$, $m = 1$ ou $m > 1$ respectivement. Harris [46] a montré que, si $m < \infty$, alors $\mathbb{P}(Z_t < \infty) = 1$ pour tout $0 < t < \infty$, ce qui signifie que le nombre d'individus ne croît pas indéfiniment.

Equation intégrale et propriétés préliminaires

Notons $F(s, t) = \sum_{k=0}^{\infty} \mathbb{P}(Z(t) = k \mid Z(0) = 1) s^k$, la fonction génératrice du processus $(Z(t))_t$.

Alors $F(s, t)$ est l'unique solution de l'équation intégrale suivante :

$$F(s, t) = s[1 - G(t)] + \int_0^t f[F(s, t - u)] dG(u), \quad |s| < 1. \quad (3.1)$$

Théorie du renouvellement et moment

La théorie du renouvellement joue un rôle majeur dans l'étude du comportement asymptotique du processus de Bellman-Harris puisque que les moments du processus sont des solutions d'équations intégrales de renouvellement. De nombreuses explications concernant cette théorie se trouvent dans [9, 37]. La plupart des définitions et propriétés suivantes sont issues de [57]. Nous ne donnons pas les preuves et nous renvoyons le lecteur intéressé à la référence citée.

Le nombre moyen d'individus présents au temps t correspond à l'espérance $\mathbb{E}[Z(t)]$ dont le calcul est donné par :

$$\begin{aligned} M(t) = \mathbb{E}[Z(t)] &= \left. \frac{\partial}{\partial s} F(s, t) \right|_{s=1} \\ &= \left. \frac{\partial}{\partial s} \left(s[1 - G(t)] + \int_0^t f[F(s, t - u)] dG(u) \right) \right|_{s=1} \end{aligned}$$

En dérivant sous le signe intégrale, on obtient la proposition suivante.

Proposition 3.1.5. *Soit m le nombre moyen de descendants d'un individu. Supposons que $m = h'(1) < \infty$, alors pour tout $t < \infty$, $M(t) < \infty$ et $M(t)$ est l'unique solution de l'équation intégrale*

$$M(t) = 1 - G(t) + m \int_0^t M(t - u) dG(u), \quad t \geq 0 \quad (3.2)$$

L'équation (3.2) est une équation de renouvellement que nous pouvons réécrire sous la forme

$$M(t) = 1 - G(t) + m(M * G)(t)$$

où $(M * G)(t)$ est le produit de convolution de M et G . En dérivant $F(s, t)$ plusieurs fois par rapport à s , on obtient des équations similaires pour des moments plus élevés de $Z(t)$.

Définition 3.1.6. *Le paramètre malthusien est le réel α défini de telle sorte que*

$$m \int_0^{\infty} e^{-\alpha t} dG(t) = 1$$

Le paramètre Malthusien dépend de m et G . Il représente le taux de croissance de la population. Il existe toujours et est nécessairement positif ou nul lorsque $m \geq 1$ mais il est négatif si $m < 1$.

Théorème 3.1.7. *Si le paramètre malthusien α existe, si $e^{-\alpha t}(1 - G(t))$ est Riemann-intégrable, et si $mG(0+) < 1$, alors la solution de l'équation (3.2) satisfait*

$$M(t) \sim e^{\alpha t} \left(\int_0^{\infty} e^{-\alpha y} [1 - G(y)] dy \right) \left(m \int_0^{\infty} y e^{-\alpha y} dG(y) \right)^{-1} \quad (3.3)$$

Finalement, le théorème suivant apporte des résultats concernant le comportement asymptotique de la quantité $M(t)$.

Théorème 3.1.8. *Supposons $mG(0+) < 1$.*

- *cas critique : si $m = 1$, alors $M(t) = 1$.*
- *cas sur-critique : si $m > 1$, alors*

$$M(t) \sim ce^{\alpha t}, \quad t \rightarrow \infty \quad (3.4)$$

avec α le paramètre malthusien et

$$c = \frac{\int_0^\infty e^{-\alpha y} [1 - G(y)] dy}{m \int_0^\infty ye^{-\alpha y} dG(y)} = \frac{m - 1}{\alpha m^2 \int_0^\infty ye^{-\alpha y} dG(y)} \quad (3.5)$$

- *cas sous-critique : si $m < 1$, si le paramètre malthusien α existe et si $\int_0^\infty ye^{-\alpha y} dG(y) < \infty$, alors les relation du cas sur-critique restent valables pour $\alpha < 0$.*

L'équation (3.4) montre qu'au voisinage de l'infini, le nombre moyen de cellules $M(t)$ se comporte comme une exponentielle avec un taux de croissance déterminé par le paramètre α . Le cas sur-critique modélise des situations de croissance pour lesquelles la population ne s'éteint pas.

3.1.4 Processus de Bellman-Harris multi-type

Notations et hypothèses

Les processus de Bellman-Harris présentés précédemment peuvent se généraliser en permettant aux individus d'être de différents types. Désormais, nous considérons que la population se compose de r types d'individus dont les durées de vies et les comportements de reproduction dépendent de leurs types. Les hypothèses sont très similaires au cas du processus à un seul type. Nous ne donnons pas la construction rigoureuse de l'espace de probabilité du processus, le lecteur intéressé trouvera plus de détails dans [69]. L'ensemble des propositions et théorèmes de cette partie sont issus de cette dernière référence.

La formulation mathématique du problème est la suivante : soit le processus

$$Z(t) = (Z_1(t), \dots, Z_r(t))$$

où $Z_i(t)$, $i = 1, \dots, r$ représente le nombre d'individus de type i présents au temps t et $r \in \mathbb{N}^*$ correspond au nombre de types possibles. Le processus repose sur les hypothèses suivantes :

1. L'individu initial au temps $t = 0$ est de type i , $i = 1, 2, \dots, r$
2. Chaque individu a une durée de vie aléatoire T_i qui dépend uniquement de son type et dont la fonction de répartition est donnée par

$$G_i(t) = \mathbb{P}(T_i \leq t) \quad \forall t \in \mathbb{R}_+$$

3. A la fin de sa vie, un individu de type i donne naissance à un nombre aléatoire d'enfants selon une loi de reproduction $p^{(i)}(\mathbf{k}) = p^{(i)}(k_1, k_2, \dots, k_r)$ où $p^{(i)}(k_1, k_2, \dots, k_r)$ est la probabilité qu'un parent de type i produise k_1 enfants de type 1, k_2 enfants de type 2...

La fonction génératrice de la loi de reproduction est donnée par

$$\mathbf{f}(\mathbf{s}) = (f^{(1)}(\mathbf{s}), f^{(2)}(\mathbf{s}), \dots, f^{(r)}(\mathbf{s}))$$

où

$$f^{(i)}(s_1, s_2, \dots, s_r) = \sum_{k_1, k_2, \dots, k_r \geq 0} p^{(i)}(k_1, k_2, \dots, k_r) s_1^{k_1} s_2^{k_2} \dots s_r^{k_r}$$

avec $0 \leq s_i \leq 1$, $i = 1, 2, \dots, r$

4. Le nombre et le type des descendants sont indépendants du temps ainsi que du nombre total d'individus.

Fonction génératrice et espérance

Conditionnellement au fait que l'individu initial soit de type i , la fonction génératrice du processus $(Z(t))_t$ est donnée par

$$F_i(\mathbf{s}, t) = (1 - G_i(t))s_i + \int_0^t f^{(i)}(F_1(\mathbf{s}, t-u), \dots, F_r(\mathbf{s}, t-u)) dG_i(u) \quad (3.6)$$

avec $\mathbf{s} = (s_1, s_2, \dots, s_r)$.

En général cette équation n'admet pas de solution explicite. Cependant, certains cas particuliers sont décrits par des équations plus simples. Par exemple, si l'on considère que la durée de vie des individus est déterminée par une loi exponentielle (*i.e.* définie par $G_i(t) = 1 - e^{-\lambda_i t}$), alors $(Z(t))_t$ est un processus de Markov ce qui permet de résoudre l'équation (3.6).

En notant $M_{ij}(t)$ le nombre moyen d'individus de type j vivants au temps t conditionnellement au fait que l'individu initial était de type i , la relation liant $M_{ij}(t)$ à la fonction génératrice (3.6) est donnée par

$$\begin{aligned} M_{ij}(t) &= \mathbb{E}[Z_j(t) \mid Z_i(0) = 1] \\ &= \left. \frac{\partial}{\partial s_j} F_i(\mathbf{s}, t) \right|_{\mathbf{s}=\mathbf{1}} \end{aligned} \quad (3.7)$$

Proposition 3.1.9. *Si $M_{ij}(t) < \infty$ alors :*

$$M_{ij}(t) = (1 - G_i(t))\delta_{ij} + \sum_{\nu=1}^r \int_0^t \frac{\partial}{\partial s_\nu} f^{(i)}(\mathbf{s}) \Big|_{\mathbf{s}=\mathbf{1}} M_{\nu j}(t-u) dG_i(u) \quad (3.8)$$

avec $\delta_{ij} = 1$ si $i = j$ et 0 sinon.

La preuve de cette proposition est donnée à la section 3.3. Comme pour le cas à un type, l'équation (3.8) est une équation de renouvellement dont la résolution nécessite en général l'utilisation de méthodes numériques. Cependant, en prenant la transformée de Laplace nous obtenons

$$M_{ij}^*(\lambda) = \int_0^\infty e^{-\lambda t} M_{ij}(t) dt \quad (3.9)$$

pour $\text{Re}(\lambda) > 0$.

L'existence de $M_{ij}^*(\lambda)$ suppose la convergence de l'intégrale. Le Lemme 3.1.10 fournit un résultat dans ce sens.

Lemme 3.1.10. Soit $m_{ij}(t) = \left. \frac{\partial}{\partial s_j} f^{(i)}(\mathbf{s}) \right|_{\mathbf{s}=\mathbf{1}} G_i(t)$. S'il existe $\gamma \geq 0$ tel que

$$m_{ij}(t) = O(e^{\gamma t}) \quad (3.10)$$

pour tout $t \geq 0$, $i, j = 1, 2, \dots, r$ alors, il existe $\beta \geq 0$ tel que

$$M_{ij}(t) = O(e^{\beta t}) \quad (3.11)$$

pour tout $t \geq 0$, $i, j = 1, 2, \dots, r$

Remarque 3.1.11. Il suffit que les fonctions $m_{ij}(\cdot)$ soient bornées pour que les hypothèses du Lemme 3.1.10 soient satisfaites.

D'après le lemme 3.1.10, si la condition (3.10) est satisfaite, la transformée de Laplace existe pour $\text{Re}(\lambda) > \beta$. Introduisons

$$m_{ij}^*(\lambda) = \int_0^\infty e^{-\lambda t} m_{ij}(dt) \quad (3.12)$$

pour $\text{Re}(\lambda) \geq \gamma$, et

$$G_i^*(\lambda) = \int_0^\infty e^{-\lambda t} G_i(dt) \quad (3.13)$$

pour $\text{Re}(\lambda) \geq 0$, et définissons les matrices de dimension $r \times r$ suivantes

- $\mathbf{M}(\lambda) = (M_{ij}^*(\lambda)) \quad i, j = 1, 2, \dots, r$
- $\mathbf{D}(\lambda) = (\lambda^{-1} \delta_{ij} (1 - G_i^*(\lambda))) \quad i, j = 1, 2, \dots, r$
- $\mathbf{H}(\lambda) = (m_{ij}^*(\lambda)) \quad i, j = 1, 2, \dots, r$

Alors, la proposition suivante donne une solution de l'équation (3.8).

Proposition 3.1.12. Si la transformée de Laplace $M_{ij}^*(\lambda)$ existe, alors l'équation (3.8) équivaut à

$$\begin{aligned} \mathbf{M}(\lambda) &= \mathbf{D}(\lambda) + \mathbf{H}(\lambda)\mathbf{M}(\lambda) \\ &= (\mathbf{I} - \mathbf{H}(\lambda))^{-1} \mathbf{D}(\lambda) \end{aligned} \quad (3.14)$$

pour des valeurs de λ pour lesquelles $(\mathbf{I} - \mathbf{H}(\lambda))^{-1}$ et $\mathbf{M}(\lambda)$ existent.

La preuve de cette proposition est détaillée à la section 3.3.

Déterminer les matrices $\mathbf{M}(\lambda)$, $\mathbf{D}(\lambda)$ et $\mathbf{H}(\lambda)$ permettrait de résoudre (3.14). Dans la pratique, il est très difficile d'obtenir les expressions de ces matrices. Remarquons que plus le nombre de types d'individus dans la population est important, plus la dimension des matrices augmente ce qui implique des difficultés de calculs, notamment pour l'inversion des matrices.

Néanmoins, de façon similaire au cas d'un processus de branchement à un seul type d'individu, des propriétés asymptotiques renseignent le comportement des quantités moyennes $M_{ij}(t)$.

Comportement asymptotique de $M_{ij}(t)$

Dans cette partie, nous donnons des informations concernant le comportement de la moyenne quand $t \rightarrow \infty$. Afin d'étudier le comportement limite de $M_{ij}(t)$, il convient d'écrire l'équation (3.14) sous une forme différente. Soit $b_{ij}(\lambda) = (-1)^{i+j} \Delta_{ij}(\lambda)$ où $\Delta_{ij}(\lambda)$ est le cofacteur de l'élément (i, j) de la matrice $\mathbf{I} - \mathbf{H}(\lambda)$.

Théorème 3.1.13. *Si la matrice $\mathbf{H}(\lambda)$ est définie positive pour tout $\lambda \geq 0$ et que la valeur propre maximale de la matrice $\mathbf{H}(0)$ est supérieure à 1 alors il existe un réel $\beta > 0$ tel que $\beta < \alpha$ et*

$$M_{ij}(t) = c_{ij}e^{\alpha t} + O(e^{\beta t}) \quad \forall i, j = 1, 2, \dots, r \quad \text{et } t \geq 0, \quad (3.15)$$

avec

$$c_{ij} = \frac{b_{ji}(\alpha)(1 - G_j^*(\lambda))}{\alpha \Delta'(\alpha)} \quad (3.16)$$

où $\Delta(\lambda) = |\mathbf{I} - \mathbf{H}(\lambda)|$ est le déterminant de la matrice $\mathbf{I} - \mathbf{H}(\lambda)$.

D'après l'équation (3.15) du théorème 3.1.13, on a :

$$M_{ij}(t) \sim c_{ij}e^{\alpha t}, \quad t \rightarrow \infty$$

ce qui prouve que l'effectif moyen d'individus dans une population hétérogène est exponentiel quand $t \rightarrow \infty$.

3.2 Application à l'hétérogénéité intra-tumorale

3.2.1 Choix du modèle

Si la population tumorale présente un certain nombre de caractéristiques déterministes, elle est néanmoins composée de cellules dont le comportement est soumis à une grande variabilité qui peut être modélisée par une approche probabiliste. Afin de pouvoir décrire et comprendre cette variabilité ainsi que l'évolution de la population au cours du temps, il convient de tenir compte du comportement individuel des cellules. Cela permet ainsi, à partir d'une description microscopique précise d'en déduire des comportements macroscopiques de manière rigoureuse. Nous avons choisi de développer un modèle à l'échelle microscopique, tenant compte de l'hétérogénéité cellulaire. Le mécanisme qui régule la croissance au niveau cellulaire est l'étape de prolifération qui s'apparente à une population d'individus qui se reproduisent et meurent. Le modèle approprié est un processus de branchement de Bellman-Harris multi-type.

Nous avons effectué notre choix en fonction de l'état actuel des connaissances biologiques. Les études concernant l'hétérogénéité cellulaire fournissent des résultats que l'on ne peut pas encore considérer comme acquis et les biologistes travaillent à une meilleure compréhension de ces phénomènes. Notre modèle permet de considérer les CSC comme une sous-population de cellules tumorales à part entière, dont l'évolution peut influencer les autres sous-populations cellulaires. Le but du modèle est d'aboutir à une meilleure compréhension de l'évolution des CSC.

3.2.2 Hypothèses biologiques

Nous faisons l'hypothèse que la prolifération cellulaire est décrite par un modèle hiérarchique qui suppose l'existence de trois types de cellules³ :

1. les cellules souches cancéreuses (CSC) : elles sont à l'origine de la tumeur. Elles ont la capacité de s'auto-renouveler indéfiniment mais peuvent aussi se diviser asymétriquement. Elles ne représentent qu'une faible proportion de l'ensemble des cellules tumorales ;

3. Ces hypothèses ont été déterminées à la suite d'une discussion avec les biologistes.

2. les cellules transitoires (T) : elles prolifèrent rapidement participant de façon active à la croissance de la tumeur. Elles peuvent se diviser de manière symétrique en deux cellules T ou en produisant une cellule T ainsi qu'une cellule différenciée ;
3. les cellules différenciées (D) : elles ne se divisent plus et sont destinées à mourir.

Chaque cellule se divise pour donner naissance à deux cellules filles dont le type est déterminé par les probabilités de division. Les possibilités de division sont illustrées à la figure 3.2. Seules les cellules D sont amenées à mourir.

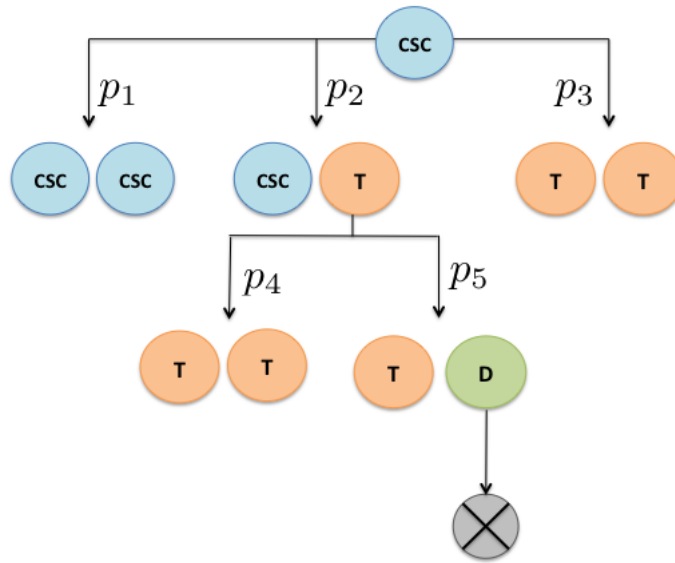


FIGURE 3.2 – Règles de prolifération cellulaire dans un modèle hiérarchique à trois types de cellules. Les CSC ont trois possibilités (selon p_1, p_2, p_3), les cellules T ont deux possibilités (selon p_4, p_5) tandis que les cellules D meurent de par leur définition.

Les paramètres de division p_1, p_2, p_3, p_4 et p_5 correspondent aux probabilités de division des cellules :

- $\mathbb{P}(\text{CSC} \rightarrow \text{CSC} + \text{CSC}) = p_1$
- $\mathbb{P}(\text{CSC} \rightarrow \text{CSC} + \text{T}) = p_2$
- $\mathbb{P}(\text{CSC} \rightarrow \text{T} + \text{T}) = p_3$
- $\mathbb{P}(\text{T} \rightarrow \text{T} + \text{T}) = p_4$
- $\mathbb{P}(\text{T} \rightarrow \text{T} + \text{D}) = p_5$

Les paramètres p_3 et p_5 sont liés aux autres paramètres par les relations suivantes : $p_3 = 1 - (p_1 + p_2)$ et $p_5 = 1 - p_4$.

3.2.3 Formulation mathématique

On modélise la prolifération cellulaire par un processus de branchement de Bellman-Harris multi-type comme celui introduit au paragraphe 3.1.2.

Soit $i = 1, 2, 3$, l'indice relatif au type d'une cellule représentant respectivement les cellules de type CSC, T et D. Considérons le processus stochastique $Z(t) = (Z_1(t), Z_2(t), Z_3(t))$ où $Z_i(t)$

représente le nombre de cellules de type i présentes au temps t dans une tumeur. Le processus est tel que :

- La cellule initiale est de type 1
- La durée de vie d'une cellule de type $i = 1, 2, 3$ est modélisée par une variable aléatoire T_i telle que

$$T_i \sim \mathcal{N}_{[a,b]}(m_i, \sigma_i) \quad 0 < a < b$$

et dont la fonction de répartition est donnée par :

$$\begin{aligned} G_i(t) &= \mathbb{P}(T_i \leq t) \\ &= \frac{1}{M} \int_0^t e^{-\frac{1}{2} \left(\frac{u-m_i}{\sigma_i} \right)^2} du \end{aligned}$$

où M est la constante de normalisation : $M = \sqrt{2\pi}\sigma_i \left[\Phi \left(\frac{b-m_i}{\sigma_i} \right) - \Phi \left(\frac{a-m_i}{\sigma_i} \right) \right]$ et $\Phi(\cdot)$ est la fonction de répartition de la loi normale centrée réduite. Comme nous pouvons considérer $b \rightarrow \infty$ et $a = 0$, la constante devient $M = \sqrt{2\pi}\sigma_i \left[1 - \Phi \left(\frac{-m_i}{\sigma_i} \right) \right]$.

A la fin de sa vie, chaque cellule proliférante donne naissance à deux nouvelles cellules filles qui ne sont pas forcément du même type que leur cellule mère. Les cellules différenciées ne se divisent plus et ont pour seule possibilité de mourir ;

- les types des cellules filles sont déterminés aléatoirement par la loi de reproduction du processus $(Z_t)_t$. Soit $\xi_i = (\xi_{i1}, \xi_{i2}, \xi_{i3})$ le vecteur aléatoire où ξ_{ij} , $1 \leq i, j \leq 3$ représente le nombre de cellules de type j , issues d'une cellule de type i . Les cellules se reproduisent indépendamment les unes des autres, sans migration possible, selon une loi de reproduction type-dépendante définie par :

- $\mathbb{P}(\xi_{11} = 2, \xi_{12} = 0, \xi_{13} = 0) = p_1$
- $\mathbb{P}(\xi_{11} = 1, \xi_{12} = 1, \xi_{13} = 0) = p_2$
- $\mathbb{P}(\xi_{11} = 0, \xi_{12} = 2, \xi_{13} = 0) = p_3$
- $\mathbb{P}(\xi_{21} = 0, \xi_{22} = 2, \xi_{23} = 0) = p_4$
- $\mathbb{P}(\xi_{21} = 0, \xi_{22} = 1, \xi_{23} = 1) = p_5$
- $\mathbb{P}(\xi_{31} = 0, \xi_{32} = 0, \xi_{33} = 1) = 1$

Toutes les autres combinaisons possibles sont de probabilité nulle. Remarquons que si p_3 , la probabilité de division symétrique d'une CSC en deux cellules T, est importante alors il y a une possibilité pour que la tumeur finisse par ne plus être "alimentée" en CSC et disparaisse.

3.2.4 Fonction génératrice et espérance

La fonction génératrice de la loi de reproduction est donnée par $f(\mathbf{s}) = (f^{(1)}(\mathbf{s}), f^{(2)}(\mathbf{s}), f^{(3)}(\mathbf{s}))$ où

$$\begin{aligned} f^{(1)}(s_1, s_2, s_3) &= \mathbb{P}(\xi_{11} = 2, \xi_{12} = 0, \xi_{13} = 0)s_1^2 + \mathbb{P}(\xi_{11} = 1, \xi_{12} = 1, \xi_{13} = 0)s_1s_2 \\ &\quad + \mathbb{P}(\xi_{11} = 0, \xi_{12} = 2, \xi_{13} = 0)s_2^2 \\ &= p_1s_1^2 + p_2s_1s_2 + p_3s_2^2 \\ f^{(2)}(s_1, s_2, s_3) &= \mathbb{P}(\xi_{11} = 0, \xi_{12} = 2, \xi_{13} = 0)s_2^2 + \mathbb{P}(\xi_{11} = 0, \xi_{12} = 1, \xi_{13} = 1)s_2s_3 \\ &= p_3s_2^2 + p_4s_2s_3 \\ f^{(3)}(s_1, s_2, s_3) &= \mathbb{P}(\xi_{11} = 0, \xi_{12} = 0, \xi_{13} = 1)s_3 \\ &= s_3 \end{aligned}$$

Pour $\mathbf{s} = (s_1, s_2, s_3)$, les fonctions génératrices deviennent :

$$\begin{aligned} F_1(s_1, s_2, s_3, t) &= \mathbb{E}[s_1^{Z_1(t)} s_2^{Z_2(t)} \mid Z_1(0) = 1] \\ &= (1 - G_1(t))s_1 + \int_0^t f^{(1)}(F_1(s_1, s_2, s_3, t-u), F_2(s_1, s_2, s_3, t-u))dG_1(u) \\ F_2(s_1, s_2, s_3, t) &= \mathbb{E}[s_2^{Z_2(t)} s_3^{Z_3(t)} \mid Z_2(0) = 1] \\ &= (1 - G_2(t))s_2 + \int_0^t f^{(2)}(F_2(s_1, s_2, s_3, t-u), F_3(s_1, s_2, s_3, t-u))dG_2(u) \\ F_3(s_1, s_2, s_3, t) &= \mathbb{E}[s_3^{Z_3(t)} \mid Z_3(0) = 1] \\ &= (1 - G_3(t))s_3 + \int_0^t f^{(3)}(F_3(s_1, s_2, s_3, t-u))dG_3(u) \end{aligned}$$

Proposition 3.2.1. *Des fonctions génératrices établies ci-dessus, nous en déduisons l'expression de l'espérance $M_{ij}(t) = \mathbb{E}[Z_j(t) \mid Z_i(0) = 1]$ qui vérifie l'équation de renouvellement suivante :*

$$M_{ij}(t) = (1 - G_i(t))\delta_{ij} + \sum_{\nu=1}^3 \int_0^t m_{i\nu}M_{\nu j}(t-u)dG_i(u) \quad (3.17)$$

avec $G_i(t) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}\sigma_i} \left[1 - \Phi\left(-\frac{m_i}{\sigma_i}\right) \right] \int_0^t e^{-\frac{1}{2}\left(\frac{u-m_i}{\sigma_i}\right)^2} du$ et m_{ij} dénote le nombre moyen de cellules de type j issus d'une cellule mère de type i :

$$m_{11} = 2p_1 + p_2; \quad m_{12} = p_2 + 2p_3; \quad m_{22} = 2p_3 + p_4; \quad m_{23} = p_4; \quad m_{33} = 1.$$

La preuve décrivant le raisonnement qui nous a permis d'obtenir les quantités ci-dessus est détaillée à la section 3.3.

Nous pouvons désormais écrire les équations de renouvellement vérifiées par les moyennes $M_{ij}(t)$.

D'après la proposition 3.17, il suit le système d'équations de renouvellement suivant :

$$M_{11}(t) = (1 - G_1(t)) + m_{11}(M_{11} * G_1)(t) + m_{12}(M_{21} * G_1)(t) \quad (3.18)$$

$$M_{12}(t) = m_{11}(M_{12} * G_1)(t) + m_{12}(M_{22} * G_1)(t) \quad (3.19)$$

$$M_{13}(t) = m_{11}(M_{13} * G_1)(t) + m_{12}(M_{23} * G_1)(t) \quad (3.20)$$

$$M_{22}(t) = (1 - G_2(t)) + m_{22}(M_{22} * G_2)(t) + m_{23}(M_{32} * G_2)(t) \quad (3.21)$$

$$M_{23}(t) = m_{22}(M_{23} * G_2)(t) + m_{23}M_{33} * G_3(t) \quad (3.22)$$

$$M_{33}(t) = (1 - G_3(t)) + M_{33} * G_3(t) \quad (3.23)$$

Remarquons que $M_{21}(t) = M_{31}(t) = M_{32}(t) = 0$ en raison de l'impossibilité de ces configurations de prolifération.

Nous vérifions à présent les hypothèses du lemme 3.1.10, c'est à dire que $m_{ij}(t) = O(e^{\gamma t})$. Rappelons que $T_i \sim \mathcal{N}_{[a,b]}(m_i, \sigma_i)$ avec

$$\begin{aligned} G_i(t) &= \mathbb{P}(T_i \leq t) \\ &= \frac{1}{M} \int_0^t e^{-\frac{1}{2}\left(\frac{u-m_i}{\sigma_i}\right)^2} du. \end{aligned}$$

Puisque

$$m_{ij}(t) = \left. \frac{\partial}{\partial s_j} f^{(i)}(\mathbf{s}) \right|_{\mathbf{s}=\mathbf{1}} G_i(t) \quad (3.24)$$

$$= \frac{K}{M} \int_0^t e^{-\frac{1}{2}\left(\frac{u-m_i}{\sigma_i}\right)^2} du \quad (3.25)$$

$$\leq \frac{K}{M} \sqrt{2\pi} \sigma_i \quad (3.26)$$

où K est un scalaire, il suit que la transformée de Laplace existe. D'après le théorème 3.1.12, nous avons

$$\begin{aligned} \mathbf{M}(\lambda) &= \mathbf{D}(\lambda) + \mathbf{H}(\lambda)\mathbf{M}(\lambda) \\ &= (\mathbf{I} - \mathbf{H}(\lambda))^{-1}\mathbf{D}(\lambda) \end{aligned} \quad (3.27)$$

avec

$$\mathbf{M}(\lambda) = \begin{pmatrix} M_{11}^*(\lambda) & M_{12}^*(\lambda) & M_{13}^*(\lambda) \\ 0 & M_{22}^*(\lambda) & M_{23}^*(\lambda) \\ 0 & 0 & M_{33}^*(\lambda) \end{pmatrix} \quad \mathbf{H}(\lambda) = \begin{pmatrix} m_{11}^*(\lambda) & m_{12}^*(\lambda) & 0 \\ 0 & m_{22}^*(\lambda) & m_{23}^*(\lambda) \\ 0 & 0 & m_{33}^*(\lambda) \end{pmatrix} \quad (3.28)$$

$$\mathbf{D}(\lambda) = \begin{pmatrix} D_{11}^*(\lambda) & 0 & 0 \\ 0 & D_{22}^*(\lambda) & 0 \\ 0 & 0 & D_{33}^*(\lambda) \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \frac{1}{\lambda}\delta_{11}(1 - G_1^*(\lambda)) & 0 & 0 \\ 0 & \frac{1}{\lambda}\delta_{22}(1 - G_2^*(\lambda)) & 0 \\ 0 & 0 & \frac{1}{\lambda}\delta_{33}(1 - G_3^*(\lambda)) \end{pmatrix}$$

où

$$G_i^*(\lambda) = \frac{\lambda}{M} \int_0^\infty e^{-\lambda t} G_i(t) dt$$

En raison de l'impossibilité d'obtenir les solutions analytiques des équations de renouvellement, nous n'avons pas exploité davantage cette partie. Il aurait été nécessaire de mettre en place des méthodes numériques afin d'obtenir la solution du nombre moyen d'individus au cours du temps. Nous avons fait le choix de poursuivre par une approche numérique dans le chapitre suivant. En effet, la modélisation numérique du processus de Bellman-Harris nous permet d'avoir une maîtrise plus fine des paramètres intervenant au cours de la prolifération cellulaire.

3.3 Preuve des propositions

3.3.1 Preuve de la proposition 3.1.12

La preuve de ce théorème consiste à déterminer la transformée de Laplace de l'équation (3.8).

$$M_{ij}^*(\lambda) = \int_0^\infty e^{-\lambda t} M_{ij}(t) dt \quad (3.29)$$

$$= \int_0^\infty e^{-\lambda t} (1 - G_i(t)) \delta_{ij} dt + \sum_{\nu=1}^3 \int_0^\infty \int_0^t e^{-\lambda t} m_{ij}(dt) M_{\nu j}(t - u) \quad (3.30)$$

En remarquant que

$$\lambda \int_0^\infty e^{-\lambda t} G_i(t) dt = \int_0^\infty e^{-\lambda t} G_i'(t) dt \quad (3.31)$$

nous en déduisons que

$$\int_0^\infty e^{-\lambda t} (1 - G_i(t)) \delta_{ij} dt = \int_0^\infty e^{-\lambda t} \delta_{ij} dt - \int_0^\infty e^{-\lambda t} G_i'(t) \delta_{ij} dt \quad (3.32)$$

$$= \delta_{ij} \left(\frac{1}{\lambda} - \frac{1}{\lambda} G_i^*(\lambda) \right) \quad (3.33)$$

$$= \delta_{ij} \lambda^{-1} (1 - G_i^*(\lambda)) \quad (3.34)$$

3.3.2 Preuve de la proposition 3.2.1

La preuve de cette proposition vise à déterminer l'expression des équations de renouvellement $M_{ij}(t)$ relatives à l'application du processus de Bellman-Harris multi-type au cas du modèle hiérarchique. On a

$$M_{ij}(t) = \mathbb{E}[Z_j(t) \mid Z_i(0) = 1] \quad (3.35)$$

$$= \left. \frac{\partial}{\partial s_j} F_i(\mathbf{s}, t) \right|_{\mathbf{s}=\mathbf{1}} \quad (3.36)$$

Or d'après l'équation (3.6), il suit que

$$\begin{aligned} \frac{\partial}{\partial s_j} F_i(\mathbf{s}, t) &= \frac{\partial}{\partial s_j} \left[(1 - G_i(t)) s_i + \int_0^t f^{(i)}(F_1(\mathbf{s}, t - u), \dots, F_r(\mathbf{s}, t - u)) dG_i(u) \right] \\ &= (1 - G_i(t)) \delta_{ij} + \int_0^t \frac{\partial}{\partial s_j} f^{(i)}(F_1(\mathbf{s}, t - u), \dots, F_r(\mathbf{s}, t - u)) dG_i(u) \end{aligned} \quad (3.37)$$

Or

$$\begin{aligned} &\frac{\partial}{\partial s_j} f^{(i)}(F_1(\mathbf{s}, t - u), \dots, F_r(\mathbf{s}, t - u)) \quad (3.38) \\ &= \frac{\partial}{\partial s_j} \sum_{k_1 \geq 0} \dots \sum_{k_r \geq 0} F_1(\mathbf{s}, t - u)^{k_1} \dots F_r(\mathbf{s}, t - u)^{k_r} \mathbb{P}(\xi_{i1} = k_1, \dots, \xi_{ir} = k_r) \\ &= \sum_{k_1 \geq 0} \dots \sum_{k_r \geq 0} \frac{\partial}{\partial s_j} F_1(\mathbf{s}, t - u)^{k_1} k_1 F_1(\mathbf{s}, t - u)^{k_1 - 1} F_2(\mathbf{s}, t - u)^{k_2} \dots \\ &\quad F_r(\mathbf{s}, t - u)^{k_r - 1} + \frac{\partial}{\partial s_j} F_2(\mathbf{s}, t - u)^{k_2} k_2 F_2(\mathbf{s}, t - u)^{k_2 - 1} F_1(\mathbf{s}, t - u)^{k_1} \\ &\quad \dots F_r(\mathbf{s}, t - u)^{k_r - 1} + \dots \times [\mathbb{P}(\xi_{i1} = k_1, \dots, \xi_{ir} = k_r)] \end{aligned} \quad (3.39)$$

En prenant $\mathbf{s} = \mathbf{1}$ dans (3.39), on obtient

$$\begin{aligned}
& \frac{\partial}{\partial s_j} f^{(i)}(F_1(\mathbf{s}, t-u), \dots, F_r(\mathbf{s}, t-u)) \\
&= \sum_{k_1 \geq 0} \dots \sum_{k_r \geq 0} \left[\frac{\partial}{\partial s_j} F_1(\mathbf{1}, t-u)k_1 + \dots + \frac{\partial}{\partial s_j} F_r(\mathbf{1}, t-u)k_r \times \right] [\mathbb{P}(\nu_{i1} = k_1, \dots, \nu_{ir} = k_r)] \\
&= \sum_{k_1 \geq 0} \dots \sum_{k_r \geq 0} M_{ij}(t-u)k_1 + \dots + M_{rj}(t-u)k_r \times [\mathbb{P}(\xi_{i1} = k_1, \dots, \xi_{ir} = k_r)] \\
&= \frac{\partial}{\partial s_1} f^{(i)}(\mathbf{1})M_{1j}(t-u) + \dots + \frac{\partial}{\partial s_r} f^{(i)}(\mathbf{1})M_{rj}(t-u) \\
&= \sum_{\nu=1}^r \frac{\partial}{\partial s_\xi} f^{(i)}(\mathbf{1})M_{\xi j}(t-u)
\end{aligned}$$

D'où

$$M_{ij}(t) = (1 - G_i(t))\delta_{ij} + \sum_{\nu=1}^r \int_0^t \frac{\partial}{\partial s_\nu} f^{(i)}(\mathbf{s}) \Big|_{\mathbf{s}=\mathbf{1}} M_{\nu j}(t-u) dG_i(u) \quad (3.40)$$

$$= (1 - G_i(t))\delta_{ij} + \sum_{\nu=1}^r \int_0^t m_{ij} M_{\nu j}(t-u) dG_i(u) \quad (3.41)$$

Nous nous plaçons à présent dans le cas où $r = 3$. Il nous reste à déterminer les valeurs de m_{ij} . Pour le calcul de m_{11} , remarquons que

$$m_{11} = \frac{\partial}{\partial s_1} f^{(1)}(\mathbf{s}) \Big|_{\mathbf{s}=\mathbf{1}} \quad (3.42)$$

Or

$$f^{(1)}(\mathbf{s}) = \mathbb{P}(\xi_{11} = 2, \xi_{12} = 0, \xi_{13} = 0) s_1^2 s_2^0 s_3^0 + \mathbb{P}(\xi_{11} = 1, \xi_{12} = 1, \xi_{13} = 0) s_1^1 s_2^1 s_3^0 \quad (3.43)$$

$$= p_1 s_1^2 + p_2 s_1 s_2 \quad (3.44)$$

En dérivant par rapport à s_1 et en prenant $s_1 = s_2 = 1$, on obtient $m_{11} = 2p_1 + p_2$. Tous les autres résultats de calcul s'obtiennent de la même façon.

3.4 Discussion

La modélisation de la prolifération cellulaire par un processus de branchement de Bellman-Harris est une piste intéressante en raison de l'adaptabilité de cet outil à plusieurs types de cellules ainsi qu'à sa fidélité biologique. Des résultats concernant le comportement asymptotique de ce processus sont donnés dans la littérature [69, 46] et peuvent être exploités dans un contexte biologique tel que celui de la prolifération cellulaire. Notre objectif était d'étudier plus en détails l'hétérogénéité cellulaire afin de mieux comprendre le comportement des différentes sous-populations et d'établir un système d'équations décrivant leur évolution en temps.

Dans ce chapitre, nous avons exploité les propriétés des processus de branchement afin de déterminer un système d'équation de renouvellement dont les solutions permettent de connaître les effectifs moyens des différents types de cellules considérés. Les distributions de probabilité relatives à loi de reproduction ainsi qu'à la durée de vie ont été adaptées aux connaissances

biologiques. Cependant, l'analyse du système d'équations ne nous a pas permis d'en déduire la solution explicite. C'est ce dernier point qui a limité notre étude. Nous avons fait le choix de ne pas faire d'hypothèses simplificatrices, comme par exemple se limiter à un seul type de cellules ou imposer une durée de cycle de loi exponentielle. La première simplification s'éloigne de notre problématique tandis que la seconde n'est clairement pas en adéquation avec la biologie. Face à ces mêmes difficultés calculatoires, certains auteurs envisagent de mettre au point un modèle numérique du processus de Bellman-Harris multi-type [50]. Nous avons également fait le choix de cette alternative et avons poursuivi nos recherches dans cette direction.

Chapitre 4

Modélisation numérique de l'hétérogénéité intra-tumorale

Il vaut mieux viser la perfection et la manquer que viser l'imperfection et l'atteindre.

B. Russell

Sommaire

4.1	Objectifs du simulateur	54
4.2	Modélisation de la prolifération cellulaire	54
4.2.1	Hypothèses biologiques	54
4.2.2	Description de l'algorithme	55
4.2.3	Choix des paramètres du modèle de simulation	55
4.2.4	Résultats numériques	58
4.2.5	Ajustement d'un modèle exponentiel aux données simulées	61
4.2.6	Premiers éléments de comparaison avec les données biologiques	63
4.3	Modélisation d'un traitement par radiothérapie	64
4.3.1	Le modèle linéaire quadratique	64
4.3.2	Intégration de l'effet du traitement dans le modèle numérique	65
4.3.3	Choix des paramètres	66
4.3.4	Résultats numériques	66
4.4	Discussion	66

Dans ce chapitre, nous avons développé un modèle numérique de croissance tumorale basé sur le processus de Bellman-Harris multi-type présenté au chapitre 3.

La première partie est consacrée à la mise en place de notre simulateur reproduisant l'évolution d'un glioblastome composé de trois sous-populations cellulaires : les CSC, les cellules T et les cellules D. Il s'agit d'un modèle à l'échelle microscopique où les cellules prolifèrent et meurent selon des hypothèses discutées en accord avec les biologistes. Le comportement et la durée de vie des cellules diffèrent selon leur type. Certains paramètres du modèle ont été ajustés en fonction des données connues de la littérature et des données expérimentales présentées au chapitre 6. Les courbes de croissance en fonction du temps nous permettent d'observer l'évolution des fréquences relatives des différents types de cellules. Ces courbes ont été ajustées par un modèle de

type exponentiel. La réponse au traitement par radiothérapie fait l'objet de la seconde partie de ce chapitre. L'algorithme précédent est enrichi afin de modéliser les effets des rayonnements sur les différentes populations cellulaires. Pour cela, le modèle linéaire quadratique est utilisé et les résultats numériques sont présentés.

4.1 Objectifs du simulateur

Parmi les objectifs à court terme du simulateur, nous souhaitons visualiser les allures de croissance des trois types cellulaires du modèle de branchement décrit au chapitre 3. Nous accordons une importance particulière aux mécanismes de prolifération en intégrant au simulateur le plus d'informations pertinentes et disponibles sur ce point. D'autre part, nous souhaitons pouvoir moduler les valeurs des différents paramètres au niveau de la cellule afin d'en comprendre l'impact sur la croissance. Dans ce premier temps, un modèle numérique simplifié, qui ne tient pas compte du micro-environnement de la tumeur, est envisagé.

A plus long terme, l'objectif principal est de pouvoir simuler les effets de différents schémas thérapeutiques qui tiennent compte de toutes les données disponibles concernant l'hétérogénéité intra-tumorale et de comparer ces simulations avec les données du protocole standard qui est actuellement délivré dans la pratique clinique.

4.2 Modélisation de la prolifération cellulaire

4.2.1 Hypothèses biologiques

Prolifération cellulaire : le modèle hiérarchique

La prolifération cellulaire est un processus biologique naturel qui permet à une cellule d'en produire deux nouvelles. Dans le chapitre précédent, nous avons modélisé ce phénomène à l'aide d'un processus de branchement de Bellman-Harris multi-type. Rappelons que d'un point de vue biologique, nous considérons que la tumeur se compose de trois sous-populations de cellules (CSC, T et D) conformément au modèle hiérarchique dans lequel chacun des types possède ses propres règles de prolifération. L'ensemble des simulations repose sur les hypothèses déjà formulées dans le chapitre 3.

Micro-environnement et mort des cellules

Notre étude porte sur la croissance d'un glioblastome à son stade avasculaire. Le nombre de cellules cancéreuses est suffisamment faible pour que les conséquences de l'hypoxie soient ignorées mais l'algorithme a été conçu de sorte que ces mécanismes puissent être considérés dans de futurs travaux. Ce choix est justifié par des études montrant que des tumeurs dont la taille est inférieure à 1mm sont parfaitement oxygénées [93]. Cependant, le mort des cellules par apoptose, qui est une mort naturelle, pouvant intervenir dès les premiers jours de croissance est prise en compte.

Taille de la tumeur

Les simulations numériques dont sont issus les résultats sont basées sur une population totale de cellules de l'ordre de 10^4 (jusqu'à 10^7) cellules. Au delà de ce nombre, le temps de calcul devient prohibitif par rapport aux performances de calcul dont on dispose avec l'algorithme utilisé. Notons que ce nombre de cellules est suffisamment élevé pour nous permettre de modéliser l'effet

thérapeutique. Les expériences biologiques relatives au comptage des CSC exposées au chapitre 6 portent sur une population de 10^5 cellules.

4.2.2 Description de l'algorithme

Nous nous sommes inspirés de l'algorithme de croissance tumorale conçu par Tuckwell *et al* [102]. Leur modèle est à l'échelle cellulaire et tient compte des effets de l'hypoxie sur la mortalité des cellules, qui sont de plusieurs types possibles. Il s'agit d'une approche numérique d'un processus de branchement de Bellman-Harris multi-type. Nous avons donc adapté et modifié cet algorithme de sorte qu'il puisse simuler l'évolution des cellules en tenant compte des informations biologiques à notre disposition.

Chaque cellule biologique dans le modèle numérique est déclarée comme un objet. Chaque objet tient compte de trois attributs par cellule : son type, la durée de son cycle ainsi que l'instant de division de la cellule. Chaque cellule mère qui se divise crée deux nouvelles cellules filles. Une fois que la division cellulaire a eu lieu, la cellule mère cesse d'exister et les deux nouvelles cellules sont affectées de leurs attributs respectifs avant d'être stockées dans le tableau. Dans ce tableau, chaque ligne correspond à une pile de cellules. Les cellules sont rangées dans une pile selon leur instant de division. Toutes les cellules d'une même pile se divisent dans la même tranche horaire. Une fois que l'ensemble des cellules de la pile a été traité, la pile est vidée. Nous avons fixé le nombre de piles du tableau à 60, ce qui suppose que le temps de cycle cellulaire maximal est de 60 heures. Une pile supplémentaire contenant uniquement les cellules différenciées, pour lesquelles le temps de vie est très supérieur à 60h a été ajoutée au tableau afin de les gérer séparément des autres cellules. La dynamique de prolifération et de stockage des cellules est expliquée à la figure 4.1.

Pour comprendre cette dynamique, prenons par un exemple une cellule qui doit se diviser à l'instant $t = 32\text{h}21\text{min}$ (elle est donc rangée dans la pile 33, égale à la partie entière de t à laquelle on ajoute 1 ; cette pile contient toutes les cellules qui se divisent entre $t = 32\text{h}$ et 33h). Alors, à $t = 32\text{h}21$, 2 cellules sont créées. Leur type et leur temps de cycle sont tirés aléatoirement selon les hypothèses faites dans le processus de branchement (voir paragraphe suivant). Supposons que la première cellule ait un temps de cycle de 23h, elle se divisera à $t = 55\text{h}21$, et cette cellule sera rangée dans la pile 56. Supposons que la seconde ait un temps de cycle de 30h et se divise donc à $t = 62\text{h}21$, alors elle sera rangée dans la pile 3.

Pour comprendre le mécanisme de division cellulaire, prenons par exemple une CSC. Le type de ses cellules filles est conditionné par les probabilités de division : avec une probabilité p_1 elle produit deux nouvelles CSC, avec une probabilité p_2 une CSC et une cellule T et avec une probabilité p_3 deux cellules T. Une dernière possibilité consiste à faire mourir les CSC par apoptose selon le paramètre t_{apo} . Une vue générale de l'enchaînement des mécanismes menant à la croissance tumorale est présentée à la figure 4.2 .

4.2.3 Choix des paramètres du modèle de simulation

L'ensemble des valeurs des paramètres ainsi que les références sont résumés dans le tableau 4.1. Tous les attributs des cellules du modèle de croissance sont déterminés lors de la création de la cellule et restent constants tout au long de sa vie.

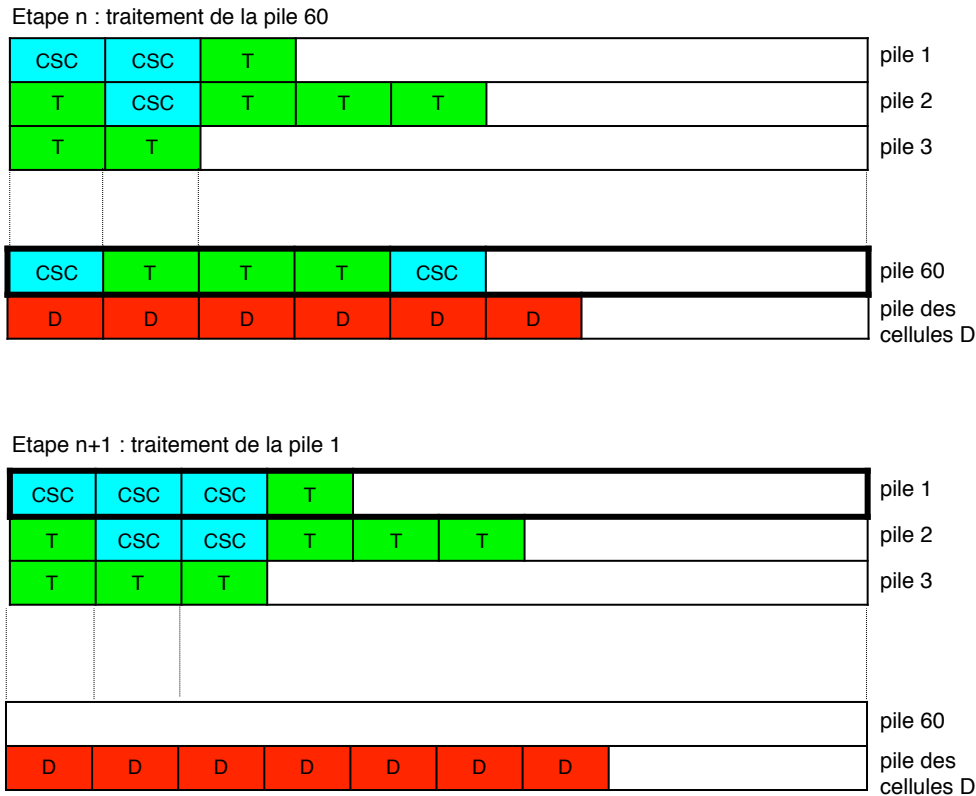


FIGURE 4.1 – Schéma explicatif du stockage des cellules. La pile 60 est traitée et chacune des cellules présente va proliférer. Les cellules filles viendront se placer dans le tableau conformément à leur temps de cycle. A l'étape suivante, c'est au tour de la pile 1 d'être traitée.

Les valeurs des paramètres biologiques ont été déterminées à partir des données de la littérature ainsi que des expérimentations réalisées au laboratoire. Le choix des lois est inspiré des travaux de Tuckwell [102]. En ce qui concerne les données de la littérature, notre intérêt portant sur les glioblastomes, nous avons dans la mesure du possible, sélectionné les études se rapportant à ce type de tumeurs. Cependant, il convient de rester prudent avec les valeurs utilisées car elles ont été obtenues dans des conditions expérimentales qui ne sont pas toujours identiques au contexte désiré. Par exemple, des valeurs se réfèrent à des tumeurs cérébrales dont l'étude ne précise pas s'il s'agit de glioblastomes ou bien de gliomes de bas grade.

Aucune étude relative aux probabilités de division des cellules d'un glioblastome n'a, pour le moment, été réalisée. Dans l'idéal, il conviendrait de pouvoir estimer les valeurs des probabilités p_1 , p_3 et p_4 . Pour l'instant, nous avons fixé les valeurs suivantes : $p_3 = 0.01$ et $p_4 = 0.6$ et faisons varier la valeur de p_1 . La valeur de p_3 peut sembler extrêmement faible mais si l'évènement de division d'une CSC en deux T est trop fréquent, notamment dans les premiers jours de la croissance, la tumeur cessera d'évoluer et mourra. Notons que certaines études considèrent cette occurrence comme nulle [102].

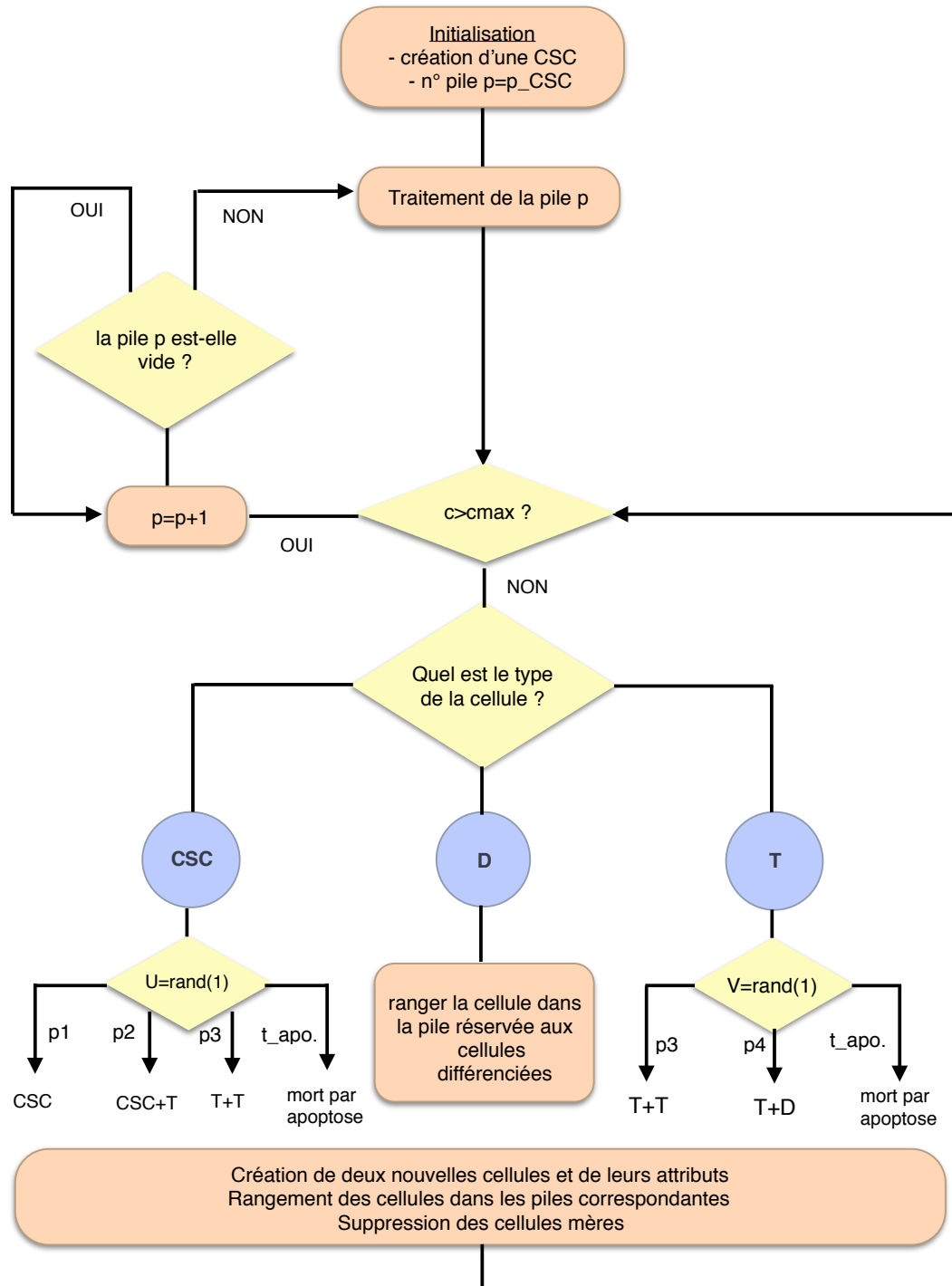


FIGURE 4.2 – Schéma de principe de l’organigramme de croissance tumorale.

Paramètre	Distribution	Valeur	Références
Durée de quiescence (CSC et T)	$\mathcal{E}(\lambda)$	$\lambda = 5\text{h}$	[110]
Durée du cycle cellulaire des cellules CSC	$\mathcal{N}(m_1, \sigma_1)$	$m_1 = 33\text{h}, \sigma_1 = 3\text{h}$	[94]
Durée du cycle cellulaire des cellules T	$\mathcal{N}(m_2, \sigma_2)$	$m_2 = 27\text{h}, \sigma_2 = 6\text{h}$	Expérimentations
Probabilité de division CSC \rightarrow CSC + CSC	p_1	$p_1 \in I_1 = [0, 1; 0, 8]$	inconnue
Probabilité de division CSC \rightarrow CSC + T	p_2	$p_2 = 1 - p_1 - p_3 - t_{\text{apo.}}$	inconnue
Probabilité de division CSC \rightarrow T + T	p_3	$p_3 = 0.01$	inconnue
Probabilité de division T \rightarrow T + T	p_4	$p_4 = 0.6$	inconnue
Probabilité de division T \rightarrow T + D	p_5	$p_5 = 1 - p_4 - t_{\text{apo.}}$	inconnue
Taux d'apoptose	constante	$t_{\text{apo.}} = 3\%$	Expérimentations

TABLE 4.1 – Valeurs des paramètres intervenant dans l'algorithme de croissance tumorale.

4.2.4 Résultats numériques

Il est assez évident que le nombre de CSC au cours de la croissance est influencé par p_1 , la probabilité de division d'une CSC en deux CSC. Nous nous intéressons à l'influence de cette probabilité p_1 sur la croissance tumorale globale. Différentes simulations de Monte-Carlo sont réalisées pour des valeurs de p_1 variant de 0.1 à 0.8 par pas de 0.1. Le problème d'estimation de la valeur de ce paramètre est traité au chapitre 5.

Evolution du nombre de cellules selon la probabilité de division symétrique p_1

Nous présentons les résultats pour deux valeurs éloignées de p_1 (0.1 et 0.8) afin d'avoir une première idée de l'allure des courbes de croissance ainsi que de l'influence de ce paramètre sur l'hétérogénéité intra-tumorale. Tous les autres paramètres sont fixés selon les valeurs du tableau 4.1.

Pour $p_1 = 0.1$

On étudie l'évolution du nombre de cellules (CSC, T et D) sur une période de 25 jours. Nous avons réalisé une simulation de Monte-Carlo comprenant $n = 500$ jeux de données. Les résultats de ces simulations sont représentés à la figure 4.3. Lorsque la probabilité de division p_1 est faible, on constate que le nombre de CSC à 25 jours est également très faible (2 cellules en moyenne). Il est alors difficile d'en extraire une tendance de croissance. Pour ce qui concerne les cellules T et D, une croissance de type exponentielle se dégage clairement des courbes obtenues.

S'il est actuellement possible de suivre en temps réel le nombre total de cellules dans une culture cellulaire, il n'est en revanche pas possible d'obtenir les décomptes par type. Néanmoins, les analyses biologiques permettent de mesurer la fréquence relative de CSC par prélèvements d'échantillons à certains instants du temps. De ce fait, les résultats des simulations sont représentées sous forme de fréquences relatives (nombre de cellules d'un type donné divisé par le nombre de cellules total) à la figure 4.4.

Remarque 4.2.1. Seules les cellules CSC et T sont représentées sur la figure 4.4 puisque la fréquence relative des cellules D est entièrement déterminée par celles des deux précédentes.

D'après ces premiers éléments, nous pouvons émettre l'hypothèse qu'il y a convergence des fréquences relatives vers des fréquences théoriques pour une valeur de p_1 fixée. La fréquence

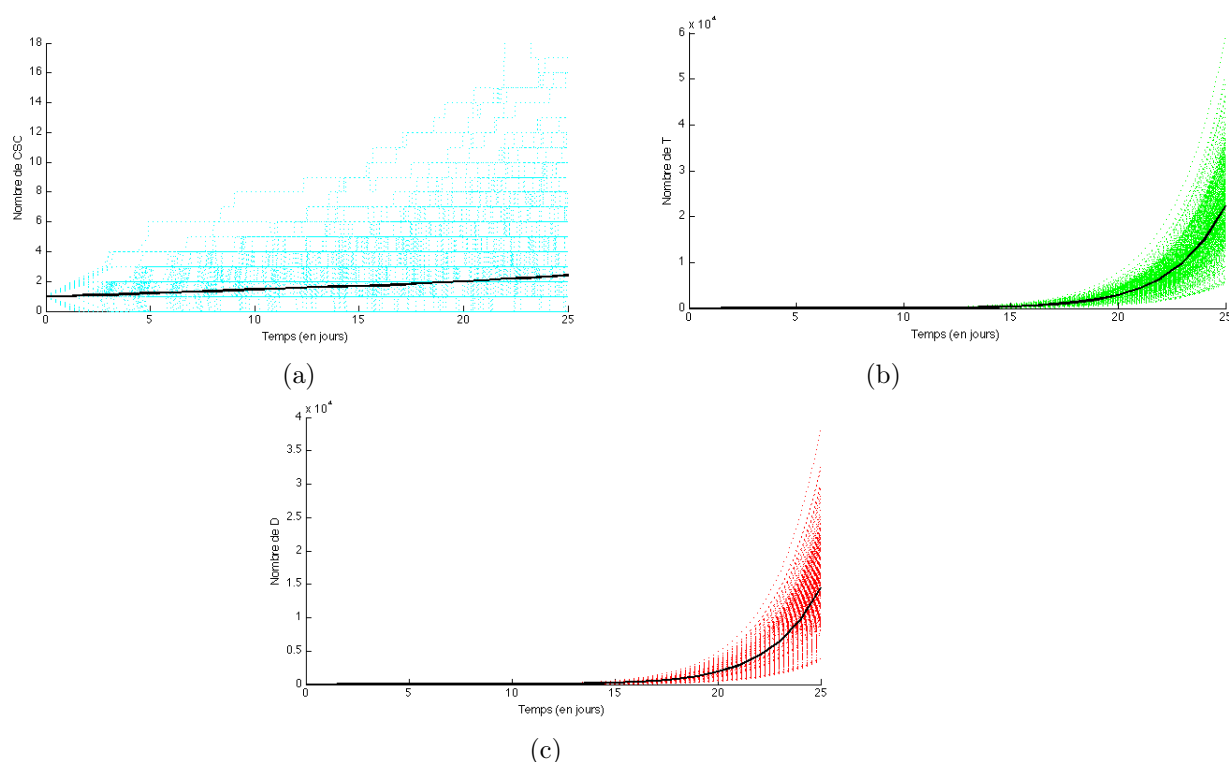


FIGURE 4.3 – Evolution du nombre de cellules au cours du temps pour $p_1 = 0.1$. L'évolution est représentée sur une période de 25 jours avec $p_1 = 0.1$ pour les trois types de cellules a) CSC, b) T et c) D. La courbe moyenne, évaluée à partir de 500 réalisations, apparaît en gras noir.

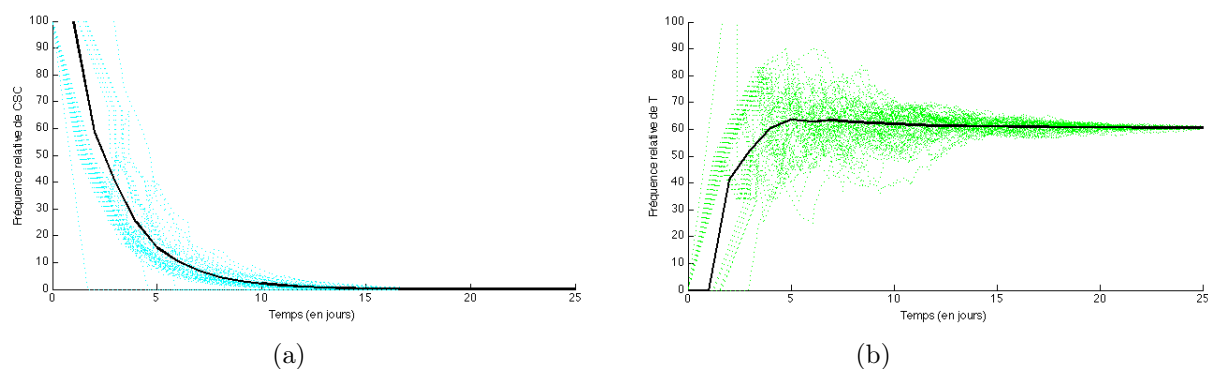


FIGURE 4.4 – Evolution de la fréquence relative au cours du temps pour $p_1 = 0.1$. L'évolution est représentée sur une période de 25 jours pour les deux types de cellules a) CSC et b) T. La courbe moyenne, évaluée à partir de 500 réalisations, apparaît en gras noir.

relative des CSC décroît de manière exponentielle et semble tendre vers une limite nulle tandis que celle de la population des cellules T semble converger vers une fréquence relative de l'ordre de 60%. Ceci signifie donc qu'avec un paramètre p_1 fixé à 0.1, le fréquence relative des cellules D à 30 jours est de l'ordre de 40%. Les histogrammes de ces fréquences relatives à la fin de la simulation (*i.e.* à 25 jours de croissance) sont représentés à la figure 4.5.

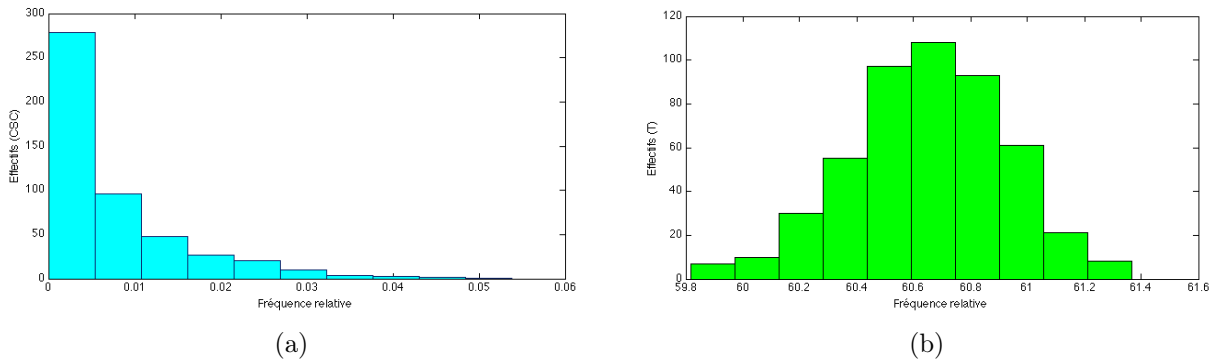


FIGURE 4.5 – Histogramme des fréquences relatives pour $p_1 = 0.1$. (a) CSC, (b) T.

Pour $p_1 = 0.8$

Désormais, nous nous intéressons à une valeur de $p_1 = 0.8$. D'après la figure 4.6, il est clair que, pour une valeur de $p_1 = 0.8$, l'évolution du nombre de cellules au cours du temps est d'allure exponentielle pour les trois types de cellules, ce qui concorde avec les résultats théoriques du chapitre précédent.

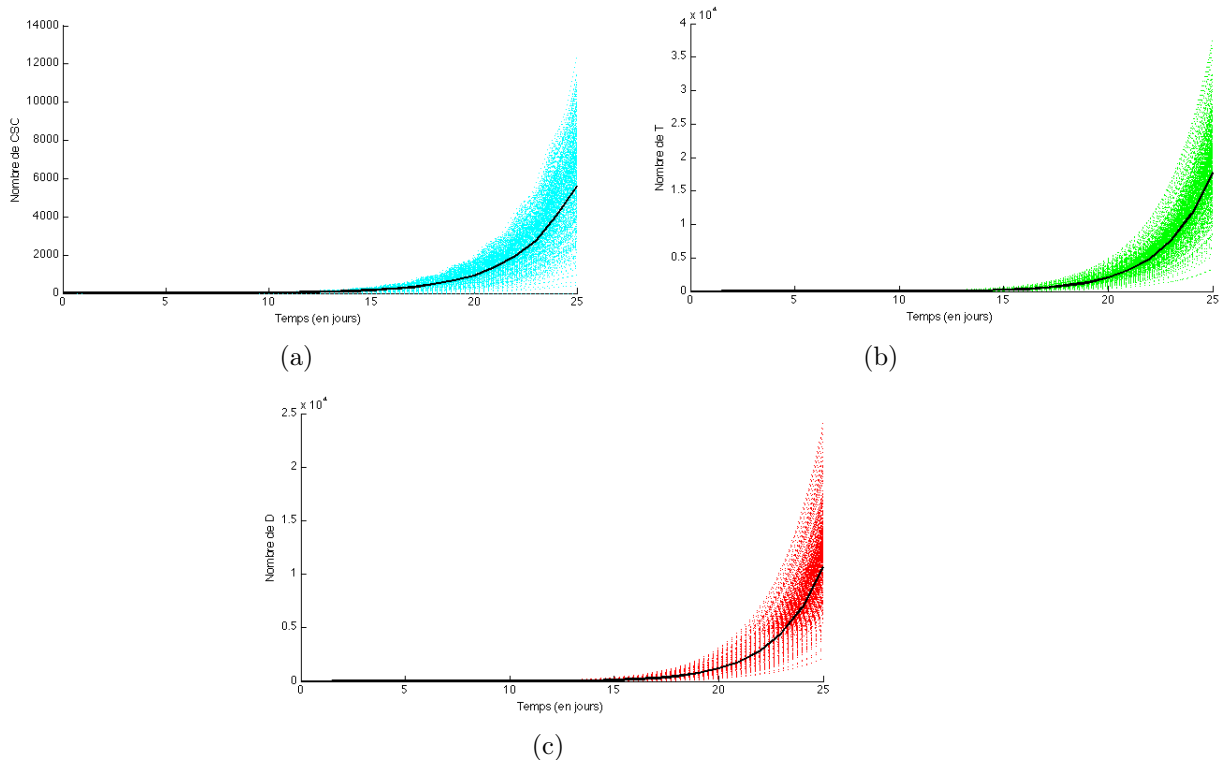


FIGURE 4.6 – Evolution du nombre de cellules au cours du temps pour $p_1 = 0.8$. L'évolution est représentée sur une période de 25 jours pour les trois types de cellules a) CSC, b) T et c) D. La courbe moyenne, évaluée à partir de 500 réalisations, apparaît en gras noir.

Comme nous l'avons fait pour $p_1 = 0.1$, nous représentons l'évolution des fréquences relatives

au cours du temps à la figure 4.7 ainsi que l’histogramme des fréquences relatives des CSC à 25 jours de croissance (Fig 4.8). De façon évidente, la convergence est beaucoup moins rapide que pour $p_1 = 0.1$. Elle n’est d’ailleurs pas atteinte à 25 jours.

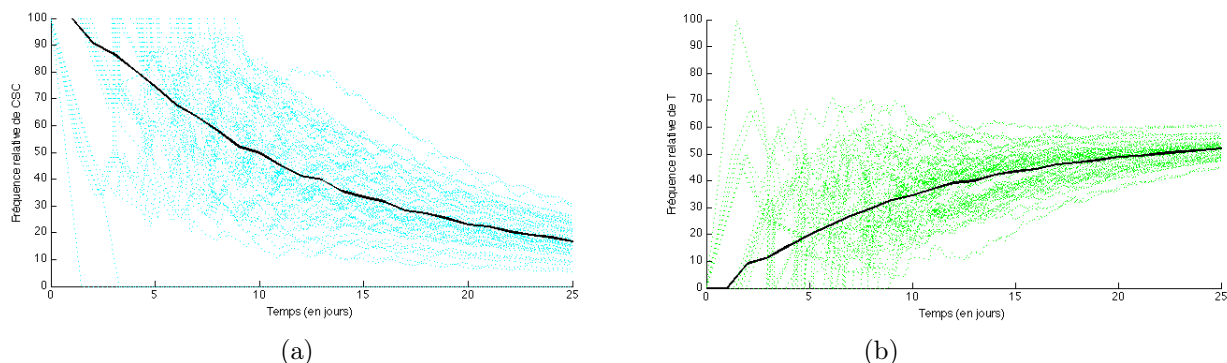


FIGURE 4.7 – Evolution de la fréquence relative au cours du temps pour $p_1 = 0.8$. L’évolution est représentée sur une période de 25 jours pour les deux types de cellules a) CSC et b) T. La courbe moyenne, évaluée à partir de 500 réalisations, apparaît en gras noir.

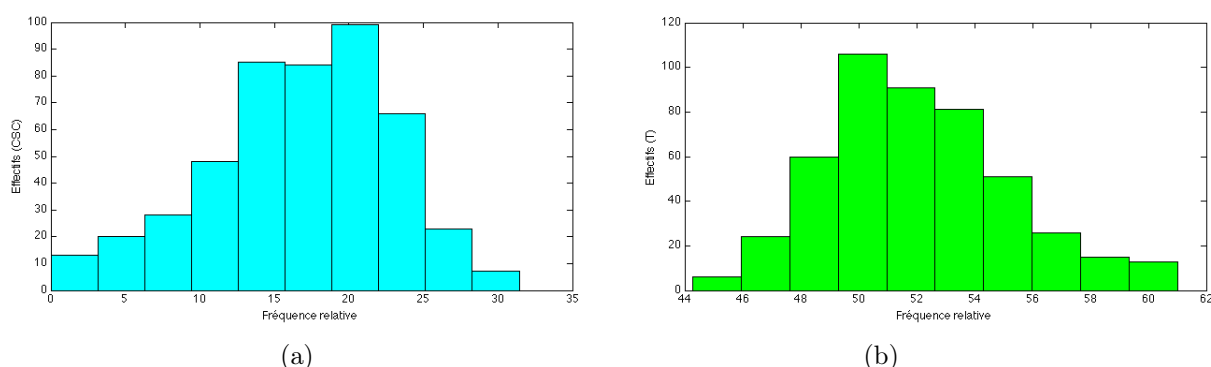


FIGURE 4.8 – Histogramme des fréquences relatives à 25 jours de croissance. a) CSC, b) T.

4.2.5 Ajustement d’un modèle exponentiel aux données simulées

D’après le théorème 3.1.13 du chapitre 3, le comportement asymptotique du nombre moyen de cellules est de nature exponentiel. Notre objectif étant de travailler avec des tumeurs de plus grande taille, nous effectuons un ajustement des données à l’aide d’un modèle exponentiel. Il s’agit d’un modèle moyen dans le sens où les données ajustées correspondent aux moyennes des différents types de cellules à plusieurs instants du temps.

Le modèle est du type $f(t) = ae^{bt}$ où a et b sont les deux paramètres estimés par moindre carrés : a représente le nombre de cellules à $t = 0$, b est le taux de croissance intrinsèque et t le temps. Pour $p_1 = 0.1$, les estimations des coefficients a et b valent :

$$a = 0.8761 \pm 0.0125 \quad \text{et} \quad b = 0.4069 \pm 0.0008$$

et la représentation graphique de l’ajustement est donnée à la figure 4.9. Nous remarquons que

le modèle exponentiel s'ajuste bien aux données moyennes.

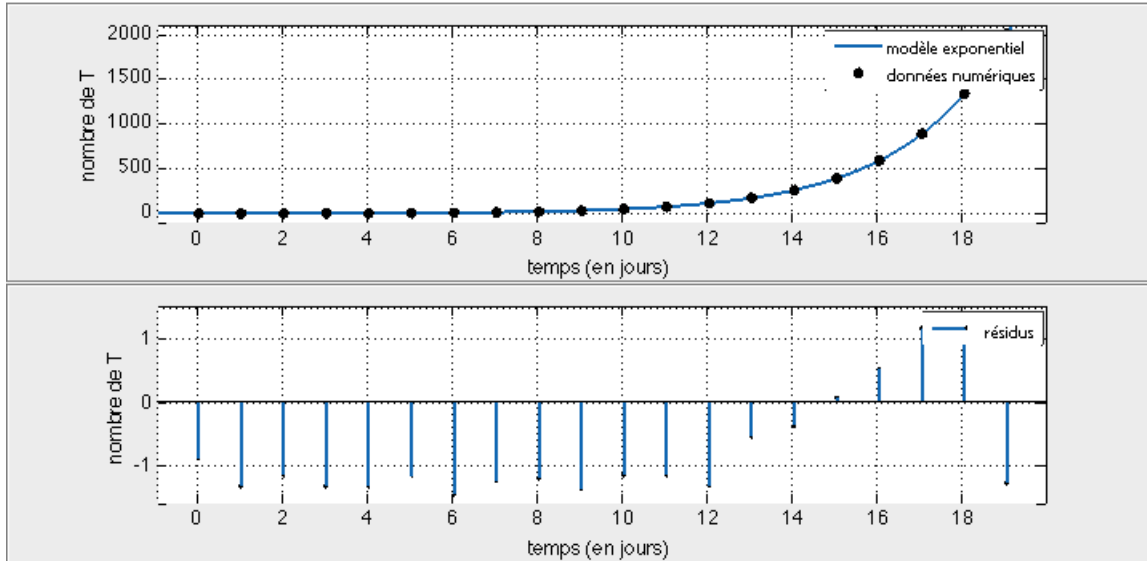


FIGURE 4.9 – Ajustement d'un modèle exponentiel à l'évolution du nombre moyen de cellules T pour $p_1 = 0.1$. La courbe du bas représente l'erreur d'estimation.

L'estimation présentée à la figure 4.9 est réalisée à partir d'un extrait des données simulées pour les 20 premiers jours de croissance. Pour tester sa capacité d'extrapolation, le modèle exponentiel est alors testé sur 25 jours et comparé aux données issues du simulateur. (Fig. 4.10).

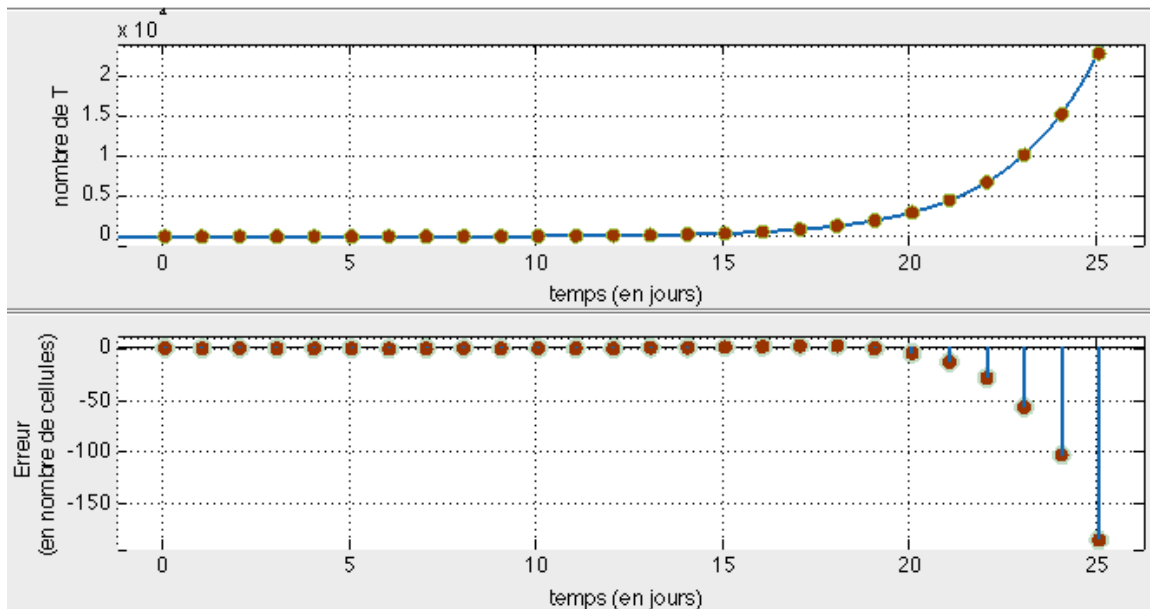


FIGURE 4.10 – Simulation du modèle exponentiel de la croissance des cellules T sur 25 jours. La courbe du bas représente l'erreur de simulation.

L'erreur d'extrapolation à 25 jours pour un modèle ajusté sur les 20 premiers jours est de l'ordre de 1%. Pour travailler à des échelles tumorales plus importantes, il serait envisageable d'utiliser un tel modèle et de s'affranchir de la puissance de calcul que nécessiterait la simulation du processus de Bellman-Harris multi-type. Une stratégie qui consisterait à commuter du processus vers le modèle exponentiel n'a pas été plus approfondie pour l'instant.

Remarque 4.2.2. Pour des valeurs de p_1 faibles, le modèle d'ajustement à la moyenne des CSC n'a pas de sens car cette moyenne est peu représentative des données. D'autre part, nous ne présentons pas l'ensemble des ajustements avec les différentes valeurs de p_1 et des types de cellules car les résultats sont du même type que ceux présentés précédemment.

4.2.6 Premiers éléments de comparaison avec les données biologiques

Nous ne disposons pas de suffisamment de données biologiques permettant de valider le modèle numérique que nous proposons. Il est toutefois possible de comparer les résultats numériques avec les données des essais clonogéniques présentés au chapitre 6. Ces essais clonogéniques permettent de déterminer le nombre de CSC présentes parmi 10^5 cellules totales. Leurs proportions sont comparées à celles provenant du simulateur. Notons que le simulateur, à 25 jours de croissance, ne fournit qu'un nombre de cellules totales de l'ordre de $4 \cdot 10^4$. Cependant, augmenter la durée de croissance pour atteindre 10^5 cellules augmenterait sensiblement le temps de calcul au détriment du nombre de jeux de données dans une simulation de Monte-Carlo.

La figure 4.11 montre la répartition de la proportion de CSC, observée pour les 54 fragments de tumeurs analysés. Ces proportions se répartissent entre 0.2% et 1.4%, la moyenne étant de 0.46%. A partir de ces informations, dans le but d'avoir une première idée de la valeur de p_1 , nous avons renouvelé 8 simulations de Monte-Carlo ($n = 500$ jeux de données) pour des valeurs de p_1 variant de 0.1 à 0.8 par pas de 0.1. La proportion moyenne de CSC observée à 25 jours est représentée en fonction de p_1 à la figure 4.12. D'après ces premiers éléments, on peut inférer par inversion que la valeur de p_1 est comprise entre 0.3 et 0.6. Ce résultat est toutefois à nuancer par le fait qu'il est obtenu pour une valeur fixée de la probabilité p_3 et du couple (p_4, p_5) .

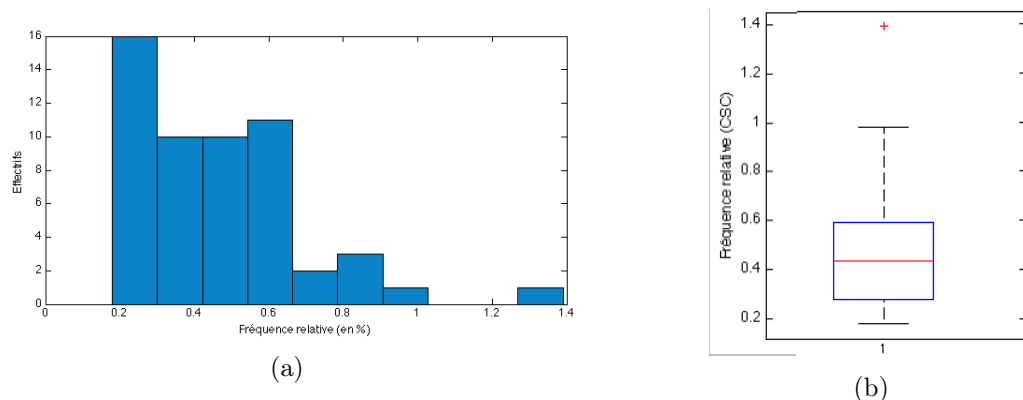


FIGURE 4.11 – (a) Histogramme de la proportion de CSC. Les données sont issues des expérimentations biologiques. Le pourcentage est calculé pour 10^5 cellules totales. (b) Boîte à moustaches de la répartition des proportions.

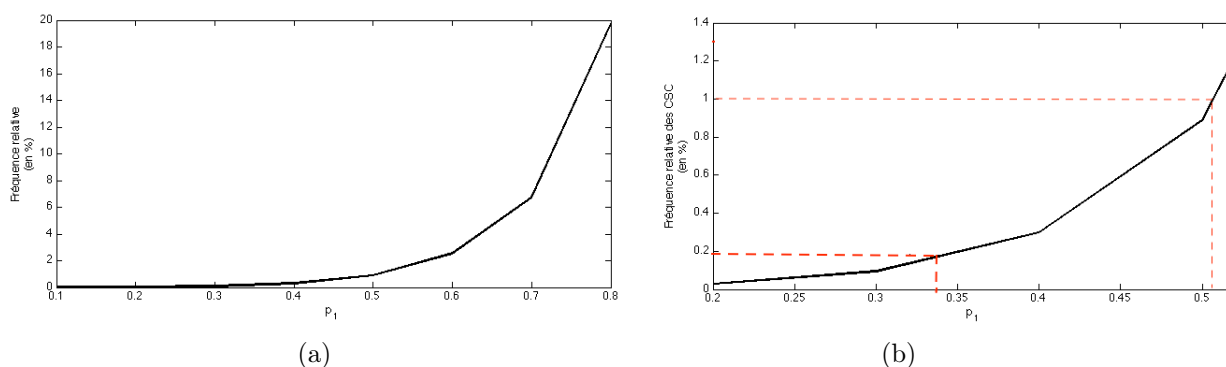


FIGURE 4.12 – Fréquence relative de CSC en fonction de p_1 à 25 jours. a) p_1 varie de 0.1 à 0.8, b) p_1 varie de 0.2 à 0.5

4.3 Modélisation d'un traitement par radiothérapie

La simulation numérique de la croissance tumorale peut présenter un intérêt pour le thérapeute si elle intègre la réponse aux traitements. Dans le cas de la radiothérapie, le modèle de référence pour les praticiens est le modèle linéaire quadratique (LQ) [94]. Le modèle LQ est utilisé en pratique afin de calculer des équivalents de doses de traitement. Pour une même dose totale les résultats ne seront pas les mêmes selon le fractionnement et la dose délivrée à chaque séance. Deux doses sont équivalentes en terme d'effet biologique, c'est-à-dire donnant le même taux de survie cellulaire.

4.3.1 Le modèle linéaire quadratique

La radiosensibilité des cellules saines ou d'origine tumorale est déterminée par la réalisation de courbes de survie après un traitement par irradiation. Plus la dose délivrée est forte, plus la proportion des cellules survivantes va diminuer. La courbe de survie est la représentation de ce phénomène sur un plan statistique. Les premières courbes de survie relatives à des cellules animales ont été obtenues expérimentalement par Puck et Markus en 1956 [78]. Le modèle qui ajuste le mieux ces courbes de survie de cellules de mammifères est le modèle LQ introduit par Fowler [38]. Ce modèle explique le rapport mathématique entre la dose délivrée et la fraction de cellules survivantes par l'équation suivante :

$$S = e^{-(\alpha d + \beta d^2)} \quad (4.1)$$

où S est la fraction de survie à la dose d considérée et α et β sont deux paramètres inconnus du modèle. L'interprétation biologique de ces deux paramètres reste inexplicée mais ils sont tout de même très fréquemment expliqués en terme de lésions au niveau de l'ADN. En effet, à la suite d'une exposition aux radiations le modèle linéaire quadratique suppose que la mort cellulaire peut être due :

- à des lésions létales d'emblée, non réparables (composante α du modèle) ;
- à l'accumulation de lésions sublétales (composante β du modèle).

Ainsi, chaque tissu peut être caractérisé par un rapport α / β qui reflète la radiosensibilité au fractionnement. Il est difficile d'évaluer la radiosensibilité des cellules car elle varie en fonction de la phase des cellules dans le cycle cellulaire, de leur degré d'oxygénation ou des paramètres

liés à la technique d'irradiation comme la nature du rayonnement, le fractionnement et la dose [5]. Les valeurs rapportées pour α et β sont très variables d'une étude à l'autre [28].

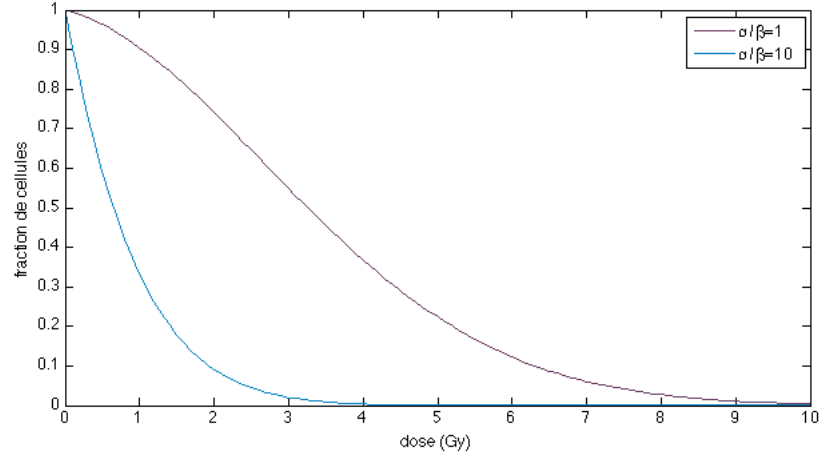


FIGURE 4.13 – Evolution de la fraction de survie des cellules tumorales en fonction de la dose délivrée. Les courbes de survie sont représentées pour deux rapports α/β différents : $\alpha/\beta = 1$ et $\alpha/\beta = 10$

Ces dernières années, plusieurs études suggèrent que l'hétérogénéité intra-tumorale est un facteur clé dans le développement d'une résistance thérapeutique. En particulier, selon plusieurs études, les CSC seraient des cellules très résistantes aux traitements anti-cancéreux [27]. Ces caractéristiques ont été rapportées dans la littérature, en particulier pour le glioblastome [10]. Un intérêt croissant est accordé aux stratégies thérapeutiques à adopter face à cette découverte [5]. Dès lors, on peut se demander si le pourcentage de CSC au sein d'une tumeur a un impact sur la radiosensibilité. C'est dans l'optique de répondre à cette question que nous avons fait l'hypothèse de différencier les paramètres du modèle LQ en fonction du type de cellule. Ce choix nous conduit à gérer trois équations de la forme :

$$S_{\text{CSC}} = e^{-(\alpha_{\text{CSC}}d + \beta_{\text{CSC}}d^2)} \quad (4.2)$$

$$S_{\text{T}} = e^{-(\alpha_{\text{T}}d + \beta_{\text{T}}d^2)} \quad (4.3)$$

$$S_{\text{D}} = e^{-(\alpha_{\text{D}}d + \beta_{\text{D}}d^2)} \quad (4.4)$$

avec d la dose délivrée et $\alpha_{\text{CSC}}, \alpha_{\text{T}}, \alpha_{\text{D}}, \beta_{\text{CSC}}, \beta_{\text{T}}, \beta_{\text{D}}$ des paramètres du modèle.

4.3.2 Intégration de l'effet du traitement dans le modèle numérique

La modélisation des effets d'un traitement par radiothérapie est envisageable à partir d'un certain volume tumoral (de l'ordre de 10^4 cellules pour les expérimentations biologiques). Le modèle linéaire quadratique permet de calculer, pour chaque type, la fraction de cellules survivantes. Ainsi, pour chaque pile de l'algorithme, conformément à ce calcul, une partie des cellules est supprimée. D'un point de vue pratique, chaque pile est ordonnée en deux parties. La première partie contient les CSC tandis que la seconde est réservée aux cellules T (pour rappel, les cellules D sont gérées dans une pile à part). Les cellules touchées sont choisies aléatoirement dans la pile et leur mort est instantanée. Ceci n'est pas tout à fait en accord avec la réalité biologique.

En effet, à partir du moment où une cellule est touchée, elle va poursuivre son cycle jusqu'au prochain point de contrôle qui va déterminer de sa mort ou non. Entre l'instant du rayonnement et la mort de la cellule, il peut se passer plusieurs heures, c'est un effet retardé. Face à la complexité de ce phénomène, nous avons fait le choix, à ce stade de développement du simulateur, de ne pas en tenir compte. Après suppression de l'ensemble des cellules touchées, l'algorithme de simulation de la croissance reprend selon le principe décrit pour la prolifération cellulaire.

4.3.3 Choix des paramètres

Comme nous l'avons déjà mentionné précédemment, les valeurs des paramètres α et β du modèle LQ sont très variables d'une étude à l'autre. Une étude récente menée par Leder et son équipe [64] fournit une estimation de ces paramètres. A partir de données issues de gliomes prélevés sur des rats, les valeurs proposées sont résumées dans le tableau 4.14. Ce sont ces valeurs que nous avons utilisées pour les simulations numériques de la réponse au traitement.

Paramètre	Symbole	Valeur
Dose quotidienne (Gy)	d	2
Probabilité d'un évènement directement léthal (CSC)	α_{CSC}	0.00987
Probabilité d'un évènement sublétal (CSC)	β_{CSC}	$1.14 \cdot 10^{-8}$
Probabilité d'un évènement directement léthal (T,D)	$\alpha_{\text{T}}, \alpha_{\text{D}}$	0.0987
Probabilité d'un évènement sublétal (T,D)	$\beta_{\text{T}}, \beta_{\text{D}}$	$1.14 \cdot 10^{-7}$

FIGURE 4.14 – Valeurs des paramètres relatifs au traitement intervenant dans l'algorithme de croissance tumorale.

4.3.4 Résultats numériques

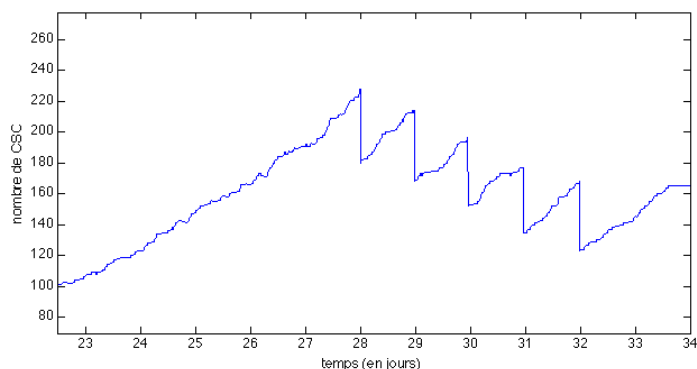
Le traitement est appliqué à partir du 28^{ème} jour de croissance, et conformément à la pratique clinique, une dose de 2 Gy est délivrée quotidiennement durant 5 jours consécutifs avant d'être interrompue durant 2 jours. Les fractions de cellules survivantes sont calculées conformément au modèle LQ. Les valeurs des paramètres α et β sont celles présentées dans le tableau 4.14.

Les figures 4.15 et 4.16 illustrent l'impact d'un traitement fractionné par rayonnements tel qu'il est classiquement administré en clinique pour deux valeurs de p_1 différentes.

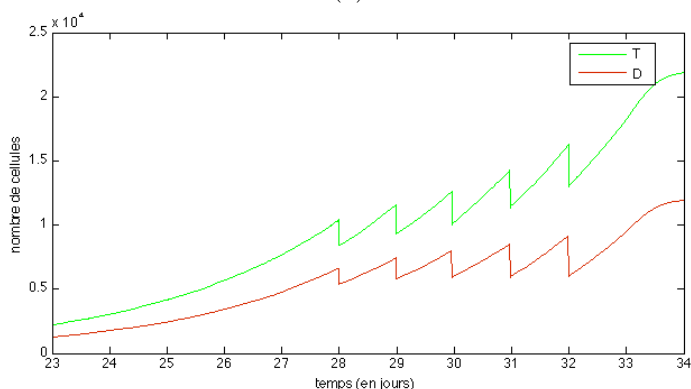
Dans ce cas particulier, le traitement n'est pas efficace car il laisse la tumeur se développer malgré une efficacité, minime, sur la population des CSC (pour $p_1 = 0.3$). Ces représentations graphiques sont les premières et cette partie nécessite des simulations complémentaires avec d'autres valeurs de paramètres du modèle LQ ainsi que la représentation d'une évolution moyenne en effectuant une simulation de Monte-Carlo.

4.4 Discussion

Ce modèle numérique donne un premier aperçu de la croissance d'un glioblastome composé d'une population hétérogène de cellules. L'objectif de ce modèle, à long terme, est de trouver une stratégie thérapeutique optimale pour un patient atteint de cette pathologie.



(a)

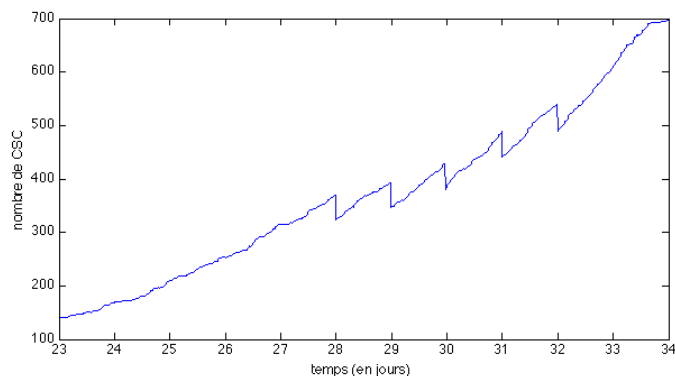


(b)

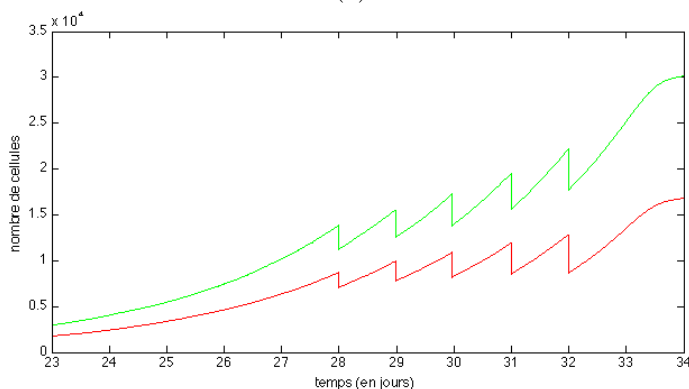
FIGURE 4.15 – Evolution du nombre de cellules lors d’un traitement fractionné pour $p_1 = 0.3$. a) Evolution des CSC, b) Evolution des cellules T et D.

Ce modèle de croissance tumorale se fonde en partie sur celui développé par l’équipe de Tuckwell [102]. Nous avons adapté et enrichi l’algorithme dans l’optique de répondre à une problématique différente. Dans un premier temps, nous avons simulé le mécanisme de prolifération cellulaire sans faire intervenir l’impact d’une thérapie. La représentation des courbes de croissance en terme de fréquences relatives nous indique une très probable convergence de ces fréquences vers des valeurs théoriques, sans que cela n’ait été démontré. L’ajustement des données numériques par un modèle exponentiel donne de bonnes perspectives pour l’étape de modélisation du traitement. En effet, pour le moment, tout le processus de croissance tumorale est simulé à partir d’une seule CSC jusqu’à l’obtention de plusieurs milliers de cellules, ce qui est coûteux en temps de calcul. L’accès aux différentes proportions de cellules par le modèle d’ajustement présente l’intérêt de pouvoir initialiser directement l’algorithme de traitement avec les proportions fournies par l’ajustement.

Par ailleurs, grâce aux expérimentations animales mises en place au chapitre 6, nous avons pu comparer les proportions de CSC fournies par le simulateur avec celles issues des données biologiques. Cette confrontation nous renseigne sur l’intervalle des valeurs possibles de p_1 . Par une méthode d’inversion, il semble que cet intervalle soit restreint aux valeurs comprises entre 0.3 et 0.5. Comme nous l’avons déjà mentionné, il convient d’être prudent en raison des autres paramètres pour lesquels nous avons fait le choix de fixer les valeurs.



(a)



(b)

FIGURE 4.16 – Evolution du nombre de cellules lors d'un traitement fractionné pour $p_1 = 0.4$. a) Evolution des CSC, b) Evolution des cellules T et D.

Enfin, la réponse des différents types cellulaires à un traitement par radiothérapie fractionnée a été intégré au simulateur en utilisant le modèle LQ. L'algorithme permet de simuler différents plans thérapeutiques et d'en représenter l'impact en terme de mortalité cellulaire. Notons que cette partie est encore à ses prémices et qu'il reste encore à améliorer le simulateur. Dans un premier temps, notre objectif était d'enrichir le simulateur afin de tenir compte de la réponse à un traitement.

Désormais, plusieurs perspectives peuvent être envisagées. Il est notamment possible de raffiner le simulateur en tenant compte du taux d'oxygénation des cellules. En effet, l'oxygène détermine en grande partie l'efficacité d'un traitement par radiothérapie. Les cellules bien oxygénées sont plus vulnérables aux rayons, tandis que les zones hypoxiques de la tumeur concentrent une population de cellules plus résistantes.

Chapitre 5

Estimation des paramètres par la méthode du pseudo-maximum de vraisemblance

Que tu deviennes professeur, savant ou musicien, aie le respect du sens, mais ne t'imagines pas qu'il s'enseigne.

H. Hesse, *Le jeu des perles de verre*

Sommaire

5.1	Introduction	70
5.2	Principe du pseudo-maximum de vraisemblance	70
5.2.1	Notations et définitions	70
5.2.2	Les familles exponentielles linéaires	72
5.2.3	Le pseudo-maximum de vraisemblance simulé (PMVS)	73
5.3	Application du PMVS au cas des processus de Bellman-Harris	74
5.3.1	Formulation du modèle	74
5.3.2	Objectif de l'étude	75
5.3.3	Application	75
5.3.4	Conditions de simulations	77
5.3.5	Présentation des résultats	77
5.4	Discussion	79

L'objectif de ce chapitre est de fournir une technique d'estimation des paramètres d'un processus de branchement de Bellman-Harris multi-type. La loi de l'évolution des effectifs de ce type de processus n'est, pour la plupart des cas, pas connue et les techniques classiques d'estimation ne sont plus en mesure de s'appliquer. Le principe du pseudo-maximum de vraisemblance (PMV) fait partie des approches alternatives pour estimer les paramètres d'un modèle dont on ne dispose seulement que de connaissances partielles sur la distribution de probabilité.

Ce chapitre se compose de deux parties. Une première partie théorique introduit les définitions et propriétés utiles à la compréhension de la méthode du PMV. Dans un second temps, nous apportons les éléments de mise en œuvre du principe d'estimation par la méthode du PMV en

étudiant son application aux processus de branchement de Bellman-Harris multi-type. L'objectif est de pouvoir fournir une estimation de la probabilité de division d'une CSC en deux CSC à partir de données issues d'expérimentations biologiques.

5.1 Introduction

La méthode du maximum de vraisemblance est une technique classique d'estimation utilisée pour une large variété de modèles linéaires ou non linéaires en les paramètres, qu'ils soient statiques ou dynamiques. Lorsque le problème est bien conditionné, elle fournit des estimations très satisfaisantes. Cependant, lorsque la distribution de probabilité de l'échantillon n'est pas connue, ou trop compliquée à obtenir, cette méthode ne peut plus s'appliquer. L'estimation par pseudo-vraisemblance fut introduite et développée par Besag en 1975 [13] pour des modèles spatiaux puis largement utilisée dans le cadre de modèles économétriques [101]. Le principe du PMV est de remplacer la vraisemblance du modèle, qui peut-être compliquée ou inconnue, par la vraisemblance d'une loi plus simple de même espérance (on parle alors de PMV d'ordre 1) ou de même espérance et même variance (PMV d'ordre 2). Cette approche peut se concevoir comme une extension du maximum de vraisemblance. En terme d'efficacité, le PMV est moins performant que le véritable maximum de vraisemblance mais possède l'avantage de s'affranchir des problèmes de calculs des densités. Ainsi, lorsque le modèle est bien spécifié au premier ordre, le PMV fournit un estimateur asymptotiquement convergent et asymptotiquement normal.

Il existe de nombreuses approches d'estimation paramétriques pour les processus de branchements, mais peu concernent les processus de Bellman-Harris multi-type. En effet, les études d'inférence statistique portent fréquemment sur des processus à temps discret ou à temps continu Markovien [14, 42, 47] pour lesquels des méthodes d'estimation de type maximum de vraisemblance semblent être performantes. Pour des modèles plus compliqués tels que ceux décrivant la prolifération cellulaire d'un ensemble de sous-populations de cellules, une approche par le PMV a été envisagée [22, 50, 112].

5.2 Principe du pseudo-maximum de vraisemblance

Comme nous l'avons déjà souligné, cette première partie vise à présenter la méthode générale ainsi que les résultats théoriques du pseudo-maximum de vraisemblance. Le contexte est celui des modèles utilisés en économétrie. La présentation de cette section se basent en grande partie sur [43] et [51].

5.2.1 Notations et définitions

Soient n observations $(y_1, x_1) \dots (y_n, x_n)$ d'un couple de variables aléatoires multidimensionnelles (x, y) supposés indépendants et générés par le modèle suivant :

$$\begin{cases} y_t = m(x_t, \theta_0) + e_t & t = 1 \dots n \\ \mathbb{E}_0[e_t | x_t] = 0 \end{cases} \quad (5.1)$$

avec $x_t \in \mathbb{R}^p, y_t \in \mathbb{R}^q, e_t \in \mathbb{R}^q$ est un terme d'erreur défini de sorte que la loi conditionnelle de (e_1, \dots, e_n) sachant (x_1, \dots, x_n) est égale au produit des lois conditionnelles $\mathcal{L}(e_t | x_t)$ et tel que $\mathcal{L}(e_t | x_t = x) = \mathcal{L}(e_\tau | x_\tau = x)$ pour $t \neq \tau$. Enfin, $\theta \in \Theta \subset \mathbb{R}^k$ représente l'ensemble des

paramètres que l'on cherche à estimer et dont la vraie valeur est notée θ_0 .

Notons $\mathbb{E}_0[y_t | x_t] = m(x_t, \theta_0)$ l'espérance conditionnelle du modèle obtenue à partir de la "vraie" densité conditionnelle de y_t sachant x_t , inconnue et notée $l_0(y_t | x_t)$:

$$\mathbb{E}_0[y_t | x_t] = \int y_t l_0(y_t | x_t) dy_t \quad (5.2)$$

$$= m(x_t, \theta_0) \quad (5.3)$$

où m est une fonction connue (à un paramètre θ près).

Dans le cas du modèle (5.1), le lien entre y_t et x_t est décrit par la moyenne conditionnelle $\mathbb{E}_0[y_t | x_t]$, on dit que le modèle est spécifié au premier ordre. La connaissance de la forme de la variance conditionnelle $\Omega_0(y_t | x_t)$ apporterait une information supplémentaire, dans ce cas le modèle serait spécifié au second ordre.

Remarque 5.2.1. Même si le modèle est spécifié au second ordre, le modèle (5.1) ne décrit que partiellement l_0 car peu de lois sont entièrement déterminées par leurs deux premiers moments.

Lorsque la densité conditionnelle l_0 n'est pas connue, il n'est pas possible de calculer la vraisemblance du modèle. Il convient de choisir judicieusement une autre densité conditionnelle que l'on notera $l(y_t | x_t, \theta)$. La fonction $\theta \rightarrow l(y_t | x_t, \theta)$ qui en découle est appelée pseudo-vraisemblance. S'il n'existe aucun lien entre l_0 et l , les propriétés qui découlent de l ne présentent pas d'intérêt. Pour que ce passage par une autre fonction ait une utilité, il convient d'établir un lien par l'intermédiaire de l'égalité suivante :

$$\int y_t l(y_t | x_t, \theta) dy_t = m(x_t, \theta) \quad \forall x_t \in \mathbb{R}^p, \theta \in \Theta, \quad (5.4)$$

ce qui traduit l'égalité des moyennes conditionnelles.

Dès lors, nous pouvons définir l'estimateur $\hat{\theta}$ de θ comme étant celui qui maximise la pseudo-vraisemblance, et qui sous l'hypothèse d'indépendance formulée précédemment peut également s'exprimer par :

$$\hat{\theta}_n = \arg \max_{\theta} L_n(\theta) \quad (5.5)$$

$$= \arg \max_{\theta} \left(\prod_{t=1}^n l(y_t | x_t, \theta) \right). \quad (5.6)$$

On dit que $\hat{\theta}_n$ est l'estimateur du pseudo-maximum de vraisemblance. *Gourieroux et al* [43] ont montré que sous certaines conditions de régularité, $\hat{\theta}_n$ converge presque sûrement vers la vraie valeur du paramètre d'intérêt. Une condition nécessaire et suffisante de convergence des estimateurs du PMV est que la densité $l(y_t | x_t, \theta)$ appartienne à une famille exponentielle linéaire [20].

Proposition 5.2.2. *Soit $\hat{\theta}_n$ l'estimateur du PMV de θ_0 . Si le modèle est identifiable au premier ordre et si la famille de lois $l(y, m)$ est une famille exponentielle linéaire alors $\hat{\theta}_n$ est un estimateur convergent, quelque soit m et l_0 .*

Les détails de la démonstration de cette proposition sont donnés dans [43].

Remarque 5.2.3. La notation $l(y, m)$ provient du fait que seule l'espérance conditionnelle de y_t est connue, on se restreint donc aux familles indexées par leur moyenne :

$$l(y_t | x_t, \theta) = l(y_t, m(x_t, \theta)) \quad (5.7)$$

avec $\int y_t l(y_t, m(x_t, \theta)) dy_t = m(x_t, \theta)$.

5.2.2 Les familles exponentielles linéaires

Soient X_θ une variable aléatoire admettant une densité $f(x, \theta)$, $x \in \mathbb{R}, \theta \in \Theta \subset \mathbb{R}$ et $D_\theta = \{x \in \mathbb{R}, f(x, \theta) > 0\}$ le support de X_θ que nous supposons indépendant de θ .

Définition 5.2.4. La famille de densités $f(x, \theta)$ est dite exponentielle si

$$\ln f(x, \theta) = a(x)\alpha(\theta) + b(x) + \beta(\theta)$$

avec

$$a, b : \mathbb{R} \longrightarrow \mathbb{R}, \quad \alpha, \beta : \Theta \longrightarrow \mathbb{R}$$

Exemple 5.2.5. 1. Soit $f(x, \mu), \mu \in \mathbb{R}$, la densité de la loi normale $\mathcal{N}(\mu, \sigma)$, où $\sigma > 0$ est fixé :

$$\ln f(x, \mu) = x \frac{\mu}{\sigma^2} - \frac{x^2}{2\sigma^2} + -\frac{\mu^2}{2\sigma^2} - \ln(\sigma\sqrt{2\pi})$$

avec

$$a(x) = x, \quad \alpha(\mu) = \frac{\mu}{\sigma^2}, \quad b(x) = -\frac{x^2}{2\sigma^2}, \quad \beta(\mu) = -\frac{\mu^2}{2\sigma^2} - \ln(\sigma\sqrt{2\pi})$$

2. Soit $f(x, \lambda), \lambda > 0$, la densité de la loi de Poisson de paramètre λ :

$$\ln f(x, \lambda) = x \ln \lambda - \ln(x!) - \lambda$$

avec

$$a(x) = x, \quad \alpha(\lambda) = \ln \lambda, \quad b(x) = \ln(x!), \quad \beta(\lambda) = -\lambda$$

La définition peut se généraliser au cas vectoriel.

Définition 5.2.6. Soit X un vecteur aléatoire à valeurs dans \mathbb{R}^p admettant une densité $f(x, \theta), x \in \mathbb{R}^p, \theta \in \Theta \subset \mathbb{R}^k$ alors la famille de densités $f(x, \theta)$ est dite exponentielle si

$$\ln f(x, \theta) = \sum_{j=1}^s a_j(x)\alpha_j(\theta) + b(x) + \beta(\theta).$$

Exemple 5.2.7. La densité de la loi normale $f(x, \theta)$ où $\theta = (\mu, \sigma)$ est le paramètre :

$$\ln f(x, \theta) = x \frac{\mu}{\sigma^2} + x^2 \left(-\frac{1}{2\sigma^2} \right) + \left(-\frac{\mu^2}{2\sigma^2} - \ln(\sigma\sqrt{2\pi}) \right)$$

avec

$$a_1(x) = x, \quad \alpha_1(\theta) = \frac{\mu}{\sigma^2}, \quad a_2(x) = x^2, \quad \alpha_2(\theta) = -\frac{1}{2\sigma^2}, \quad b(x) = 0, \quad \beta(\theta) = -\frac{\mu^2}{2\sigma^2} - \ln(\sigma\sqrt{2\pi})$$

5.2.3 Le pseudo-maximum de vraisemblance simulé (PMVS)

Telle que l'on vient de la présenter, la méthode du PMV repose sur la connaissance exacte de l'expression analytique de la fonction $m(x_t, \theta)$. Or dans certains cas, cette moyenne ne peut pas être calculée de manière analytique. Néanmoins, une approche numérique de cette grandeur par une méthode de Monte-Carlo permet de contourner ce problème. Dès lors, il est possible d'en déduire une pseudo-vraisemblance approchée. Cette technique porte le nom de pseudo-maximum de vraisemblance simulé (PMVS) et vient élargir le champ d'application du pseudo-maximum de vraisemblance [63].

Dans la suite, nous supposons que nous pouvons simuler le modèle à partir des générateurs de variables aléatoires. Le modèle simulé peut s'écrire de la manière suivante :

$$y_t^h = F(x_t^h, \theta) \quad (5.8)$$

$$= m^H(x_t, \theta) + \varepsilon_t^h \quad (5.9)$$

où y_t^h représente la $h^{\text{ième}}$ simulation de la variable expliquée obtenue à partir du simulateur F . Les variables explicatives sont notées x_t^h et θ est le vecteur des paramètres à estimer. Ce modèle peut également s'écrire comme étant la somme d'une moyenne et d'une erreur (équation (5.9)). Le calcul de la moyenne $m^H(x_t, \theta)$ est effectué à partir d'une simulation de Monte-Carlo réalisée pour H jeux de données et permet d'obtenir des estimations de l'espérance et de la variance conditionnelle de y_t sachant x_t :

$$m^H(x_t^h, \theta) = \frac{1}{H} \sum_{h=1}^H F(x_t^h, \theta) \quad (5.10)$$

et

$$\Omega^H(x_t, \theta) = \frac{1}{H-1} \sum_{h=1}^H \{F(x_t^h, \theta) - m^H(x_t^h, \theta)\}^2 \quad (5.11)$$

Exemple 5.2.8. Prenons le cas où le modèle retenu est un processus de branchement de Bellman-Harris multi-type,

$$y_t^h = F(x_t^h, \theta)$$

où F est le simulateur du processus de Bellman-Harris développé au chapitre 3, y_t^h représente le vecteur du nombre de cellule de chaque type au temps t , θ le vecteur des paramètres à estimer (probabilité de divisions $p_1, p_2 \dots$) et x_t^h représente les aléas résultants de l'utilisation de variables aléatoires (temps de cycle, temps de quiescence ...) pour le processus de branchement. Dans ce cas, $m^H(x_t, \theta)$ est la moyenne du nombre de cellules obtenus à partir des H simulations.

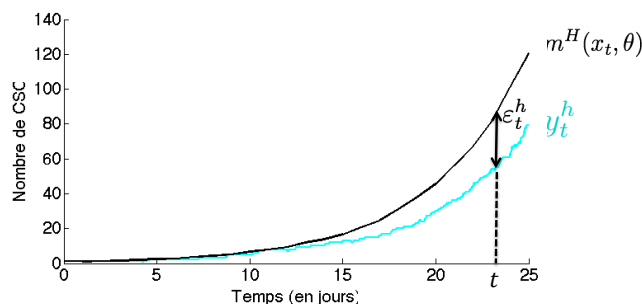


FIGURE 5.1 – Représentation graphique d'une trajectoire y_t^h .

La loi des grands nombres assure que

$$m^H(x_t, \theta) \xrightarrow{H \rightarrow +\infty} m(x_t, \theta) \text{ p.s} \quad (5.12)$$

et

$$\Omega^H(x_t, \theta) \xrightarrow{H \rightarrow +\infty} \Omega(x_t, \theta) \text{ p.s} \quad (5.13)$$

Ainsi, la fonction de pseudo-vraisemblance approchée d'une trajectoire s'écrit

$$L_n^H(\theta) = \prod_{t=1}^n l(y_t, m^H(x_t, \theta)), \quad (5.14)$$

et $\hat{\theta}^H$ l'estimateur du PMV simulé résulte de la maximisation de la pseudo-log-vraisemblance simulée suivante :

$$\hat{\theta}^H = \arg \max_{\theta} \frac{1}{n} \sum_{t=1}^n \log(l(y_t, m^H(x_t, \theta))) \quad (5.15)$$

Laroque *et al* [63] ont montré que sous certaines hypothèses, $\hat{\theta}^H$ converge presque sûrement vers $\hat{\theta}_n$ lorsque le nombre de jeux de données H tend vers l'infini.

Le fait de ne pas avoir d'expression analytique de la fonction $m(x_t, \theta)$ limite l'utilisation des méthodes d'optimisation classiques pour lesquelles le calcul explicite d'un gradient est nécessaire. En revanche, le fait d'avoir une pseudo-vraisemblance approchée n'a aucune incidence sur les propriétés asymptotiques de l'estimateur.

5.3 Application du PMVS au cas des processus de Bellman-Harris

5.3.1 Formulation du modèle

Le processus de Bellman-Harris multi-type tel que nous l'avons défini au chapitre 3 et adapté à la modélisation du modèle hiérarchique à trois types de cellules nous conduit à considérer

$$Y(t) = (Y_1(t), Y_2(t), Y_3(t)),$$

où $Y_i(t)$ $i = 1, 2, 3$ représente le nombre de cellules de type i à l'instant $t \in \mathbb{R}_+$.

Les moyens techniques ne permettent pas toujours de compter le nombre total de cellules d'un type donné et l'approche décrite ci-dessus n'est pas adaptée aux données expérimentales disponibles. Néanmoins, il est possible d'obtenir les fréquences relatives des différents types cellulaires dans la mesure où ces derniers ont des phénotypes distinguables. Dans ce cas, on introduit $S(t)$ comme étant le nombre total de cellules (tous types confondus) à l'instant t

$$S(t) = \sum_{i=1}^3 Y_i(t), \quad (5.16)$$

et les fréquences relatives des différents types de cellules $\Delta_i(t)$ se définissent par

$$\Delta_i(t) = \frac{Y_i(t)}{S(t)} \quad i = 1, 2, 3 \quad (5.17)$$

avec la condition évidente suivante

$$\sum_{i=1}^3 \Delta_i(t) = 1 \quad (5.18)$$

Remarque 5.3.1. Dans le cas où le nombre initial de cellules $Y_i(0) = N$, Yakovlev *at al* [111] montrent que le vecteur $(\Delta_1(t), \Delta_2(t), \Delta_3(t))$ est asymptotiquement normal pour $N \rightarrow \infty$. Or, nous avons fait l'hypothèse d'initialiser notre processus avec $N = 1$ CSC et cette propriété ne peut pas être exploitée ici.

5.3.2 Objectif de l'étude

Comme nous ne connaissons pas la densité du processus $Y(t)$, ni à fortiori celle du vecteur $(\Delta_1(t), \Delta_2(t), \Delta_3(t))$, nous nous appuyons sur la méthode du PMV comme technique d'estimation. À partir des données numériques du simulateur et d'une pseudo-vraisemblance judicieusement choisie, nous allons approcher la valeur du paramètre $\theta = p_1 \in [0, 1]$ qui désigne la probabilité qu'une CSC se divise en deux CSC. Nous avons fait le choix de restreindre l'estimation au cas d'un seul paramètre dans l'optique de mieux appréhender la méthode du PMVS et de valider son efficacité dans un cadre qui reste simple.

5.3.3 Application

D'un point de vue pratique, il est impossible d'effectuer un suivi de croissance tumorale en temps continu. De ce fait, on observe les proportions à différents instants du temps $t, t \in \{t_1, \dots, t_n\}$. Désormais pour chacun des 3 types cellulaire, nous disposons de n observations

$$\begin{aligned} \Delta(t_k) &= (\Delta_1(t_k), \Delta_2(t_k), \Delta_3(t_k)), \\ t_1 &\leq t_2 \dots \leq t_n, \quad k = 1, 2, \dots, n \end{aligned}$$

Les étapes mises en œuvre de l'estimation par PMVS sont détaillées ci-dessous.

Etape 1 : Choix de la pseudo-loi

Devant la difficulté d'obtenir la densité de probabilité du processus de branchement et donc des fréquences relatives $\Delta_i(t_k)$ aux instants t_1, \dots, t_n , on définit une pseudo-loi de la famille des lois exponentielle linéaire. En gardant les mêmes notations que [43]

$$\mathbb{E}[\Delta(t_k) \mid \Delta(t_{k-1})] = m(\Delta(t_{k-1}), \theta) \quad (5.19)$$

et

$$\text{Var}[\Delta(t_k) \mid \Delta(t_{k-1})] = \Omega(\Delta(t_{k-1}), \theta) \quad (5.20)$$

Pour une meilleure lisibilité, nous noterons dans la suite

$$m(\Delta(t_{k-1}), \theta) = m_{t_k}(\theta) \quad (5.21)$$

$$\Omega(\Delta(t_{k-1}), \theta) = \Omega_{t_k}(\theta) \quad (5.22)$$

Supposons que la loi conditionnelle de $\Delta(t_k)$ sachant $\Delta(t_{k-1})$ est une loi normale :

$$\Delta(t_k) \mid \Delta(t_{k-1}) \sim \mathcal{N}(m_{t_k}(\theta), \Omega_{t_k}(\theta)), \quad m_{t_k}(\theta) \in \mathbb{R}^2, \quad \Omega_{t_k}(\theta) \in \mathbb{R}^2 \times \mathbb{R}^2$$

avec

1. $m_{t_k}(\theta) = (m_{1,t_k}(\theta), m_{2,t_k}(\theta))$ où $m_{i,t_k}(\theta)$, $i = 1, 2$ est la fréquence relative de cellules de type i au temps t_k ;
2. $\Omega_{t_k}(\theta) = \begin{pmatrix} \text{Var}(\Delta_1(t_k), \Delta_1(t_k)) & \text{Var}(\Delta_2(t_k), \Delta_1(t_k)) \\ \text{Var}(\Delta_2(t_k), \Delta_1(t_k)) & \text{Var}(\Delta_2(t_k), \Delta_2(t_k)) \end{pmatrix}$

Remarque 5.3.2. En pratique, comme $\Delta_1(t_k) + \Delta_2(t_k) + \Delta_3(t_k) = 1$, seules les fréquences des cellules de type 1 et 2 (CSC et T) sont examinées, évitant ainsi à la matrice $\Omega_{t_k}(\theta)$ de fournir un déterminant nul.

Bien entendu, la loi normale n'est pas la véritable densité, non connue, du processus mais il s'agit d'une pseudo-loi, de la famille des lois exponentielles linéaires et dont la moyenne conditionnelle est égale à celle du processus $(\Delta(t_1), \dots, \Delta(t_n))$. La forme analytique de la moyenne n'est pas connue, une approche numérique est donc nécessaire afin de l'estimer. C'est l'objet de l'étape 2.

Etape 2 : Approximation des moments de la pseudo-loi

L'expression de l'espérance et de la variance conditionnelles de $\Delta(t_k)$ sont nécessaires à l'écriture de la pseudo-vraisemblance. Or, les calculs de ces grandeurs sont difficiles à obtenir à l'aide des fonctions usuelles. Le recours à des simulations stochastiques permet alors d'approcher empiriquement l'espérance et la variance de la pseudo-loi. A partir d'une simulation de Monte-Carlo, fondée sur $H = 500$ jeux de données, nous avons obtenu une estimée de la moyenne notée $m^H(\theta)$, ainsi qu'une estimée de la matrice de covariances, notée Ω^H . Puisqu'il s'agit d'approximations, ceci nous amène à considérer la notion de pseudo log-vraisemblance simulé que l'on note $L^H(\theta)$. D'après la loi des grands nombres,

$$m_{t_k}^H(\theta) = \frac{1}{H} \sum_{h=1}^H \Delta^h(t_k) \xrightarrow{H \rightarrow +\infty} m_{t_k}(\theta) \text{ p.s}$$

et

$$\Omega_{t_k}^H(\theta) = \frac{1}{H-1} \sum_{h=1}^H \{\Delta^h(t_k) - m_{t_k}^H(\theta)\} \{\Delta^h(t_k) - m_{t_k}^H(\theta)\}' \xrightarrow{H \rightarrow +\infty} \Omega_{t_k}(\theta) \text{ p.s}$$

où $(\Delta^h(\cdot))_{h=1, \dots, H}$ sont les fréquences relatives des effectifs issus de la simulation de H processus de Bellman-Harris multi-type i.i.d.

Etape 3 : Pseudo log-vraisemblance simulée

La fonction de pseudo-vraisemblance simulée associée à un échantillon de n observations $(\Delta(t_1), \Delta(t_2), \dots, \Delta(t_n))$ où $\Delta(t_k)$ est le vecteur des fréquences relatives au temps t_k . Sous l'hypothèse de normalité de la loi conditionnelle de $\Delta(t_k)$ sachant $\Delta(t_{k-1})$ s'écrit :

$$L^H(\theta) = -\frac{n}{2} \log(2\pi) - \frac{1}{2} \sum_{k=1}^n \log |\Omega_{t_k}^H(\theta)| - \frac{1}{2} \sum_{k=1}^n (\Delta(t_k) - m_{t_k}^H(\theta))' \Omega_{t_k}^H(\theta)^{-1} (\Delta(t_k) - m_{t_k}^H(\theta))$$

où $m_{t_k}^H(\theta)$ et $\Omega_{t_k}^H(\theta)$ sont obtenus à partir des simulations de Monte-Carlo de l'étape précédente. Les conditions numériques sont décrites au paragraphe 5.3.4.

Etape 4 : Maximisation de la pseudo log-vraisemblance simulée

Lors de cette dernière étape, nous maximisons la pseudo log-vraisemblance obtenue précédemment et l'estimateur au sens du pseudo-maximum de vraisemblance simulé $\hat{\theta}^H$ est tel que

$$\begin{aligned}\hat{\theta} &= \arg \max_{\theta} L^H(\theta) \\ &= \arg \max_{\theta} \left(- \sum_{k=1}^n (\Delta(t_k) - m_{t_k}^H(\theta))' \Omega_{t_k}^H(\theta)^{-1} (\Delta(t_k) - m_{t_k}^H(\theta)) + \log |\Omega_{t_k}^H(\theta)| \right)\end{aligned}$$

5.3.4 Conditions de simulations

L'étape 3 nécessite d'effectuer une simulation de Monte-Carlo afin d'approcher numériquement la moyenne et la variance, qui dépende de θ . Notons que les données sont issues du simulateur décrit au chapitre 3. Pour chaque valeur de $\theta = p_1$ variant de 0.1 à 0.8 par pas de 0.1, les conditions expérimentales sont les suivantes : le nombre de réalisations est $H = 500$ et le temps de croissance de chaque réalisation est de 25 jours. Ainsi, la moyenne $m_{t_k}^{500}(\theta)$ et la variance $\Omega_{t_k}^{500}(\theta)$ sont les estimées respectives de $m_{t_k}(\theta)$ et $\Omega_{t_k}(\theta)$.

Pour l'étape même d'optimisation, nous faisons varier la valeur vraie p_1^0 entre 0.1 et 0.8 par pas de 0.1 et les proportions de CSC et de cellules T sont observées toutes les demi-journées durant l'ensemble de la croissance (ce qui fait un total de $n = 50$ observations). Ces données numériques vont nous servir de données expérimentales. Pour chaque p_1^0 , l'algorithme minimise la pseudo log-vraisemblance établie à partir de la pseudo-distribution des données, supposée normale et de l'approche numérique de ses paramètres (moyenne et variance). L'algorithme d'optimisation nécessite l'inversion de matrices de covariances. Or, il existe un problème de conditionnement dû au fait que les premiers jours de croissance ne sont pas discriminants, particulièrement pour des valeurs faibles du paramètre p_1 . De ce fait, nous n'avons pas tenu compte des données des trois premiers jours de croissance dans notre algorithme. Nous avons répété cette expérience 500 fois afin d'étudier la répartition des estimées de p_1 et présentons les résultats au paragraphe suivant.

5.3.5 Présentation des résultats

Pour chacun des 500 jeux de données, la méthode du PMVS fournit une estimée de p_1 dont nous représentons les différents histogrammes à la figure 5.2. D'après ces résultats, la méthode d'estimation de PMVS semble encourageante puisqu'elle fournit la valeur attendue dans 7 cas sur 8. Toutefois, nous remarquons des différences de variances selon la valeur de p_1^0 (Fig. 5.3) que nous pouvons partiellement expliquer dû au fait que les grandes valeurs de p_1 discriminent mieux les proportions de cellules.

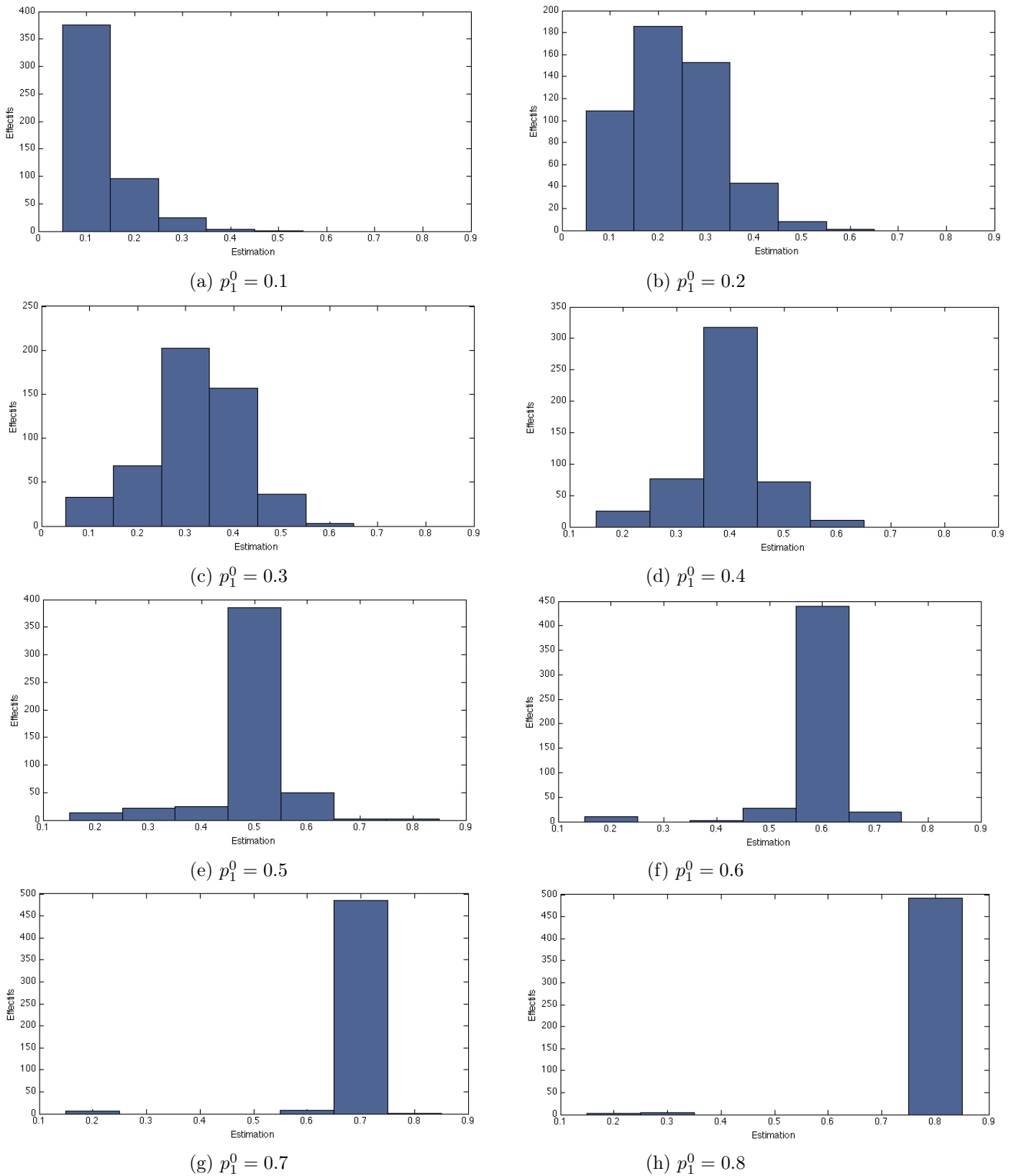
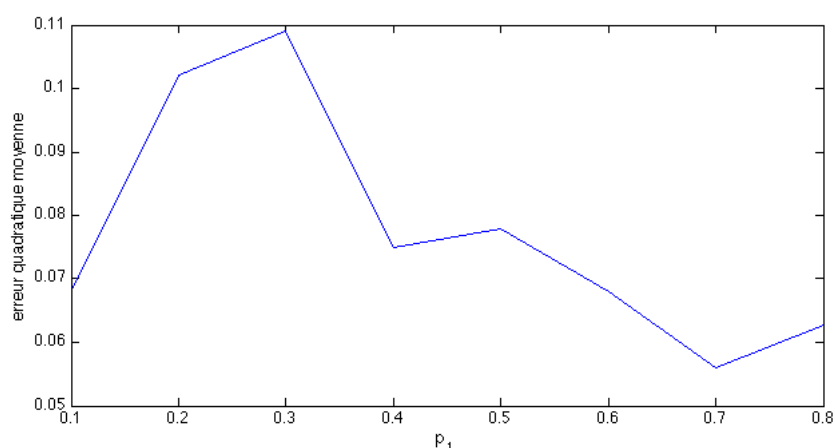


FIGURE 5.2 – Histogrammes des estimées du paramètre p_1 . Pour chaque valeur "vraie" de p_1^0 variant de 0.1 à 0.8 avec un pas de 0.1, la répartition des estimées est présentée pour 500 jeux de données.

FIGURE 5.3 – Erreur quadratique moyenne en fonction de p_1^0 .

5.4 Discussion

Nous discutons dans cette partie de la méthode du PMVS telle que nous l'avons mise en œuvre pour l'estimation de paramètres dans le cadre de la croissance tumorale en présence d'une hétérogénéité tumorale.

Rappelons tout d'abord que très peu de travaux de recherche traitent des méthodes d'estimation de paramètres de modèles de processus de branchement multi-type dépendant de l'âge comme celui de Bellman-Harris. L'estimation par PMV est une méthode possédant un large spectre d'applications en raison des hypothèses, peu contraignantes, nécessaires à sa mise en œuvre. En effet, ces hypothèses se rapportent le plus souvent à la connaissance du premier moment de la variable endogène. Le calcul de ce moment n'est d'ailleurs pas nécessaire et son approche par simulations numériques suffit à l'application du PMV. Dans ce cas, on parle de PMVS. Les estimateurs obtenus sont convergents et asymptotiquement normaux, dès lors que le nombre d'observations et le nombre de simulations tendent vers l'infini.

Nous avons fait le choix d'estimer le paramètre p_1 à partir du PMVS. Tous les autres paramètres relatifs aux probabilités de division cellulaire ont été fixés. Pour ce seul paramètre, le PMVS fournit un estimateur dont les performances sont raisonnables en terme d'EQM. Afin de garantir l'efficacité du PMVS dans le cadre d'un processus de Bellman-Harris multi-type, il reste à généraliser cette méthode à l'estimation de plusieurs paramètres.

Chapitre 6

Expérimentations biologiques

Avec un escalier prévu pour la montée,
on réussit souvent à monter plus bas
qu'on ne serait descendu avec un escalier
prévu pour la descente.

Proverbe Shaddock

Sommaire

6.1	Objectifs et principes généraux des expérimentations	82
6.2	Matériel et méthodes	82
6.2.1	Xénogreffes hétérotopiques sous-cutanées de gliomes malins	82
6.2.2	Détection immunohistochimique de la caspase-3 clivée et de l'antigène de prolifération Ki-67	84
6.2.3	Dissociation tumorale pour les essais clonogéniques	85
6.3	Résultats des expérimentations biologiques	86
6.3.1	Détermination de l'indice de prolifération	86
6.3.2	Détermination de l'indice apoptotique	88
6.3.3	Evolution de la proportion de clones	88
6.4	Discussion	90

Ce chapitre présente les expérimentations biologiques qui ont été réalisées au laboratoire afin de fournir des données à des fins d'ajustement de paramètres et de validation du modèle. Une première partie présente la mise en place de ces expérimentations pour lesquelles des fragments de tumeurs humaines ont été greffés chez des souris immunodéprimées. Les tumeurs vont alors se développer avant d'être prélevées après différentes durées de croissance. Ces tumeurs font ensuite l'objet de différentes analyses biologiques. Pour chaque tumeur, une première analyse immunohistochimique a permis de déterminer le pourcentage de cellules en prolifération ainsi que le pourcentage de mort apoptotique. Un test clonogénique a également été réalisé afin de mettre en évidence les CSC par leur capacité à former des clones et ainsi permettre de les dénombrer. Les résultats, présentés dans la deuxième partie, ont été exploités pour ajuster le simulateur du chapitre 3.

Les expérimentations biologiques ont été conçues et réalisées par les biologistes du laboratoire. J'en ai suivi la plupart des étapes afin d'avoir une compréhension globale du protocole

expérimental. Par ailleurs, à partir des analyses immunohistochimiques, j'ai déterminé l'indice de prolifération ainsi que l'indice apoptique des différentes tumeurs qui ont été dégreffées.

6.1 Objectifs et principes généraux des expérimentations

Pour ces travaux de thèse, les objectifs des expérimentations animales mises en place sont les suivants :

- i) déterminer la proportion de CSC présentes dans la tumeur à différents délais post-greffe ;
- ii) déterminer l'évolution de la proportion de cellules en apoptose ;
- iii) déterminer l'évolution de la proportion de cellules en phase de prolifération.

Ces deux derniers points seront utiles pour ajuster certains paramètres du simulateur présenté au chapitre 4 tandis que l'évolution de la proportion de CSC nous permettra de comparer ces résultats aux données numériques dans une optique de validation du modèle.

Les principales étapes de l'expérimentation sont décrites ci-dessous. Les méthodes sont détaillées dans la partie 6.2) :

1. Des fragments de gliomes sont greffés sur 9 souris au niveau de chacune de ses deux aines.
2. Lorsque les tumeurs ont atteint une taille suffisante (de 270 à 4400mm³), on procède à la dégreffe de trois souris à l'instant $t_1 = 19$ jours (après la greffe), trois autres à l'instant $t_2 = 22$ jours, et enfin les trois dernières à $t_3 = 28$ jours. Pour chaque instant, nous disposons idéalement de 6 tumeurs. En réalité, les aléas des expériences ne nous ont pas toujours permis d'observer toutes les tumeurs et 12 d'entre elles ont été récupérées (4 à t_1 , 4 à t_2 et 4 à t_3).
3. Pour chaque tumeur dégreffée, on réalise un essai clonogénique dans le but de dénombrer le nombre de CSC présentes dans l'échantillon. Pour cela, on prélève un petit fragment tumoral dont sont extraites 100 000 cellules par une technique de dissociation. Ces cellules sont alorsensemencées dans 6 puits contenant du milieu neurosphère (afin de favoriser la formation de clones) puis on compte le nombre de clones qui se sont formés. La technique des essais clonogéniques est fondée sur l'hypothèse que chaque clone est issue d'une et une seule CSC : sous cette hypothèse, le nombre de clones formés est alors égal au nombre de CSC présentes dans l'échantillon initial de 100 000 cellules. Le comptage est effectué manuellement, une quinzaine de jours après l'ensemencement (lorsque les clones sont suffisamment gros pour pouvoir être comptés, (Fig. 6.1). Cette fois encore, les aléas des expérimentations nous fournissent moins de données que prévu : deux essais n'ont pas pu être effectués à cause d'une concentration de cellules trop faible (un pour t_2 et un autre pour t_3).
4. On réalise une analyse immunohistochimique sur les tumeurs dégreffées afin d'évaluer l'indice de prolifération et l'indice apoptique.

6.2 Matériel et méthodes

6.2.1 Xénogreffes hétérotopiques sous-cutanées de gliomes malins

Les souris *nude*

Les animaux utilisés sont des souris *nude* (Fig. 6.2) femelles (*Swiss-nu/nu* Janvier, Le Genest St Isle, France). Elles sont âgées de six à huit semaines et sont déficientes en lymphocytes T.

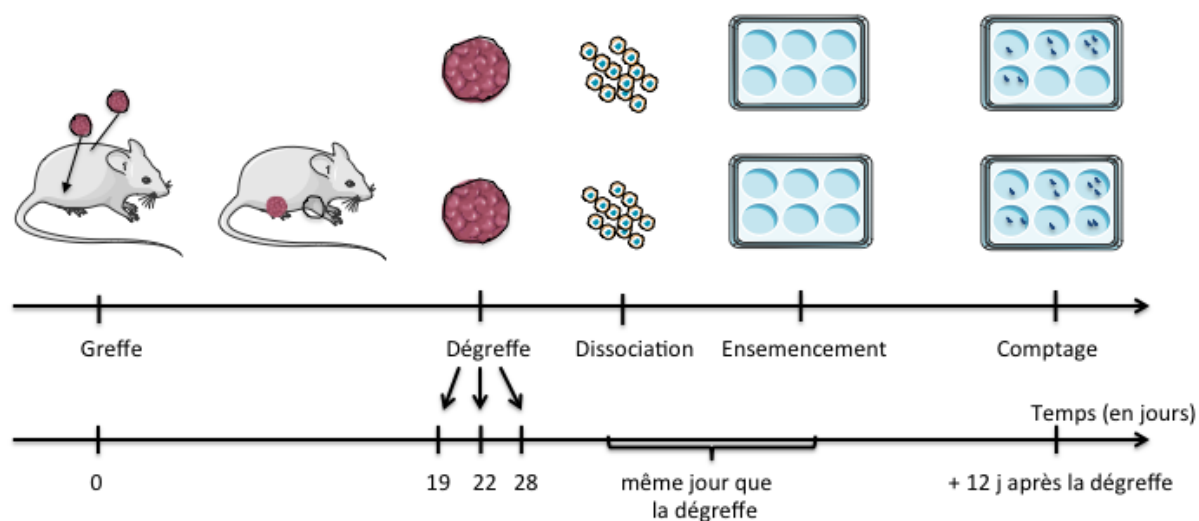


FIGURE 6.1 – Ensemble des étapes réalisées depuis la greffe jusqu’au comptage des clones

Cette déficience permet au greffon (tumeur humaine) de ne pas être rejeté. L’hébergement et les expérimentations animales sont réalisés en conformité avec la législation en vigueur (directive 2010/63/UE et décret n°2013 – 118).



FIGURE 6.2 – Une souris *nude*.

La lignée tumorale utilisée est une lignée de gliome de grade III : la lignée TCG3 (Tumeur Cérébrale Gliale), établie au laboratoire en 2000 après récupération d’un fragment de pièce opératoire d’une patiente de 58 ans opérée d’un gliome de haut grade dans le service de neurochirurgie du CHU de Nancy. Les fragments de tumeurs sont alors implantés en sous-cutané dans le pli inguinal des souris.

Procédure microchirurgicale

Une anesthésie générale est effectuée sur les souris receveuses. L’anesthésie consiste en l’injection intrapéritonéale de xylazine et de kétamine à des doses respectives de 8 mg/kg et de 90 mg/kg. L’anesthésie dure environ 30 minutes.

Une fois la greffe réalisée, les tumeurs vont se développer jusqu’à atteindre une taille suffisante

nous permettant de les analyser. La souris est alors sacrifiée et les tumeurs sont récupérées. Nous avons effectué des prélèvements tumoraux à $t_1 = 19$ jours, $t_2 = 22$ jours et $t_3 = 28$ jours après la greffe. Une fois la tumeur dégreffée, elle est excisée, placée dans du tampon HBSS avec 5% d'antibiotiques dans un tube stérile (afin de limiter les infections) puis divisées en deux parties. Une première partie est fixée dans une solution tamponnée de formaldéhyde 4% et utilisée pour des analyses immunohistochimiques tandis qu'une dissociation est effectuée sur l'autre partie qui servira au test clonogénique.

6.2.2 Détection immunohistochimique de la caspase-3 clivée et de l'antigène de prolifération Ki-67

Principe général

L'analyse immunohistochimique est une technique réalisée sur des coupes histologiques, qui consiste à mettre en évidence, par réaction antigène-anticorps, la présence de récepteurs antigéniques cellulaires (membranaires, cytoplasmiques) ou extracellulaires.

Afin de visualiser la réaction, des traceurs (molécule fluorescente, enzymes ...) sont fixés directement ou indirectement sur cet anticorps. Cependant, pour faciliter l'interaction antigène-anticorps, il est nécessaire, avant de déposer les anticorps, de déparaffiner puis d'inverser les conséquences de la fixation formolique par hydrolyse alcaline, accélérée par la chaleur humide, des liaisons formaldéhyde/macromolécules tissulaires.

L'analyse immunohistochimique va nous permettre de déterminer l'indice de prolifération cellulaire ainsi que l'indice apoptotique. Pour cette étude, les anticorps primaires suivants ont été utilisés :

- L'anticorps anti Ki-67, pour l'étude de la prolifération cellulaire. Celui-ci reconnaît la protéine Ki-67 présente chez l'homme, la souris et chez d'autres espèces. L'antigène Ki-67 est présent au niveau du noyau des cellules en phases actives de prolifération cellulaire (phases G1, S, G2 et M), mais reste absent au cours de la phase cellulaire G0. L'antigène est rapidement dégradé lorsque la cellule entre en phase non proliférative. Sur les images (Fig. 6.4), un noyau coloré correspond à une cellule en prolifération. L'index de marquage par le Ki-67 représente le pourcentage de noyaux colorés par l'anticorps Ki-67.
- L'anticorps anti caspase-3 clivée marque les cellules en état d'apoptose (Fig. 6.6). La caspase-3 est présente dans le cytoplasme des cellules sous forme inactive : la procaspase-3. Lorsque le processus de mort cellulaire programmé par apoptose est déclenché, les procaspases sont clivées (certaines de leurs liaisons chimiques sont rompues) et se dimérisent, autrement dit les molécules s'assemblent pour donner des caspases-3 actives capables, à leur tour, de cliver d'autres protéines, au niveau de sites spécifiques.

Analyse immunohistochimique

La mise en évidence immunohistochimique de la prolifération cellulaire et de l'apoptose est réalisée par une technique immunohistochimique classique dite en trois couches. Les tumeurs sont d'abord fixées dans du formol 4% pendant 48h puis elles sont incluses en paraffine à l'aide d'un automate. Des coupes de $5\mu\text{m}$ d'épaisseur sont effectuées à l'aide d'un microtome et déposées sur des lames. Ces dernières subissent un déparaffinage par immersion dans différents bains successifs (toluène, alcool absolu, alcool à 95° , eau osmosée) afin d'éliminer les anticorps adhérents à la coupe du fait d'interactions non spécifiques. Puis les lames sont insérées dans un autoclave, qui permet de porter la solution à une température de 120°C pendant 10 minutes. La solution est

ramenée à température ambiante en 2 heures. Cette étape permet l'inversion des conséquences de la fixation formolique. Les solutions d'anticorps primaires, diluées dans un diluant pour anticorps, sont déposées sur les coupes. On incube toute la nuit dans une chambre froide à 4°C à l'abri de la lumière. L'incubation des anticorps primaires terminée, les coupes sont rincées puis recouvertes d'une solution d'anticorps secondaires pendant une heure à l'abri de la lumière et à température ambiante.

Après rinçage au PBST, on inhibe l'activité des peroxydases endogènes par une solution de peroxyde d'hydrogène à 20% en incubant pendant quinze minutes à température ambiante. Les lames sont de nouveau rincées avec du PBST. Elles sont ensuite incubées à température ambiante, à l'abri de la lumière, pendant une heure dans une solution de streptavidine-peroxydase au 1/200, diluée dans du tampon PBST. On rince une dernière fois au PBST, puis on révèle l'activité des peroxydases en déposant sur les coupes un substrat commercial prêt à l'emploi, le NOVARED. On incube pendant 4 min à température ambiante à l'abri de la lumière.

6.2.3 Dissociation tumorale pour les essais clonogéniques

Principe général

La tumeur est d'abord découpée en petits fragments (1 à 2mm). Les morceaux obtenus sont alors placés dans un erlenmeyer contenant du tampon de dissociation (DNAse, Collagenase, Dispase) puis le tout est placé sous agitation à 37°C pendant 60 à 90 minutes. La suspension cellulaire est ensuite filtrée sur un filtre nylon de 100 μ m afin d'éliminer les fragments de tumeurs restants. Le filtrat est centrifugé à 200g, à 20°C pendant 7 min. Le surnageant est jeté et le culot est récupéré, puis remis en suspension dans 1mL de tampon de DNAse. Cette étape permet d'éliminer les fragments d'ADN en suspension sans altérer celui des cellules. Une autre centrifugation est alors effectuée (200g, 20°C, 7min). Le culot est remis en suspension dans 2mL de tampon de lyse des globules rouges afin d'éliminer les hématies présentes. Une dernière centrifugation est effectuée (200g, 20°C, 7min) avant de re-suspendre le culot dans 10mL de milieu de culture neurosphère. Ce milieu dépourvu en sérum de veau fœtal et complété en facteurs de croissance permet de sélectionner les cellules qui ont un comportement similaire aux cellules souches (non différenciation et auto-renouvellement). Ces cellules qui sont à l'origine de la formation des neurosphères sont ensuite étudiées *in vitro*.

Obtention des neurosphères

On ensemence les cellules dans des flasques T25 hydrophobes, ce qui limite leur fixation sur le fond de la boîte et ainsi leur différenciation. Le milieu utilisé est un milieu dépourvu de sérum de veau (ce qui limite la différenciation des cellules), enrichi en facteurs de croissance (BFGF, EGF). Il contient également de l'héparine et des suppléments (B27, N2). Ce milieu favorise le développement des cellules initiatrices de tumeur. Les flasques sont ensuite surveillées tous les jours pour vérifier l'absence de contamination et le milieu de culture est changé tous les 2 jours.

Comme les neurosphères sont flottantes, on les entretient de la même façon que des cellules en suspension. Autrement dit, les changements de milieu se font par récupération du contenu des flasques, centrifugation et re-suspension du culot avec du milieu de culture des neurosphères frais. Les premières neurosphères apparaissent au bout de 24 heures de culture. On observe également quelques cellules seules qui se différencient et des neurosphères adhérentes. Afin de récupérer uniquement les cellules qui nous intéressent (les neurosphères flottantes), on réalise un passage. Après récupération de la suspension de neurosphères, on effectue une centrifugation, on

enlève le surnageant puis on dissocie les neurosphères avec de l'accumax. On obtient alors une suspension de cellules isolées qui seront réensemencées dans différentes flask pour permettre une amplification. Chaque cellule isolée est potentiellement à l'origine d'une neurosphère.

Essai clonogénique

Un essai clonogénique a pour but de déterminer le pouvoir clonogénique des cellules, c'est à dire leur capacité à former un ensemble de cellules toutes issues d'une même cellule initiale (CSC).

Après avoir préparé une solution d'agar 0.5% (DMEM, SVF, complément, antibiotiques), on en dépose 1,5mL au fond de chacun des puits de la plaque et on laisse prendre en masse sous la hotte. On effectue une trypsination des cellules et on prélève la quantité désirée (100000/puits). On centrifuge la suspension cellulaire (300g, 10min) et on récupère le culot que l'on mélange à une solution d'agar 0.3%. On dépose 1mL de cette suspension agar-cellules sur la première couche d'agar et on laisse prendre en masse avant de recouvrir le tout avec 1mL de milieu neurosphère.

Le marquage des clones se fait par coloration au MTT qui permet de colorer uniquement les clones (en laissant l'agar incolore). Par ailleurs, seules les cellules vivantes sont marquées. Une lecture à un lecteur de plaque (comme le Gel Count) est alors effectuée afin de déterminer le nombre de clones par puits obtenus.

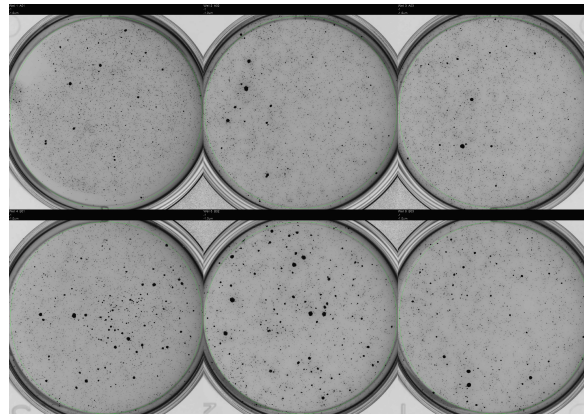


FIGURE 6.3 – Essai clonogénique sur des cellules de neurosphères en soft agar. Révélation des clones au MTT 12 jours après ensemencement et comptage automatique des colonies avec le logiciel gel count.

6.3 Résultats des expérimentations biologiques

6.3.1 Détermination de l'indice de prolifération

Ki67 est une protéine nucléaire qui marque en brun-rouge le noyau des cellules en phase de prolifération (Fig. 6.4) et dont l'expression est augmentée progressivement lors du cycle cellulaire pour atteindre un pic en phase S. Ce marqueur permet d'estimer le taux de prolifération des cellules tumorales. Afin de déterminer l'indice de prolifération, les coupes histologiques marquées au Ki67 sont observées au microscope (Nikon Eclipse E600, Nikon, Champigny sur Marne, France)

à l'objectif X20 puis deux champs aléatoires sont sélectionnés pour le comptage. Le nombre de cellules marquées ainsi que le nombre total de cellules est compté à la main. L'indice de prolifération est calculé en rapportant le nombre de cellules marquées au nombre de cellules totales et le rapport est multiplié par 100.

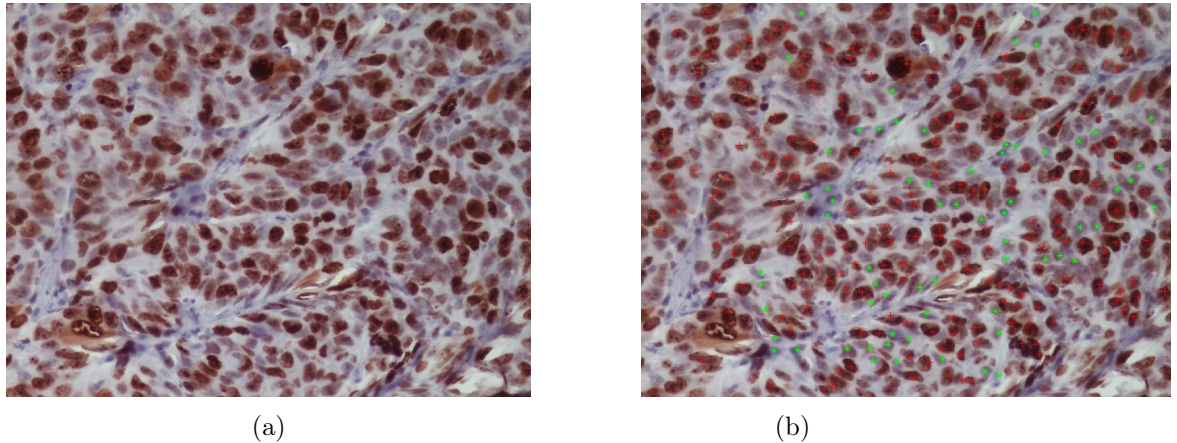


FIGURE 6.4 – Evaluation de l'indice de prolifération par marquage au Ki67. (a) Photographie représentant le marquage cytoplasmique brun-rouge obtenu après détection immunohistochimique de la caspase-3 clivée. (b) Comptage des cellules marquées, chaque croix verte correspond à une cellule tumorale vivante tandis qu'une croix rouge correspond à une cellule tumorale en prolifération.

Pour chacune des tumeurs prélevées, l'indice a été évalué en appréciant le pourcentage de noyaux marqués positivement pour l'antigène Ki-67 pour 1500 cellules tumorales examinées dans une section représentative de la tumeur. La figure 6.5 représente l'indice de prolifération de chaque tumeur dégréffée selon les trois délais post-greffe.

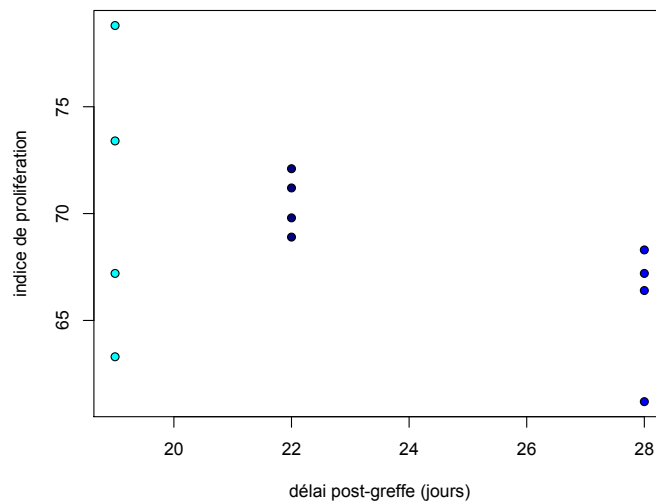


FIGURE 6.5 – Evolution de l'indice de prolifération. Evaluation pour quatre tumeurs à chaque délai post-greffe $t_1 = 19$ jours, $t_2 = 22$ jours et $t_3 = 28$ jours.

Nous n'observons pas d'évolution significative de l'indice de prolifération au cours du temps.

En moyenne, 70% des cellules tumorales sont en phase de prolifération, quel que soit le délai post-greffe, ce qui signifie que 30% des cellules sont soit quiescentes, soit différenciées. Les cellules CSC et T étant les seules cellules capables de proliférer, l'indice de prolifération correspond à la proportion de cellules T et CSC du simulateur présenté dans le chapitre 4.

6.3.2 Détermination de l'indice apoptotique

Les cellules apoptotiques ont été mises en évidence par détection immunohistochimique de la caspase-3 clivée. Le signal obtenu est cytoplasmique et colore en brun-rouge les cellules en apoptose (Fig. 6.6). Le comptage est effectué dans les mêmes conditions que celles évoquées précédemment.

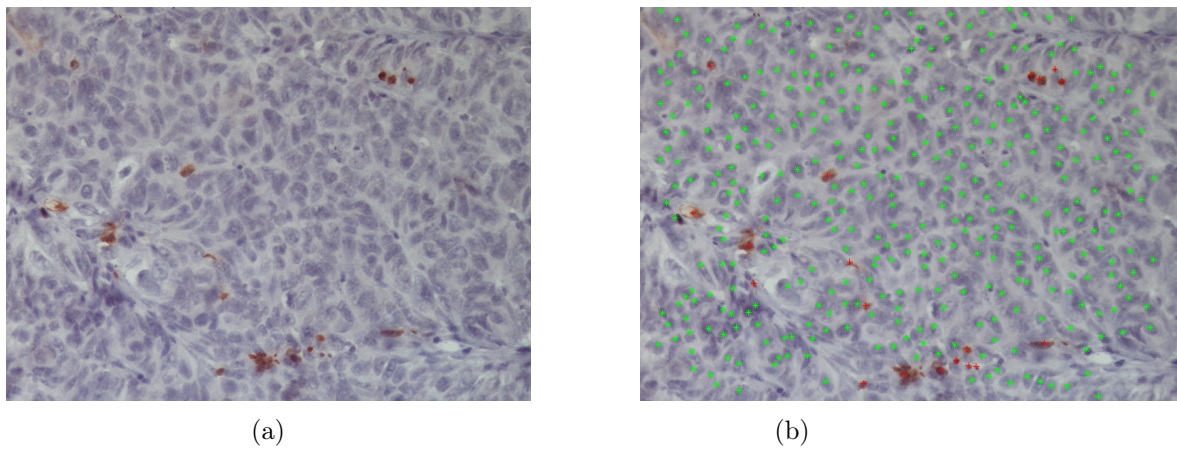


FIGURE 6.6 – Evaluation de l'indice apoptotique à la caspase-3 clivée. (a) Photographie représentant le marquage cytoplasmique brun-rouge obtenu après détection immunohistochimique. (b) Comptage des cellules, les croix vertes dénombrent les cellules tumorales vivantes tandis que les croix rouges dénombrent les cellules en apoptose.

La figure 6.7 montre l'évolution de l'indice apoptotique pour plusieurs délais post-greffe. Cet indice a été évalué en appréciant le pourcentage de cellules marquées positivement à la caspase-3 pour 1500 cellules tumorales examinées. Pour cette analyse, nous avons exclu les zones de nécrose de la tumeur. Les résultats relatifs à l'évolution de l'indice apoptotique sont conformes à ce que l'on pouvait attendre. Il y a une légère augmentation en raison d'un volume tumoral plus important et de l'apparition de zones hypoxiques au sein desquelles les cellules en souffrance vont entrer dans un processus d'apoptose. Le taux de mort des cellules par apoptose est un paramètre intégré au simulateur, du chapitre 4. La détermination de l'indice apoptotique nous a permis de fixer ce taux à 3%.

6.3.3 Evolution de la proportion de clones

Pour chacun des 10 essais clonogéniques effectués, nous disposons de 6 données représentant la proportion de clones (pour 100 000 cellules totales). La figure 6.8a représente ces pourcentages (représentatifs des proportions de CSC) en fonction du délai post-greffe (pour $t_1 = 19$ jours, $t_2 = 22$ jours et $t_3 = 28$ jours). A chaque tumeur correspond une couleur. Les représentations sous forme de boxplot (Fig 6.8b) des trois groupes de tumeurs permettent d'observer leur évolution.

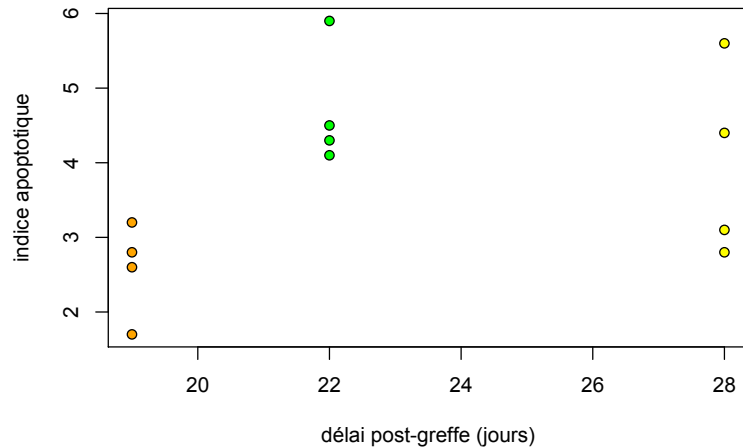


FIGURE 6.7 – Evolution de l'indice apoptotique. Evaluation pour quatre tumeurs à chaque délai post-greffe $t_1 = 19$ jours, $t_2 = 22$ jours et $t_3 = 28$ jours.

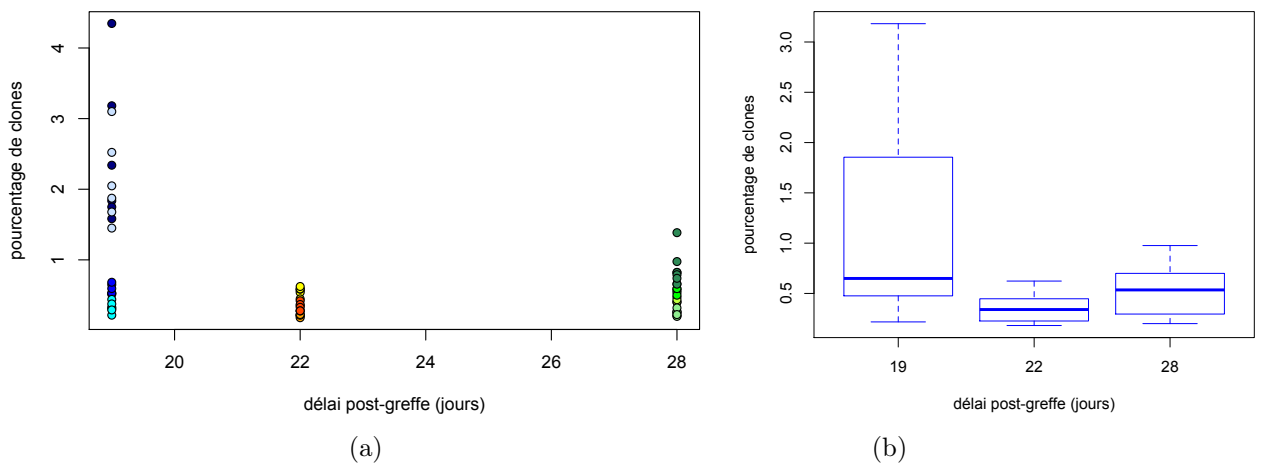


FIGURE 6.8 – (a) Evolution du pourcentage de clones selon le délai post-greffe. (b) Représentation des données sous forme de boxplot.

Nous remarquons que deux tumeurs à J+19 produisent une proportion de clones élevée par rapport aux deux autres prélèvements effectués au même délai. Nous ne savons pas si la dispersion constatée au jour 19 est représentative ou si elle est due à un éventuel biais lié aux expérimentations biologiques. En considérant ces données comme étant "aberrantes" et en les supprimant de l'analyse. Les résultats obtenus sont présentés à la figure 6.9. Les trois groupes apparaissent homogènes et il en semble pas y avoir de différence significative de la fraction de CSC.

Nous avons ensuite effectué un test de comparaison simultanée de plusieurs moyennes, et plus précisément de médianes. Le test H de Kruskal-Wallis est l'équivalent d'une analyse de la variance à un facteur, à ceci près qu'il est applicable même si la loi de la variable étudiée est inconnue ou non normale et qu'il y a peu d'individus dans un ou plusieurs échantillons, ce qui correspond à notre cas. On teste l'hypothèse nulle suivant laquelle les médianes des groupes diffèrent.

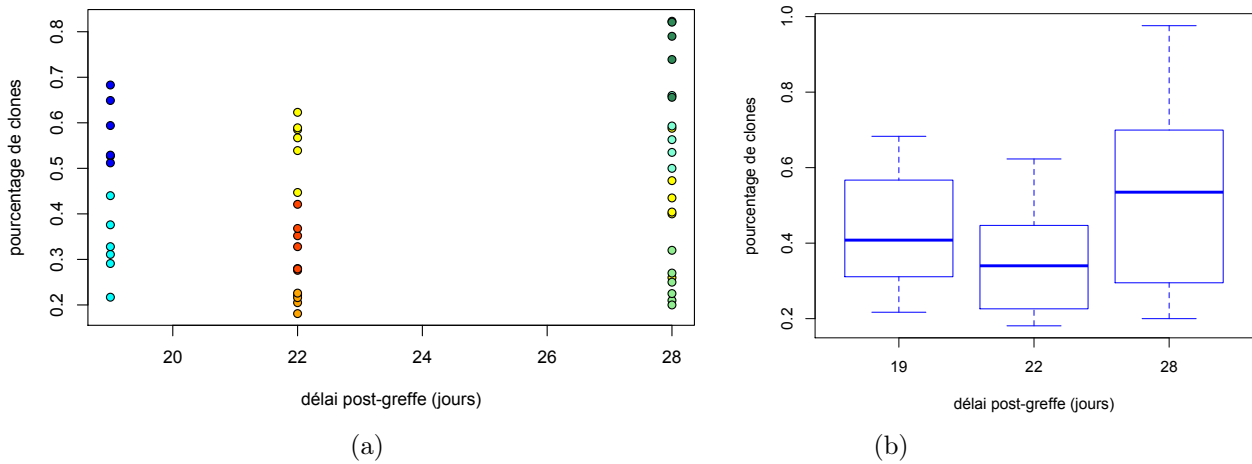


FIGURE 6.9 – (a) Evolution du pourcentage de CSC selon le délai post-greffe. (b) Représentation des données sous forme de boxplot.

Test :

$$\begin{cases} H_0 & \text{les médianes de la population sont toutes égales} \\ H_1 & \text{il existe au moins deux médianes différentes} \end{cases} \quad (6.1)$$

Pour déterminer s'il existe une différence significative, on compare la p-valeur fournie par le test de Kruskal-Wallis avec le risque α que l'on a fixé à 5%. Les résultats du test démontrent qu'il n'y a pas de différence entre les trois groupes de tumeurs (p-valeur= 0.08), le pourcentage de CSC peut donc être considéré constant. En revanche, comme nous pouvions le conjecturer, si le même test est effectué avec les valeurs supplémentaires des deux tumeurs, nous concluons à une différence significative des trois groupes (p-valeur= 0.0008).

6.4 Discussion

L'intérêt des expérimentations biologiques était double :

- i) améliorer le simulateur en cours de développement
- ii) améliorer la compréhension du comportement des CSC

Le calcul de l'indice apoptique a fixé le paramètre relatif au taux de mort des cellules par apoptose du simulateur. La détermination de l'indice de prolifération qui évalue la proportion de cellules en état de prolifération est une donnée utilisée pour caler le simulateur. Quant aux essais clonogéniques réalisés, ils montrent qu'il n'y a pas de différence significative de la proportion de clones dans les tumeurs selon le délai post-greffe. La moyenne est de l'ordre de 0,5%.

Les difficultés que nous avons rencontrées résident principalement dans la prise en compte des données biologiques pour le simulateur. Ces difficultés résultent du décalage temporel et des différences de conditions. En effet, les expérimentations biologiques sont effectuées à partir de fragments tumoraux, eux mêmes issus de précédents fragments greffés sur des souris. Il est difficile d'établir les conditions initiales et ainsi de quantifier le nombre exact de CSC sur une échelle de temps, alors que le simulateur est initialisé avec une CSC. D'autre part, nous avons

à notre disposition des données biologiques pour trois délais post-greffe (Tab. 6.1) pour lesquels les tumeurs analysées sont à chaque fois différentes en raison de la nécessité de sacrifier chaque souris à l'issue de la dégreffe.

	SIMULATEUR	EXPERIMENTATIONS BIOLOGIQUES
Initialisation	1 CSC	un fragment de tumeur greffé avec un nombre initial de CSC inconnu
Temps de croissance	pendant 40 jours	<ul style="list-style-type: none"> • à 19 jours après la greffe • à 22 jours après la greffe • à 28 jours après la greffe
Prise en compte du micro-environnement	non	oui
Données	fraction de CSC au cours du temps (jusqu'à la fin de la simulation)	fraction de CSC pour 3 délais post-greffe

TABLE 6.1 – Comparaison des conditions expérimentales et numériques.

L'échelle de temps semblant être un problème, nous avons représenté à la figure 6.10 les mêmes données en fonction du volume tumoral, exprimé en mm^3 et calculé selon la formule suivante :

$$V = \frac{L \times l^2}{2}$$

avec L et l les longueurs respectives (en mm) du plus grand et plus petit diamètre. Afin d'homogénéiser les échelles, il serait intéressant de calculer un volume tumoral à partir du nombre total de cellules du simulateur.

Pour terminer, aucune expérimentation n'a pour le moment été réalisée pour évaluer la réponse au traitement. L'irradiation des cultures *in vitro* est tout à fait envisageable. Pour chaque tumeur, deux essais clonogéniques seraient effectués. Un premier sans irradiation et un second comprenant une étape d'irradiation immédiatement après l'ensemencement. Les proportions de clones des deux essais seraient comparées dans le but de mettre en exergue la radiorésistance des CSC ou non.

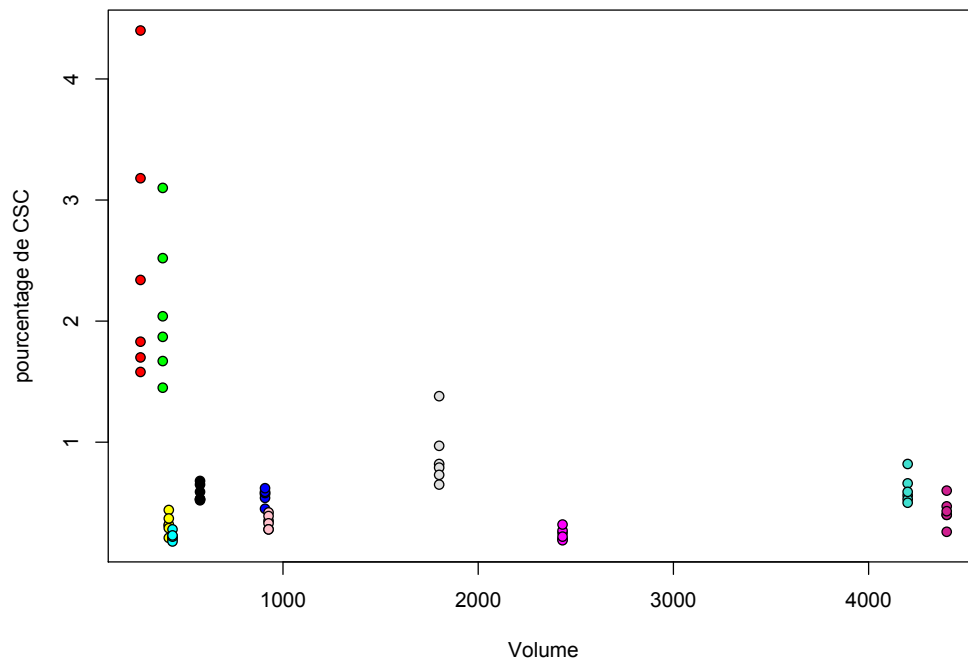


FIGURE 6.10 – Evolution du pourcentage de CSC en fonction du volume des tumeurs.

Conclusion et perspectives

Dans ces travaux, nous avons proposé une modélisation de l'hétérogénéité tumorale d'un glioblastome par un processus de branchement multi-type. Cette hétérogénéité est considérée en distinguant les cellules tumorales selon trois types : les cellules souches cancéreuses, les cellules transitoires et les cellules différenciées. Ces travaux s'inscrivent dans un projet interdisciplinaire qui vise, à plus long terme, à améliorer les thérapies anti-cancéreuses. Ils ont permis d'initier une interaction étroite avec les biologistes du laboratoire et ont bénéficié de leur soutien tant pour les réflexions autour de la modélisation que pour la phase expérimentale.

La modélisation mathématique de la croissance tumorale a déjà fait l'objet de nombreuses études dont les problématiques ont mené au développement de modèles variés. Parmi les travaux les plus avancés dans ce domaine, nous pouvons citer les modèles d'EDP mis en place par l'équipe de Thierry Collin et dont l'objectif est de d'établir un tableau prévisionnel de l'évolution d'une tumeur, chez un patient, à partir des données cliniques telles que celles de l'imagerie médicale (scanner, IRM). Ces recherches sont pratiquées en collaboration avec une équipe médicale du CHU de Bordeaux [24, 86]. Ces modèles d'EDP sont parfaitement adaptés à l'étude macroscopique d'une tumeur composée d'une ou plusieurs sous-populations cellulaires et dont les mécanismes spatiaux tels que la migration sont pris en compte. Néanmoins, les mécanismes microscopiques intervenant dans la croissance tumorale ne sont pas facilement maîtrisables.

Indéniablement, un nombre croissant de travaux relatifs à l'hétérogénéité tumorale est en train d'émerger. La compréhension du comportement des différents types cellulaires nécessite la mise au point de modèles mathématiques et numériques. Afin de décrire les mécanismes de prolifération des CSC, nous avons retenu un processus de branchement de Bellman-Harris multi-type intégrant trois types de cellules. Les effectifs moyens des types cellulaires sont donnés par un système d'équations de renouvellement que nous avons adaptées au contexte biologique du glioblastome. Ce système d'équations n'admet pas de solution analytique.

Nous avons développé un modèle numérique de croissance tumorale reposant sur le processus de branchement. Ces simulations font apparaître une convergence des proportions relatives de chacun des types cellulaires présent dans la tumeur. Cette approche a non seulement participé à comprendre l'impact de certains paramètres microscopiques sur l'évolution macroscopique de la tumeur mais elle a également facilité l'intégration de mécanismes biologiques tels que l'apoptose ou la réponse à un traitement. La prise en compte d'une variation de la radiosensibilité tumorale selon les types de cellules a permis un enrichissement du simulateur. Cette partie n'a pas pu être beaucoup plus développée mais entre dans les perspectives du projet.

L'objectif à plus long terme du simulateur est de raffiner ce modèle en le confrontant aux observations biologiques et de le valider (ou de l'invalidier). Dans une première étape, nous avons cherché à estimer certains paramètres du processus de branchement proposé. C'est un axe de recherche encore peu développé. En effet, il n'est pas possible d'obtenir la fonction de densité du processus ce qui limite l'application des méthodes d'estimation classiques. Ceci nous a conduit à

exploiter le principe du pseudo-maximum de vraisemblance qui fait partie des méthodes alternatives et permet d'effectuer une estimation des paramètres en ayant des connaissances partielles sur la distribution de probabilité du processus de branchement. Cette approche a été mise en œuvre afin d'estimer la probabilité de division d'une CSC en deux CSC. Les résultats fournis par la méthode du pseudo-maximum de vraisemblance sont encourageants. Nous remarquons que l'estimation est d'autant plus efficace que la probabilité de division des CSC est élevée. Toutefois, ces résultats ont été obtenus pour des valeurs fixes de paramètres qu'il convient de faire varier pour en donner une estimation.

Les expérimentations biologiques mises en place au laboratoire nous ont permis d'ajuster certains paramètres du simulateur ainsi que d'estimer la valeur de p_1 . Cependant, le peu de données disponibles ne nous permet pas d'en déduire des conclusions fiables. D'autre part, les conditions initiales entre les données numériques et les données expérimentales ne sont pas identiques. Ceci complique l'ajustement et la validation future du simulateur.

D'un point de vue biologique, nous constatons un essor important des recherches autour des CSC. Si cette notion de CSC est largement employée par toute la communauté biologique et présentée comme un véritable enjeu thérapeutique, sa définition n'est pas clairement posée. Le terme de cellule initiatrice de tumeur est d'ailleurs parfois employé pour remplacer celui de CSC. Ce problème de définition souligne le caractère ambigu même du concept de CSC qui fait aujourd'hui émerger des réflexions philosophiques [62].

Perspectives

Ces premiers travaux au sein de notre équipe ont soulevé différents problèmes et questions scientifiques pour lesquels des pistes d'améliorations et des perspectives sont énoncées ci-dessous :

1. Modèle et simulateur :
 - (a) Prise en compte du micro-environnement : les résultats numériques que nous présentons sont issus de simulations pour lesquelles les paramètres restent constants au cours du temps. Or certaines données biologiques évoluent, notamment en raison du micro-environnement de la tumeur. Il serait intéressant d'enrichir le simulateur en y incluant le rôle du micro-environnement tumoral et, plus particulièrement, celui de l'oxygène qui apparaît comme déterminant dans les mécanismes de résistance des CSC.
 - (b) Optimisation de l'algorithme : le temps de calcul devient prohibitif dès que le volume tumoral dépasse 10^7 cellules. L'ajustement des données numériques par un modèle exponentiel à la fin du chapitre 4 est à exploiter pour l'étude de tumeurs plus volumineuses.
 - (c) Développement de la partie traitement : différentes stratégies thérapeutiques (modulation de la dose, du fractionnement, des paramètres du modèle LQ) sont à envisager afin de trouver le schéma optimal visant à détruire le plus possible de CSC.
2. Expérimentations et acquisition de données biologiques : davantage de données biologiques rendrait les résultats des essais clonogéniques plus consistants. Par ailleurs, le même type d'expérimentations agrémentées d'une phase de traitement par rayonnement fourniraient des informations importantes quant aux effets des rayonnements sur une population hétérogène de cellules.
3. Estimation des paramètres du modèle : la méthode du pseudo-maximum de vraisemblance testée pour l'estimation de plusieurs paramètres permettrait de valider ou invalider la robustesse de la méthode proposée.

Bibliographie

- [1] J.A. Adam. A simplified mathematical model of tumor growth. *Mathematical biosciences*, 81(2) :229–244, 1986.
- [2] M. Al-Hajj, M.S. Wicha, A. Benito-Hernandez, S.J. Morrison, and M.F. Clarke. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(7) :3983–3988, 2003.
- [3] T. Alarcon. A mathematical model of the effects of hypoxia on the cell-cycle of normal and cancer cells. *Journal of Theoretical Biology*, 229(3) :395–411, 2004.
- [4] T. Alarcón, H.M. Byrne, and P.K. Maini. A cellular automaton model for tumour growth in inhomogeneous environment. *Journal of Theoretical Biology*, 225(2) :257–274, 2003.
- [5] J.C. Alfonso, N. Jagiella, L. Núñez, M.A. Herrero, and D. Drasdo. Estimating dose painting effects in radiotherapy : A mathematical model. *PloS one*, 9(2), 2014.
- [6] E. Alvord. The modelling of diffusive tumours. *Journal of Biological Systems*, 03(04) :937–945, 1995.
- [7] B. Annabi, S. Rojas-Sutterlin, C. Laffamme, M. Lachambre, Y. Rolland, H. Sartelet, and R. Béliveau. Tumor environment dictates medulloblastoma cancer stem cell expression and invasive phenotype. *Molecular Cancer Research*, 6(6) :907–916, 2008.
- [8] T. Antal and Krapivsky P.L. Exact solution of a two-type branching process : models of tumor progression. *Journal of Statistical Mechanics : Theory and Experiment*, 2011(08) :P08018, 2011.
- [9] K. B Athreya and P. E. Ney. *Branching processes*, volume 196. Springer Science & Business Media, 2012.
- [10] S. Bao, Q. Wu, R.E. McLendon, Y. Hao, Q. Shi, A.B. Hjelmeland, M.W. Dewhirst, D.D. Bigner, and J.N. Rich. Glioma stem cells promote radioresistance by preferential activation of the dna damage response. *nature*, 444(7120) :756–760, 2006.
- [11] R. Bellman and T. E. Harris. On the theory of age-dependent stochastic branching processes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 34(12) :601–604, 1948.
- [12] S. Benzekry, C. Lamont, A. Beheshti, A. Tracz, J.M.L. Ebos, L. Hlatky, and P. Hahnfeldt. Classical mathematical models for description and prediction of experimental tumor growth. *PLoS Comput Biol*, 10(8) :e1003800, 2014.
- [13] J. Besag. Statistical analysis of non-lattice data. *The statistician*, pages 179–195, 1975.
- [14] BR Bhat and SR Adke. Maximum likelihood estimation for branching processes with immigration. *Advances in Applied Probability*, pages 498–509, 1981.
- [15] F. Billy, B. Ribba, O. Saut, H. Morre-Trouilhet, T. Colin, D. Bresch, J-P. Boissel, E. Grenier, and J-P. Flandrois. A pharmacologically based multiscale mathematical model of

- angiogenesis and its use in investigating the efficacy of a new cancer treatment strategy. *Journal of theoretical biology*, 260(4) :545–562, 2009.
- [16] A.D. Boiko, O.V. Razorenova, M. van de Rijn, S.M. Swetter, D.L. Johnson, D.P. Ly, P.D. Butler, G.P. Yang, B. Joshua, M.J. Kaplan, M.T. Longaker, and I.L. Weissman. Human melanoma-initiating cells express neural crest nerve growth factor receptor cd271. *Nature*, 466(7302) :133–137, 07 2010.
- [17] A. Bradshaw, A. Wickremsekera, S.T. Tan, L. Peng, P.F. Davis, and T. Itinteang. Cancer stem cell hierarchy in glioblastoma multiforme. *Frontiers in surgery*, 3, 2016.
- [18] 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*, 32(4) :2321–2344, 2010.
- [19] M.F. Bugallo, S. Dash, G. Botchkina, M. Lops, and P.M. Djuric. A stochastic compartmental approach to modeling and simulation of cancer spheroid formation and evolution. In *Acoustics, Speech and Signal Processing (ICASSP), 2011 IEEE International Conference on*, pages 6000–6003. IEEE, 2011.
- [20] J.F. Burguete, A. Ronald Gallant, and G. Souza. On unification of the asymptotic theory of nonlinear econometric models. *Econometric Reviews*, 1(2) :151–190, 1982.
- [21] J. Chen, Y. Li, T.S. Yu, R.M. McKay, D.K. Burns, S.G. Kernie, and L.F. Parada. A restricted cell population propagates glioblastoma growth after chemotherapy. *Nature*, 488(7412) :522–526, 2012.
- [22] R. Chen, O. Hyrien, M. Noble, and M. Mayer-Pröschel. A composite likelihood approach to the analysis of longitudinal clonal data on multitype cellular systems under an age-dependent branching process. *Biostatistics*, 12(1) :173–191, 2011.
- [23] H. Clevers. The cancer stem cell : premises, promises and challenges. *Nature medicine*, pages 313–319, 2011.
- [24] T. Colin, F. Cornelis, J. Jouganous, J. Palussière, and O. Saut. Patient-specific simulation of tumor growth, response to the treatment, and relapse of a lung metastasis : a clinical case. *Journal of Computational Surgery*, 2(1) :1, 2015.
- [25] A.T. Collins and N.J Maitland. Prostate cancer stem cells. *European Journal of Cancer*, 42(9) :1213–1218, 2006.
- [26] D. Dick. Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. *Nature Med*, 3 :730–737, 1997.
- [27] M. Diehn and M.F. Clarke. Cancer stem cells and radiotherapy : new insights into tumor radioresistance. *Journal of the National Cancer Institute*, 98(24) :1755–1757, 2006.
- [28] D.D. Dionysiou, G.S. Stamatakos, D. Gintides, N. Uzunoglu, and K. Kyriaki. Critical parameters determining standard radiotherapy treatment outcome for glioblastoma multiforme : a computer simulation. *The Open Biomedical Engineering Journal*, 2 :43, 2008.
- [29] P.B. Dirks. Brain tumor stem cells : the cancer stem cell hypothesis writ large. *Molecular oncology*, 4(5) :420–430, 2010.
- [30] D. Drasdo and S. Höhme. Individual-based approaches to birth and death in avascular tumors. *Mathematical and Computer Modelling*, 37(11) :1163 – 1175, 2003.
- [31] D. Drasdo and S. Höhme. A single-cell-based model of tumor growth in vitro : monolayers and spheroids. *Physical Biology*, 2(3) :133, 2005.

-
- [32] G. Driessens, B. Beck, A. Caauwe, B. Simons, and C. Blanpain. Defining the mode of tumour growth by clonal analysis. *Nature*, 488(7412) :527–30, 2012.
- [33] W. Düchting and T. Vogelsaenger. Recent progress in modelling and simulation of three-dimensional tumor growth and treatment. *Biosystems*, 18(1) :79–91, 1985.
- [34] H. Enderling and P. Hahnfeldt. Cancer stem cells in solid tumors : Is evading apoptosis a hallmark of cancer? *Progress in biophysics and molecular biology*, 106(2) :391–399, 2011.
- [35] H. Enderling, L. Hlatky, and P. Hahnfeldt. Migration rules : tumours are conglomerates of self-metastases. *British journal of cancer*, 100(12) :1917–1925, 2009.
- [36] H. Enderling, D. Park, L. Hlatky, and P. Hahnfeldt. The importance of spatial distribution of stemness and proliferation state in determining tumor radioresponse. *Mathematical Modelling of Natural Phenomena*, 4(03) :117–133, 2009.
- [37] W. Feller. *An introduction to probability theory and its applications : volume I*, volume 3. John Wiley & Sons London-New York-Sydney-Toronto, 1968.
- [38] J.F. Fowler. The linear-quadratic formula and progress in fractionated radiotherapy. *The British journal of radiology*, 62(740) :679–694, 1989.
- [39] J. Galle, G. Aust, G. Schaller, T. Beyer, and D. Drasdo. Individual cell-based models of the spatial-temporal organization of multicellular systems—Achievements and limitations. *Cytometry*, 69A(7) :704–710, 2006.
- [40] X. Gao, J.T. McDonald, M. Naidu, P. Hahnfeldt, and L. Hlatky. A proposed quantitative index for assessing the potential contribution of reprogramming to cancer stem cell kinetics. *Stem Cells International*, 2014, 2014.
- [41] M. Gerlinger, A. J Rowan, S. Horswell, J. Larkin, D. Endesfelder, E. Gronroos, P. Martinez, N. Matthews, A. Stewart, and P. Tarpey. Intratumor heterogeneity and branched evolution revealed by multiregion sequencing. *New England journal of medicine*, 366(10) :883–892, 2012.
- [42] V.P. Godambe and C.C. Heyde. Quasi-likelihood and optimal estimation. In *Selected Works of CC Heyde*, pages 386–399. Springer, 2010.
- [43] C. Gourieroux, A. Monfort, and A. Trognon. Pseudo maximum likelihood methods : Theory. *Econometrica : Journal of the Econometric Society*, pages 681–700, 1984.
- [44] L H. Gray, A D. Conger, and M. Ebert. The concentration of oxygen in tissues at the time of irradiation as a factor in radiotherapy . *Br. J. Radiol*, 1953.
- [45] P. Haccou, P. Jagers, V. A. Vatutin, and U. Dieckmann. *Branching processes : variation, growth, and extinction of populations*. Cambridge University Press, 2007.
- [46] T. E. Harris. *The theory of branching processes*. Courier Corporation, 2002.
- [47] CC Heyde. On estimating the variance of the offspring distribution in a simple branching process. In *Selected Works of CC Heyde*, pages 276–288. Springer, 2010.
- [48] T. Hillen, H. Enderling, and P. Hahnfeldt. The tumor growth paradox and immune system-mediated selection for cancer stem cells. *Bulletin of mathematical biology*, 75(1) :161–184, 2013.
- [49] T. Hillen, H. Enderling, and P. Hahnfeldt. The tumor growth paradox and immune system-mediated selection for cancer stem cells. *Bulletin of mathematical biology*, 75(1) :161–184, 2013.
- [50] O. Hyrien. Pseudo-likelihood estimation for discretely observed multitype bellman–harris branching processes. *Journal of statistical planning and inference*, 137(4) :1375–1388, 2007.

- [51] R.B. Jelili, S. Hamouche, and F. Mihoubi. Le pseudo-maximum de vraisemblance théorique et simulé. application au cas des modèles de déséquilibre. *Économie & prévision*, 112(1) :149–174, 1994.
- [52] Y. Jiang, J. Pjesivac-Grbovic, C. Cantrell, and J. P. Freyer. A multiscale model for avascular tumor growth. *Biophysical Journal*, 89(6) :3884–3894, 2005.
- [53] C.T. Jordan, M.L. Guzman, and M. Noble. Cancer stem cells. *New England Journal of Medicine*, 355(12) :1253–1261, 2006.
- [54] A. R. Kansal, S. Torquato, Harsh I. V. Gr, E. A. Chiocca, and T. S. Deisboeck. Simulated brain tumor growth dynamics using a three-dimensional cellular automaton. *Journal of Theoretical Biology*, 203(4) :367–382, 2000.
- [55] A.R. Kansal, S. Torquato, G.R. Harsh Iv, E.A. Chiocca, and T.S. Deisboeck. Cellular automaton of idealized brain tumor growth dynamics. *BioSystems*, 55, 2000.
- [56] Y. Kim, M. A. Stolarska, and H. G. Othmer. A hybrid model for tumor spheroid growth in vitro I : theoretical development and early results. *Mathematical Models and Methods in Applied Sciences*, 17 :1773–1798, 2007.
- [57] M. Kimmel and D. E. Axelrod. Branching processes in biology. *interdisciplinary applied mathematics* 19, 2002.
- [58] E. Konukoglu, O. Clatz, P-Y. Bondiau, H. Delingette, and N. Ayache. Extrapolating glioma invasion margin in brain magnetic resonance images : suggesting new irradiation margins. *Medical Image Analysis*, 14(2) :111 – 125, 2010.
- [59] E. Konukoglu, O. Clatz, P-Y. Bondiau, H. Delingette, and N. Ayache. Personalization of reaction-diffusion tumor growth models in MR images : application to brain gliomas characterization and radiotherapy planning. In *Multiscale Cancer Modeling*. CRC Press, 2010.
- [60] J-B. Lagaert. *Modélisation de la croissance tumorale : estimation de paramètres d'un modèle de croissance et introduction d'un modèle spécifique aux gliomes de tout grade*. PhD thesis, Université Sciences et Technologies - Bordeaux I, 2011.
- [61] K. Lamszus and H.S Günther. Glioma stem cells as a target for treatment. *Targeted oncology*, 5(3) :211–215, 2010.
- [62] Lucie Laplane. *Cellules souches cancéreuses : ontologie et thérapies*. PhD thesis, Paris 10, 2013.
- [63] G. Laroque and B. Salanie. Estimation of multi-market fix-price models : An application of pseudo maximum likelihood methods. *Econometrica : Journal of the Econometric Society*, pages 831–860, 1989.
- [64] K. Leder, K. Pitter, Q. LaPlant, D. Hambardzumyan, B. D. Ross, T. A. Chan, E. C. Holland, and F. Michor. Mathematical modeling of pdgf-driven glioblastoma reveals optimized radiation dosing schedules. *Cell*, 156(3) :603–616, 2014.
- [65] G. Liu, X. Yuan, Z. Zeng, P. Tunici, H. Ng, I. R Abdulkadir, L. Lu, D. Irvin, K. L. Black, and S. Y John. Analysis of gene expression and chemoresistance of cd133+ cancer stem cells in glioblastoma. *Molecular cancer*, 5(1) :1, 2006.
- [66] D. N. Louis, A. Perry, G. Reifenberger, A. von Deimling, D. F-B., W. K. Cavenee, H. Ohgaki, O. D. Wiestler, P. Kleihues, and D. W. Ellison. The 2016 world health organization classification of tumors of the central nervous system : A summary. *Acta neuropathologica*, 131(6) :803–820, 2016.

-
- [67] D.N. Louis, H. Ohgaki, O.D. Wiestler, W.K. Cavenee, P.C. Burger, A. Jouvett, B.W. Scheithauer, and P. Kleihues. The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. *Acta neuropathologica*, 114(2) :97–109, 2007.
- [68] N.J. Maitland and A.T. Collins. Prostate cancer stem cells : a new target for therapy. *Journal of Clinical Oncology*, 26(17) :2862–2870, 2008.
- [69] C.J. Mode. *Multitype branching processes ; theory and applications [by] Charles J. Mode*. American Elsevier Pub. Co New York, 1971.
- [70] R. Molina-Peña and M.M. Álvarez. A simple mathematical model based on the cancer stem cell hypothesis suggests kinetic commonalities in solid tumor growth. *PloS one*, 7(2) :e26233, 2012.
- [71] J. Moreira and A. Deutsch. Cellular automaton models of tumor development : a critical review. *Advances in Complex Systems*, 5(02n03) :247–267, 2002.
- [72] C. Morton, L. Hlatky, P. Hahnfeldt, and H. Enderling. Non-stem cancer cell kinetics modulate solid tumor progression. *Theoretical Biology Medicine Model*, 8(1) :48, 2011.
- [73] K-A. Norton and A.S. Popel. An agent-based model of cancer stem cell initiated avascular tumour growth and metastasis : the effect of seeding frequency and location. *Journal of The Royal Society Interface*, 11(100) :20140640, 2014.
- [74] P.C. Nowell. The clonal evolution of tumor cell populations. *Science*, 194(4260) :23–28, 1976.
- [75] C. A O’Brien, A. Pollett, S. Gallinger, and J.E. Dick. A human colon cancer cell capable of initiating tumour growth in immunodeficient mice. *Nature*, 445(7123) :106–110, 2007.
- [76] J. Poleszczuk, P. Hahnfeldt, H. Enderling, and A. Rzhetsky. Evolution and phenotypic selection of cancer stem cells. *PLoS computational biology*, 11(3) :e1004025–e1004025, 2015.
- [77] C. Porta, S. Zapperi, and J. P. Sethna. Senescent cells in growing tumors : population dynamics and cancer stem cells. *PLoS Computational Biology*, 8(1), 2012.
- [78] T.T. Puck and P.I. Marcus. Action of x-rays on mammalian cells. *The Journal of experimental medicine*, 103(5) :653–666, 1956.
- [79] A. S. Qi, X. Zheng, C. Y. Du, and B. S. An. A cellular automaton model of cancerous growth. *Journal of Theoretical Biology*, 161(1) :1–12, 1993.
- [80] T. Randriarimanana, A. Chateau, B. Faivre, S. Pinel, and C. Boura. Sensitivity of glioma initiating cells to a monoclonal anti-egfr antibody therapy under hypoxia. *Life sciences*, 137 :74–80, 2015.
- [81] E.A. Reis, L.B.L. Santos, and S.T.R. Pinho. A cellular automata model for avascular solid tumor growth under the effect of therapy. *Physica A : Statistical Mechanics and its Applications*, 388(7) :1303 – 1314, 2009.
- [82] T. Reya, S.J. Morrison, M.F. Clarke, and I.L. Weissman. Stem cells, cancer, and cancer stem cells. *Nature*, 414(6859) :105–111, 11 2001.
- [83] 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. *Journal of Theoretical Biology*, 243(4) :532–541, 2006.
- [84] T. Roose, S.J. Chapman, and P.K. Maini. Mathematical models of avascular tumor growth. *Siam Review*, 49(2) :179–208, 2007.

- [85] A. Salmaggi, A. Boiardi, M. Gelati, A. Russo, C. Calatozzolo, E. Ciusani, F. L. Sciacca, A. Ottolina, Eugenio Agostino Parati, C. La Porta, et al. Glioblastoma-derived tumorspheres identify a population of tumor stem-like cells with angiogenic potential and enhanced multidrug resistance phenotype. *Glia*, 54(8) :850–860, 2006.
- [86] O. Saut, J-B. Lagaert, T. Colin, and H.M. Fathallah-Shaykh. A multilayer grow-or-go model for gbm : effects of invasive cells and anti-angiogenesis on growth. *Bulletin of mathematical biology*, 76(9) :2306–2333, 2014.
- [87] T. Schatton, G.F. Murphy, N.Y. Frank, K. Yamaura, A.M. Waaga-Gasser, M. Gasser, Q. Zhan, S. Jordan, L.M. Duncan, C. Weishaupt, R.C. Fuhlbrigge, T.S. Kupper, M.H. Sayegh, and M.H. Frank. Identification of cells initiating human melanomas. *Nature*, 451(7176) :345–349, 01 2008.
- [88] A. G. Schepers, H. J. Snippert, D. E Stange, M. van den Born, J. H. van Es, M. van de Wetering, and H. Clevers. Lineage tracing reveals lgr5+ stem cell activity in mouse intestinal adenomas. *Science*, 337(6095) :730–735, 2012.
- [89] P. Schmidt, C. Kopecky, A. Hombach, P. Zigrino, C. Mauch, and H. Abken. Eradication of melanomas by targeted elimination of a minor subset of tumor cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(6) :2474–2479, 2011.
- [90] Grégory Segala. Cycle cellulaire. <http://www.futura-sciences.com/magazines/sante/infos/dossiers/d/medecine-cancer-mecanismes-biologiques-1453/page/6/>.
- [91] M. Shackleton, E. Quintana, E.R. Fearon, and S.J. Morrison. Heterogeneity in cancer : cancer stem cells versus clonal evolution. *Cell*, 138(5) :822–829, 2009.
- [92] A. Sottoriva, J. JC Verhoeff, T. Borovski, SK McWeeney, L. Naumov, JP. Medema, P. MA Sloot, and L. Vermeulen. Cancer stem cell tumor model reveals invasive morphology and increased phenotypical heterogeneity. *Cancer research*, 70(1) :46–56, 2010.
- [93] J. Stanley, W. Shipley, and G.G. Steel. Influence of tumour size on hypoxic fraction and therapeutic sensitivity of lewis lung tumour. *British journal of cancer*, 36(1) :105, 1977.
- [94] G.G. Steel. *Basic Clinical Radiobiology*. Hodder Arnold Publishers, 2002.
- [95] M. A. Stolarska, Y. Kim, and Othmer H. G. Multiscale models of cell and tissue dynamics, 2009.
- [96] R. Stupp, W.P. Mason, M.J. Van Den Bent, M. Weller, B. Fisher, M.JB. Taphoorn, K. Belanger, A.A. Brandes, C. Marosi, U. Bogdahn, et al. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *New England Journal of Medicine*, 352(10) :987–996, 2005.
- [97] K. R. Swanson, E. C. Alvord, and J. D. Murray. A quantitative model for differential motility of gliomas in grey and white matter. *Cell Prolif*, 2000.
- [98] W.Y. Tan. A stochastic Gompertz birth-death process. *Statistics and Probability Letters*, 4(1) :25 – 28, 1986.
- [99] J.I. Tello. On a mathematical model of tumor growth based on cancer stem cells. *Math Biosci Eng*, 10(1) :263–278, 2013.
- [100] P. Tracqui, G.C. Cruywagen, D.E. Woodward, G.T. Bartoo, J.D. Murray, and E.C. Alvord. A mathematical model of glioma growth : the effect of chemotherapy on spatio-temporal growth. *Cell Proliferation*, 28(1) :17–31, 1995.

-
- [101] A. Trognon. Les méthodes du pseudo-maximum de vraisemblance. *Annales d'Économie et de Statistique*, pages 117–134, 1987.
- [102] W. Tuckwell, E. Bezak, E. Yeoh, and L. Marcu. Efficient Monte Carlo modelling of individual tumour cell propagation for hypoxic head and neck cancer. *Physics in Medicine and Biology*, 53(17) :4489, 2008.
- [103] P. Vaupel, F. Kallinowski, and P. Okunieff. Blood flow, oxygen and nutrient supply, and metabolic microenvironment of human tumors : a review. *Cancer research*, 49(23) :6449–6465, 1989.
- [104] P. F. Verhulst. *Notice sur la loi que la population suit dans son accroissement*, volume 10. Correspondance mathématique et physique, 1838.
- [105] J.CY. Wang and J.E. Dick. Cancer stem cells : lessons from leukemia. *Trends in cell biology*, 15(9) :494–501, 2005.
- [106] Z. Wang and T. Deisboeck. Computational modeling of brain tumors : discrete, continuum or hybrid? *Scientific Modeling and Simulation*, 15(1) :381–393, 2008.
- [107] S.L Weekes, B. Barker, S. Bober, K. Cisneros, J. Cline, A. Thompson, L. Hlatky, P. Hahnfeldt, and H. Enderling. A multicompartement mathematical model of cancer stem cell-driven tumor growth dynamics. *Bulletin of mathematical biology*, 76(7) :1762–1782, 2014.
- [108] R. Wette, I.N. Katz, and E.Y. Rodin. Stochastic processes for solid tumor kinetics i. surface-regulated growth. *Mathematical Biosciences*, 19(3–4) :231 – 255, 1974.
- [109] D.E. Woodward, J. Cook, P. Tracqui, G.C. Cruywagen, J.D. Murray, and E.C. Alvord. A mathematical model of glioma growth : the effect of extent of surgical resection. *Cell Proliferation*, 29(6) :269–288, 1996.
- [110] N.A. Wright and M. Alison. *The biology of epithelial cell populations*. Oxford science publications. Clarendon Press, 1984.
- [111] A.Y. Yakovlev and N.M. Yanev. Relative frequencies in multitype branching processes. *The annals of applied probability*, pages 1–14, 2009.
- [112] A. Zorin, M. Mayer-Proschel, M. Noble, and A.Y. Yakovlev. Estimation problems associated with stochastic modeling of proliferation and differentiation of o-2a progenitor cells in vitro. *Mathematical biosciences*, 167(2) :109–121, 2000.
- [113] S. Zouaoui, V. Rigau, H. Mathieu-Daudé, A. Darlix, F. Bessaoud, P. Fabbro-Peray, F. Bauchet, C. Kerr, M. Fabbro, D. Figarella-Branger, et al. [french brain tumor database : general results on 40,000 cases, main current applications and future prospects]. *Neuro-Chirurgie*, 58(1) :4–13, 2012.

Résumé

Grâce aux progrès de la recherche, on sait aujourd’hui guérir près d’un cancer sur deux. Cependant, certaines tumeurs, telles que les glioblastomes restent parmi les plus agressives et les plus difficiles à traiter. La cause de cette résistance aux traitements pourrait provenir d’une sous-population de cellules ayant des caractéristiques communes aux cellules souches que l’on appelle cellules souches cancéreuses. De nombreux modèles mathématiques et numériques de croissance tumorale existent déjà mais peu tiennent compte de l’hétérogénéité intra-tumorale, qui est aujourd’hui un véritable challenge.

Cette thèse s’intéresse à la dynamique des différentes sous-populations cellulaires d’un glioblastome. Elle consiste en l’élaboration d’un modèle mathématique de croissance tumorale reposant sur un processus de branchement de Bellman-Harris, à la fois multi-type et dépendant de l’âge. Ce modèle permet d’intégrer l’hétérogénéité cellulaire. Des simulations numériques reproduisent l’évolution des différents types de cellules et permettent de tester l’action de différents schémas thérapeutiques sur le développement tumoral. Une méthode d’estimation des paramètres du modèle numérique fondée sur le pseudo-maximum de vraisemblance a été adaptée. Cette approche est une alternative au maximum de vraisemblance dans le cas où la distribution de l’échantillon est inconnue. Enfin, nous présentons les expérimentations biologiques qui ont été mises en place dans le but de valider le modèle numérique.

Mots-clés: croissance tumorale, glioblastome, hétérogénéité intra-tumorale, processus de branchement, estimation des paramètres, pseudo-maximum de vraisemblance

Abstract

The latest advances in cancer research are paving the way to better treatments. However, some tumors such as glioblastomas remain among the most aggressive and difficult to treat. The cause of this resistance could be due to a sub-population of cells with characteristics common to stem cells. Many mathematical and numerical models on tumor growth already exist but few take into account the tumor heterogeneity. It is now a real challenge.

This thesis focuses on the dynamics of different cell subpopulations in glioblastoma. It involves the development of a mathematical model of tumor growth based on a multitype, age-dependent branching process. This model allows to integrate cellular heterogeneity. Numerical simulations reproduce the evolution of different types of cells and simulate the action of several therapeutic strategies. A method of parameters estimation based on the pseudo-maximum likelihood has been developed. This approach is an alternative to the maximum likelihood in the case where the sample distribution is unknown. Finally, we present the biological experiments that have been implemented in order to validate the numerical model.

Keywords: tumor growth, glioblastoma, tumor heterogeneity, branching process, numerical simulations, parameter estimation, pseudo maximum likelihood

