



Modélisation de la migration de cellules tumorales : évolution in vitro de sphéroïdes de cellules issues de glioblastomes

Marine Aubert

► To cite this version:

Marine Aubert. Modélisation de la migration de cellules tumorales : évolution in vitro de sphéroïdes de cellules issues de glioblastomes. Physique [physics]. Université Paris-Diderot - Paris VII, 2008. Français. NNT : . tel-00341905

HAL Id: tel-00341905

<https://theses.hal.science/tel-00341905>

Submitted on 26 Nov 2008

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

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

UNIVERSITÉ PARIS DIDEROT (PARIS 7)
ÉCOLE DOCTORALE 381 :
Constituants élémentaires et systèmes complexes

THÈSE

Pour l'obtention du titre de
DOCTEUR EN SCIENCES DE
L'UNIVERSITÉ PARIS DIDEROT (PARIS 7)

soutenue le
23 Juin 2008

présentée par
Marine AUBERT

*Modélisation de la migration de cellules tumorales :
évolution in vitro de sphéroïdes de cellules issues de glioblastomes.*

Thèse dirigée par
Basile GRAMMATICOS

Composition du jury

M.	Jean	CLAIRAMBAULT	Rapporteur
M.	Basile	GRAMMATICOS	Directeur de thèse
M.	Emmanuel	MANDONNET	Examineur
Mme	Angélique	STEPHANOU	Examineur
M.	Luc	VALENTIN	Président du jury
M.	Jean-Marc	VICTOR	Rapporteur

Remerciements

Je tiens tout d’abord à remercier Basile et Mathilde de m’avoir acceptée comme doctorante à l’issue de mon stage de Maîtrise avec eux (la réforme LMD n’était, à l’époque, pas encore appliquée!). Ce sujet m’avait alors enthousiasmée et cela a continué pendant ma thèse. J’ai beaucoup apprécié de travailler avec vous. Vous m’avez encadrée tout en me laissant une liberté qui m’a permis de m’affirmer dans ma recherche. J’ai apprécié votre confiance lorsque je partais en *workshops* ou en écoles d’été pour présenter nos travaux (et merci Mathilde pour m’avoir accompagnée lors de mon premier vol!!). Merci aussi pour votre soutien dans les moments difficiles (professionnels et personnels). Les *bugs* n’auront pas réussi à me faire sauter du haut de mon 1er étage!!! Je vous remercie enfin pour votre lecture attentive de mon manuscrit.

Je souhaite également exprimer tous mes remerciements à Yves pour m’avoir accueillie dans son laboratoire alors en pleine création, et pour m’avoir permis de prendre une part active au sein des conseils du laboratoire.

Un grand merci à Christo pour m’avoir fourni les données expérimentales sans qui cette thèse n’aurait pas autant de valeur et pour m’avoir accueillie au sein de la Plateforme d’Imagerie Cellulaire et Tissulaire de l’Unité U481 pendant mon stage de M2 (entre temps, la réforme était passée!). Je souhaite également te remercier pour avoir répondu à mes questions de biologie et pour ta relecture du manuscrit.

Je remercie Jean Clairambault et Jean-Marc Victor pour avoir accepté d’être les rapporteurs de ma thèse et pour l’avoir lue si attentivement. J’ai apprécié vos remarques qui ont rendu mon manuscrit meilleur. Merci à Luc pour la présidence de mon jury, pour les questions pertinentes et pour ces compliments qui m’ont remonté le moral peu de temps avant la soutenance. Je souhaite exprimer mes remerciements à Angélique et Emmanuel pour avoir accepté d’être membres de mon jury.

J’ai également une pensée pour tous les membres passés et présents du laboratoire IMNC qui ont fait que cette thèse s’est déroulée dans un contexte particulièrement agréable. Tout d’abord, merci à toi Christophe pour avoir gonflé la taille du groupe “Modélisation” et pour toute l’aide que tu m’as apportée. Ensuite, dans un ordre lié à la proximité entre nos bureaux, merci à : Émilie (qui, à mon grand désespoir, a quitté le labo), Alfred, Lool, Nathalie, Sandrine, Christiane, Baptiste, Sylvie, Roland, Irène, Françoise, Marie-Alix, Stéphanie, Rainer, Florence, Hirc, Claire, Laurent, Fred et Philippe; et bien sûr les doctorants, dont certains sont déjà docteurs : Seb et Nidhal pour leur organisation de la coupe du monde de foot (je me souviendrai toujours de l’achat de l’antenne!), Aurélie avec qui j’ai pu partager mes angoisses d’enseignante de TD pendant de nombreuses pauses café et que j’ai regrettée pendant ces 2 années sans “gâteaux de thésard”, Minh Hong et ses recettes vietnamiennes, Jérémy et sa souris sans fil, Fred (alias Freddy ou P’tit rouge) et ses gaffes mémorables, son aide pendant l’organisation difficile de cette magnifique coupe du monde de rugby, les nombreux dérangements dans mon bureau pour me parler d’Hawaï et me demander si ma rédaction avançait et sa venue à Dinard, Barbara et sa joie de vivre, ses histoires de coloc’ et de chat et ses

livres que j'attends toujours!!! et Line et son sourire. Merci pour avoir gonflé l'équipe des doctorants à Hatem, Niklas, Perrine, Nicolas et Simon.

Je souhaite bien sûr remercier toutes les personnes avec lesquelles j'ai enseigné pendant ces trois années de monitorat à l'Université Paris 7 : Alessandra, Cécile de Hosson (un grand merci pour ton soutien!!), Cécile Rousselle, Elie, Guillaume, Iréna, Jean-Pierre, Jim, Loïc, Luc, Marion, Pol, Sebastien, Simona, Thomas, Vanessa, William, Yann et Yves. J'ai aimé et je partage votre vision de l'enseignement à l'Université, tournée avant tout vers le devenir de *tous* les étudiants. L'enseignement a occupé une part entière pendant ces années de thèse. J'ai pris beaucoup de plaisir à enseigner et j'ai particulièrement apprécié le contact avec les étudiants et les équipes enseignantes.

Je n'oublie pas ceux que j'ai rencontré aux conférences, *workshops* et écoles d'été; en particulier, la bande du MCRTN (*Thank you guys for accepting me into your group, I have so much souvenirs from Bedlewo, Granada and Dundee*), l'équipe INRIA, Thomas et nos conversations rugby (allez, allez le Stade français!!!), Karine, ma colocataire d'une semaine.

Enfin, je pense à ma clique d'amis doctorants et à leur moitié : les membres du club fermé des "Magistère de P7" (Charline & Prince, Elsa, Fabio & Steph, FX, Julien, Justine, Li-Hua, Maria, Miguel, Osnath, Pascale, Xav & Marie) qui me supportent depuis mon débarquement depuis cette ville vosgienne dans la capitale! Merci pour tous ces moments partagés allant des cours de physique expérimentale à la prairie de Dourdan, en passant par les quais de Seine; je n'oublie pas non plus les personnes que j'ai rencontré en M2 et que j'ai appris à connaître et apprécier : Armand, Christophe, Giulia, Iro, Marion, Mathieu, Nicolàs, Rémy, Vincent, William. Et si on se programmait une soirée cocktails, un week-end escalade/Pizza Grill, une soirée Wii/Barbe à papa, un repas Cordon bleu-Pizza[©], un resto à la Chaumière et une semaine au ski? Et grâce à vous j'ai rencontré des personnes passionnantes : Caroline (tu m'apprendras à danser comme Rabbi Jacob?), Marine, Mat' Plam', Nikola (on va pouvoir retourner à la piscine!!!), Samuel et Thomas. Un gros merci à Yannick, perdu au milieu de ces remerciements, mais je pense très fort à toi, à ta présence, à nos vacances, à nos discussions, à nos "comatages" devant la TV. Merci à tous mes amis d'Epinal et pour nos désormais rituels repas de Noël! Je tiens également à remercier mes amis qui n'ont pas choisi cette voie de doctorant, les ingénieurs, Licoul, Pierrette et Guillaume. Qu'auraient été ces trois années sans votre présence aux Solidays, les anniversaires à Toulouse et votre amitié? Merci à vous tous pour votre présence et votre soutien.

Je souhaite faire une spéciale dédicace à mes colocataires : Iro (ton accent grec à craquer, tes soupes grecques dont je n'ai toujours pas retenu le nom, tes cocktails et ta bonne humeur!!), Marion (nos soirées Etam, nos discussions, nos duos de musique si réputés;-) et notre duo traiteur de choc!), Rémy (ta compagnie devant les match de rugby, à l'appart ou à l'Angle, nos repas devant Nip/Tuck ou Dexter et ta gentillesse, ainsi que celle de tes parents) et William (merci de m'avoir accompagnée à la gare de l'est et à l'hôpital en pleine nuit). Merci à vous de m'avoir acceptée dans cette coloc'. Merci d'avoir partagé ces moments avec moi. Merci pour votre soutien. Ces trois années ont été fortes en émotions! Les apéros, les pique-niques devant les Invalides, les plateaux TV devant la Nouvelle Star ou Dr House vont

me manquer!!!! Vous allez me manquer!!!!

Je n'oublie pas ceux sans qui ce pot de thèse n'aurait pas été un succès : Marion, Iro, Nikola, Justine, Mathilde avec une mention toute spéciale pour Maman, Emile et Maryse. Merci à vous trois d'avoir amené vos spécialités locales à ce pot et d'avoir passé tant de temps derrière les fourneaux par cette chaleur écrasante ! Ce fut un succès et j'en suis ravie ! Je ne vous en remercierai jamais assez !

Merci tout plein à mes "familles adoptives" Christine, Nina et Jean (j'ai passé 2 mois formidables et je reviendrais bien habiter avec vous!!!), Monique et Charlie, May, Léo, Marie, Milou et Laure.

Un très grand merci à toute ma nombreuse famille. À Maman pour ton amour et soutien inconditionnel et pour m'avoir toujours encouragée dans les études (sauf pour être monitrice d'auto-école mais je ne t'en veux pas !!) même si je sais que mon départ pour Paris n'a pas été facile. À Jean-Luc pour m'avoir élevée comme sa propre fille. Merci à vous 2. Merci pour la famille que vous nous avez permis d'avoir, tant de frères et soeurs réunis ! À Lulu-Lucien, Mat-Maïeus-Joe, Moustique-Mousse-Tatentie-Regent pour tout que vous m'avez apporté, pour nos dimanches-"pesctacles", nos vacances au ski, au Beaucet. À Baba Yaga-Gadichon-Mo-Mor-Goga pour tout cela également mais aussi pour être venue vivre pas loin de moi pendant 1 an. À Y-Yves et Nanie-Chonchon pour le bonheur que vous m'avez apporté depuis votre arrivée. À Mémie pour son soutien. À mon grand-père. À Doudouce qui reste dans mon cœur. À ma ratata Christiane. À ma Kitty et mon Doudou.

Et enfin, merci à toi Christophe, pour ton amour, ta présence, ton humour, ta gentillesse, ton soutien. Merci de m'avoir fait entrer dans ta vie.

Et..... merci aux scénaristes américains d'avoir fait grève pendant ma rédaction !

à Doudouce

Table des matières

Avant-propos	1
1 Les tumeurs cérébrales et quelques notions de biologie	3
1.1 Généralités sur les tumeurs cérébrales	3
1.1.1 Les gliomes	4
1.1.1.1 Les astrocytomes	4
1.1.1.2 Les oligodendrogliomes	5
1.1.1.3 Les épendymomes	6
1.1.2 Les autres types de tumeurs cérébrales	6
1.1.3 Résumé sur les tumeurs cérébrales	7
1.1.4 Le dépistage et les stratégies thérapeutiques pour les glioblastomes . .	7
1.1.4.1 Les techniques de dépistage	7
1.1.4.2 Les traitements	11
1.1.5 Conclusion/Mise en perspective	13
1.2 Quelques notions de biologie des cellules tumorales	14
1.2.1 La signalisation extracellulaire	14
1.2.1.1 La signalisation à proximité	15
1.2.1.2 La signalisation à distance	19
1.2.2 Les jonctions communicantes	20
1.2.2.1 Les jonction communicantes : structure et fonctionnement . .	20
1.2.2.2 La communication jonctionnelle	21
1.2.2.3 Le rôle des jonctions communicantes dans le développement tumoral	22
1.2.3 L'invasion	24
1.2.3.1 Le détachement de la masse tumorale	24
1.2.3.2 La dégradation et/ou remodelage de la matrice extracellulaire	25
1.2.3.3 La migration des cellules tumorales	26
1.3 Conclusion	28
2 La modélisation des gliomes	29
2.1 Le modèle de réaction-diffusion	29
2.1.1 La présentation du modèle	30
2.1.1.1 Le modèle à deux dimensions	30

2.1.1.2	Estimation de la durée de développement de la tumeur avant diagnostic	33
2.1.1.3	Estimation de la durée de survie des patients	33
2.1.2	Les raffinements du modèle de réaction-diffusion	34
2.1.2.1	Des coefficients de diffusion différents entre matière grise et matière blanche	34
2.1.2.2	Structure du cerveau	35
2.1.2.3	Migration préférentielle le long des fibres nerveuses de la substance blanche	36
2.1.3	Les avantages et limites du modèle macroscopique	40
2.1.3.1	Les avantages	40
2.1.3.2	Les limites	40
2.1.3.3	Conclusion	40
2.2	Les modèles microscopiques	41
2.2.1	Généralités	41
2.2.1.1	L'automate cellulaire	41
2.2.1.2	La modélisation microscopique sans pavage de l'espace	42
2.2.2	L'application des automates cellulaires aux tumeurs	43
2.2.2.1	L'état cellulaire	44
2.2.3	Les différentes variables métaboliques	44
2.2.3.1	Les nutriments	45
2.2.3.2	L'oxygène	46
2.2.3.3	Les ions H^+	47
2.2.3.4	L'angiogénèse	48
2.2.4	Les avantages et inconvénients du modèle microscopique	50
2.3	Conclusion	50
3	Notre modèle microscopique	51
3.1	La description du modèle simple	51
3.1.1	Le pavage	52
3.1.1.1	Les pavages réguliers	52
3.1.1.2	Quelques pré-requis : la triangulation de Delaunay et le diagramme de Voronoï	53
3.1.1.3	Des pavages plus aléatoires	58
3.1.2	Les données des simulations	62
3.1.2.1	La concentration cellulaire	62
3.1.2.2	La surface de migration	62
3.1.2.3	Les vitesses de migration	64
3.1.3	Les règles de migration	65
3.1.3.1	Dans le cas de la diffusion pure	65
3.1.3.2	Introduction de l'inertie	66
3.2	Les interactions dans le modèle	67

3.2.1	Les jonctions communicantes	67
3.2.1.1	Les jonctions homotypes seules	67
3.2.1.2	Addition des jonctions hétérotypes	69
3.2.2	Le chimio-répulsif	71
3.2.3	Introduction de différentes interactions suivant la taille du sphéroïde . .	73
3.3	Conclusion	74
4	Migration de cellules issues de sphéroïdes de diamètre inférieur à 300μm	75
4.1	Protocole et résultats expérimentaux	76
4.1.1	Culture cellulaire	76
4.1.1.1	Lignée cellulaire et sphéroïdes	76
4.1.1.2	Inhibition des jonctions communicantes	76
4.1.2	Étude de la migration	77
4.1.2.1	Migration sur collagène IV	77
4.1.2.2	Migration sur monocouche d'astrocytes	77
4.1.2.3	Analyse de la migration	78
4.1.3	Traitement des résultats expérimentaux	78
4.1.3.1	Concentration cellulaire	78
4.1.3.2	Surface de migration	81
4.1.3.3	Vitesse de migration	83
4.2	Ajustements des paramètres	86
4.2.1	Calibrage du temps	86
4.2.2	Calibrage de l'espace	88
4.2.3	Valeurs des paramètres en fonction des expériences	88
4.2.3.1	Concentration cellulaire et intensité des jonctions	88
4.2.3.2	Surface de migration et rôle de la communication jonctionnelle	89
4.3	Résultats	90
4.3.1	Concentration cellulaire et intensité des jonctions homotypes	90
4.3.1.1	Exemples de migration de cellules tumorales	90
4.3.1.2	Profils de concentration cellulaire	90
4.3.1.3	Distributions des vitesses	95
4.3.1.4	Conclusion	96
4.3.2	Surface de migration et rôle de la communication jonctionnelle	97
4.3.2.1	Migration sur collagène	97
4.3.2.2	Migration sur monocouche d'astrocytes	100
4.3.2.3	Comparaisons finales	102
4.3.2.4	Conclusion	104
4.4	Conclusion générale	105
5	Migration de cellules issues de sphéroïdes de diamètre supérieur à 400 μm	107
5.1	Expériences de Werbowetski et al.	108
5.1.1	Culture cellulaire et sphéroïdes	108
5.1.2	Résultats expérimentaux	108

5.1.2.1	Sphéroïde isolé	109
5.1.2.2	Deux sphéroïdes en co-culture	109
5.1.3	Conclusion	111
5.2	Ajustements des paramètres	112
5.2.1	Calibrage du temps	112
5.2.1.1	Sphéroïde isolé	112
5.2.1.2	Deux sphéroïdes en co-culture	112
5.2.2	Calibrage de l'espace	113
5.2.3	Valeur du coefficient de diffusion de la substance	113
5.3	Résultats	115
5.3.1	Étude du modèle	115
5.3.1.1	Sphéroïde isolé	115
5.3.1.2	Deux sphéroïdes adjacents	119
5.3.2	Comparaison avec les expériences	122
5.3.2.1	Sphéroïde isolé	123
5.3.2.2	Deux sphéroïdes adjacents	124
5.4	Conclusion	125
6	Du microscopique au macroscopique	127
6.1	Calculs simplifiés : étude uni-dimensionnelle	127
6.1.1	Migration par diffusion	128
6.1.2	Migration avec interactions entre cellules	130
6.2	Passage à deux dimensions	131
6.2.1	Cas simples	131
6.2.1.1	Pavage composé d'un site unique	131
6.2.1.2	Pavage composé de deux sites	132
6.2.2	Généralisation et matrice d'évolution	132
6.2.3	Limite continue	134
6.2.4	Étude de D_0	135
6.2.4.1	Expression de $\rho(x)$	136
6.2.4.2	Expression du courant stationnaire de cellules j	137
6.3	Comparaison des deux modèles	139
6.3.1	Migration entre un réservoir plein et un réservoir vide	139
6.3.2	Migration à partir d'une source circulaire : le sphéroïde	140
6.4	Introduction de la prolifération	143
6.5	Conclusion	144
	Conclusion	145
	Annexe : définition des paramètres	149

Avant-propos

Le cancer trouve son origine dans une croissance cellulaire incontrôlée et inappropriée d'un tissu ou d'un organe. Celle-ci est causée par une perturbation génétique à l'intérieur de la cellule entraînant une prolifération et une motilité anormales. Le cancer touche, à l'heure actuelle, 12% de la population mondiale. Ce pourcentage peut atteindre voire dépasser, dans les pays industrialisés, le seuil des 25% [102]. La différence constatée entre les pays industrialisés et les pays émergents est certes due aux modes de vie différents mais également à l'accès aux techniques de dépistage du cancer. En effet, si le mode de vie des habitants des pays industrialisés est plus propice au développement de cancers, l'incidence des cancers est également plus élevée dans ces pays grâce à la présence d'appareils d'imagerie plus perfectionnés et au recours plus systématique du dépistage. Parmi les cancers dont les incidences sont les plus élevées à l'échelle mondiale, nous retrouvons le cancer du poumon (12.3% des cancers détectés), celui du sein (10.4%) et le cancer colorectal (9.4%). Les tumeurs auxquelles sont associées les pronostics et les survies à cinq ans les plus médiocres ne sont pas forcément celles dont l'incidence est la plus élevée. Ces bien tristes places des cancers dont les pronostics sont les plus mauvais sont occupées par les cancers du poumon, du foie, de l'œsophage, et ceux dont les survies à cinq ans sont les plus basses, le cancer du pancréas et les tumeurs cérébrales de haut grade (notamment les glioblastomes) [102]. Pour ces derniers, malgré l'avancée technologique des méthodes de dépistage et des traitements sans cesse en évolution, le taux de survie ne s'améliore que très peu. Depuis une vingtaine d'années, la recherche s'attache alors à comprendre les mécanismes mis en jeu lors de l'apparition et du développement d'une tumeur.

Une des voies de recherche est la modélisation de la croissance tumorale. Les premiers modèles étudiant la croissance de tumeurs cérébrales ont été élaborés par Dücking et Vögelsaenger [34, 35, 36, 37] dès le début des années 1980. Ces approches sont des approches microscopiques, stochastiques qui étudient la progression tumorale ainsi que l'impact de différents traitements (exérèse chirurgicale, chimiothérapie et radiothérapie) sur le développement de la tumeur. Dès les années 1990, Alvord, Murray et Tracqui [2, 110, 111] se sont intéressés à la progression tumorale grâce à un modèle déterministe macroscopique utilisant des équations aux dérivées partielles (EDP) de réaction-diffusion. Dès lors, les modélisateurs ont eu recours aux deux approches, qu'ils ont développées et enrichies, en tenant compte de certaines variables métaboliques. Ces deux types de modélisation présentent différents avantages et inconvénients. Si la modélisation macroscopique permet d'estimer l'espérance de vie des patients atteints d'un gliome et pourrait aider à orienter les traitements vers les parties de la

tumeur non visibles par imagerie, la modélisation microscopique, dont le but ultime est d'aider à développer de nouvelles stratégies thérapeutiques, se focalise sur l'étude des mécanismes impliqués dans la progression et l'invasion tumorale.

Lors de mon travail de thèse, je me suis attachée à étudier la migration *in vitro* de cellules issues de glioblastomes. Pour ce faire, j'ai choisi de construire un modèle microscopique stochastique bi-dimensionnel, à l'aide d'un automate cellulaire basé sur un pavage hexagonal ou hexagonal déformé. Nous avons choisi cette approche afin de décrire la migration des cellules tumorales. Les règles de migration représentent la communication entre cellules tumorales d'une part et entre cellules tumorales et astrocytes sains (cellules qui constituent le parenchyme cérébral) d'autre part. Nous nous intéressons à deux types de communication : les interactions de contact (à courte portée) et plus particulièrement les jonctions communicantes (ou lacunaires) à travers lesquelles les cellules en contact physique (qu'elles soient ou non du même type) peuvent communiquer et les interactions à plus longue portée dues à l'effet d'une substance chimio-répulsive sécrétée par les zones hypoxiques de la tumeur dont l'existence non encore avérée a été supposée par l'équipe de Del Maestro [29, 30, 79, 109, 114]. À chaque étape, les résultats du modèle sont confrontés à des données expérimentales obtenues en collaboration avec C. Christov de l'hôpital Henri Mondor de Créteil (Plateforme d'Imagerie Cellulaire et Tissulaire de l'Unité U481) ou issues de la littérature.

Une première série de simulations a été réalisée pour étudier la migration de cellules issues de sphéroïdes (amas sphériques de cellules tumorales) de petites tailles pour lesquelles nous supposons que seules les interactions de contact interviennent (voir le chapitre 4). La migration de cellules tumorales s'effectue sur deux substrats différents : un substrat acellulaire (le collagène IV) et une monocouche d'astrocytes. Dans le premier cas, les cellules tumorales ne communiquent qu'avec d'autres cellules tumorales alors que dans le deuxième cas (communication homotype), la communication entre cellules tumorales et astrocytes sains (communication hétérotype) s'y ajoute. Nous verrons dans cette thèse l'effet de cette communication (homotype et hétérotype) sur la migration des cellules tumorales et les modifications qui résultent de son inhibition.

La deuxième série de simulations s'intéresse à la migration de cellules issues de plus larges sphéroïdes. Nous souhaitons, dans ce cas, tester l'hypothèse de l'équipe de Del Maestro sur la présence d'une substance chimio-répulsive agissant sur la migration des cellules tumorales et estimer, si l'existence de la substance se confirme, le coefficient de diffusion du chimio-répulsif.

Enfin, la dernière partie de cette thèse traite de passage du modèle microscopique à un modèle macroscopique de migration. Pour cela, nous déterminons un coefficient de diffusion des cellules dépendant des interactions de contact. Nous partons donc des règles de migration du modèle microscopique pour arriver à une équation de diffusion macroscopique non-linéaire, la non-linéarité résultant de l'introduction des interactions de contact. Nous insistons sur cette caractéristique car elle modifie, en particulier, les profils de concentration de cellules tumorales.

Chapitre 1

Les tumeurs cérébrales et quelques notions de biologie

Le cas des tumeurs cérébrales est un cas particulièrement délicat du fait de l'emplacement même de la tumeur. En effet, même les cas classés comme bénins et traitables peuvent être situés dans des zones où la présence de la tumeur et les interventions éventuellement pratiquées pourraient interférer avec des fonctions essentielles à une vie normale pour le patient. La recherche basée sur l'étude des tumeurs cérébrales répond à un enjeu de santé publique majeur, qui stimule aux États-Unis et en Europe la création de grands pôles interdisciplinaires : le *Brain Tumor Center* situé au sein du *Massachusetts General Hospital* à Boston, le *Brain Tumor Research Center* (BTRC) de l'Université de Californie à San Francisco ou le futur Institut du Cerveau et de la Moëlle épinière (ICM) dont la construction est prévue pour 2010 sur le site de l'AP-HP¹ Salpêtrière à Paris.

Dans une première partie de ce chapitre, je traiterai de la biologie des tumeurs cérébrales en exposant les méthodes de dépistage et les stratégies thérapeutiques associées à ce type de tumeur. Puis je m'attacherai à décrire quelques phénomènes biologiques à l'origine de la communication (entre cellules tumorales et entre cellules tumorales et tissu sain) et de l'invasion des cellules tumorales.

1.1 Généralités sur les tumeurs cérébrales

Les tumeurs cérébrales primitives représentent 1,4% des cancers diagnostiqués chez l'homme et 2,3% des décès imputables à un cancer [1]. Environ 175 000 cas sont recensés chaque année dans le monde [102]. L'incidence des tumeurs primitives varie entre 4 et 10/100 000 habitants par an suivant le type histologique de la tumeur, l'âge, le sexe et la région géographique du patient. Elle est en particulier plus élevée dans les pays dits "développés" qui possèdent les techniques de dépistage les plus performantes. En France, elle est d'environ 10/100 000 [9]. Les glioblastomes sont les tumeurs cérébrales les plus courantes. Ils touchent principalement les adultes. Ces tumeurs sont incurables chirurgicalement et sont généralement résistantes à

¹Assistance Publique - Hôpitaux de Paris

la chimiothérapie et la radiothérapie. Seulement 3% des patients survivent plus de 3 ans après le diagnostic du cancer.

À l’heure actuelle, la cause de survenue (l’étiologie) des tumeurs cérébrales est mal connue. Une large variété d’études de facteurs de risque a été et est encore actuellement menée, concernant par exemple les risques professionnels [15], l’impact de l’utilisation des téléphones portables [54, 95], de la cigarette [99], de certains régimes alimentaires [98] et, plus particulièrement pour les femmes, de la prise d’hormones [115] ou encore de la naissance plus ou moins tardive de leur premier enfant [75]. Cependant, le rôle de ces différentes causes n’est pas clairement établi. Les études doivent être étayées pour mettre en évidence une relation entre ces comportements et l’étiologie des tumeurs cérébrales.

Certains gènes jouent un rôle essentiel dans la progression de la maladie ainsi que dans la sensibilité des tumeurs en réponse à différents traitements. Parmi ces gènes, nous trouvons les oncogènes qui activent la division cellulaire comme par exemple le PDGF-A (Platelet Derived Growth Factor) et le EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor), ainsi que les anti-oncogènes, aussi appelés “gènes suppresseurs de tumeurs”. Ces gènes codent pour des molécules bloquant le cycle cellulaire. Nous pouvons citer le gène p53, le gène de susceptibilité au rétinoblastome (ou gène Rb) et le gène PTEN (Phosphatase and TENsin homolog mutated in multiple advanced cancers 1).

Dans la plupart des cas, les gliomes se manifestent par des symptômes liés à l’augmentation de la pression intracrânienne comme des nausées, des vomissements, des crises d’épilepsie, une hémiparalysie ou bien encore une perte progressive de la mémoire ou un changement de personnalité. Selon l’Organisation Mondiale de la Santé (OMS), les tumeurs sont classées selon la présence ou non des critères morphologiques suivants : atypie nucléaire², présence ou absence de mitose, prolifération endothéliocapillaire et nécrose.

1.1.1 Les gliomes

Les gliomes sont les tumeurs primitives cérébrales les plus fréquentes. Ces tumeurs représentent plus de 40% des tumeurs du système nerveux central. Elles dérivent des cellules gliales (astrocytes, oligodendrocytes ou épendymocytes) qui jouent un rôle de support, de nutrition et de transmission du signal du système nerveux. La figure 1.1 présente les différents types histologiques des deux principales tumeurs gliales selon la classification de l’OMS.

1.1.1.1 Les astrocytomes

Les astrocytomes, tumeurs dérivant des astrocytes, peuvent être plus ou moins agressives suivant les degrés de prolifération et d’invasion des cellules tumorales dans le tissu sain et sont classés par grade (définis par l’OMS). Les moins agressives sont les astrocytomes de grades I, II et III.

²anomalie relative au noyau (par exemple, taille du noyau atypique et/ou contour irrégulier).

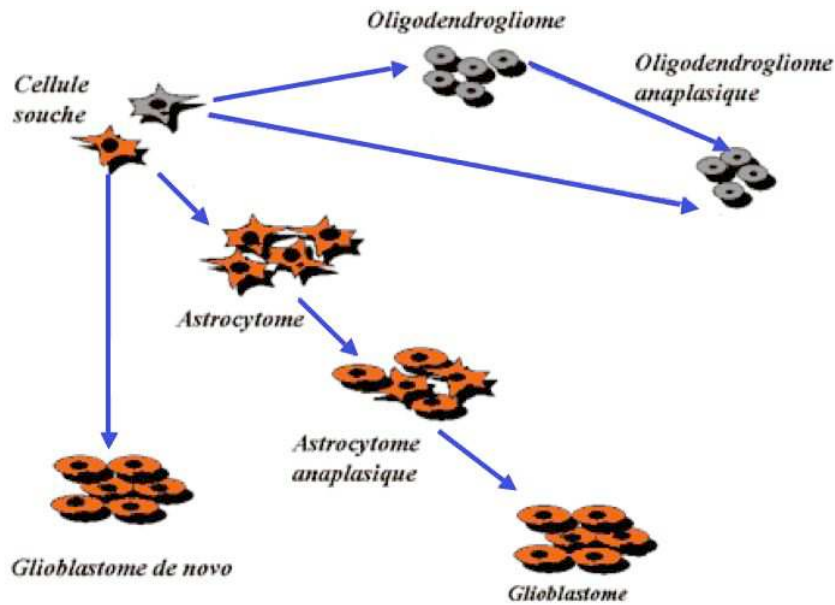


FIG. 1.1 – Les différents types histologiques des gliomes.

L'astrocytome de grade IV, aussi appelé glioblastome, est l'astrocytome le plus agressif. Cette tumeur peut se développer à partir d'astrocytomes de grades inférieurs : un astrocytome diffus de grade II se transforme en astrocytome anaplasique (grade III) et finalement en glioblastome (grade IV) dit secondaire (voir la figure 1.1). Parmi les gènes impliqués, p53 est fréquemment inactivé dans les astrocytomes et la dégénérescence maligne est accompagnée de pertes d'activité du gène Rb et finalement du gène PTEN. D'autres astrocytomes de grade IV, les glioblastomes primaires se développent *de novo* (voir la figure 1.1), sans subir d'évolution de leur grade de malignité et montrent d'emblée une amplification du gène EGFR et une perte du gène PTEN.

Le glioblastome représente 60% des gliomes avec un pic d'incidence qui se situe sur la tranche d'âge 65-74 ans [1]. Le glioblastome est la forme de tumeur cérébrale la plus agressive du fait de son caractère particulièrement invasif comme le montre la figure 1.2 où la tumeur s'est développée dans la zone corticale. La lésion tumorale visible sur la partie droite des images de la figure 1.2 (en blanc) s'est largement développée en quelques 68 jours, entraînant la présence d'un oedème entourant la tumeur (en gris foncé).

Le pronostic ne laisse entrevoir aux patients atteints d'un glioblastome qu'une médiane de survie à 12 mois [93] lorsqu'une stratégie thérapeutique a pu être mise en place. En l'absence de thérapie, la médiane de survie chute à 3 ou 4 mois.

1.1.1.2 Les oligodendrogliomes

Les oligodendrogliomes se développent à partir d'oligodendrocytes, cellules qui jouent un rôle dans la formation de la gaine de myéline qui entoure les axones des cellules nerveuses. Ces tumeurs représentent 5 à 12 % des tumeurs gliales [1] selon l'OMS. Mais elles pourraient s'avérer plus fréquentes [23, 24, 38]. Les deux pics d'incidence de ces tumeurs se situent sur

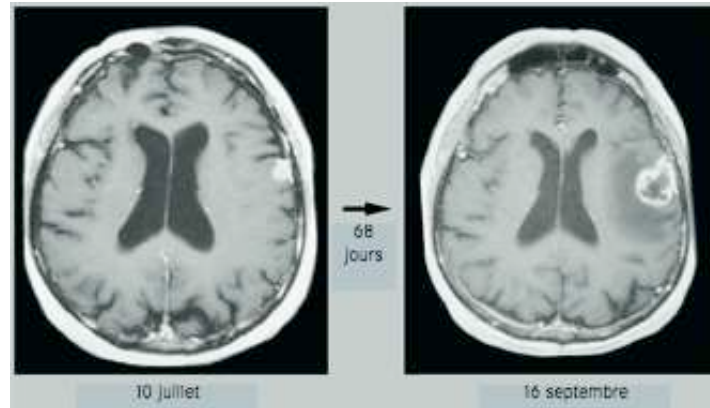


FIG. 1.2 – Deux images d’un glioblastome d’un patient de 79 ans obtenues par imagerie par résonance magnétique [102].

les tranches d’âge 6 – 12 ans et 35 – 44 ans [39].

Actuellement, on distingue des oligodendrogliomes de grade II et des oligodendrogliomes anaplasiques de grade III. La perte jointe d’allèles des chromosomes 1p et 19q est la lésion génétique la plus fréquente dans ce type de gliome et le signe d’une évolution lente pour les tumeurs de grade III (même si les gènes, situés sur ces deux chromosomes et qui seraient responsables de cette caractéristique, sont mal connus).

La médiane de survie est plus élevée que dans le cas des astrocytomes de grade identique. Elle dépend de l’âge du patient lors du dépistage de la tumeur. Les moins de 20 ans ont une survie médiane de 17.5 ans. Pour les plus de 60 ans ayant une tumeur anaplasique, la survie est de 13 mois. Les moins de 30 ans sont 75% à avoir une survie de 10 ans, alors qu’elle chute à 20% pour des patients de 50 ans.

1.1.1.3 Les épendymomes

Les épendymomes constituent le troisième type de tumeurs gliales. Ces tumeurs dérivent des épendymocytes. Ces cellules forment l’épendyme, membrane qui recouvre les cavités ventriculaires du système nerveux central et tapissent le canal central de la moelle épinière. Les épendymomes se manifestent vers l’âge de 20 ans et représentent 4 à 6 % des tumeurs cérébrales [1]. À cet âge, elles sont le plus généralement localisées dans le quatrième ventricule.

1.1.2 Les autres types de tumeurs cérébrales

Les autres principales tumeurs cérébrales primaires sont les méningiomes et les médulloblastomes. Les méningiomes (10 à 19 % des tumeurs cérébrales [1]) sont des tumeurs qui se développent à partir des méninges et laissent entrevoir aux patients un excellent pronostic lorsqu’une exérèse totale a pu être réalisée. Le médulloblastome (3 à 5 % des tumeurs cérébrales [1]) touche plus particulièrement les enfants (25 % des tumeurs cérébrales enfantines, principalement entre 3 et 8 ans [1]). De manière générale, les enfants atteints par un médulloblastome ne bénéficient pas d’un bon pronostic.

1.1.3 Résumé sur les tumeurs cérébrales

La figure 1.3 donne un résumé des données épidémiologiques suivantes : la localisation de la tumeur, l'âge de survenue de la maladie et le taux de survie à cinq ans, concernant les principales tumeurs cérébrales citées précédemment. Ces données proviennent du rapport de l'OMS intitulé "Le cancer dans le monde" et daté de 2005 [102].

Tumeur (grade OMS)	Emplacement classique	Age lors de la manifestation clinique (% de cas)			Survie à cinq ans (% de patients)
		0-20 ans	20-45 ans	>45 ans	
Astrocytome pilo- cytaire (grade I)	Cervelet, nerf optique	74	20	6	>85
Astrocytome diffus de bas grade (grade II)	Hémisphères cérébraux	10	61	29	>50
Glioblastome (grade IV)	Hémisphères cérébraux	3	25	72	<3
Oligodendrogliome (grade II/III)	Hémisphères cérébraux	8	46	46	>50
Ependymome (grade II)	Ventricules, moelle épinrière	37	38	25	<30
Médulloblastome (grade IV)	Cervelet	74	23	3	>50

FIG. 1.3 – Résumé sur la localisation, la survie et l'âge auquel la tumeur cérébrale se manifeste, selon les données de l'OMS [102].

1.1.4 Le dépistage et les stratégies thérapeutiques pour les glioblastomes

Le mauvais pronostic des patients atteints d'un glioblastome rend l'étape du dépistage particulièrement importante. Il s'agit en effet de déterminer précisément la nature et le type histologique afin de mettre en œuvre la meilleure stratégie de traitements afin d'améliorer au mieux la qualité de vie du patient.

1.1.4.1 Les techniques de dépistage

Le dépistage des glioblastomes se déroule généralement en deux étapes. La première consiste à imager le cerveau après l'apparition des symptômes, principalement à l'aide de la tomодensitométrie ou de l'imagerie par résonance magnétique. La deuxième est de réaliser une biopsie stéréotaxique par craniotomie. Alors que la première étape permet de détecter une anomalie et d'ébaucher un diagnostic, la seconde permet de l'affiner en déterminant le type histologique de la tumeur.

La tomodensitométrie à rayons X

La tomodensitométrie à rayons X (TDM X), encore appelée tomographie axiale calculée, scanner X ou CT (pour *Computed tomography*), permet d'obtenir une image en trois dimensions du volume étudié. Cette image tridimensionnelle est obtenue en associant une série de coupes millimétriques (de quelques millimètres d'épaisseur). Ces images sont traitées à l'aide d'une procédure de reconstruction tomographique et recomposées pour former l'image en trois dimensions. Le principe du TDM X repose sur l'atténuation des rayons X en fonction de la densité des tissus traversés lors de l'examen. Le premier prototype fut inventé par un ingénieur britannique, Hounsfield, et présenté pour la première fois en 1972. Cette invention lui a valu le Prix Nobel de médecine en 1979.

Les tomodensitomètres les plus utilisés actuellement sont les scanners hélicoïdaux. L'émission des rayons X est continue ainsi que leur acquisition. Lors de l'examen, le tube à rayons X tourne dans l'anneau de détection constitué de détecteurs à scintillation pendant que la table avance dans l'anneau à une vitesse fixée. La réalisation de l'examen est rapide (quelques secondes). Comme pour la radiographie, l'exposition à des doses de radiation répétées peut être nocive pour l'organisme. Cependant, le rapport bénéfice sur risque lié à l'irradiation penche largement en faveur de la tomodensitométrie. Ceci en fait un examen de plus en plus largement pratiqué.

En cas de suspicion de glioblastome, l'examen est réalisé sans et avec injection de produit de contraste (en général, un produit de contraste iodé). La TDM réalisée sans produit de contraste permet de déceler des anomalies de densité (par exemple, des calcifications volumineuses), des hémorragies ou des nécroses. La prise de contraste permet de mettre en évidence la rupture de la barrière hématoencéphalique ou une hypervascularisation. Ces deux dernières caractéristiques sont fréquentes chez les glioblastomes. La figure 1.4 représente l'image d'un glioblastome obtenue après une TDM X après injection de produit de contraste iodé.



FIG. 1.4 – Image tomodensitométrique d'un glioblastome avec injection de produit de contraste [71].

Bien que dans le cas de la figure 1.4 le glioblastome soit parfaitement décelable, il est néanmoins courant que le diagnostic d'un glioblastome ne puisse pas se faire d'après un scanner X. Une autre technique d'imagerie est alors utilisée : l'imagerie par résonance magnétique qui,

en plus d'avoir l'avantage d'être une méthode non irradiante, offre une meilleure résolution pour les tissus mous et donc pour l'imagerie du cerveau.

L'imagerie par résonance magnétique

L'imagerie par résonance magnétique est en général utilisée systématiquement pour diagnostiquer une tumeur cérébrale (figures 1.2 et 1.5). Comme la TDM X, l'IRM cérébrale peut être réalisée sans et avec injection d'agent de contraste, ici du gadolinium. Celui-ci permet d'augmenter la sensibilité des tissus vascularisés, ce qui est très utile pour déceler la présence de glioblastomes. En effet, ces tumeurs présentent la capacité d'induire la croissance de nouveaux vaisseaux sanguins (néoangiogénèse) permettant d'alimenter la tumeur et sont de ce fait fortement vascularisées.

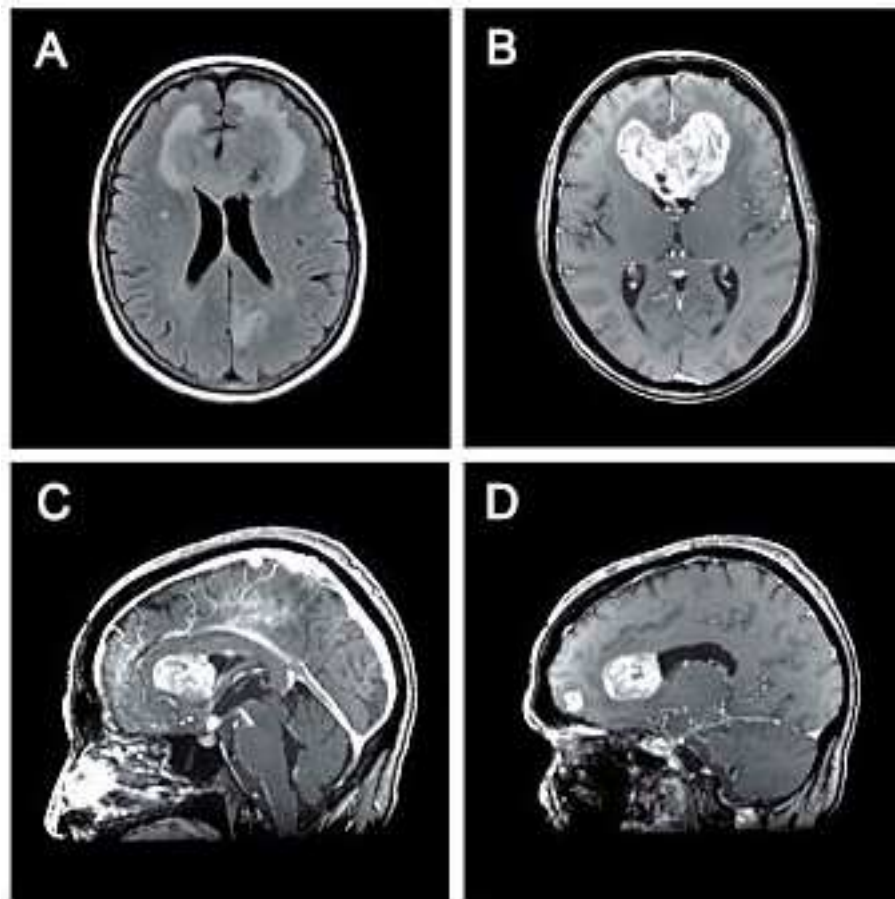


FIG. 1.5 – Images d'un glioblastome par IRM en coupe axiale (A et B) et sagittale (C et D), sans (A) et avec (B, C et D) injection de gadolinium [10].

La figure 1.5 présente une série d'images obtenues lors d'un examen par IRM sans (figure 1.5 A) et avec (figure 1.5 B, C et D) injection de gadolinium sur une patiente de 62 ans atteinte d'un glioblastome [10]. Dans ce cas, l'œdème résultant de la présence de la tumeur est

bien décelable (partie plus claire entourant la tumeur particulièrement visible sur la figure 1.5 A).

La biopsie stéréotaxique

Bien que les techniques d'imagerie actuelles permettent de détecter les anomalies de densité ou des zones d'hypervascularisation engendrées par la tumeur, elles ne permettent pas un diagnostic complet. Dans ce cas, c'est la biopsie stéréotaxique de la tumeur, préalablement localisée par imagerie, et réalisée quasi-systématiquement qui permet de déterminer avec plus de précision la nature et le grade histologique de la tumeur et donc de prévoir la stratégie thérapeutique à adopter.

Les inconvénients

Un des problèmes les plus importants, lorsqu'il s'agit des glioblastomes, est la détection de ces tumeurs. En effet, les techniques d'imagerie actuelles ne détectent la présence d'anomalies liées à la présence de cellules tumorales qu'à partir d'une certaine concentration de ces cellules. Ce seuil de détection a été estimé par Burgess et al. [13] à une concentration de cellules tumorales de $8\,000\text{ cellules/mm}^3$ pour le cas de la tomographie à rayons X. Cette concentration seuil peut également se donner en nombre de cellules/cm² en étudiant, sous microscope, une coupe histologique de la tumeur : cela correspond à dénombrer environ 400 cellules en observant une surface de champ microscopique d' 1 mm^2 , avec un objectif x10. On obtient alors un seuil à $40\,000\text{ cellules/cm}^2$. Ainsi, seules les portions de la tumeur dont la concentration de cellules tumorales dépasse ce seuil de détection pourront être rendues visibles. Pour cette raison, les techniques d'imagerie ne permettent pas de détecter la tumeur entière.

Afin de prendre pleinement conscience de l'importance de ce phénomène, il est intéressant de se pencher sur les études de Swanson et al. [105, 106, 107] dont la figure 1.6 donne un exemple en images. Ces études sont basées sur le développement d'un modèle de croissance de glioblastomes prenant en compte la diffusion et la prolifération de cellules tumorales (que je détaillerai dans la partie 2.1) et permettent de visualiser les images de tomographie à rayons X modélisées pour deux niveaux de sensibilité de détection des cellules tumorales. Ces images sont obtenues en utilisant un modèle macroscopique de diffusion et en laissant apparaître les zones où la concentration de cellules tumorales est supérieure au seuil de détection. Les figures 1.6 a et c représentent la partie de la tumeur observable sur les images CT dans le cas d'une sensibilité actuelle ($40\,000\text{ cellules/cm}^2$). Les figures 1.6 b et d représentent la même tumeur pour un scanner théorique 80 fois plus sensible (avec un seuil tomodensitométrique de 500 cellules/cm^2). Grâce à ces simulations, nous pouvons imaginer l'étendue réelle de la tumeur. Il est notamment impressionnant de constater, d'une part à quel point la tumeur peut envahir le cerveau sans être visible à l'aide d'appareils de détection (figures 1.6 a et b), et d'autre part, lorsque la tumeur est détectée, à quel point son ampleur est sous-estimée (figures 1.6 c et d).

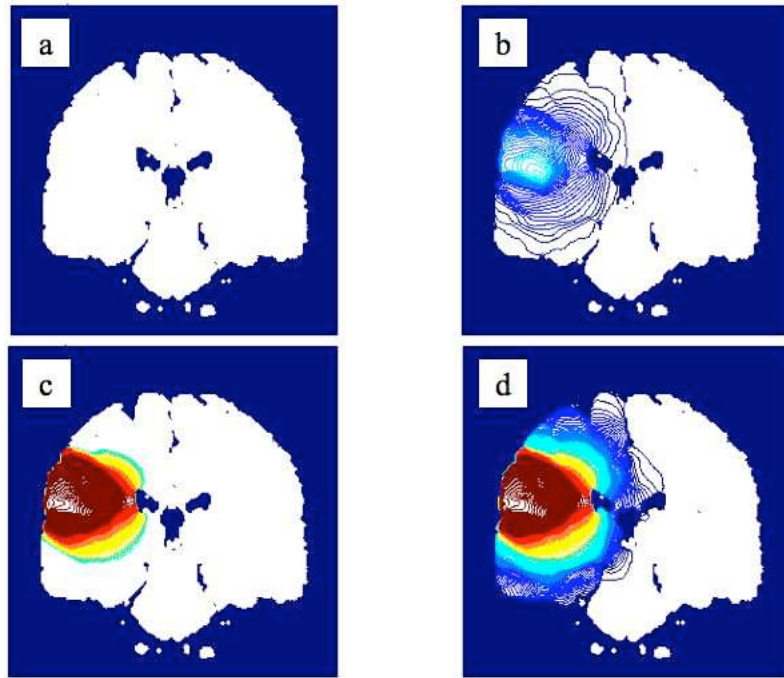


FIG. 1.6 – Simulations de la taille d'un glioblastome : (a et b) environ 400 jours après l'apparition des premières cellules dégénérées, (c et d) à la mort du patient (150-250 jours après le diagnostic). Ces simulations montrent la partie détectable de la tumeur (a et c) et la partie que l'on pourrait détecter avec des appareils d'imagerie 80 fois plus sensibles (b et d) [104].

1.1.4.2 Les traitements

Les stratégies thérapeutiques varient suivant le type histologique, le grade et la localisation de la tumeur. Les stratégies les plus utilisées sont la chirurgie, la radiothérapie et la chimiothérapie. Malheureusement, ces traitements sont relativement peu efficaces sur les tumeurs de haut grade et particulièrement pour le glioblastome qui se révèle être, dans la plupart des cas, radio- et chimio-résistant.

L'exérèse chirurgicale

L'ablation de la tumeur, aussi appelée exérèse chirurgicale, s'avère être, lorsque la tumeur n'est pas située dans une région fonctionnelle majeure, le traitement le plus efficace. Afin d'obtenir les meilleurs pronostics pour les patients, l'exérèse doit être la plus complète possible. La résection des tumeurs de haut grade permet de diminuer les symptômes (hémiparalysie, troubles du langage et/ou de la vision, attaques cérébrales, augmentation de la pression intracrânienne ...) et ainsi d'améliorer la qualité de vie de ces patients mais ne prolonge leur vie que de quelques mois tout au plus. Le caractère invasif des glioblastomes est responsable des récides qui surviennent à la suite d'une ablation chirurgicale [20] dans 100 % des cas et qui se localisent principalement à la limite de l'exérèse [65, 116, 97]. Un autre avantage de la chirurgie est de retirer les régions hypoxiques (régions dont l'oxygénation est insuffisante) résistantes à la chimiothérapie [69]. Elle permet également de fournir aux anatomo-pathologistes des

échantillons de tissus tumoraux à analyser permettant de bien définir le type histologique de la tumeur indispensable pour définir la stratégie de traitement(s) à associer à cette chirurgie.

Généralement, la chirurgie est associée à des traitements adjuvants comme la radiothérapie et/ou la chimiothérapie.

La radiothérapie

La radiothérapie consiste à soumettre le patient à un rayonnement ionisant dans le volume ciblé contenant la tumeur. Lors de ce traitement, les ondes électromagnétiques créent des dommages touchant des structures dont la taille dépend de la fréquence de ces ondes. La dose délivrée au patient lors du traitement est calculée en gray : 1 gray correspond à un dépôt d'énergie d'1 joule dans un volume d'1 kilogramme.

La radiothérapie a pour but de créer des lésions sur la cellule. Suivant l'importance de ces lésions, la cellule va pouvoir les réparer ou, dans les cas les plus sévères, va entrer dans un état de mort cellulaire. La cible principale des dommages occasionnés par les radiations est l'ADN (Acide DésoxyriboNucléique). Ces dommages peuvent concerner directement les bases ou provoquer des cassures sur les brins d'ADN (figure 1.7). La cassure simple brin, qui entraîne dans très peu de cas une perte de fonction de la cellule, est produite à un taux de 1000 par gray alors que la cassure double brin, dont la réparation est bien plus délicate et qui provoque des dommages plus sévères, survient à un taux de 15 à 60 par gray. Les dommages touchant l'ADN déterminent donc la survie de la cellule [64].

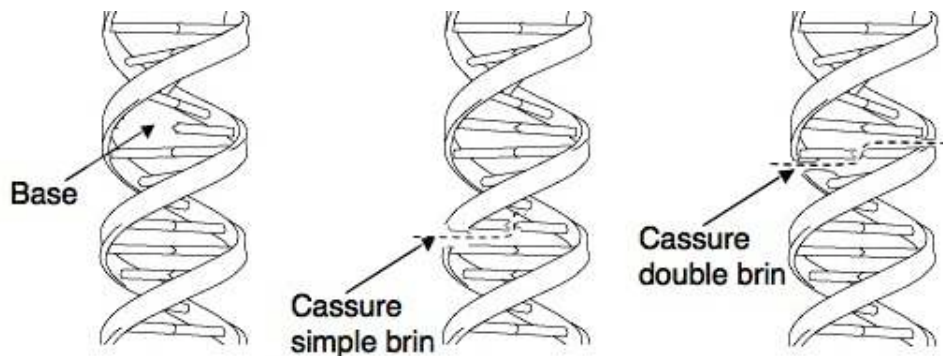


FIG. 1.7 – Schéma des lésions provoquées lors de la radiothérapie sur l'ADN.

Dans le cas des gliomes, le traitement administré est une exposition à des rayonnements X de haute énergie (4 à 25 MeV). Ces rayonnements sont dirigés vers la tumeur afin de léser un maximum de cellules tumorales. Pendant la durée du traitement (entre 6 et 7 semaines), le patient est exposé aux rayonnements tous les jours de la semaine sauf, en général, le week-end. Cette méthode thérapeutique permet de faire passer la médiane de survie des patients atteints d'un gliome de haut grade de 6 à 9 mois.

La chimiothérapie

La chimiothérapie repose sur l'utilisation de substances chimiques dites cytotoxiques. Ces substances peuvent avoir différents mécanismes d'action en bloquant la division cellulaire, en créant des lésions dans l'ADN ou en empêchant la réparation des brins cassés. Les substances chimiothérapeutiques peuvent être soit injectées, soit appliquées directement sur la zone à traiter juste après l'opération, soit administrées oralement. Cependant, le choix relatif à ce type de thérapie dépend fortement du type de la tumeur. Par exemple, la chimiothérapie s'avère particulièrement efficace pour les oligodendrogliomes dont la chimiosensibilité semble être associée à la perte d'allèles des chromosomes 1p et 19q [49]. Malheureusement, le cas des glioblastomes est bien plus critique. En effet, les cellules de glioblastomes ne semblent que très peu sensibles à la chimiothérapie [48]. L'association de chimiothérapie à la chirurgie ne permet aux patients d'espérer allonger leur espérance de vie que de quelques semaines.

1.1.5 Conclusion/Mise en perspective

Les recherches dans le domaine des techniques de diagnostic et de traitements a beaucoup progressé, particulièrement au cours des vingt dernières années. Des approches thérapeutiques se sont généralisées avec, notamment, l'association de plus en plus courante de la chirurgie et de traitements adjuvants (radiothérapie et chimiothérapie). Malheureusement, force est de constater que, malgré tous les progrès récents, le pronostic des patients atteints d'un glioblastome ne s'est guère amélioré. A l'heure actuelle, 75 % des patients présentant un glioblastome décèdent 18 mois après le diagnostic [101].

De plus, lors de l'utilisation de ces techniques thérapeutiques, que ce soit la chirurgie, la radiothérapie ou la chimiothérapie, le volume ciblé est en général assez large et dépasse le volume délimité par l'imagerie afin que l'exérèse soit la plus complète possible. Ceci induit une dégradation des tissus sains. Un des enjeux actuels est la compréhension de la biologie de la partie infiltrante pour concevoir des traitements ciblés et spécifiques ainsi que l'élaboration de nouvelles méthodes diagnostiques contre le cancer. Dans ce contexte, la modélisation constitue un outil précieux pour accéder à une meilleure compréhension du comportement dynamique d'un système biologique complexe comme une tumeur.

1.2 Quelques notions de biologie des cellules tumorales

Cette partie n'a pas la prétention de décrire tous les phénomènes biologiques qui interviennent lors du développement d'une tumeur. Je m'attacherai juste à décrire quelques processus qui me paraissent intéressants à détailler : la communication cellulaire et la migration cellulaire.

Le rôle de la communication cellulaire est de pouvoir coordonner le comportement des cellules sur des distances plus ou moins grandes, qu'elles soient saines ou pathologiques. Les cellules communiquent via des centaines de molécules de signalisation. Ces molécules peuvent être exposées dans l'espace extracellulaire tout en restant fixées à la surface des cellules permettant la liaison de deux molécules de deux cellules différentes (signal direct). Elles peuvent également être sécrétées dans l'espace extracellulaire par les cellules émettrices (signal indirect), ou libérées par diffusion à travers la membrane plasmique (jonctions intercellulaires). Quelle que soit la nature du signal, la molécule de signalisation est transmise par le biais d'une protéine spécifique, appelée récepteur, à la cellule cible qui va pouvoir traiter l'information transmise. Cette information est transmise par le biais de protéines de signalisation intracellulaire. Ces protéines interagissent avec des protéines cibles et les modifient pour entraîner un changement du comportement de la cellule cible. Ces protéines cibles peuvent être, par exemple, des protéines régulatrices de gènes, des composants d'une voie métabolique, des parties du cytosquelette, entraînant des modifications de l'expression génique, du métabolisme et de la forme ou des mouvements de la cellule.

Ces différentes voies de signalisation, que je décrirai succinctement dans cette partie, sont utilisées par les cellules saines ainsi que par les cellules pathologiques. Cependant, la modification de leur comportement, induite par les signaux, n'est pas forcément identique dans les deux cas. Je m'attacherai à détailler l'effet des signaux sur le comportement des cellules gliales.

Dans une deuxième sous-partie, je préciserai le rôle des voies de signalisation dans l'invasion des cellules de gliomes.

1.2.1 La signalisation extracellulaire

Dans le cas de la signalisation extracellulaire, qu'elle soit directe ou indirecte, les récepteurs sont des protéines transmembranaires situées à la surface des cellules cibles.

Le signal est porté par la molécule de signalisation extracellulaire, appelée ligand, qui est synthétisée par la cellule émettrice, puis libérée et éventuellement transportée. Le ligand va ensuite interagir avec les récepteurs présents au niveau de la ou des cellules cibles dont il va modifier le comportement en engendrant une cascade de signaux intracellulaires. La synthèse de tels signaux peut être déclenchée par un stimulus extracellulaire.

La signalisation se fait sur de courtes ou de longues distances lorsque les cellules cibles sont à proximité ou non des cellules émettrices.

1.2.1.1 La signalisation à proximité

Nous pouvons distinguer deux types de signalisation à proximité : la signalisation contact-dépendante (aussi appelée communication par contact ou signalisation juxtacrine) et la signalisation autocrine (entre cellules du même type) et/ou paracrine (où le type cellulaire diffère entre les cellules émettrices et les cellules cibles). Le premier type de signalisation à proximité, la communication par contact, a lieu entre deux cellules en contact physique ou entre cellule et matrice extracellulaire. La signalisation autocrine et/ou paracrine fait intervenir un ligand sécrété dans l'espace intercellulaire dont l'effet ne se fait ressentir que sur une distance courte (sur les cellules cibles situées dans l'environnement immédiat de la cellule émettrice).

La communication par contact

Certaines molécules de signalisation restent fixées à la surface de la cellule émettrice. Dans ce cas, le signal n'influe que sur les cellules qui entrent en contact immédiat avec elle. Cette signalisation est dite contact-dépendante. On parle aussi d'interaction ou de communication par contact. Ce mécanisme peut conduire à une adhésion cellule/cellule ou cellule/matrice extracellulaire et à un échange d'informations. Cet échange peut aboutir à des manifestations détectables. Ces interactions ont lieu à partir de jonctions communicantes ou jonctions lacunaires (*gap junctions* en anglais) au travers desquelles de petites molécules peuvent diffuser et passer d'un cytoplasme à l'autre (cf. section 1.2.2) ou de molécules d'adhésion. On distingue deux familles de protéines d'adhésion impliquées dans l'invasion des cellules de gliomes : les cadhérines et les intégrines.

Les cadhérines

Les cadhérines sont des protéines transmembranaires (figure 1.8) qui jouent des rôles importants dans l'adhésion cellulaire et dont le fonctionnement dépend de la fixation des ions calcium (Ca^{2+}) sur les domaines spécifiques de la partie extracellulaire de ces protéines. La partie intracellulaire a pour fonction principale la liaison avec des éléments du cytosquelette (en particulier avec les microfilaments d'actine par l'intermédiaire de protéines appelées caténines). Lorsque le calcium se lie à la partie terminale de la protéine, sa conformation se modifie et permet de reconnaître une autre cadhérine et de s'y fixer. L'agrégation cellulaire est possible uniquement entre deux cadhérines du même type.

Les cadhérines jouent un rôle important dans la formation et le maintien de tissus (figure 1.9) ainsi que dans la morphogénèse chez les organismes multicellulaires.

Les intégrines

Les intégrines sont des molécules réceptrices transmembranaires. Ces protéines se lient par leur extrémité extracellulaire aux molécules de la matrice extracellulaire³ et au cytosquelette par leur extrémité intracytoplasmique (comme le font les cadhérines via des molécules de liaison) (figure 1.10).

³macromolécules extracellulaires comme par exemple le collagène, la laminine, la fibronectine ou la vitronectine

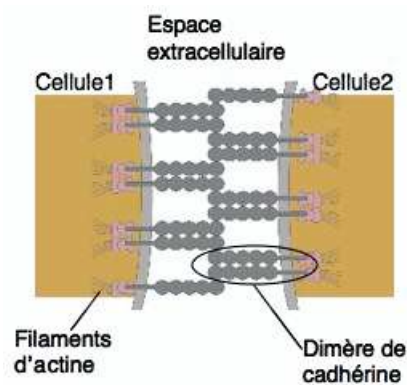


FIG. 1.8 – Structure des cadhérines.

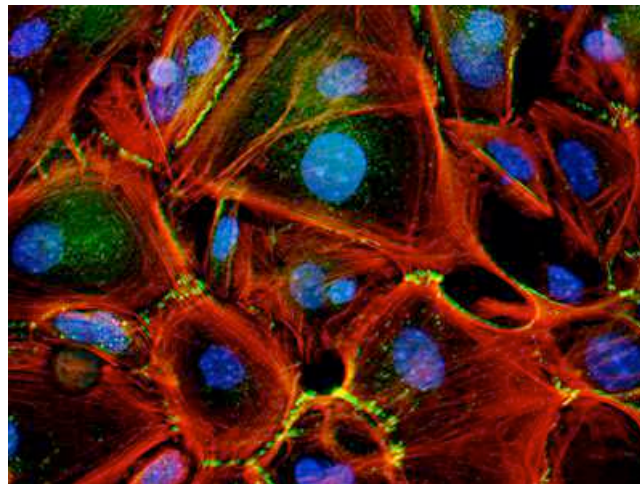


FIG. 1.9 – Organisation cellulaire de la peau. Les cellules de la peau utilisent les E-cadhérines (en vert) pour adhérer les unes aux autres. Le cytosquelette a été marqué et apparaît en rouge.

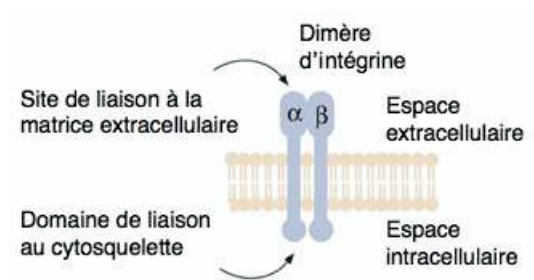


FIG. 1.10 – Structure des intégrines.

Les intégrines permettent la liaison des cellules à la matrice extracellulaire ainsi que la transmission de signaux de la matrice vers la cellule. Ainsi, la transduction du signal du récepteur de la fibronectine aboutit, par exemple, à l'expression d'enzymes nécessaires pour la pénétration de la membrane basale et la migration cellulaire [58].

Dans les gliomes, la communication par contact joue un rôle fondamental dans la migration et l'invasion des cellules tumorales dans le tissu sain comme nous le verrons dans la section 1.2.3.

La signalisation autocrine et paracrine

La signalisation à courtes distances se retrouve aussi dans les cas où le ligand sécrété par la cellule émettrice influe uniquement sur les cellules de son voisinage immédiat. Ces signalisations sont dites paracrines ou autocrines suivant le type de cellules touchées par le signal. Les signalisations autocrine et paracrine ne concernant que les cellules d'un environnement restreint, les molécules de signalisation ne doivent pas diffuser trop loin. Elles sont rapidement absorbées par les cellules cibles voisines, détruites par les enzymes extracellulaires ou immobilisées par la matrice extracellulaire.

La signalisation est appelée paracrine lorsque les cellules émettrices et cibles ont des types cellulaires différents et autocrine lorsque les cellules émettrices et cibles sont du même type. Dans ce dernier cas, le (ou les) ligand(s) produit(s) par la cellule émettrice peut (peuvent) se fixer sur ses propres récepteurs. La signalisation autocrine s'avère plus efficace lorsque des cellules voisines du même type l'effectuent simultanément et peut être utilisée pour encourager des groupes de cellules identiques à prendre les mêmes décisions de développement. L'importance de ces signaux paracrines et autocrines dans le développement des tumeurs a été montré et a fait l'objet de nombreuses études ces quinze dernières années. Ils sont notamment utilisés par les cellules gliales pour stimuler l'angiogénèse [79, 88] ou la prolifération des cellules tumorales [113]. Ils ont également pour rôle de promouvoir l'invasion [70, 77, 112, 118] (voir section 1.2.3).

L'angiogénèse

L'angiogénèse est un processus biologique qui permet, à partir de vaisseaux sanguins existants, de créer de nouveaux vaisseaux. Grâce à des signaux spécifiques qui vont enclencher ce processus (figure 1.11 A), des cellules endothéliales⁴ sont recrutées et prolifèrent afin de former la paroi de ces nouveaux capillaires. Ces cellules forment tout d'abord un bourgeon qui va se creuser pour former un tube dans lequel le sang pourra circuler lorsque ce bourgeon rencontrera un autre capillaire et s'y connectera (figure 1.11 B, C, D).

Les signaux à la base de ce processus sont complexes mais un rôle central est joué par une protéine appelée VEGF (pour *vascular endothelial growth factor* en anglais ou facteur de croissance de l'endothélium vasculaire). La croissance de vaisseaux sanguins est régulée par la quantité de VEGF présente dans le tissu. La production de cette protéine est induite par un manque d'oxygène des cellules qui vont la sécréter. Le VEGF va ensuite diffuser au travers

⁴Elles forment l'endothélium vasculaire qui est la couche des vaisseaux sanguins en contact avec le sang.

du tissu et agir sur les cellules endothéliales voisines. Les cellules endothéliales vont alors se diriger et proliférer vers la source du signal (figure 1.11). Lorsque les nouveaux vaisseaux se forment, apportant du sang au tissu, la concentration en oxygène augmente, la production de VEGF diminue et l'angiogénèse s'interrompt.

Ce mécanisme intervient lors de la croissance de tumeurs, lorsque la concentration en oxygène de la masse tumorale devient insuffisante. Un schéma simplifié est présenté figure 1.11. Il a notamment été montré que les cellules de gliomes étaient capables d'induire un phénomène d'angiogénèse en produisant du VEGF et en agissant sur les cellules endothéliales qui présentent des récepteurs de VEGF [79, 88].

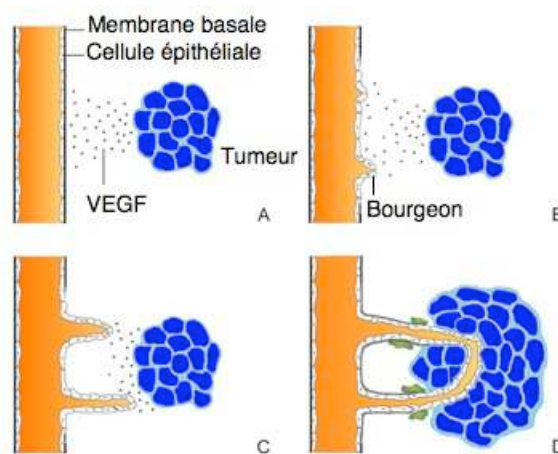


FIG. 1.11 – Le processus d'angiogénèse. A : La masse tumorale est appauvrie en oxygène, les cellules sécrètent alors du VEGF pour stimuler l'angiogénèse. B : Des bourgeons se forment sur les vaisseaux sanguins existants qui sont soumis au signal VEGF. C et D : Les vaisseaux croissent jusqu'à maturation pour apporter l'oxygène nécessaire au tissu.

La prolifération

Chez l'homme, la croissance et la division cellulaire nécessitent des nutriments mais également des signaux d'autres cellules transmis par des facteurs de croissance extracellulaires. Ces facteurs se fixent sur les récepteurs cellulaires de surface et activent des voies de signalisation intracellulaire. Ces signaux conduisent alors à l'activation de plusieurs protéines-kinases qui ont pour rôle d'augmenter la synthèse de protéines impliquées dans la croissance et le métabolisme cellulaire.

Le facteur de croissance des nerfs (NGF pour *nerve growth factor*) ainsi que ces récepteurs sont exprimés chez différents types de lignées de cellules tumorales. Il a été montré que le NGF joue un rôle dans la croissance des cellules de gliomes C6⁵ [113] : ce facteur peut, suivant les conditions, augmenter ou non la croissance cellulaire.

⁵Les cellules C6 sont des cellules issues d'une lignée de gliome de rat.

1.2.1.2 La signalisation à distance

J'utilise l'expression de signalisation à distance lorsque les cellules cibles ne sont pas dans le voisinage immédiat des cellules émettrices. Suivant les distances entre cellules émettrices et cibles, le signal est transmis par des ligands qui diffusent dans les tissus (signal à longue portée) ou utilise les vaisseaux sanguins ou la transmission nerveuse pour atteindre les cellules cibles (signal à longues distances).

La signalisation à longue portée

La signalisation que je nomme "signalisation à longue portée" est très peu décrite dans la littérature. Cependant, dans le cas des tumeurs, la migration des cellules tumorales pourrait être dirigée par des ligands émis par les cellules de la masse tumorale. Il a été montré que des substances toxiques sont produites durant le processus de nécrose⁶ et régulent la croissance de sphéroïdes⁷ tumoraux [42]. Récemment, une équipe de recherche a mis en évidence une signalisation impliquant un ligand⁸ sécrété dans l'espace extracellulaire et ayant pour effet de diriger les cellules tumorales loin des parties nécrosées et/ou hypoxiques de la tumeur ou du sphéroïde. Cet effet a été mis en évidence par le *Montreal Neurological Institute* du *Brain Tumour Research Centre* dirigé par Del Maestro [29, 30, 79, 109, 114]. Plus particulièrement, ce chimio-répulsif augmenterait le détachement des cellules de la masse tumorale ; de plus, les cellules migreraient pour fuir les parties défavorables de la masse tumorale (où les concentrations en nutriments et en oxygène sont insuffisantes) suivant une concentration décroissante de ce répulsif.

Les auteurs de [29, 30, 109] ont développé un modèle biologique tridimensionnel de sphéroïdes de cellules C6 placé dans un gel de collagène de type I. Ils ont montré que l'invasion cellulaire augmente avec la taille du sphéroïde : l'invasion est significativement plus importante pour de larges sphéroïdes (diamètre $> 700 \mu\text{m}$) comparée à l'invasion de cellules issues de plus petits sphéroïdes (diamètre $< 500 \mu\text{m}$). Comme les sphéroïdes plus larges ont des régions défavorables plus étendues, la quantité de chimio-répulsif sécrétée est plus importante, ce qui pourrait expliquer le caractère plus invasif de ces sphéroïdes. Leur dernière étude [114], décrivant les résultats obtenus pour des cocultures de deux sphéroïdes, leur permet de conclure sur l'existence d'un chimio-répulsif sécrété par le centre des sphéroïdes. Bien qu'ils aient analysé différents candidats (notamment des facteurs de croissance sécrétés par les cellules tumorales) [79], ils n'ont pas réussi à identifier le chimio-répulsif dont les effets sont décrits dans les articles [29, 30, 109, 114]. Cependant, l'hypothèse de répulsion que les auteurs ont avancée, suscite un intérêt croissant ; de nouvelles investigations sont menées par d'autres équipes et des études récentes suggèrent de nouveaux candidats : le système ligand/recepteur Slit/Robo [76] (ils mettent en avant un effet chimio-répulsif participant à diriger l'invasion des cellules tumorales du à l'interaction des protéines Slit2 et Robo1) et/ou les protéines séma-

⁶La nécrose correspond au processus de mort cellulaire.

⁷Un sphéroïde est un amas de cellules.

⁸Par la suite, j'utiliserai le terme de "chimio-répulsif" pour nommer ce ligand.

phorines⁹ [90] (les sémaphorines ainsi que leurs récepteurs membranaires sont exprimés par les cellules gliales et pourraient intervenir dans les interactions entre les tumeurs et le tissu hôte).

La signalisation à longue distance

La signalisation à longue distance résulte de certaines cellules spécialisées dans la communication entre des parties du corps éloignées. Il s'agit de deux types de cellules : les cellules nerveuses et les cellules endocrines. Les premières sont capables d'étendre une ou plusieurs fibres nerveuses appelés axones dont les terminaisons entrent en contact avec les cellules cibles grâce aux neurotransmetteurs. Ces signaux sont sécrétés au niveau des synapses (jonctions cellulaires). On parle de signalisation synaptique lorsque l'impulsion transmise le long de l'axone atteint la terminaison nerveuse localisée à cet endroit. La longueur de l'axone est très variable : de quelques dizaines de microns pour un neurone qui propage l'information à son voisin, à plusieurs décimètres s'il transporte l'information du cerveau à la moelle épinière ou d'une partie du corps à la moelle épinière.

Les cellules endocrines sécrètent leurs molécules de signalisation, les hormones, dans la circulation sanguine. Ces hormones sont transportées par le flux sanguin vers des organes ou des cellules cibles répartis dans tout l'organisme.

1.2.2 Les jonctions communicantes

Un des modes de coordination des activités de cellules voisines s'effectue par les jonctions communicantes ou lacunaires. Ces jonctions nécessitent, du fait de leur étude lors de ma thèse, une section à part entière.

Les jonctions communicantes permettent à des cellules voisines de mettre en commun les informations de signalisation en échangeant des molécules de signalisation suffisamment petites et hydrophobes pour leur permettre de diffuser au travers de la membrane plasmique. Ces molécules sont ensuite captées par des récepteurs situés à l'intérieur de la cellule.

1.2.2.1 Les jonction communicantes : structure et fonctionnement

Comme mentionné précédemment, une jonction communicante est composée de plusieurs canaux transmembranaires étroits et remplis d'eau (de quelques uns à plusieurs milliers) qui relient les parties intérieures (les cytoplasmes) des deux cellules adjacentes. Chaque canal est formé de deux connexons présents sur chacune des deux cellules impliquées. Un connexon est constitué d'un anneau de six protéines transmembranaires appelées "connexines" (figure 1.12). Lorsque les connexons de deux cellules s'assemblent, ils forment un canal jonctionnel hydrophile. Les connexons maintiennent les membranes plasmiques éloignées à une distance fixe de l'ordre de quelques microns, d'où l'intervalle (*gap*) entre les cellules. Ce canal, de 2 nm de diamètre au maximum, permet l'échange direct de petites molécules de signalisation intracellulaire. Ces molécules peuvent être des ions inorganiques (par exemple les ions calcium Ca^{2+})

⁹Les sémaphorines sont une classe de protéines qui sont connues pour guider la croissance axonale.

ou d'autres molécules hydrosolubles (par exemple les sucres, les acides aminés, les nucléotides) couplant ainsi les cellules à la fois électriquement et métaboliquement.

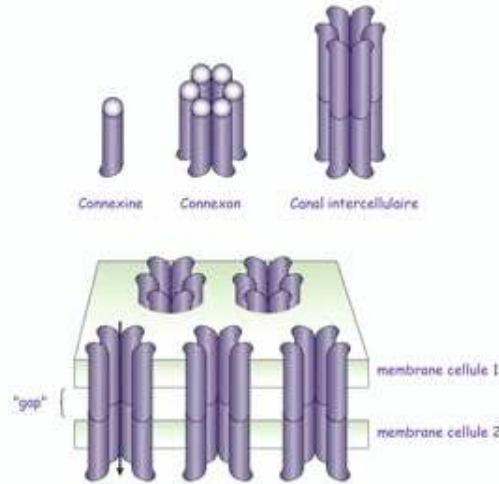


FIG. 1.12 – La structure d’une jonction communicante.

Une jonction communicante peut être de type homocellulaire ou hétérocellulaire selon que les deux cellules qui s’assemblent appartiennent ou non au même type cellulaire. Bien que les connexines présentent un fort degré d’homologie, les diverses combinaisons de connexons ne sont pas toutes fonctionnelles. De plus, des connexines de types différents peuvent s’assembler pour former un connexon qui est dit “hétéromérique” dont les propriétés diffèrent de celles d’un connexon “homomérique” formé de connexines du même type.

L’ouverture des canaux est contrôlée par la concentration en ion calcium Ca^{2+} du milieu intracellulaire. Lorsque cette concentration est basse, les canaux peuvent s’ouvrir, lorsqu’elle est élevée, les canaux se ferment. Ce phénomène permet notamment d’isoler les cellules mourrantes dont la concentration en Ca^{2+} est plus élevée. De plus, l’ouverture dépend de la différence entre les potentiels internes des cellules connectées.

Il est possible de réduire ou d’inhiber la communication jonctionnelle en utilisant différentes stratégies telles que les composés lipophiles (héptanol et octanol) ou des gaz anesthésiques. Les acides amides (oléamide, anandamide ou acide arachidonique) ont, de même que les précédentes drogues citées, des effets partiels sur la communication jonctionnelle. Les dérivés de l’acide glycyrrhétinique isolé à partir de la racine de réglisse tel que le carbenoxolone (CBX) sont considérés comme relativement spécifiques des jonctions communicantes. Selon la concentration utilisée, ils peuvent induire une inhibition quasi-totale mais réversible [25].

1.2.2.2 La communication jonctionnelle

La communication jonctionnelle ne permet pas seulement un couplage métabolique entre les cellules en contact jonctionnel, elle entraîne également un couplage électrique.

Le couplage électrique

Ce couplage électrique résulte de la diffusion passive bidirectionnelle des ions d'une cellule à l'autre, en particulier des ions inorganiques tels que le Na^+ , le K^+ ou le Ca^{2+} . Ce type de couplage électrique est déterminant au niveau du cœur. Il contribue à la propagation des potentiels d'action et permet la synchronisation de la contraction de millions de cardiomyocytes pendant plusieurs dizaines de secondes. Dans le cerveau, il est à l'origine des synapses électriques neuronales.

Le couplage métabolique

Le couplage jonctionnel n'est pas limité au seul passage des ions. Il permet également le passage de petites molécules hydrophiles. Ces molécules telles que le glucose, les nucléotides mono-, di- ou tri-phosphate, les acides aminés, les co-facteurs vitaminiques peuvent passer librement d'une cellule à l'autre et sont à l'origine du couplage métabolique.

1.2.2.3 Le rôle des jonctions communicantes dans le développement tumoral

L'invasion, la prolifération incontrôlée et la résistance à l'apoptose¹⁰ sont les trois caractéristiques principales des cellules tumorales. Dans un organisme sain, les événements vitaux de la cellule normale tels que la survie, l'activation ou l'inhibition du programme de mort cellulaire, la prolifération et la locomotion sont gouvernés par les échanges de signaux entre cellules voisines, transmis le plus souvent par des jonctions communicantes. C'est ce raisonnement qui a conduit plusieurs équipes de recherche à s'intéresser à l'implication de ces jonctions dans le développement tumoral.

L'expression des connexines dans les gliomes

Les données concernant l'implication des jonctions communicantes dans le développement tumoral sont peu abondantes et souvent contradictoires. Certaines études avancent une diminution de l'expression de la connexine 43, Cx43¹¹, et de la communication jonctionnelle inversement corrélée au grade de malignité [59, 100]. D'autres montrent qu'il existe une grande variabilité d'expression entre les grades et même au sein de tumeurs appartenant au même grade [4, 96].

Les études démontrent que les cellules de gliomes peuvent établir des jonctions communicantes fonctionnelles avec d'autres cellules de gliomes (jonctions homotypes) mais aussi avec les astrocytes sains environnants (jonctions hétérotypes) [4, 67, 74, 85, 120]. De plus, même si cette communication jonctionnelle est largement réduite, les jonctions fonctionnelles restantes suffisent à établir une communication puissante entre cellules tumorales et astrocytes sains à l'interface entre la tumeur et le tissu hôte sain [67, 120]. Il a en effet été suggéré que

¹⁰L'apoptose est un processus de mort cellulaire, déclenchée par les cellules elles-mêmes, en réponse à un signal. Elle est d'ailleurs couramment appelée "mort cellulaire programmée"

¹¹La Cx43 est le principal type de connexines (Cx) présentes dans le cerveau et, plus particulièrement, dans les astrocytes.

l'efficacité de la communication jonctionnelle dépend de la localisation des cellules tumorales au sein de la tumeur. En effet, il semblerait que les cellules invasives en contact avec le tissu sain expriment les connexines à des niveaux plus élevés en comparaison avec les cellules au centre de la masse tumorale [4, 85].

Les connexines et la prolifération de cellules de gliomes

Le concept communément admis est que la fonction primaire des jonctions communicantes est de réguler la prolifération [120]. De même, il est admis que le cancer est une maladie liée, notamment, à un manque de régulation de la prolifération cellulaire. En 1979, Loewenstein prédisait une relation entre le cancer et la communication jonctionnelle [68]. Depuis, de nombreuses recherches ont été menées et ont montré la corrélation entre la diminution de la communication jonctionnelle et l'oncogenèse [57, 66, 117, 119].

Concernant le cas des gliomes, les études ont montré que l'expression des connexines contrôle la prolifération des cellules [51, 83]. En particulier, ces expériences ont mis en évidence le fait que les cellules C6¹² clonées qui surexpriment la Cx43 prolifèrent moins que les cellules C6 non clonées. Les auteurs des publications [51, 83] ont conclu que le taux de prolifération des clones est inversement corrélé au degré d'expression de l'ADN transféré. La diminution de l'expression de la communication jonctionnelle dans les gliomes semble donc promouvoir la prolifération des cellules tumorales.

Les connexines et la migration de cellules de gliomes

La relation entre jonctions communicantes et invasion des cellules de gliomes semble assez complexe. Le rôle des jonctions homotypes et hétérotypes dans les gliomes commence seulement à être compris.

Les jonctions homotypes

Les jonctions homotypes peuvent être étudiées *in vitro* sur un substrat acellulaire. Deux études ont montré des résultats similaires. McDonough *et al.* [74] ont mis en évidence le fait que la motilité des cellules de gliome est inversement corrélée à l'expression de Cx43 et au degré de communication jonctionnelle. Les cellules de gliome qui expriment peu de Cx43, et dont l'adhérence avec les autres cellules est par conséquent réduite, présentent une migration plus importante, suggérant que les cellules doivent d'abord se détacher de leurs voisines pour pouvoir envahir le tissu sain environnant. Les auteurs parlent du paradigme "*let go-let's go*".

La deuxième étude [85] démontre une augmentation de la motilité des cellules GL15 qui migrent sur un substrat de collagène lorsque les jonctions communicantes sont inhibées par du carbenoxolone (CBX).

Les jonctions hétérotypes

Les cellules de gliomes qui expriment la Cx43 sont capables d'établir des jonctions communicantes fonctionnelles, bidirectionnelles, avec les astrocytes normaux tant *in vitro* qu'*in*

¹²Les cellules C6 sont issues de gliomes murins.

vivo [120]. Il a été également observé dans cette étude que cette communication intercellulaire induit des changements phénotypiques des astrocytes sains. Les astrocytes mis en culture avec des cellules C6 qui sur-expriment la Cx43, sont significativement plus petits et expriment la protéine acide fibrillaire gliale (*Glial fibrillary acidic protein* ou GFAP)¹³ en quantité plus faibles que les astrocytes en culture avec des cellules C6 dont les jonctions communicantes sont déficientes.

De plus, alors que les jonctions homotypes réduiraient la migration des cellules de gliomes, il semblerait que les jonctions hétérotypes en soient les promotrices [67, 85] et aient un rôle dominant sur les jonctions homotypes lorsque les deux types de jonctions coexistent. Oliveira et al. [85] ont en particulier montré une diminution de la motilité des cellules GL15¹⁴ en présence de CBX. Cette drogue, rappelons-le, induit une réduction de la communication jonctionnelle).

Ces conclusions renforcent l'idée d'une coopération entre les cellules tumorales et les astrocytes sains du tissu environnant, permettant ainsi une invasion des cellules tumorales.

1.2.3 L'invasion

L'invasion tumorale constitue la caractéristique majeure des cancers et les distingue des tumeurs bénignes qui restent localisées et n'envahissent pas les tissus sains voisins. Elle est principalement responsable du mauvais pronostic des patients atteints d'un gliome. L'invasion du tissu sain par les cellules tumorales se déroulerait selon un schéma classique en quatre étapes :

- 1) détachement des cellules de la masse tumorale,
- 2) adhérence des cellules à la matrice extracellulaire (MEC),
- 3) dégradation et/ou remodelage de la MEC,
- 4) migration.

Ces mécanismes nécessitent l'intervention d'interactions complexes des cellules tumorales avec les composants de la MEC et les cellules sains du tissu voisin, ou entre les cellules tumorales elles-mêmes.

Bien que ce schéma classique semble bien établi pour les tumeurs non cérébrales, il n'explique pas pleinement la particularité de l'invasion des gliomes qui semble s'effectuer sans destruction massive du parenchyme cérébral. Ce phénomène pourrait s'expliquer par l'environnement particulier du système nerveux central [47].

1.2.3.1 Le détachement de la masse tumorale

Pour que les cellules puissent se détacher de la masse tumorale, l'adhésion entre cellules tumorales doit diminuer. C'est la perte d'expression de différentes cadhérines qui semble associée à cette caractéristique [17]. Durant les dernières années, l'implication des cadhérines

¹³La GFAP est une protéine de filament intermédiaire présente dans certaines cellules gliales du système nerveux central et en particulier dans les astrocytes.

¹⁴Les cellules GL15 sont issues d'une lignée de cellules de glioblastome humain.

dans l'invasion tumorale a fait l'objet de nombreuses recherches. Cependant, dans la plupart des cas, les E-cadhérines sont exprimées par les cellules cancéreuses et il existe une corrélation négative entre les quantités de E-cadhérines et le grade de la tumeur. Il a ainsi été proposé que la perte d'adhésion via les E-cadhérines soit un prérequis pour l'invasion tumorale [17]. Dans le cas des gliomes, la perte d'expression des T-cadhérines serait associée à la malignité, à l'invasion et aux métastases tumorales. De même, l'altération des jonctions formées par les N-cadhérines semble également être associée aux propriétés de migration et d'invasion des cellules gliales dans les tissus environnants [5, 87].

La dégradation des cadhérines par les métalloprotéases matricielles (partie 1.2.3.2) est un autre mécanisme d'altération de ces jonctions d'adhésion [17].

1.2.3.2 La dégradation et/ou remodelage de la matrice extracellulaire

La migration des cellules tumorales dans le tissu sain dépend de leur capacité à migrer dans la matrice extracellulaire ou le long de structures anatomiques préférentielles. Lors de ce processus, les cellules tumorales ont acquis un phénotype leur permettant de dégrader et/ou de remodeler la matrice extracellulaire.

La dégradation

L'activité des métalloprotéases matricielles ou MMP (de l'anglais *Matrix MetalloProteinase*) semble être corrélée au caractère invasif des tumeurs de différents types et pourrait être un important médiateur de l'invasion des gliomes [48]. Les MMP sont en effet des enzymes qui dégradent les protéines de la matrice extracellulaire. Cette dégradation permet la création d'espaces intercellulaires dans lesquels les cellules invasives vont pouvoir migrer [52].

L'expression et l'activité de ces enzymes sont régulées par de nombreux facteurs sécrétés par les cellules tumorales ou par le tissu environnant [79]. Ces substances sont des facteurs de croissance impliqués dans l'invasion des cellules gliales. Ils peuvent entraîner, de manière générale, des modifications dans l'adhésion des cellules tumorales, la sécrétion de composants de la matrice extracellulaire, des effets chimiotactiques sur les cellules tumorales ou, ce qui nous intéresse dans le cas présent, amener à la stimulation de l'expression des MMP [79, 91].

Rooprai et al. [91] ont étudié l'effet sur l'expression des MMP-2 et MMP-9 de quatre facteurs de croissance exprimés par les gliomes : le VEGF, le EGF (*Epidermal Growth Factor*), les TGF β 1,2 (*Transforming Growth Factor beta*) et le bFGF (*basic Fibroblast Growth Factor*). L'effet varie suivant le type de gliome et le facteur de croissance mais, de manière générale, l'activité de ces quatre facteurs de croissance conduit à une surexpression des MMP-2 et MMP-9, avec un effet prédominant pour les facteurs TGF β 1,2. D'autres facteurs sont impliqués dans la surexpression des MMP. On compte en particulier le NGF (*Nerve Growth Factor*) qui agit uniquement sur les MMP-9 ou le SF/HGF (*Scatter Factor/Hepatocyte Growth Factor*) qui augmente l'activité et l'expression des MMP-2 [79].

Le remodelage

Bien que les cellules gliales soient capables d'interagir avec la matrice extracellulaire en y adhérant grâce aux intégrines, les cellules invasives pourraient "intelligemment" remodeler la matrice en sécrétant leur "propre matrice". Cette nouvelle matrice leur permet d'acquérir une motilité accrue. Elles peuvent notamment produire des constituants tels que la tenascine-C ou la brevican tout en limitant l'expression de constituants qui altèrent la migration [81, 82].

1.2.3.3 La migration des cellules tumorales

Que la migration se fasse ou non après un processus de dégradation de la matrice extracellulaire, elle reste un phénomène complexe impliquant de nombreux mécanismes. La cellule migre par adhésions successives : elle doit se détacher de ses anciens sites de fixation tout en créant de nouveaux points de contact. Ceci est rendu possible par une réorganisation de son cytosquelette.

Ainsi, le taux de migration des cellules est corrélé à leur adhésion au substrat. La qualité des contacts cellule/MEC est donc directement reliée à la capacité d'invasion de la cellule. Le plus important groupe de molécules d'adhésion de ce type est celui des intégrines dont le processus d'adhésion est expliqué dans la section 1.2.1.1.

Cependant, d'autres facteurs influent sur la migration comme les adhésions de contact cellule-cellule (partie 1.2.2). Nous verrons également que certaines substances peuvent diriger la migration des cellules.

La migration dans la matrice extracellulaire

Dans les gliomes, l'invasion des cellules tumorales dans le tissu cérébral environnant dépend de l'interaction de ces cellules avec la MEC via les intégrines [52, 82]. Les gliomes qui expriment en majorité l'intégrine $\alpha 3 \beta 1$, récepteur de la laminine-5, semblent devoir, en partie, leur phénotype invasif à la liaison des cellules gliales à la laminine-5 via l'intégrine citée précédemment [43]. Plus généralement, l'expression des intégrines est corrélée à l'invasion et à la migration des cellules gliales [82].

L'invasion dépend également de la composition de la MEC et du tissu sain environnant. Ceci pourrait donc expliquer le fait que les cellules tumorales migrent davantage dans la matière blanche dont la composition est très différente de celle de la matière grise avec notamment la présence de nombreuses fibres nerveuses le long desquelles les cellules tumorales vont pouvoir migrer. Dès 1940, Scherer [92] a mis en lumière, après analyse post-mortem de glioblastomes non traités, des profils de migration de cellules tumorales le long de structures anatomiques telles que les faisceaux de substance blanche et les vaisseaux sanguins. Ces structures anatomiques préférentielles constituent des supports physiques pour la migration des cellules tumorales dont trois semblent particulièrement impliqués dans le processus d'invasion : les membranes basales des vaisseaux sanguins, l'épendyme et les fibres myélinisées de la substance blanche [48].

La migration le long des vaisseaux sanguins et de l'épendyme

Les cellules de gliome ont une affinité particulière pour la membrane basale des vaisseaux sanguins formée de constituants de la MEC tels que le collagène ou la laminine. Les cellules s'attachent à ces constituants via des molécules d'adhésion telles que les intégrines. Ce mécanisme d'adhésion est nécessaire pour permettre la migration des cellules tumorales.

Les vaisseaux sanguins et l'épendyme, dont la composition en protéines de la matrice extracellulaire est similaire à celle des membranes des vaisseaux sanguins, constituent des supports pour l'invasion des cellules gliales.

La migration le long des axones myélinisés

Les cellules de gliome migrent préférentiellement le long des faisceaux de substance blanche, recouverts de myéline [47]. Giese et al. [47] ont montré que les cellules d'astrocytomes, et en particulier celles de glioblastomes, expriment des ligands leur permettant de s'attacher à la myéline comme à la MEC par un processus faisant intervenir des intégrines. Ces cellules tumorales sont donc capables d'adhérer fortement et de migrer sur les axones myélinisés.

Influence de signaux sur la migration

Nous avons parlé précédemment du rôle des jonctions communicantes (partie 1.2.2) ou d'un chimio-répulsif (partie 1.2.1.2) sur la migration des cellules tumorales. Cependant, dans les années 2000, un laboratoire de l'Université d'Alabama¹⁵ a montré l'influence sur la migration d'un autre type de signal [70, 118]. Les cellules gliales sécrètent du glutamate (signal autocrine ou paracrine) pour stimuler et coordonner l'invasion tumorale. Il semblerait que le glutamate sécrété entraîne des oscillations de concentration en ions Ca^{2+} ayant un effet toxique sur les cellules saines [118] et promouvant la migration des cellules tumorales [70]. Bien que le lien entre la migration et les oscillations de concentration en Ca^{2+} ne soit pas clairement établi, il semblerait que ces changements de concentration (en Ca^{2+}) dans l'espace extracellulaire soient un prérequis pour le mouvement cellulaire. En effet, l'augmentation de ces concentrations permet des contractions plus importantes du cytosquelette et augmente le nombre de sites d'adhésion focale. Or, pour qu'une cellule puisse se mouvoir, il est nécessaire qu'elle forme de nouveaux contacts d'adhésion tout en se détachant de ses anciens sites de fixation, ce qui pourrait expliquer le rôle des oscillations de $[\text{Ca}^{2+}]$ et donc du glutamate dans l'invasion tumorale.

Il semblerait également que l'acidité du milieu et la production d'ions H^+ par les cellules tumorales puissent jouer un rôle sur l'invasion des cellules tumorales. Ce phénomène a été mis en lumière par Gatenby et Gawlinski [45] qui présentent une hypothèse d'invasion des cellules tumorales liée à l'acidité du microenvironnement. En effet, le métabolisme modifié des cellules tumorales induirait une surproduction acide entraînant la mort des cellules saines¹⁶

¹⁵ *Department of Neurobiology, Center for Glial Biology in Medicine*, Université de l'Alabama à Birmingham.

¹⁶ Les cellules normales entrent en apoptose lorsque le pH est inférieur à 7.1 (contre 6.0 pour les cellules tumorales) alors que les cellules tumorales sont plus résistantes et présentent un taux de prolifération maximum en milieu acide (pH de 6.8) [16].

situées à l'interface tumeur-tissu sain, la dégradation de la MEC et améliorant le processus d'angiogénèse [16, 45]. La dégradation de la MEC et la mort des cellules saines situées dans l'environnement immédiat de la tumeur facilite ainsi l'invasion tumorale.

Invasion et résistances aux traitements

Le phénotype des cellules tumorales peut se modifier suivant leur comportement. Celui des cellules invasives présente une forte capacité à migrer, ainsi qu'un taux de prolifération temporairement très faible [109]. Ces cellules invasives sont relativement résistantes aux traitements conventionnels (exérèse chirurgicale, radiothérapie et chimiothérapie), fréquemment dirigés contre les cellules prolifératives [48]. Ces cellules invasives, dont la propension à proliférer est faible, sembleraient également résistantes à l'apoptose. Or, cette dernière est la conséquence recherchée par les traitements adjuvants à la chirurgie.

1.3 Conclusion

La connaissance générale des tumeurs cérébrales a évolué depuis quelques dizaines d'années mais de nombreuses zones d'ombre subsistent encore, notamment dans les mécanismes exacts de l'oncogénèse et dans la compréhension des processus à l'origine de l'invasion des cellules de tumeurs malignes. Les progrès en matière de dépistage, couplant la biopsie à l'imagerie, permettent un diagnostic plus précis et plus précoce. Les modalités thérapeutiques ont généralement augmenté l'espérance de survie des malades. Cependant, le pronostic vital reste très mauvais pour les patients atteints de gliomes, et particulièrement dans le cas des gliomes de haut grade. L'exérèse chirurgicale, qui demeure le traitement privilégié dans ce genre de pathologies, reste généralement incomplète, les techniques d'imagerie ne permettant pas de détecter la lésion tumorale dans sa globalité. Ces régions non détectables sont en général de faible concentration en cellules tumorales et se retrouvent dans les cas particuliers de tumeurs dont une partie, au moins, des cellules tumorales est invasive. L'intérêt de la modélisation dans ce domaine ne cesse de croître depuis le milieu des années 1990, afin de combler les lacunes des techniques d'imagerie actuelles. Ces modèles seront présentés dans le chapitre 2.

Un autre domaine en essor est l'étude de mécanismes favorisant l'invasion tumorale. En effet, les cellules invasives utilisent des mécanismes de migration et de communication, connus des cellules saines, mais qui peuvent se trouver favorisés dans les cas des certaines cellules tumorales. La compréhension de l'invasion tumorale est un problème fondamental et les recherches, au niveau génétique ou moléculaire, s'intensifient. Cependant, très peu de modèles s'attachent à vérifier les hypothèses émises par les biologistes afin de les valider ou de les infirmer. Nous verrons, dans les chapitres 3 à 6, les modèles que nous avons mis en place, dans le but de mettre en évidence l'implication de certaines interactions dans l'invasion des cellules de gliomes.

Chapitre 2

La modélisation des gliomes

Depuis le mouvement initié au début des années 80 par DÜchting et Vogelsaenger [34, 35, 36, 37] et repris dans les années 90 par Alvord, Murray et Tracqui [2, 110, 111], l'intérêt pour la modélisation de croissance des tumeurs cérébrales (et principalement des glioblastomes) ne cesse de croître. Les équipes internationales qui travaillent sur le sujet intègrent également les traitements chirurgicaux et les effets de la radiothérapie et de la chimiothérapie à leurs modèles afin d'étudier les récurrences après traitements.

Les gliomes sont, comme tous les autres cancers, des systèmes biologiques extrêmement complexes dont les mécanismes de croissance ne sont pas encore clairement établis. Cependant, il est possible de reproduire l'étendue d'une tumeur en utilisant des modèles de croissance macroscopiques simples. Pour cela, il est essentiel de tenir compte des contraintes extérieures et notamment de la géométrie du cerveau, des différences de milieu entre substance blanche et substance grise qui jouent un rôle sur l'invasion des cellules tumorales et les délimitations de la tumeur.

Il est également établi que l'étude de modèles plus stochastiques, que je nommerai modèles microscopiques, peut s'avérer très utile. Ces approches microscopiques permettent d'établir un lien entre l'état d'une cellule (ou d'un faible nombre de cellules) et les conditions environnementales locales auxquelles elle est soumise. En effet, le comportement de la cellule dépend des concentrations d'oxygène et de nutriments présentes et de la composition du tissu sain avec lequel elle interagit.

Dans ce chapitre, nous verrons les différents modèles macroscopiques et microscopiques de prolifération et d'invasion tumorale présentés dans la littérature. Je m'attacherai également à décrire les différents avantages et inconvénients des deux approches.

2.1 Le modèle de réaction-diffusion

L'équation de prolifération-diffusion est l'équation la plus simple, mais néanmoins couramment utilisée, pour décrire la croissance d'une population cellulaire. La croissance des gliomes est modélisée par l'introduction de deux composantes : la diffusion et la prolifération. La diffusion consiste en une invasion des cellules qui migrent dans les tissus sains. La prolifération correspond à l'augmentation de la masse tumorale par division cellulaire (dans ce modèle, le

cas d'une croissance exponentielle a été choisi). L'équation qui régit la croissance tumorale (équation (2.1)) est alors la suivante :

$$\frac{\partial c}{\partial t} = \nabla \cdot (D(\vec{r}) \nabla c) + \kappa c, \quad (2.1)$$

où $c = c(\vec{r}, t)$ est la concentration de cellules tumorales, $D(\vec{r})$ le coefficient de diffusion qui rend compte de la motilité des cellules tumorales dans les tissus cérébraux qui peut dépendre de la position $\vec{r}$ où est calculée la concentration cellulaire et κ le taux de prolifération net des cellules tumorales (il tient compte de la différence entre la production de cellules par mitose et la mort cellulaire par apoptose ou par d'autres mécanismes). Lorsque le coefficient de diffusion D est nul, le modèle décrit le cas de tumeurs solides dont seule la prolifération intervient dans la croissance.

La plupart des modèles considèrent que le coefficient de diffusion est constant quelle que soit la disposition spatiale des cellules tumorales [13, 80, 110, 111, 116]. Sous cette condition, l'équation (6.35) devient :

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D \nabla^2 c + \kappa c, \quad (2.2)$$

où le coefficient de diffusion D est indépendant de la concentration cellulaire.

2.1.1 La présentation du modèle

Ce modèle, bien que simple, permet d'obtenir, à partir de paramètres biologiques (coefficient de diffusion des cellules et taux de prolifération net), des valeurs pour la vitesse de croissance de la tumeur et la durée de survie des patients proches de la réalité clinique.

2.1.1.1 Le modèle à deux dimensions

Afin de simplifier les calculs et de comparer les simulations à des images de patients en plans horizontaux ou en coupes sagittales et coronales, il est souvent courant de limiter le modèle de réaction-diffusion à deux dimensions [80, 105, 110, 111, 116].

En considérant un point source initial (une fonction delta de N_0 cellules tumorales à la position $r = 0$), un domaine bidimensionnel non borné et une symétrie de rotation, l'équation (2.2) est analytiquement soluble. La solution est la suivante :

$$c_{2D}(\vec{r}, t) = \frac{N_0}{4\pi Dt} e^{\kappa t} e^{-r^2/4Dt}. \quad (2.3)$$

Le passage à trois dimensions

La solution à trois dimensions (3D) de l'équation (2.2), en considérant une symétrie sphérique et un point source initial de N_0 cellules tumorales, se présente sous la forme suivante :

$$c_{3D}(\vec{r}, t) = \frac{N_0}{8(\pi Dt)^{3/2}} e^{\kappa t} e^{-r^2/4Dt}. \quad (2.4)$$

Ce modèle tridimensionnel est celui utilisé par Burgess et al. [13] ainsi que par Swanson et al. [106, 107]. La comparaison de ce modèle 3D à des images IRM et CT de patients atteints de glioblastomes a notamment été possible grâce à la mise à disposition d'une base de données anatomiques du cerveau : BrainWeb (<http://www.bic.mni.mcgill.ca/brainweb/>). Un cerveau humain virtuel à trois dimensions composé de voxels de 1 mm^3 a été mis en place. Cela a permis d'affiner le modèle précédent [105], avec des conditions aux limites plus précises, et de définir une distribution anatomique de la matière grise et de la matière blanche plus réaliste.

Estimation des paramètres de l'équation de réaction-diffusion

La caractérisation de la tumeur passe par la valeur du rapport κ/D . En effet, nous pouvons faire apparaître ce rapport en normalisant l'équation 2.2. En adimensionnant le temps et l'espace (x est remplacé par λx et t par μt), nous obtenons l'équation suivante :

$$\frac{\partial c}{\partial t} = \frac{\lambda D}{\mu^2} \nabla^2 c + \lambda \kappa c. \quad (2.5)$$

Nous devons avoir un rapport $\lambda D/\mu^2$ sans dimension, égal à 1, de même que le second préfacteur de l'équation, à savoir $\lambda \kappa$ qui devient, par remplacement de λ , proportionnel à κ/D . Nous arrivons alors à la simplification suivante (en supposant μ^2 égal à 1) :

$$\frac{\partial c}{\partial t} = \nabla^2 c + \frac{\kappa}{D} c. \quad (2.6)$$

La croissance de la tumeur dépend alors uniquement du rapport κ/D mais le temps de croissance redéfini dépend de la valeur du coefficient de diffusion D . Nous pouvons alors noter que pour les valeurs de κ et de D variant mais pour un rapport fixé, la forme de la tumeur est la même ; seul le temps de croissance de la tumeur est différent. Avant toute estimation sur la progression tumorale, il est donc nécessaire d'avoir une idée des valeurs des coefficients de diffusion et de prolifération. Les auteurs des publications [13, 80, 105, 110, 116] ont déduit ces paramètres à partir de données publiées sur des patients atteints de glioblastome.

La valeur du taux de prolifération κ obtenue est de 0.012/jour, correspondant à une tumeur qui double de taille tous les 2 mois [13, 105, 110, 116]. Burgess et al. [13] précisent que ce temps de doublement est en général compris entre 1 et 12 mois et que la valeur de 0.012/jour choisie correspond à un cas de prolifération tumorale rapide.

Le coefficient de diffusion est estimé en utilisant l'approximation de Fisher-Kolmogoroff [13, 80, 105] qui permet de donner, pour des temps considérés comme "longs", une relation entre le coefficient de diffusion D et le taux de prolifération κ :

$$D\kappa \approx \frac{v^2}{4}, \quad (2.7)$$

où v est la vitesse linéaire d'avancement du front de la partie visible par imagerie de la tumeur.

Afin d'obtenir cette approximation, nous partons de la concentration cellulaire dans le cas bidimensionnel donné dans l'équation (2.3). Nous définissons la concentration seuil de

détection c^* obtenue à la distance r^* , position du front visible de la tumeur. Déterminons maintenant le coefficient de diffusion D en fonction de la concentration :

$$D = \frac{r^{*2}}{4t} \left[\kappa t - \ln \left(4\pi D t \frac{c^*}{N_0} \right) \right]^{-1}, \quad (2.8)$$

$$D \approx \frac{r^{*2}}{4\kappa t^2} \text{ pour un temps } t \text{ long.} \quad (2.9)$$

Cette approximation vient de l'observation suivante : une population gouvernée uniquement par la prolifération et la diffusion croît à une vitesse de $2\sqrt{D\kappa}$ pour des temps longs (voir les équations (2.10), (2.11) et (2.12) pour la démonstration).

En considérant que ce front avance de 1,5 cm en 180 jours et que la valeur de κ est celle donnée précédemment, cela donne une vitesse moyenne de 0.008 cm/jour et un coefficient de diffusion D de 0.0013 cm²/jour [13, 105].

Le rapport κ/D permet aussi de déterminer la portion de la tumeur qui est visible par imagerie, c'est-à-dire la portion de tumeur dont la concentration est supérieure à la concentration seuil de détection. Cette portion de tumeur détectable décroît lorsque le coefficient de diffusion augmente mais aussi lorsque le taux de prolifération diminue (figure 2.1). Ainsi, en considérant un seuil de détection de $4 \cdot 10^4$ cellules/cm² pour des gliomes de haut grade (pour des valeurs de κ et D élevées) et de grade intermédiaire (faible κ et D élevé), la portion de tumeur détectable est comprise entre 10 et 40%. En effet, à taux de prolifération fixé, lorsque le coefficient de diffusion augmente, les cellules tumorales migrent sur des distances plus importantes et la distribution des cellules tumorales est d'autant plus élargie.

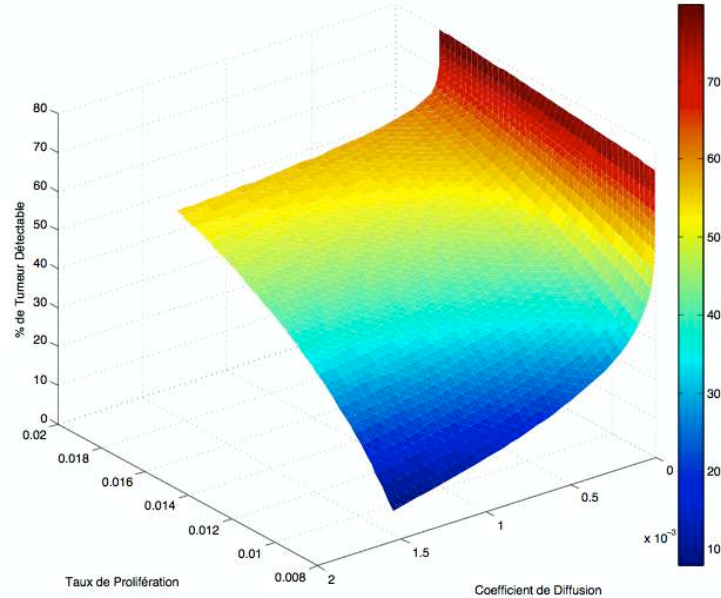


FIG. 2.1 – Pourcentage de portion de tumeur détectable par imagerie au moment de la mort du patient en considérant un seuil de détection à $4 \cdot 10^4$ cellules/cm² en fonction des valeurs du coefficient de diffusion D et du taux de prolifération.

2.1.1.2 Estimation de la durée de développement de la tumeur avant diagnostic

À partir de l'équation (2.3), il est possible d'estimer le temps t_d nécessaire entre l'apparition des premières cellules tumorales au point source (correspondant également au début de la diffusion des cellules tumorales) et le diagnostic ainsi que la durée moyenne de survie t_l du patient.

En considérant le cas bidimensionnel, où la concentration de cellules tumorales est déterminée par l'équation (2.3) et en notant c^* la concentration seuil de détection de $4 \cdot 10^4$ cellules/cm² [110], alors le rayon r^* de la tumeur observée par imagerie pour lequel $c(r^*, t) = c^*$ est déterminé selon l'équation (2.10) pour le modèle à deux dimensions et l'équation (2.11) pour le modèle à trois dimensions :

$$r_{2D}^* = 2\sqrt{D\kappa t} \sqrt{1 - \frac{1}{\kappa t} \ln(4\pi Dt \frac{c^*}{N_0})}, \quad (2.10)$$

$$r_{3D}^* = 2\sqrt{D\kappa t} \sqrt{1 - \frac{1}{\kappa t} \ln(8(\pi Dt)^{3/2} \frac{c^*}{N_0})}. \quad (2.11)$$

Pour un temps t considéré comme long, nous pouvons alors donner une valeur approchée de r_{2D}^* et r_{3D}^* (équation (2.12)) :

$$r_{2D}^* \approx r_{3D}^* \approx 2\sqrt{D\kappa t} \text{ pour un } t \text{ long.} \quad (2.12)$$

Pour estimer t_d , il faut déterminer le temps pour lequel la concentration critique de détection est atteinte à une distance r_d (rayon moyen visible par imagerie d'un glioblastome au moment du diagnostic) du point source. En général, au moment du diagnostic, le rayon moyen r_d égale 1.5 cm [13, 110, 116]. Burgess et al. [13] en déduisent alors que pour les gliomes de haut-grade, la durée entre l'apparition des premières cellules tumorales et le diagnostic (t_d) égale 1.35 an, ce qui correspond à un peu plus de 16 mois.

2.1.1.3 Estimation de la durée de survie des patients

De même, la durée de survie totale moyenne, sans traitement, t_l est estimée en calculant le temps pour lequel la concentration critique est atteinte pour une valeur de r_l correspondant au rayon moyen de la tumeur observée par imagerie à la mort du patient.

En considérant r_l égal à 3 cm [13, 110, 116], Burgess et al. [13] déduisent que pour un patient atteint d'un glioblastome, la valeur de t_l est proche de 1,84 an, soit approximativement 22 mois.

En combinant les deux valeurs de t_d et t_l ainsi déterminées, il est possible de donner une estimation de l'espérance de vie ϵ du patient (équation (2.13)) :

$$\epsilon = t_l - t_d \quad (2.13)$$

$$\epsilon \approx \frac{1}{2\sqrt{D\kappa}}(r_l - r_d). \quad (2.14)$$

L'espérance de vie obtenue est, dans le cas où les valeurs de κ et D sont celles déterminées précédemment, de 6 mois après diagnostic pour un patient non traité [13]. Cette valeur est en accord avec les observations biologiques de patients atteints de glioblastomes. Le tableau 2.1 donne certaines espérance de vie en fonction de différentes valeurs des paramètres κ et D ¹.

Grade	Taux de prolifération κ (en jour ⁻¹)	Coefficient de diffusion D D (en cm ² /jour)	Espérance ϵ (en mois)
Haut	0.012	0.0013	5.9
Intermédiaire 1	0.0012	0.0013	5.5
Intermédiaire 2	0.012	0.00013	21.1
Bas	0.0012	0.00013	59.0

TAB. 2.1 – Caractéristiques de croissance de gliomes de différents grade (haut, intermédiaires et bas définis par des variations d'un facteur 10 des κ et de D) et espérance de survie des patients.

Ces valeurs de ces paramètres caractérisent les grades suivants : haut grade (pour une forte prolifération et une forte diffusion), grade intermédiaire 1 (pour une forte diffusion et une faible prolifération), grade intermédiaire 2 (pour une forte prolifération et une diffusion faible) et bas grade (pour des faibles prolifération et diffusion), pour lesquels les taux de prolifération et les coefficients de diffusion varient d'un facteur 10.

2.1.2 Les raffinements du modèle de réaction-diffusion

Afin de tenir compte des différentes structures et matières du cerveau, il est possible d'apporter quelques raffinements au modèle de réaction-diffusion présenté précédemment en considérant un coefficient de diffusion non constant.

2.1.2.1 Des coefficients de diffusion différents entre matière grise et matière blanche

Les modèles de Swanson et al. considèrent la différence de composition entre la substance grise et la substance blanche en introduisant des coefficients de diffusion différents pour ces deux types de substances [105, 106, 107]. Dans la partie 1.2.3.3, j'ai mentionné la migration préférentielle des cellules gliales le long des faisceaux de substance blanche. De ce fait, la motilité des cellules tumorales est plus importante dans la matière blanche que dans la matière grise. Ainsi, en utilisant la relation (2.7), la valeur du coefficient de diffusion D est donné suivant la motilité de la cellule qui dépend de sa localisation.

¹Nous pouvons noter que les tumeurs dans l'espérance de vie est la plus courte ne correspond pas au grade qualifié de "haut" dans le tableau 2.1 mais au grade appelé "intermédiaire 1". J'ai gardé les noms "historiques" donnés dans [13]. Le terme de "haut" grade qualifie une forte diffusion et un taux de prolifération élevé, le grade "intermédiaire 1" un coefficient de diffusion élevé et un faible taux de prolifération, le grade "intermédiaire 2" un coefficient de diffusion faible et un taux de prolifération élevé et le "bas" grade des coefficient de diffusion et taux de prolifération faibles.

Dans la matière grise (qui correspond aux corps cellulaires des neurones avec leur dense réseau de dendrites), la vitesse de migration v_g est de l'ordre de 0.008 cm/jour [110] d'où une valeur du coefficient D_g associé à la matière grise d'environ 0.0013 cm²/jour.

Dans la matière blanche (qui correspond à la gaine de myéline qui recouvre les axones des neurones pour en accélérer la conduction), la vitesse de migration v_w a été estimée supérieure à $2.2v_g$ soit $v_w = 0.018$ cm/jour [105]. Ainsi, le coefficient de diffusion D_w des cellules dans la matière blanche est supérieur à $5D_g$ et choisi égal à 0.0065 cm²/jour [105]. Toutes les valeurs citées sont obtenues à partir d'observations sur des patients atteints de gliomes.

En prenant l'équation (2.1), nous obtenons alors l'équation (2.15) qui régit la croissance d'une tumeur cérébrale en considérant deux coefficients de diffusion différents suivant la localisation de la cellule : dans la substance grise (D_g) ou dans la substance blanche (D_w) :

$$\frac{\partial c}{\partial t} = \nabla \cdot (D(\vec{r}) \nabla c) + \kappa c, \quad (2.15)$$

où

$$D(\vec{r}) = \begin{cases} D_w & \text{pour } \vec{r} \text{ dans la matière blanche} \\ D_g & \text{pour } \vec{r} \text{ dans la matière grise} \end{cases}.$$

2.1.2.2 Structure du cerveau

Le modèle de Swanson et al. [105] prend en compte l'hétérogénéité du tissu cérébral ainsi que la complexité de la géométrie anatomique (figure 2.2). De ce fait, la dynamique d'invasion tumorale peut varier de manière importante suivant la localisation initiale de la tumeur. Cependant, dans ce modèle [105], la migration et la prolifération des cellules se font à deux dimensions.

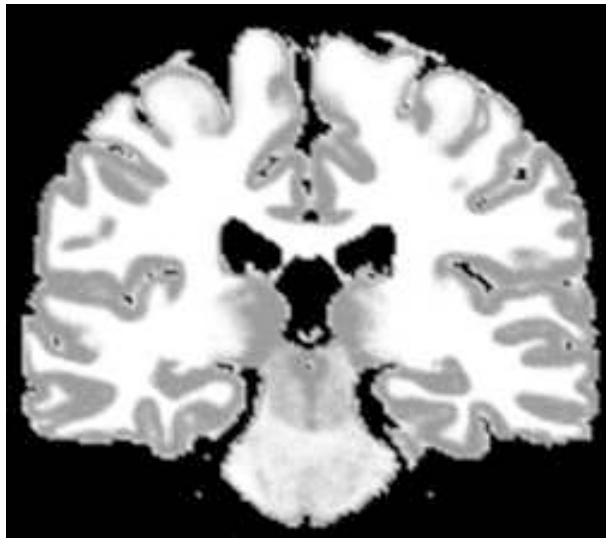


FIG. 2.2 – Section coronale d'un cerveau humain virtuel où la matière grise est représentée en gris et la matière blanche en blanc [104].

Depuis 2002, l'équipe de Swanson s'est attachée à développer un modèle de croissance de gliomes à trois dimensions [106, 107, 108] dans un cerveau humain virtuel 3D créé à partir de la base de données BrainWeb définissant, entre autre, la distribution spatiale de la matière grise et de la matière blanche dans le cerveau humain.

La figure 2.3 représente les résultats des simulations obtenues à partir du modèle 3D de réaction-diffusion de Swanson et al. [106] données dans 3 plans différents : coronal, sagittal et horizontal. Les lignes représentent la concentration en cellules tumorales : le rouge est utilisé pour la concentration la plus élevée et le bleu pour la plus faible. On peut également distinguer sur cette figure la substance grise (en gris) de la substance blanche (en blanc). La colonne de gauche donne les trois simulations au moment du diagnostic (en considérant que le diagnostic se fait lorsque le volume détectable de la tumeur est équivalent à une sphère de 3 cm de diamètre). Celle de droite représente les simulations correspondant au décès du patient "idéal" (en considérant que le décès survient lorsque le volume détectable de la tumeur a atteint une sphère de 6 cm de diamètre). Le courbe en trait noir épais délimite la partie de la tumeur qui est détectable par imagerie, c'est-à-dire la partie de la tumeur pour laquelle la concentration de cellules tumorales est supérieure au seuil de détection (supposé égal à 8.10^6 cellules/cm³, pour un modèle 3D). Quant au dernier contour bleu, il ne représente pas la limite de diffusion des cellules tumorales mais la limite de la partie détectable de la tumeur dans le cas d'une technique d'imagerie encore théorique à l'heure actuelle, et 80 fois plus sensible que les techniques actuelles (avec un seuil de détection de 10^5 cellules/cm³).

Sur la figure 2.3, la tumeur est initialement issue de la région frontale supérieure. Le modèle prédit, dans le cas de cette localisation, que la durée entre le diagnostic (lorsque le volume de la tumeur est équivalent à une sphère de 3 cm de diamètre) et la mort (lorsque le volume de la tumeur est équivalent à une sphère de 6 cm de diamètre) est de 158 jours pour le patient virtuel "idéal".

Un autre cas, où la localisation initiale de la tumeur est le thalamus, est également rapporté [106]. Là, le patient virtuel peut espérer vivre 256 jours après le diagnostic.

2.1.2.3 Migration préférentielle le long des fibres nerveuses de la substance blanche

L'invasion du tissu cérébral sain par les cellules tumorales est semble-t-il accentuée lorsque les cellules tumorales sont en contact avec certaines structures anatomiques. En effet, les cellules migrent préférentiellement dans la direction des fibres myélinisées de la substance blanche, des membranes basales des vaisseaux sanguins ou au contact de la couche cellulaire entourant les ventricules cérébraux latéraux [48, 60]. Ce phénomène est particulièrement important dans le cas des fibres myélinisées à cause de la haute affinité des cellules tumorales invasives avec la myéline (voir la partie 1.2.3.3).

Il est possible via l'imagerie du tenseur de diffusion, DTI (pour *Diffusion Tensor Imaging* en anglais), de rendre compte de la diffusion anisotrope des cellules tumorales dans la substance blanche. La DTI est une technique basée sur l'analyse d'images IRM et permet de visualiser la position, l'orientation et l'anisotropie des faisceaux de matière blanche du cerveau. L'association de couleur à la direction de la fibre qui traverse le pixel, permet de

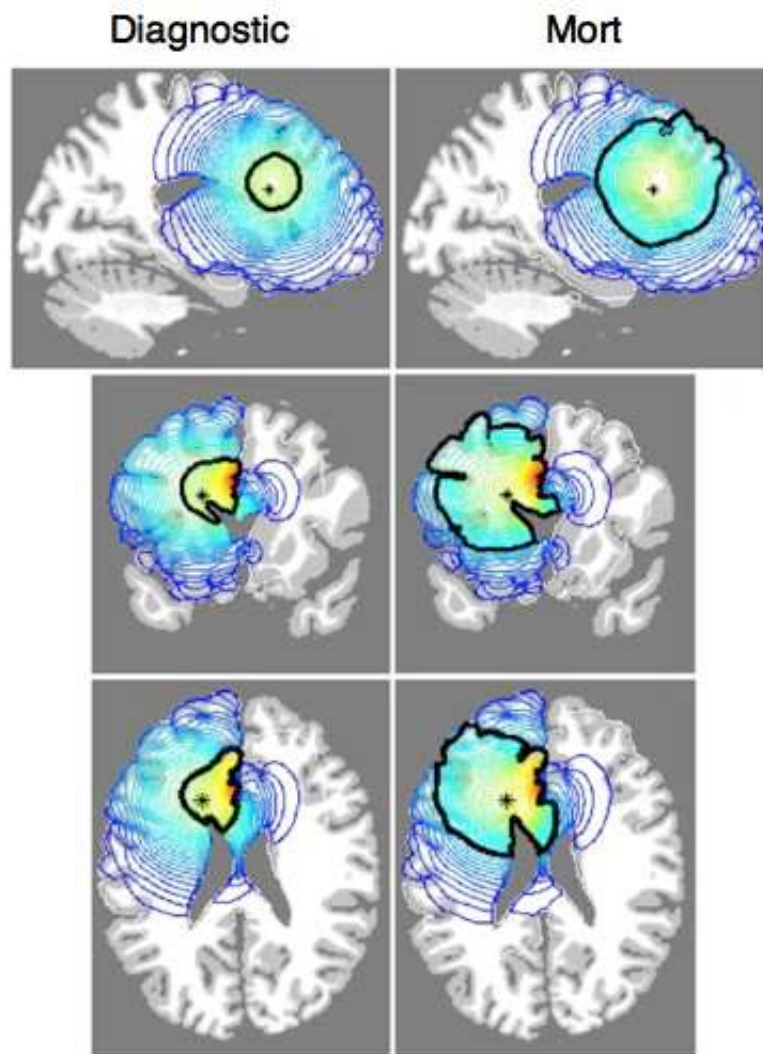


FIG. 2.3 – Coupes d'un cerveau humain virtuel (plan sagittal, coronal et horizontal) où la position initiale de la tumeur dans la région frontale supérieure est représentée par une astérisque [107]. Le contour noir permet de délimiter la partie visible à l'imagerie IRM ou CT (seuil de détection de $4 \cdot 10^4$ cellules/cm²). Le dernier contour noir représente la limite dans le cas d'une technique d'imagerie 80 fois plus sensible que les techniques actuelles.

créer une cartographie des fibres de la substance blanche (figure 2.4). En l'occurrence, trois couleurs sont utilisées pour représenter trois directions dans l'espace : le rouge pour les fibres dans la direction gauche-droite, le bleu pour la direction supéro-inférieure et le vert pour la direction antéro-postérieure [56, 78].

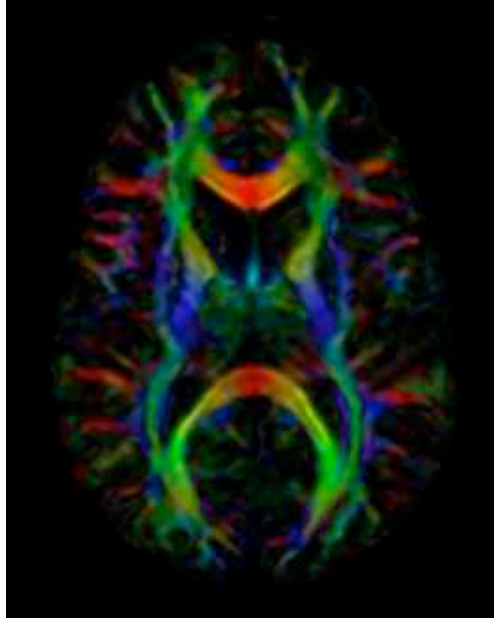


FIG. 2.4 – Cartographie des fibres de la matière blanche dans le plan axial [56]. Les couleurs permettent de donner la direction des fibres (le rouge pour la direction gauche-droite, le bleu pour le direction supéro-inférieure et le vert pour la direction antéro-postérieure)

Le modèle permettant de modéliser la croissance des gliomes et tenant compte de la géométrie du cerveau, de la différence de vitesse de migration entre substance grise et substance blanche et de la migration préférentielle des cellules gliales le long des fibres myélinisées de la substance blanche est décrit dans [21, 22, 60] par l'équation (2.16) :

$$\frac{\partial c}{\partial t} = \nabla \cdot (\mathbf{D}(\vec{r}) \nabla c) + \kappa c, \quad (2.16)$$

où $\mathbf{D}(\vec{r})$ est le tenseur de diffusion.

La figure 2.5 montre la comparaison de la forme d'un gliome de bas-grade entre les images IRM d'un patient (figure 2.5 a) et les simulations avec le tenseur de diffusion (figure 2.5 b) et avec diffusion isotrope des cellules tumorales (figure 2.5 c). La technique qui modélise au mieux la forme de la tumeur, d'après les images IRM, est la méthode avec diffusion anisotrope des cellules, c'est-à-dire en considérant le tenseur de diffusion [60]. En abaissant le seuil de détection, il est possible d'estimer la concentration et la disposition des cellules non détectables par imagerie.

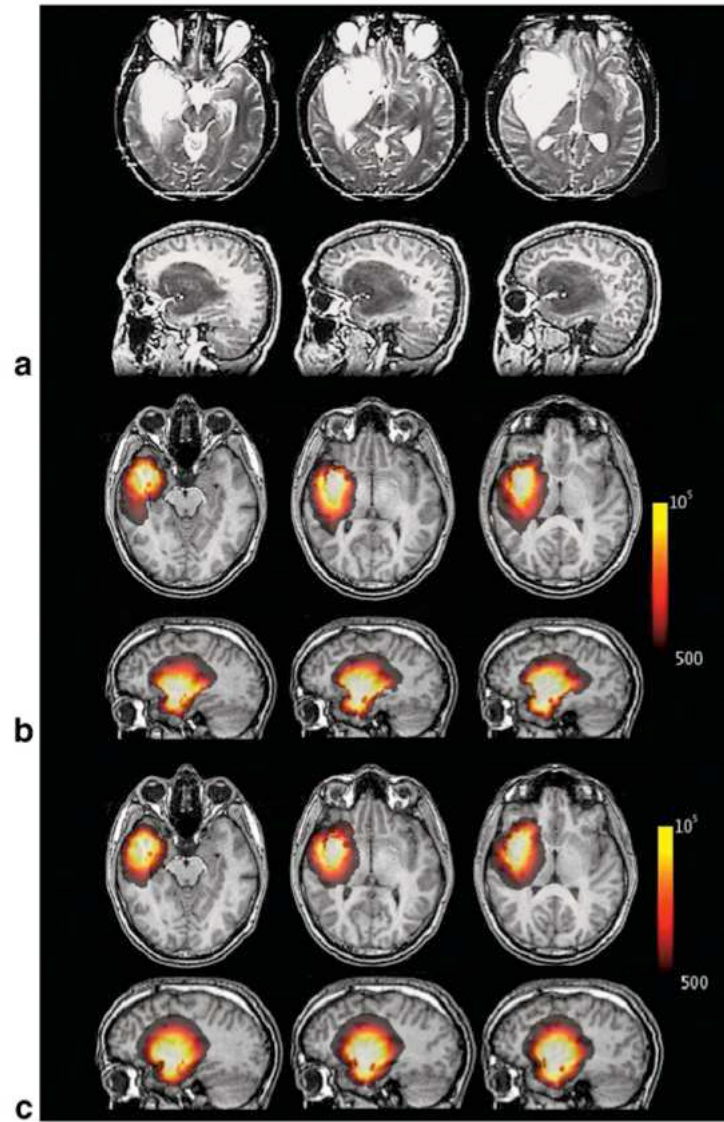


FIG. 2.5 – Images IRM (a) et simulations de la partie détectable d'un gliome de bas-grade en utilisant le tenseur de diffusion (b) et en considérant une diffusion isotrope des cellules (c) [60]. Le seuil de détection est ici supposé égal à 500 cellules/mm³.

2.1.3 Les avantages et limites du modèle macroscopique

Dans cette partie, j’ai pu mettre en avant les avantages du modèle macroscopique que je tiens à rappeler ici. Je voudrais également signaler les lacunes d’une modélisation macroscopique qui pourraient être comblées par l’introduction d’un modèle plus microscopique.

2.1.3.1 Les avantages

Le modèle à trois dimensions tenant compte de la structure du cerveau humain pourrait ainsi permettre :

- de mettre en évidence l’impact de la localisation de la tumeur sur le temps de survie du patient,
- de suggérer, à partir des images IRM ou CT du patient, la localisation et la concentration des parties “indécelables” de la tumeur qui pourraient avoir envahi les tissus sains. Ces résultats pourraient se révéler utiles pour l’orientation et le choix du meilleur traitement possible pour un patient spécifique, même si ces traitements ne restent que des traitements palliatifs permettant d’améliorer les conditions de vie du malade.

Ces modèles permettent également de montrer aux anatomo-pathologistes et aux cliniciens que la tumeur s’est étendue bien au-delà des limites, décelées à l’image ou définies à la suite de recherche de cellules tumorales par microscopie.

2.1.3.2 Les limites

Le coefficient de diffusion utilisé dans les équations de réaction-diffusion est un coefficient dont la valeur est une moyenne et qui ne permet pas de rendre compte de la complexité de la migration cellulaire, notamment de l’influence de gradients de concentration de substances chimiques sur la migration (mouvements aléatoires ou dirigés), de contraintes physiques, d’interactions attractives ou répulsives par contact physique ou par le biais de facteurs chimiques. Ce terme de diffusion permet uniquement de rendre compte d’une migration passive des cellules.

2.1.3.3 Conclusion

Ces modèles sont donc utiles pour estimer la croissance de la masse tumorale mais pas l’invasion des cellules (migration active). Les modèles présentés et leurs résultats convaincants basés sur des données de patients permettent d’en témoigner, mais ne permettent pas de mettre en évidence les différents phénomènes qui entrent en jeu lors de la migration des cellules tumorales.

2.2 Les modèles microscopiques

Les études microscopiques de la croissance des tumeurs cérébrales permettent d'introduire de nouveaux paramètres par rapport aux modèles macroscopiques. Ces modèles, d'abord délaissés au profit de la croissance macroscopique des tumeurs cérébrales, connaissent un intérêt grandissant. Ainsi, par exemple, le CBML², qui modélisait la progression tumorale du point de vue macroscopique, s'intéresse depuis quelques années à la migration microscopique. Le réseau européen de recherche Marie Curie³ : *Modelling, Mathematical Methods and Computer Simulation of Tumour Growth and Therapy* regroupe des équipes de chercheurs qui étudient la croissance des tumeurs cérébrales d'un point de vue macroscopique ou microscopique. Certaines équipes concilient même depuis peu les deux approches dans un même modèle où une partie de la tumeur est décrite via des équations de réaction-diffusion et une autre (en général la partie proliférative au contact du tissu sain) par un modèle microscopique.

La modélisation microscopique des tumeurs cérébrales peut permettre, dans le cas idéal, de faire le lien entre l'état de chaque cellule (capacité de survivre, de proliférer et/ou de migrer) et les conditions environnementales locales auxquelles elle est soumise (concentration d'oxygène, de nutriments, conformation du tissu sain...). Il fait également intervenir les interactions que la cellule subit avec ses voisines, tumorales ou saines. Tout cela permet alors d'étudier la croissance globale qui caractérise la progression tumorale. Cependant, les modèles microscopiques appliqués aux tumeurs cérébrales ne prennent pas en compte toutes ces caractéristiques mais se focalisent plutôt sur une ou deux afin de comprendre le(s) phénomène(s) mis en jeu par cette (ou ces) caractéristique(s).

2.2.1 Généralités

Ces modèles microscopiques sont de deux types : les automates cellulaires et les modèles sans pavage pré-défini de l'espace.

2.2.1.1 L'automate cellulaire

L'automate cellulaire, dont le nom faisant référence aux cellules n'est que pure coïncidence, est un modèle de dynamique microscopique qui consiste à discrétiser l'espace en sites disposés plus ou moins régulièrement. Notons que "cellule" est la terminologie exacte pour désigner les sous-parties de l'automate (d'où le nom "d'automate cellulaire"). Cependant, nous utiliserons le terme "site" afin d'éviter la confusion entre les cellules de l'automate et les cellules tumorales ou saines. Chaque site est dans un état défini par les règles de l'automate. Dans le cas des automates cellulaires pour la modélisation des tumeurs, les sites peuvent représenter différents types de cellules selon l'étude réalisée : cellules saines, cellules tumorales prolifératives, cellules tumorales non prolifératives, cellules necrosées par exemple.

² *Complex Biosystems Modeling Laboratory* affilié à l'Institut de Technologie du Massachusetts (*Massachusetts Institute of Technology*) et la *Harvard-MIT Division of Health Sciences and Technology*.

³ *Marie Curie Research Training Network*.

L'utilisation de certains maillages réguliers (notamment les réseaux carrés ou cubiques) peuvent introduire des anisotropies. Celles-ci peuvent être supprimées par le choix d'un réseau plus aléatoire. C'est par exemple le cas du diagramme de Voronoï basé sur une triangulation de Delaunay dont j'expliquerai le principe dans la section 3.1.1.1.

Tous les sites de l'automate sont soumis, à chaque unité de temps que nous nommerons "itération", à des règles définies. Précisons que dans ces modèles, le temps, tout comme l'espace, est discrétisé. L'état d'une cellule au temps $t + 1$ dépend de son état, voire de celui des cellules voisines à l'instant t .

L'automate cellulaire le plus connu est le "jeu de la vie", imaginé par Conway [44]. Cet automate, aux règles extrêmement simples, se construit sur un réseau bidimensionnel carré et permet la création de motifs complexes. Les deux lois qui régissent son évolution sont basées sur un principe simple de naissance (qui correspond à la prolifération cellulaire), de vie et de mort des cellules. Chaque site de l'automate peut se trouver dans un des deux états définis par le modèle : mort (ceci correspond à un site vide) ou vivant. Un site possède huit voisins. Lorsqu'un site vide a trois sites voisins occupés par des cellules vivantes, le site voit apparaître une cellule vivante. Une cellule reste vivante lorsqu'elle a deux ou trois voisines vivantes, sinon elle meurt et le site redevient vide.

Le "jeu de la vie" a permis de mettre en évidence le fait que la formation de motifs complexes peut résulter de l'application d'un ensemble de règles très simples. Les automates cellulaires connaissent d'ailleurs un essor important, intéressant des chercheurs dans des domaines variés comme les mathématiques, la physique, la biologie, l'économie ou bien encore la philosophie.

L'inconvénient d'un tel pavage de l'espace est qu'il est difficile d'inclure des effets tels que le changement de taille ou de forme de la cellule, des déformations mécaniques ou des compressions de cellules ou d'agrégat de cellules.

2.2.1.2 La modélisation microscopique sans pavage de l'espace

Bien que les modèles sans pavage de l'espace soient capables de résoudre, plus facilement, les problèmes mentionnés précédemment, ils sont très peu utilisés pour l'application à la modélisation de tumeurs cérébrales. C'est pour cette raison que nous allons parler uniquement de manière succincte de ce type de modélisation microscopique. À ma connaissance, seuls Drasdo et Höhme [33] se sont intéressés à une telle modélisation. Dans leur modèle, les cellules peuvent :

- proliférer si la concentration en glucose est suffisante et si la cellule n'est que faiblement déformée,
- entrer en état de mort cellulaire si cette concentration est inférieure à un deuxième seuil, plus faible,
- former des liaisons adhésives avec les cellules avec lesquelles elle est en contact physique,
- migrer passivement en étant "poussée" par d'autres cellules ou activement pour échapper à un stress mécanique.

L'effet qui va être développé ici est celui des liaisons adhésives. Lorsque la distance entre les centres de cellules en contact diminue, du à une compression mécanique par exemple,

la surface de contact entre elles augmente. Ce phénomène augmente le nombre de liaisons adhésives entraînant une interaction attractive entre cellules. Cependant, l'augmentation de cette attraction conduit à une déformation de plus en plus importante, donnant ainsi naissance à une interaction répulsive. En effet, les cellules ne peuvent subir qu'une compression limitée. Drasdo et Höhme modélisent la combinaison des deux interactions (attractive et répulsive) par une énergie d'interaction qui reflète l'adhésion de contact et la déformation limitée des cellules.

D'après leur modèle, le diamètre et le nombre de cellules de tumeurs solides croissent initialement suivant une loi exponentielle. Cette phase de croissance exponentielle est suivie par une phase de croissance linéaire du diamètre de la tumeur. Ils supposent que cette croissance linéaire est due au fait que la prolifération des cellules tumorales est limitée à la couche extérieure de la tumeur. Cette limitation serait un effet des contraintes mécaniques trop importantes à l'intérieur de la tumeur. De plus, ils remarquent que la manque de glucose conditionne fortement la taille de la partie nécrosée mais très peu la taille de la tumeur.

2.2.2 L'application des automates cellulaires aux tumeurs

L'utilisation des automates cellulaires appliqués à la croissance des tumeurs cérébrales a commencé dans les années 1980 avec en particulier, les travaux de Dürsting et Vogelsaenger [34, 35, 36, 37]. Cependant, il a fallu attendre les années 2000 pour que l'étude microscopique des tumeurs cérébrales prenne de l'ampleur.

Les automates permettent de faire intervenir des lois simples de prolifération, de non-prolifération, de quiescence⁴, de mort cellulaire ou de migration.

Le cas le plus répandu d'automate cellulaire décrit la croissance d'une tumeur solide qui tient donc compte de la prolifération et de la mort cellulaire. Dans ces cas particuliers, l'invasion des cellules tumorales dans les tissus sains n'est pas considérée. L'état des cellules tumorales n'est pas le seul paramètre de ces modèles. En effet, l'automate cellulaire peut être couplé à des équations de réaction-diffusion ou des paramètres qui décrivent les changements du microenvironnement de la cellule tumorale. Ces changements peuvent ainsi influencer le comportement des cellules en la faisant entrer dans une autre phase (prolifération, mort cellulaire, quiescence). Les modèles actuellement utilisés s'intéressent principalement à la production, la diffusion et la consommation ou la dégradation de nutriments [62, 63, 86], d'oxygène [3, 37, 46] et d'ions H^+ [86]. Les automates les plus raffinés incluent également la présence de vaisseaux sanguins [3, 37, 46] voire d'angiogénèse [46] permettant la formation et la croissance de nouveaux vaisseaux sanguins pour alimenter les parties de la tumeur qui sont situées à une distance supérieure à la longueur de diffusion de l'oxygène.

⁴La cellule est quiescente (ou dormante) lorsqu'elle ne se situe pas dans un environnement lui permettant d'avoir une activité normale (division). Elle se met alors en état "d'attente", évitant à la cellule une mort certaine, jusqu'à ce que les conditions lui redeviennent favorables. Cette capacité, particulièrement développée chez les cellules tumorales, semble être liée aux mutations du gène suppresseur de tumeur p53.

2.2.2.1 L'état cellulaire

La tumeur est composée de trois parties : une sphère de cellules nécrosées qui compose le coeur de la tumeur et pour laquelle les concentrations en oxygène et en nutriments sont insuffisantes pour maintenir les cellules en vie, une couche de cellules quiescentes entourant cette sphère, elle-même encerclée d'une couronne de cellules prolifératives consommant la quasi totalité des nutriments et de l'oxygène pénétrant dans la tumeur [103]. Une version idéalisée de cette tumeur solide tripartite est représentée sur la figure 2.6.

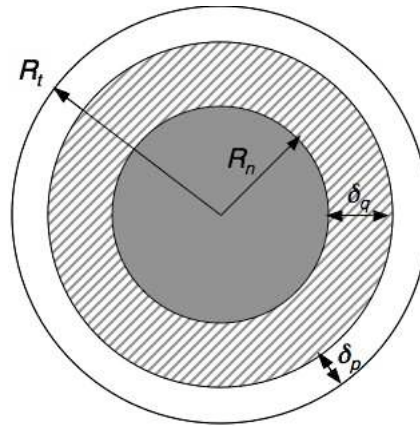


FIG. 2.6 – Coupe d'une tumeur solide idéale. La partie grise correspond à la zone nécrosée, la partie hachurée dénote la présence de cellules quiescentes, la couronne blanche représente quant à elle la couronne proliférative.

Une cellule est capable de se diviser s'il existe un site libre à une certaine distance de cette cellule, correspondant à l'épaisseur de la couronne proliférative. Cette distance peut varier avec le temps et selon les modèles étudiés mais reste de l'ordre de quelques dizaines de diamètres de cellule. L'épaisseur de cette couronne dépend des conditions environnementales appliquées à la croissance tumorale. Si ces conditions ne conviennent pas à une activité normale de la cellule tumorale, cette dernière devient quiescente et peut entrer en état de mort cellulaire.

Si ces conditions tardent à redevenir suffisantes pour permettre une activité de la cellule, la cellule entre en état de mort cellulaire, ou nécrose. Ce sont ces cellules qui forment le corps nécrotique de la tumeur.

Lorsque le milieu environnant la tumeur est considéré comme homogène, la tumeur possède une symétrie quasiment sphérique et l'épaisseur des différentes couronnes composant la tumeur est quasiment constante (figure 2.6) contrairement à une évolution en milieu inhomogène.

2.2.3 Les différentes variables métaboliques

L'état cellulaire des systèmes modélisés est conditionné par certaines variables métaboliques. La cellule, pour se maintenir en vie et proliférer, a besoin des nutriments et d'oxygène. Cet état peut aussi dépendre, suivant les modèles, de la concentration en ions H^+ ou de la formation de nouveaux vaisseaux sanguins.

2.2.3.1 Les nutriments

Certains modèles focalisent leur intérêt sur la présence ou non de nutriments dans le développement de la tumeur. Ainsi, les cellules tumorales sont considérées comme actives (*i.e.* peuvent se diviser) lorsqu'elles sont en présence d'une quantité suffisante de nutriments. Lorsque cette quantité est insuffisante, la cellule devient non-proliférative, quiescente (de même que lorsque la cellule n'est pas assez oxygénée).

D'après Kansal et al. [62, 63], l'épaisseur de la couronne proliférative δ_p représenté, dans le cas idéal, sur la figure 2.6 est une fonction de R_t où R_t est le rayon moyen de la tumeur. La figure 2.7 donne un exemple de croissance de tumeur solide composées des trois parties : nécrosée, quiescente et proliférative. Cette figure permet de visualiser l'épaisseur de cette couronne représentée en rouge. De même, nous pouvons nous rendre compte de l'importance des parties quiescente (en jaune) et nécrosée (en noir) dans la composition totale de la tumeur.

Si l'on considère un rayon moyen R_t égal à 18.5 mm au moment du diagnostic, l'épaisseur de la couronne proliférative δ_p est de l'ordre de 3.4 mm. La partie proliférative ne représente ainsi qu'une faible portion de la tumeur totale : seul un nombre restreint de cellules participe à la croissance de la tumeur (figure 2.7).

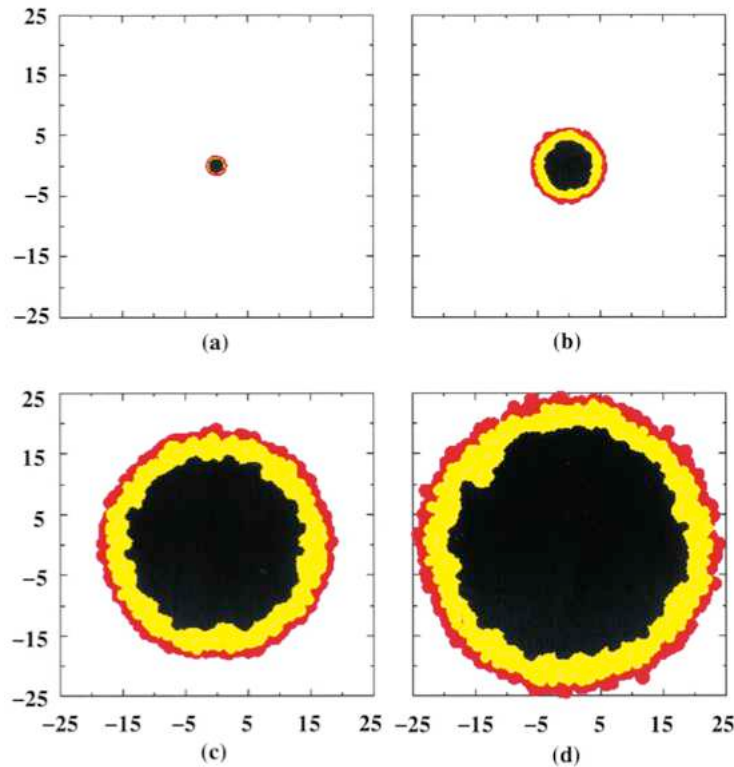


FIG. 2.7 — Croissance de la section centrale de la tumeur en fonction du temps : (a) premiers stades de développement tumoral, (b) la tumeur devient détectable, (c) elle est dignostiquée et (d) mort du patient [62]. La partie noire représente les cellules nécrosées, les cellules quiescentes sont en jaune et la région rouge dénote la présence de cellules prolifératives.

Une autre méthode pour prendre en compte les nutriments et leur impact sur les cellules est d'introduire une équation différentielle décrivant l'évolution de la concentration en nutriments, notamment la concentration en glucose [86]. Pour cela, il faut introduire une "source" de nutriments à partir de laquelle ils vont diffuser dans la tumeur. Pour les auteurs de [86], les nutriments diffusent depuis les vaisseaux sanguins. Dans ce modèle, une équation de diffusion décrit l'évolution de la concentration en nutriments en fonction du taux de consommation des cellules et du coefficient de diffusion de ces nutriments (et en particulier du glucose). Il est alors possible de prendre en compte la consommation de glucose de la cellule située en r [86] (équation (2.17)) :

$$D_G \nabla^2 G(r) - k_G(r)G(r) = 0, \quad (2.17)$$

où G est la concentration de glucose, D_G est le coefficient de diffusion du glucose et k_G le taux de consommation du glucose de la cellule présente en r , avec r la distance entre la cellule et le vaisseau sanguin le plus proche.

Patel et al. [86] supposent que les cellules tumorales sont plus demandeuses en nutriments (10 fois plus) que les cellule saines. Les règles de l'automate permettent alors à chaque cellule ou groupe de cellules de mourir, de devenir quiescente ou de se diviser s'il existe un site libre au voisinage de la (ou des) cellule(s) considérée(s), chaque état dépendant d'autres paramètres comme, entre autres, la concentration en oxygène⁵.

2.2.3.2 L'oxygène

La manière de considérer la concentration en oxygène dans le modèle est équivalente à celle qui prend en compte la concentration en nutriments. Soit une distance maximale sur laquelle l'oxygène peut diffuser est déterminée à la manière du δ_p défini précédemment, soit une équation de diffusion permet de décrire l'évolution de la distribution de l'oxygène. Dans les deux cas, l'oxygène diffuse à partir de vaisseaux sanguins inclus dans le modèle.

La distance maximale de diffusion est de l'ordre de quelques cellules : 3 cellules pour Düchting et Vogelsaenger [37] ou 5–6 cellules pour Gevertz et Torquato [46]. Ainsi, toutes les cellules situées à une distance inférieure à la limite de diffusion peuvent avoir une activité normale et sont représentées en grisé sur la figure 2.8. Si la distance entre la cellule et le vaisseau sanguin est supérieure, la cellule est considérée comme hypoxique (cellules blanches sur la figure 2.8) et entre soit en apoptose (si ce sont des cellules saines) ou devient quiescente (si c'est une cellule tumorale).

Un autre modèle présenté par Alarcón et al. [3] considère une équation de diffusion (équation (2.18)) rendant compte de la consommation en oxygène des cellules :

$$D_P \nabla^2 P(r) - k_P(r)P(r) = 0, \quad (2.18)$$

où P est la concentration d'oxygène, D_P le coefficient de diffusion de l'oxygène qui diffuse à partir des vaisseaux sanguins et k_P le taux de consommation en oxygène de la cellule située

⁵Ce modèle utilise d'autres paramètres que la présence de nutriments au voisinage de la tumeur. Il n'est donc pas possible de présenter des résultats considérant l'unique effet des nutriments sur la croissance de la tumeur.

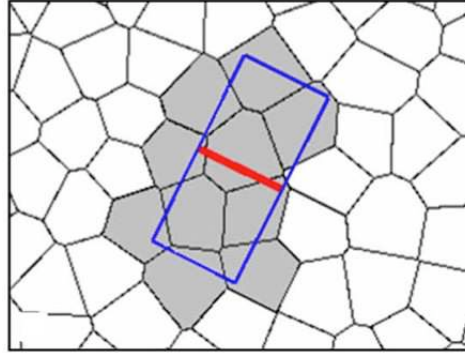


FIG. 2.8 – Distance de diffusion de l’oxygène. La ligne rouge dénote la présence d’un vaisseau sanguin. Le rectangle bleu marque la distance de diffusion de l’oxygène à partir de ce vaisseau. Si les cellules entrent dans ce périmètre, elles sont suffisamment oxygénées et sont alors représentées en gris. Il faut noter que chaque “cellule” représente ici 7 cellules gliales et a donc un diamètre de 2–3 cellules.

en r , avec r la distance qui sépare la cellule du vaisseau sanguin le plus proche.

De même que précédemment, lorsque les cellules tumorales sont hypoxiques, elles deviennent dormantes alors que les cellules saines hypoxiques meurent. Alarcón et al. [3] font évoluer les cellules tumorales et saines dans des environnements ayant, dans les vaisseaux, des distributions d’oxygène uniforme ou non-uniforme. Ils montrent que le nombre de cellules tumorales (prolifératives et quiescentes) peut être 4 à 5 fois inférieur en milieu hétérogène par rapport à un milieu homogène. Ainsi, la croissance de la tumeur est très influencée par la distribution en oxygène et est limitée par la non-uniformité en oxygène qui crée des zones pauvrement oxygénées.

2.2.3.3 Les ions H^+

Un signal acide influençant l’invasion des cellules tumorales peut également être pris en compte. Il s’agit de la production d’ions H^+ par les cellules tumorales [45, 86], mentionné dans la partie 1.2.3.3. Cette surproduction acide entraîne la mort des cellules saines, situées à l’interface tumeur-tissu sain [16, 45]. Les cellules saines situées dans l’environnement immédiat de la tumeur ne sont pas capables de survivre dans cet environnement acide et la mort des cellules saines à l’interface tumeur-tissu sain facilite l’invasion tumorale.

La concentration en ions H^+ est décrite par l’équation différentielle (2.19) faisant intervenir la diffusion des ions et leur production [86] :

$$D_H \nabla^2 H(r) + h(r) = 0, \quad (2.19)$$

où D_H est le coefficient de diffusion des ions H^+ et $h(r)$ est un taux de production acide, uniquement non nul pour des positions r correspondant à la présence de cellules tumorales, avec les conditions suivantes :

$$h(r) = \begin{cases} dH_T^A/dt \quad \forall r = \text{cellules tumorales actives} \\ dH_T^Q/dt \quad \forall r = \text{cellules tumorales quiescentes} \end{cases}.$$

Ce taux de production acide est pris 100 à 1000 fois plus élevé pour les cellules actives (proliférantes) que pour les cellules quiescentes. L'acidité du milieu environnant la cellule considérée conditionne son état. Trois valeurs seuil du pH (valeurs pour lesquelles les cellules normales entrent en apoptose et les cellules tumorales deviennent quiescentes ou nécrosées) sont déterminées.

Il est intéressant de constater que la tumeur croît peu ou pas pour de faibles valeurs du taux de production acide des cellules tumorales actives (dH_T^A/dt). Il en est de même lorsque ce taux est trop important. Cependant, entre ces deux valeurs extrêmes, il existe une transition nette pour une valeur optimale de dH_T^A/dt avant laquelle le taux de croissance de la tumeur se met à croître rapidement pour atteindre une valeur maximale et après laquelle la croissance de la tumeur diminue. La position de cette transition a été déterminée par Patel et al. [86] et se situe entre 2.2×10^{-5} et 3.9×10^{-5} mM/s suivant les paramètres du modèle.

2.2.3.4 L'angiogénèse

L'angiogénèse étant un phénomène très complexe, il est difficile de l'inclure dans un modèle de croissance tumorale. En général, ce phénomène est étudié indépendamment [18, 19, 72]. Cependant, Gevertz et Torquato [46] ont réussi à tenir compte de l'angiogénèse dans un modèle microscopique tumoral. La formation et la croissance de nouveaux vaisseaux sanguins sont modélisées par des équations de réaction-diffusion discrétisées décrivant l'évolution des protéines et de leurs récepteurs impliqués dans ce processus complexe.

Cet automate tient compte de l'état des cellules tumorales (qui sont prolifératives, hypoxiques ou nécrosées) et des cellules saines (qui sont "vivantes" mais qui entrent en apoptose lors de la régression du réseau sanguin), de la présence d'un réseau vasculaire initial qui va régresser lorsque la tumeur va croître et de la mise en place complexe de l'angiogénèse, dont le processus a été résumé dans la partie 1.2.1.1. Dans le modèle de Gevertz et Torquato [46], l'angiogénèse se déroule selon trois grandes étapes :

- les cellules tumorales, en devenant hypoxiques, sécrètent du VEGF⁶ qui diffuse dans le tissu,
- un gradient chimiotactique de VEGF s'établit et guide les cellules endothéliales vers les parties hypoxiques lorsque le VEGF se lie aux récepteurs VEGFR2 de ces cellules afin de former un réseau immature de vaisseaux sanguins,
- un système complexe de production de ligands (les angiopoïétines Ang1 et Ang2) ainsi que des systèmes de liaisons ligand-récepteur (Ang1-Tie2 et Ang2-Tie2) se mettent alors en place pour permettre la maturation et la stabilisation d'un réseau de vaisseaux.

Chaque étape est décrite par un système d'équations de réaction-diffusion régissant l'évolution de la concentration de VEGF, des angiopoïétines Ang1 et Ang2 et de leur liaison avec les récepteurs correspondants [46]. La figure 2.9 donne une idée de l'évolution de la croissance tumorale d'après ce modèle. Des vaisseaux sanguins (en rouge sur la figure) sont d'abord placés plus ou moins aléatoirement (en évitant de créer des zones sous oxygénées qui entraîneraient la mort des cellules saines). Lorsque la tumeur commence à croître, elle entraîne une régression

⁶ *Vascular Endothelial Growth Factor.*

des vaisseaux sanguins qui crée alors des zones sous oxygénées où les cellules saines ne peuvent survivre (parties vertes des figures 2.9 a et b). L'angiogénèse se met en place lorsque les parties hypoxiques deviennent plus importantes (figure 2.9 b) et les nouveaux vaisseaux (en violet sur les figures 2.9 b, c et d) ainsi formés pénètrent dans la tumeur. Les vaisseaux "angiogéniques" ont une organisation bien différente des vaisseaux sanguins : ils ont une apparence "chaotique, fractale". Cette apparence "chaotique" est visible sur les figures 2.9 b, c et d.

Gevertz et Torquato [46] ont également montré qu'en cas de VEGF non fonctionnel, l'angiogénèse ne pouvait se mettre en place. La régression des vaisseaux sanguins ne s'accompagnant pas de la réponse compensatoire de l'angiogénèse (à savoir la croissance de vaisseaux "angiogéniques"), les nutriments et l'oxygène nécessaires pour maintenir les cellules en vie ne peuvent atteindre les cellules tumorales. Il en résulte alors une croissance limitée de la tumeur ne pouvant excéder 1 à 2 mm de diamètre.

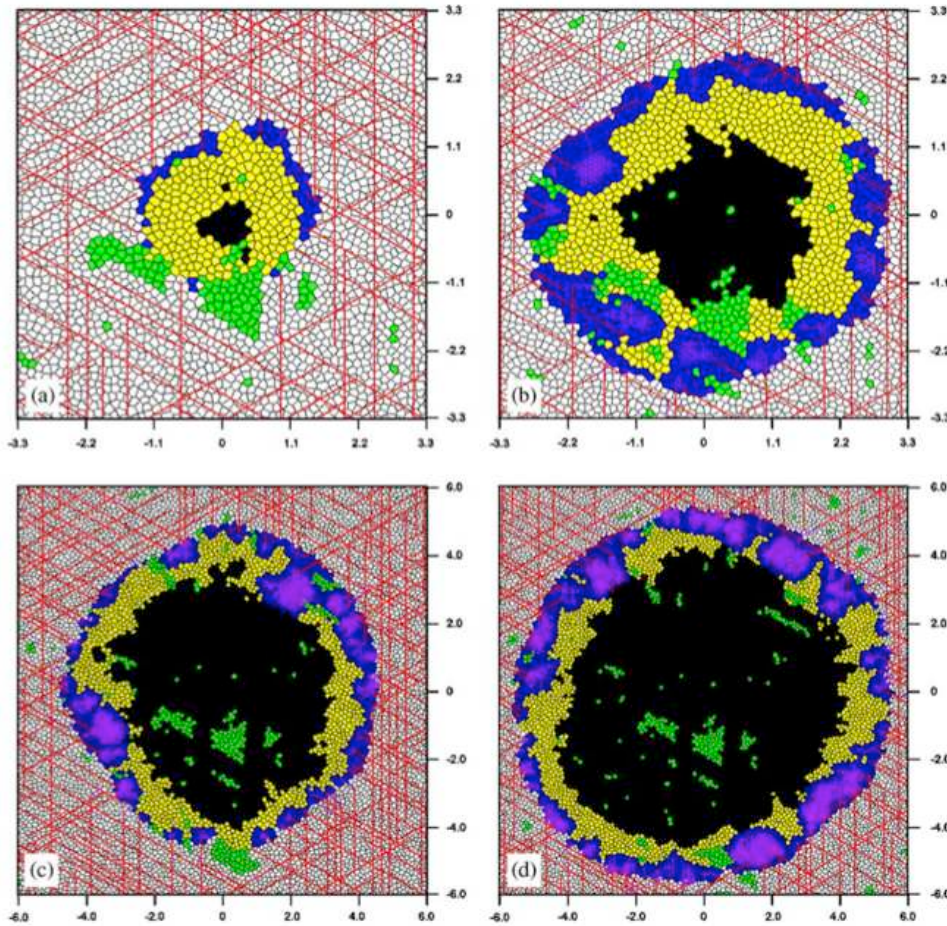


FIG. 2.9 — Croissance de la section centrale d'une tumeur en présence d'angiogénèse [46]. Après 40 jours, le rayon de la tumeur est de 1.58 mm (a), après 70 jours de 3.09 mm (b), après 100 jours de 4.53 mm (c) et après 130 jours de 5.84 mm (d). Les sites blancs sont des cellules saines vivantes. Les cellules en noir représentent les cellules tumorales nécrosées, celles en vert, les cellules saines entrées en apoptose. La partie jaune dénote la présence de cellules tumorales quiescentes et, en bleu, de cellules tumorales prolifératives. Les lignes rouges correspondent aux vaisseaux sanguins cérébraux bien organisés et celles en violet les vaisseaux issus de l'angiogénèse. Les échelles sont en millimètres.

2.2.4 Les avantages et inconvénients du modèle microscopique

Les automates cellulaires permettent de modéliser une évolution plus microscopique de la tumeur où les cellules sont représentées une à une ou par petits groupes de quelques cellules. Il est alors possible de “visualiser” des microrégions de la tumeur en tenant compte de l’évolution du microenvironnement correspondant. Le but de l’utilisation d’un tel modèle microscopique est de valider les hypothèses mises en place afin comprendre les mécanismes mis en jeu lors du développement des tumeurs cérébrales.

L’automate cellulaire ne permet donc généralement pas d’estimer l’étendue réelle de la tumeur ou d’orienter les médecins pour le choix de la stratégie thérapeutique à apporter au patient. Mais il essaye de répondre à des questions fondamentales dont l’enjeu pourra apporter des solutions thérapeutiques à long terme. À la suite de ces modèles, il apparaît important de considérer la production acide des cellules tumorales et leur impact sur les cellules saines ou encore l’angiogénèse et d’essayer de voir s’il est biologiquement possible de bloquer ces deux phénomènes afin de limiter la progression tumorale.

2.3 Conclusion

Dans cette partie “modélisation”, j’ai voulu montrer deux types de modèles présentant des avantages et des inconvénients différents. Les modèles macroscopiques peuvent permettre d’apporter une réponse “directe” à un patient atteint d’un gliome à savoir son espérance de vie, comment orienter son traitement ou encore aider à définir la meilleure stratégie thérapeutique. Les modèles microscopiques espèrent apporter des réponses à des questions plus fondamentales comme la compréhension des mécanismes impliqués dans la croissance tumorale avec comme objectif ultime, de prévoir le développement de nouvelles techniques thérapeutiques.

Je tiens cependant à préciser qu’à l’heure actuelle, il n’existe pas, à ma connaissance, dans la littérature, de modèle prenant en compte la migration active des cellules tumorales envahissant le tissu sain. Or, il semble, par exemple, que les cellules gliomateuses interagissent avec leur environnement pour migrer [48, 85]. C’est cette approche que nous avons choisie pour notre modèle, dans lequel nous nous intéressons au rôle de certaines interactions dans l’invasion des cellules saines.

Chapitre 3

Notre modèle microscopique

Nous avons vu dans le premier chapitre que la croissance de tumeurs peut être simulée grâce à deux types de modèles différents : le modèle macroscopique ou le modèle microscopique. Le choix de l'un ou de l'autre dépend des effets que nous souhaitons incorporer dans notre étude théorique.

En ce qui nous concerne, nous avons souhaité comprendre si :

- la migration des cellules tumorales pouvait se réduire ou non à une diffusion pure, comme cela est résumé dans la modélisation macroscopique,
- les interactions entre cellules tumorales et entre cellules tumorales et environnement sain peuvent modifier le comportement macroscopique de la tumeur.

Pour répondre à ces questions, il est préférable de traiter ce problème en utilisant un modèle microscopique où chaque cellule peut être représentée individuellement. Nous nous concentrons sur la modélisation de la migration des cellules tumorales. Dans notre modèle, les cellules ne prolifèrent pas. Nous souhaitons, grâce à notre modèle, tester des hypothèses d'interactions de contact entre cellules ou d'interactions à plus longue portée qui interviendraient lors de ce processus afin de les valider ou de les infirmer.

Dans ce chapitre seront développés les différents pavages bi-dimensionnels (réguliers ou non) que nous utilisons pour faire évoluer les cellules tumorales, ainsi que leurs caractéristiques. Je présenterai ensuite le modèle utilisé en détaillant les données accessibles des simulations et les règles de migration précises. Ces règles de migration dépendent des effets que nous incorporons dans notre modèle : diffusion pure, inertie, interactions de contact et interactions à plus longue portée.

3.1 La description du modèle simple

Le modèle microscopique réalisé consiste à faire migrer des cellules sur un réseau qui pave l'espace, suivant des règles de migration. Sur ce réseau, les cellules sont représentées par des polygones et caractérisées par la position de leur centre sur le maillage.

3.1.1 Le pavage

Comme je l'ai évoqué dans la partie 1.2.1, le maillage peut être plus ou moins régulier. Le choix du maillage s'est fait selon deux critères :

- éviter les anisotropies dues à certains maillages réguliers,
- avoir des tailles de cellules (dont la forme est assimilable à des polygones) réalistes et qui ne varient pas trop.

3.1.1.1 Les pavages réguliers

Il existe différents types de pavages réguliers que l'on pourrait utiliser, les plus simples étant le pavage carré et le pavage hexagonal (correspondant au maillage triangulaire) (voir figure 3.1).

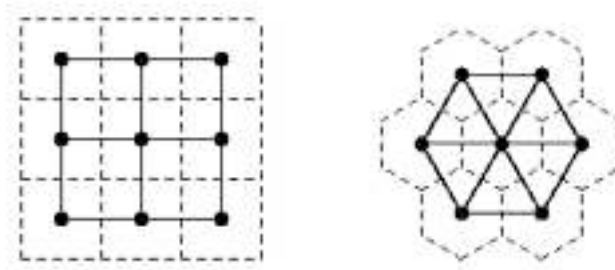


FIG. 3.1 – Pavages carré et hexagonal.

Pour le maillage triangulaire, les sommets des triangles forment un réseau, c'est-à-dire qu'ils coïncident avec les points à coordonnées entières, selon deux axes qui forment un angle de 120° ; de même pour le pavage carré où les axes sont orthogonaux. Dans le pavage carré, chaque carré a huit voisins se répartissant en deux types : quatre voisins le touchant par un côté (premiers voisins) et quatre par un sommet (seconds voisins qui ne sont qu'en contact ponctuel avec le carré). Par contre, pour le maillage triangulaire, les voisins de chaque hexagone sont au nombre de six et ont tous le même type.

De ces observations, nous pouvons déduire, pour le pavage carré, que les 4 voisins en contact ponctuel avec le carré étudié n'ont pas de réalité physique. Nous ne pouvons pas dire que des cellules sont en contact ponctuel avec d'autres cellules. En effet, nous avons vu dans la partie 1.2 que les interactions de contact entre cellules ne sont pas ponctuelles mais sont formées de plaques de plusieurs "liaisons". Dans le cas d'un pavage carré, il faudrait donc considérer 4 voisines par cellule. Cela limiterait le déplacement des cellules à 4 directions possibles correspondant à 4 directions privilégiées de l'espace et introduiraient des anisotropies artificielles dans notre modèle.

Concernant maintenant le pavage hexagonal, chaque hexagone possède 6 sites voisins sur lesquels la cellule pourra se déplacer. Ce maillage est donc plus isotrope que le maillage carré.

Cependant, si nous souhaitons éviter, dans nos simulations, une migration selon des axes privilégiés, il est préférable d'utiliser des maillages plus aléatoires.

3.1.1.2 Quelques pré-requis : la triangulation de Delaunay et le diagramme de Voronoï

La triangulation de Delaunay et le diagramme de Voronoï sont des techniques de constructions de pavages. Ces constructions se font à partir d'un ensemble de points de l'espace. Pour expliquer ces deux constructions, je partirai du cas où chaque point du maillage est disposé aléatoirement sur un espace à deux dimensions. Comme son nom l'indique, la triangulation de Delaunay permet de paver le plan en triangles. Le diagramme de Voronoï sépare le plan en polygones.

La triangulation de Delaunay

La triangulation de Delaunay est l'unique triangulation d'un ensemble de n points telle qu'un disque passant par les trois sommets d'un triangle ne contienne aucun autre point. La figure 3.2 montre un exemple de triangulation de Delaunay effectuée à partir d'un ensemble de points disposés aléatoirement en utilisant la fonction “delaunay” du logiciel MATLAB[®].

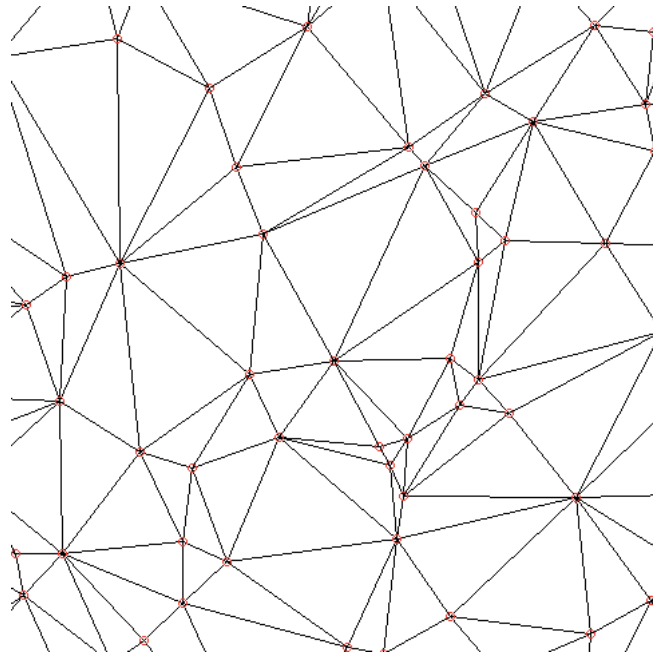


FIG. 3.2 – Triangulation de Delaunay d'un ensemble de points disposés aléatoirement. Les cercles rouges marquent les sommets des triangles. Ils correspondent également aux centres des polygones du diagramme de Voronoï (voir la figure 3.3).

Le diagramme de Voronoï

Le diagramme de Voronoï (ou décomposition de Voronoï) permet de diviser l'espace en sites¹ de forme polygonale. Ces sites sont créés à partir d'un ensemble de points de l'espace : le site est défini par son centre et est délimité par ses côtés (voir la figure 3.3). Ces côtés marquent la frontière entre les points les plus proches.

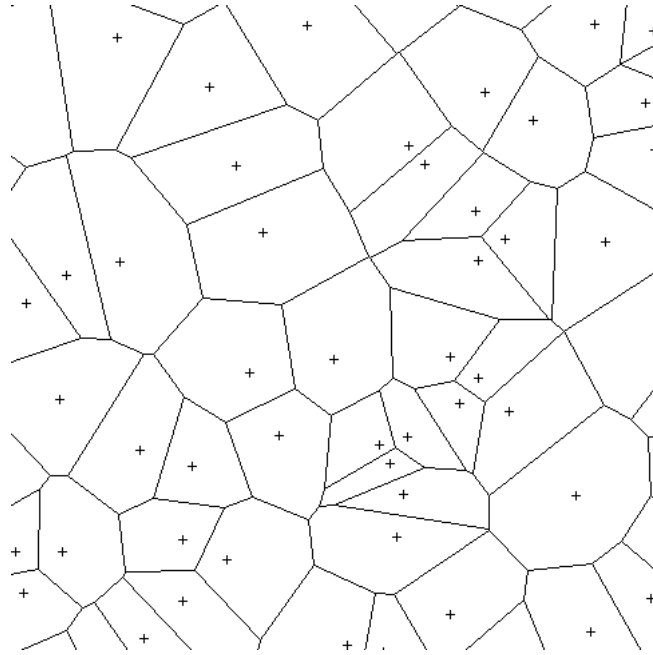


FIG. 3.3 – Diagramme de Voronoï créé à partir du même ensemble de points que la triangulation de Delaunay de la figure 3.2. Les croix représentent les centres des polygones de Voronoï et correspondent aux sommets des triangles issus de la triangulation de Delaunay.

Je limiterai mon explication, illustrée par la figure 3.4, aux diagrammes de Voronoï à deux dimensions. Dans ce cas, si par exemple, nous cherchons à délimiter deux sites de centres A et B, la frontière sera représentée par l'ensemble des points équidistants de A et B. Cette frontière se situe donc sur la médiatrice qui sépare les deux centres. Pour un ensemble de centres, le diagramme de Voronoï se construit en déterminant les médiatrices de chaque couple de centres. Un point d'une médiatrice appartient alors à une frontière de Voronoï s'il est équidistant d'au moins deux centres et qu'il n'existe pas de distance plus faible entre ce point et un autre centre de l'ensemble.

Le diagramme de Voronoï est le dual de la triangulation de Delaunay que nous pouvons ainsi définir à partir du diagramme de Voronoï : deux points C et D créent une arête dans le graphe de Delaunay si et seulement si les sites de Voronoï associés aux centres C et D sont adjacents (et réciproquement). Ces centres correspondent alors dans la triangulation de Delaunay aux sommets des triangles comme nous pouvons le voir en comparant les figures 3.2

¹Comme je l'ai fait remarquer précédemment, on parle généralement de “cellule” pour définir les polygones de Voronoï. Cependant, je préfère utiliser le terme de “site” pour éviter toute confusion.

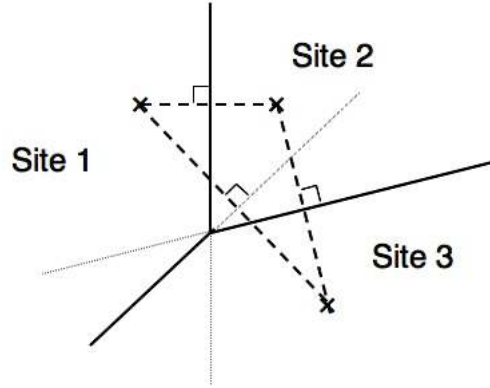


FIG. 3.4 – Construction d’un diagramme de Voronoï à 2 dimensions. Les traits pleins représentent les frontières entre les sites, construites sur les médiatrices (lignes en petits pointillés) qui séparent les centres des sites.

et 3.3 où la figure 3.3 représente le diagramme de Voronoï généré à partir du même ensemble points aléatoirement disposés que la triangulation de Delaunay de la figure 3.2.

Dans notre cas, il est important d’étudier, pour ce genre de diagrammes, le nombre de voisins des sites de Voronoï ainsi que la distance entre ces sites voisins.

Nombre moyen de voisins et relation d’Euler

En considérant un ensemble de points disposés aléatoirement sur un plan, utilisé pour construire un diagramme de Voronoï, nous pouvons remarquer que le nombre de voisins moyen par site est de 6. Cette moyenne de 6 voisins peut s’expliquer grâce à la relation d’Euler. La relation d’Euler (3.1) permet de relier le nombre d’arêtes A , de sommets S et de faces F dans un polyèdre convexe :

$$S - A + F = 2. \quad (3.1)$$

Si nous considérons notre pavage de Delaunay comme une surface polyédrique fermée composée de triangles, nous pouvons lui appliquer la caractéristique d’Euler (3.1). Chaque triangle correspond à une face et possède 3 arêtes qui appartiennent chacune à un autre triangle (en supposant qu’on ne se place pas dans le cas limite du contour de la surface polyédrique). Nous pouvons donc considérer qu’à un triangle, c’est-à-dire à une face, correspond $\frac{3}{2}$ arêtes, d’où $F = \frac{2}{3}A$. On obtient alors $S = \frac{1}{3}A + 2$. Pour le cas où nous considérons un nombre important de triangles, on peut négliger le “2” de la caractéristique d’Euler (3.1). De même que chaque arête appartient à 2 faces, elle se partage également entre deux sommets. Nous pouvons alors parler de demi-arêtes a (avec $a = \frac{1}{2}A$). Nous obtenons ainsi,

$$S \approx \frac{1}{6}a. \quad (3.2)$$

De cette dernière relation, nous pouvons donc déduire qu’un sommet est associé à 6 demi-arêtes. Chaque sommet est donc partagé entre 6 triangles, ce qui revient à dire que chaque site de Voronoï a 6 sites voisins.

Nombre de voisins par sites

Pour un diagramme de Voronoï réalisé à partir d'un ensemble de points aléatoirement disposés sur un plan, le nombre de voisins est compris à 99% entre 3 et 9 [14]. D'après [14], la probabilité $P\{N_v(\mathcal{C}) = k\}$ qu'un polygone de Voronoï $\mathcal{C}$ ait k côtés et donc k voisins, pour tout $k \geq 3$, s'écrit de la manière suivante :

$$P\{N_v(\mathcal{C}) = k\} = \frac{(2\pi)^k}{k!} E \left\{ \prod_{i=1}^k \frac{\exp(((\cos(\Delta_i)\Delta_i - \sin(\Delta_i))/2 \sin^2(\Delta_i))\sqrt{Q_i Q_{i+1}}) \mathbf{1}_{E_i}}{2f(\Delta_i, \Delta_{i-1})} \right\}, \quad (3.3)$$

où $(\Delta_1, \dots, \Delta_k)$ est un vecteur aléatoirement distribué conformément à la relation (3.4)

$$\left\{ (\Delta_1, \dots, \Delta_k) \in [0, 2\pi]; \sum_{i=1}^k \Delta_i = 2\pi \right\}, \quad (3.4)$$

$(Q_1, \dots, Q_k)$ est un vecteur dont les composantes $Q_1, \dots, Q_k$ sont indépendantes et exponentiellement distribuées avec des paramètres respectifs $f(\Delta_1, \Delta_k), f(\Delta_2, \Delta_1), \dots, f(\Delta_k, \Delta_{k-1})$, avec :

$$f(x, y) = \frac{1}{4 \sin^2(x)} \left(x - \frac{\sin(2x)}{2} \right) + \frac{1}{4 \sin^2(y)} \left(y - \frac{\sin(2y)}{2} \right), \quad x, y \in [0, 2\pi], \quad (3.5)$$

et les événements E_i pour $i \geq 1$ sont définis par

$$E_i = \left\{ (\sqrt{Q_{i-1}}, \sqrt{Q_i}, \sqrt{Q_{i+1}}, \Delta_{i-1}, \Delta_i) \in B \right\}, \quad (3.6)$$

où B est un groupe de Borel $B \subset \mathbb{R}^2$ et avec les conventions suivantes : $Q_0 = Q_k$, $Q_{k+1} = Q_1$ et $\Delta_0 = \Delta_k$.

Etant donné la complexité de la formule 3.3, les valeurs de la probabilité qu'un site de Voronoï $\mathcal{C}$ ait k voisins ($P\{N_v(\mathcal{C}) = k\}$) sont calculées numériquement à partir d'une méthode de Monte Carlo utilisant la formule (3.3) et présentées dans le tableau 3.6.

La figure 3.5 donne la distribution du nombre de voisins par site obtenue à partir d'un programme en MATLAB[®] que j'ai réalisé, afin de permettre la génération de diagrammes de Voronoï (résultat obtenu en moyennant le nombre de voisins sur environ 10 000 000 sites de Voronoï dont les centres sont disposés aléatoirement). En ajustant la courbe à l'aide d'une gaussienne, j'obtiens une moyenne de 6,0 voisins par site de Voronoï ainsi qu'une variance de 1,6 (figure 3.5).

De même, j'ai ainsi pu déterminer les probabilités $P\{N_v(\mathcal{C}) = k\}$ qu'une cellule $\mathcal{C}$ ait k voisins (pour $3 \leq k \leq 9$), données dans le tableau 3.6. Avec environ 10 000 000 sites de Voronoï générés, j'ai estimé les erreurs de l'ordre de 10^{-5} pour $3 \leq k \leq 6$ et de 10^{-4} pour $7 \leq k \leq 9$. Les valeurs que j'ai obtenues (deuxième ligne du tableau 3.6) sont ainsi significativement comparables aux valeurs numériques de [14] (première ligne de ce même tableau).

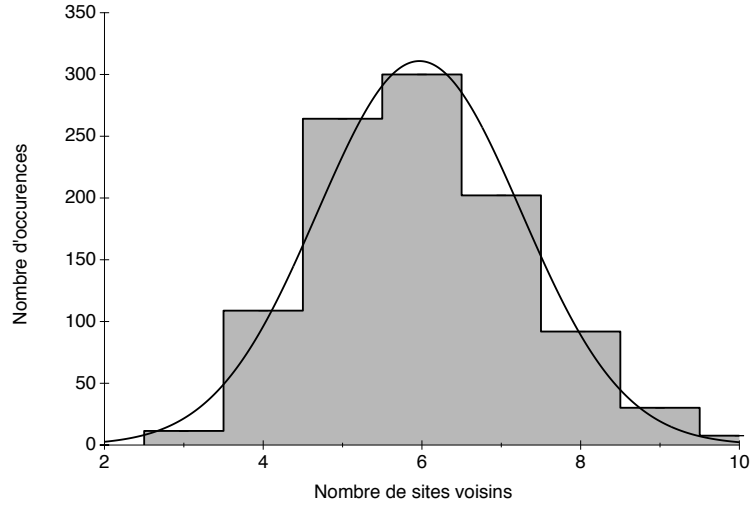


FIG. 3.5 – Distribution du nombre de voisins correspondant à des diagrammes de 1.000 polygones. Les erreurs ont été estimées en réalisant 10 000 diagrammes et sont comprises dans l'épaisseur du trait.

k	3	4	5	6	7	8	9
$P\{N_v(\mathcal{C}) = k\}$ données de [14]	0,01124	0,10684	0,25946	0,29473	0,1988	0,0897	0,0295
$P\{N_v(\mathcal{C}) = k\}$ d'après simulations	0,01122	0,10688	0,25950	0,29472	0,1986	0,0903	0,0296

FIG. 3.6 – Tableau des valeurs de la probabilité $P\{N_v(\mathcal{C}) = k\}$ qu'une cellule ait k voisins ($k \in [3, 9]$), obtenues d'après [14] (valeurs numériques) avec une erreur estimée entre 10^{-6} et 10^{-4} suivant les valeurs de k et d'après mon programme MATLAB[®] (valeurs obtenues à partir de simulations de diagrammes de Voronoï) avec une erreur de l'ordre de 10^{-5} pour $3 \leq k \leq 6$ et de 10^{-4} pour $7 \leq k \leq 9$.

Distance entre les centres de cellules voisines

La distance entre les centres de cellules voisines correspond à la taille des côtés des triangles de Delaunay. Dans notre modèle, nous choisissons de définir des sites dont la taille correspond au type de cellules tumorales étudié. Il faut donc que la distance moyenne entre deux sites voisins soit de l'ordre du diamètre d'une cellule. Bien que les astrocytes tumoraux aient une forme allongée, il est intéressant de déterminer un diamètre moyen pour la cellule, soit un diamètre compris entre 30 et 35 μm .

La figure 3.7 représente la distribution des distances entre cellules voisines en réalisant 10 000 diagrammes de 1 000 polygones où la distance entre sites est centrée autour de 30 μm . Cette courbe peut être ajustée par une gaussienne² centrée en 30.0 μm et avec un écart type de 16.9 μm .

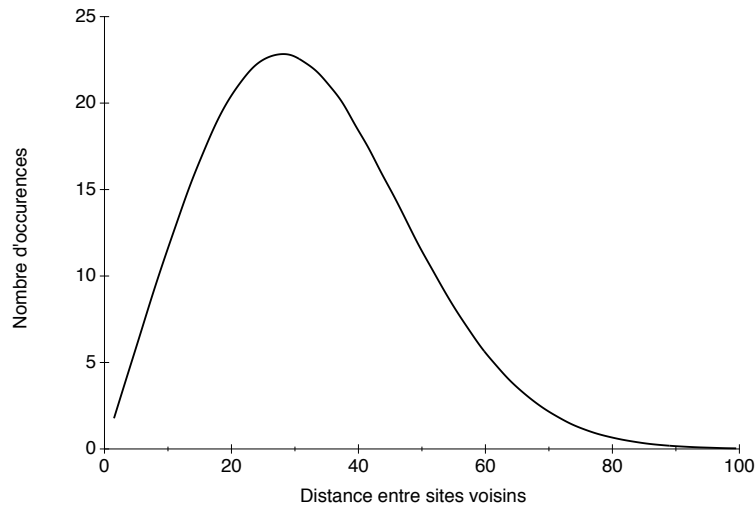


FIG. 3.7 – Distribution de la distance entre deux sites voisins correspondant à des diagrammes de 1 000 polygones. Les erreurs ont été estimées en réalisant 10 000 diagrammes et sont comprises dans l'épaisseur du trait.

3.1.1.3 Des pavages plus aléatoires

Comme je l'ai mentionné précédemment, notre souhait est d'enlever la régularité aux maillages réguliers tout en ne variant pas trop la taille des polygones. Cependant, il faut garder à l'esprit que chaque polygone va représenter une cellule et il n'est donc pas réaliste de trouver des cellules dont la taille varierait trop. Par exemple, nous avons vu dans la partie 3.1.1.1 que pour une distance moyenne de 30 μm , l'écart type sur la distance entre cellules voisines est de 15.5 μm . En faisant un calcul moyen de la surface des sites, nous pouvons trouver, dans le cas aléatoire, que la surface des cellules varierait d'un facteur 10.

²Le meilleur ajustement est en fait obtenu pour une gaussienne multipliée par x , avec x la distance entre deux sites voisins. Avec cet ajustement, nous trouvons 27.8 μm comme distance la plus probable entre sites voisins et un écart type de 22.7 μm .

Il est possible de limiter cette dispersion de taille en partant d'un maillage régulier dans lequel des fluctuations sont introduites.

À partir des pavages réguliers

Pour déformer un pavage régulier, chaque point représente, au départ, le centre d'un site (soit carré, soit hexagonal). Chaque point peut être déplacé selon les deux directions de l'espace d'une certaine valeur définie par le "paramètre de variabilité" introduit dans le modèle. Le pavage est ensuite réalisé grâce à un diagramme de Voronoï.

Nous pouvons donc à partir d'un ensemble de points régulièrement disposés sur deux axes perpendiculaires créer un pavage carré régulier à partir d'un diagramme de Voronoï. Cependant, le pavage carré est instable, même pour des très faibles déformations (de l'ordre du pourcent). En effet, comme nous pouvons le remarquer sur la figure 3.8, le nombre de voisins par site fluctue entre 4 et 8. Cette observation vient du fait que le contact, initialement ponctuel, au "sommet" de chaque carré déformé est instable : chaque carré "au sommet" a une probabilité de 50% d'être voisin avec le site étudié. Ceci explique le pic à 6 voisins par site observé sur l'histogramme 3.8.

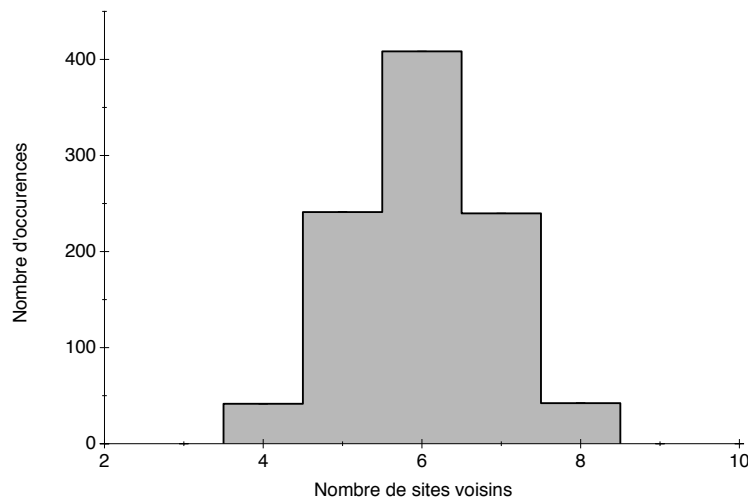


FIG. 3.8 – Distribution du nombre de voisins correspondant à des diagrammes de 1 000 carrés. Les erreurs ont été estimées en réalisant 10 000 diagrammes et sont comprises dans l'épaisseur du trait.

Étant donné que ce pavage est très instable, nous ne le retiendrons pas pour notre étude. Nous lui préférons le pavage hexagonal, qui reste stable pour des faibles déformations (voir figure 3.10).

Le cas des pavages hexagonaux déformés

La construction d'un pavage hexagonal déformé se fait en utilisant une décomposition de Voronoï. L'ensemble de points est disposé en partant d'un pavage hexagonal dont la position des centres est décalée d'une valeur dépendant du paramètre de variabilité. Ce paramètre de

variabilité v (compris entre 0 et 1) est introduit de la manière suivante dans la définition du pavage : chaque point peut être décalé selon les axes des x et des y (positivement ou négativement) d'une valeur comprise entre 0 et la valeur du paramètre de variabilité v multipliée par la taille du pas a du réseau hexagonal de base. Par exemple, si $v = 0.5$, le centre du polygone peut être déplacé dans le carré hachuré de la figure 3.9 de côté égal à a (ou, dans le cas général, à $2va$).

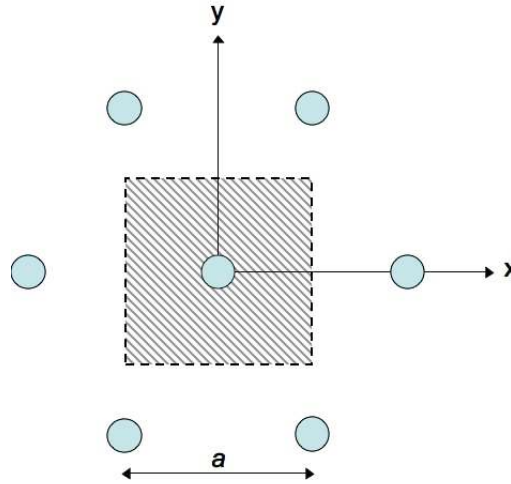


FIG. 3.9 – Création d'un pavage hexagonal déformé. Les centres du pavage hexagonal non déformé sont représentés par des cercles. Chaque centre peut être déplacé dans un carré de côté a (si $v = 0.5$) comme représenté en hachuré autour du centre placé en $(x, y) = (0, 0)$.

La figure 3.10 donne un exemple de pavage et les distributions associées du nombre de voisins et de la distance entre les sites voisins pour trois valeurs du paramètre de variabilité $v = 0.1, 0.3$ et 0.5 . Ces distributions correspondent à 10 000 diagrammes de Voronoï de 1 000 sites.

Dans le cas d'une déformation engendrée par un paramètre de variabilité v égal à 0.1, nous pouvons remarquer que le pavage reste très proche d'un pavage hexagonal. Le nombre de voisins ne varie pas et est toujours égal à 6. La dispersion de la distance entre les centres des sites est très faible : l'écart type est égal à $2.6 \mu\text{m}$ pour une moyenne à $30.1 \mu\text{m}$. Ceci entraîne un facteur 1.4 entre les surfaces les plus grandes et les surfaces les plus petites.

Lorsque nous augmentons v , nous voyons apparaître une déformation qui va modifier la distribution du nombre de voisins à partir de $v = 0.3$ où nous pouvons recenser des polygones à 5 et 7 voisins. La gaussienne qui ajuste la courbe de distribution de la distance entre deux sites voisins donne une moyenne à $31.0 \mu\text{m}$ et un écart type de $7.6 \mu\text{m}$. Cette plus grande dispersion fait intervenir des cellules dont la taille veut varier d'un facteur 2.7.

Dans le cas où v égale 0.5, le pavage se rapproche du pavage aléatoire. Les hexagones se déforment asymétriquement. Nous pouvons remarquer un taux plus élevé de pentagones que d'heptagones, comme cela peut être observé sur la distribution du nombre de voisins dans le cas aléatoire. De plus, les polygones à plus de 8 côtés commencent à être visibles. La distribution de la distance entre les centres des sites est également asymétrique. Un ajustement

Notre modèle microscopique

par une gaussienne nous donne une moyenne à $32.3 \mu\text{m}$ et un écart type de $11.5 \mu\text{m}$. Ainsi, lorsque $v = 0.5$, la surface des cellules peut varier d'un facteur 4.4. Cette valeur reste tout de même plus raisonnable que le facteur 10 qui est observé dans le cas aléatoire.

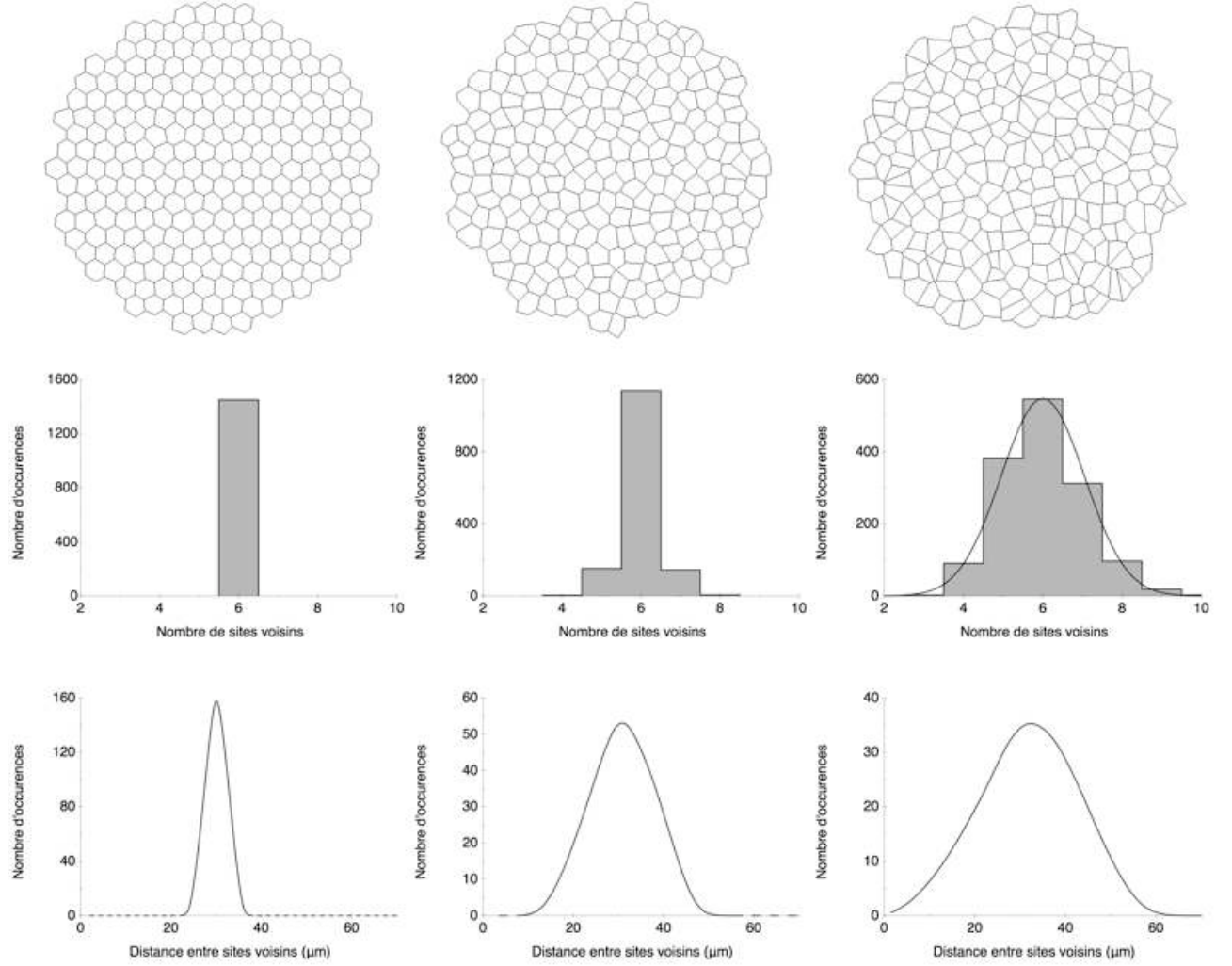


FIG. 3.10 – Pavages hexagonaux déformés et distributions du nombre de sites voisins et de la distance entre deux sites voisins correspondant à des pavages de 1 000 polygones pour différentes valeurs du paramètre de variabilité (de gauche à droite, $v = 0.1, 0.3$ et 0.5).

3.1.2 Les données des simulations

Les données que nous choisissons d'étudier sont : la concentration cellulaire en fonction de la distance au centre du sphéroïde, la surface occupée par les cellules tumorales (nous utiliserons par la suite l'expression de "surface de migration") et les vitesses de migration.

3.1.2.1 La concentration cellulaire

La concentration cellulaire est déterminée en fonction de la distance au centre du sphéroïde. Pour obtenir de telles données, nous calculons le nombre de cellules présentes (c'est-à-dire le nombre de sites occupés directement accessible grâce à l'automate) dans des couronnes d'épaisseur constante à partir de la périphérie du centre (correspondant à la surface du sphéroïde écrasé sur le substrat). Une concentration sans dimension (appelée "taux d'occupation") $\rho(r)$ est calculée en faisant le rapport entre le nombre de sites occupés et le nombre total de sites accessibles dans chaque couronne (distance de r du centre du sphéroïde).

Dans le cas hexagonal, pour relier d à la concentration cellulaire, il faut la diviser par la surface d'un hexagone élémentaire s . Cette surface dépend du pas du pavage :

$$s = \frac{\sqrt{3}}{2}a^2, \quad (3.7)$$

avec a le pas du pavage, dont la valeur est assimilée à un diamètre de cellule. La concentration cellulaire $c(r)$ est donnée par la relation suivante :

$$c(r) = \frac{\rho(r)}{s}. \quad (3.8)$$

Ainsi, nous pouvons voir que la concentration cellulaire dépend du pas du maillage, qui, je le rappelle, est équivalent à un diamètre cellulaire. La figure 3.11 donne les courbes de concentration pour trois valeurs du paramètre a . Nous pouvons remarquer une grande variabilité de la concentration pour de faibles différences de a .

Une méthode pour fixer la valeur du pas est donnée par la définition du centre et est liée à l'utilisation de l'automate cellulaire. En effet, le rayon du centre r doit être un multiple du paramètre a ($r = na$ où n est le nombre d'hexagones et donc de cellules contenu dans un rayon de sphéroïde).

À partir de ces deux quantités (concentration de cellules et taille du sphéroïde), il est possible de calibrer l'espace de l'automate et, en particulier, donner une valeur au pas a .

3.1.2.2 La surface de migration

La surface de migration peut être utilisée dans des cas où la concentration de cellules est difficile à déterminer, notamment lorsque les cellules migrent sur une monocouche d'astrocytes. La surface de migration donne certes moins d'informations que les courbes de concentration mais permet néanmoins d'obtenir des résultats exploitables [85]. Elle correspond à la surface totale occupée par les cellules tumorales, c'est-à-dire à la surface délimitée par un contour dans

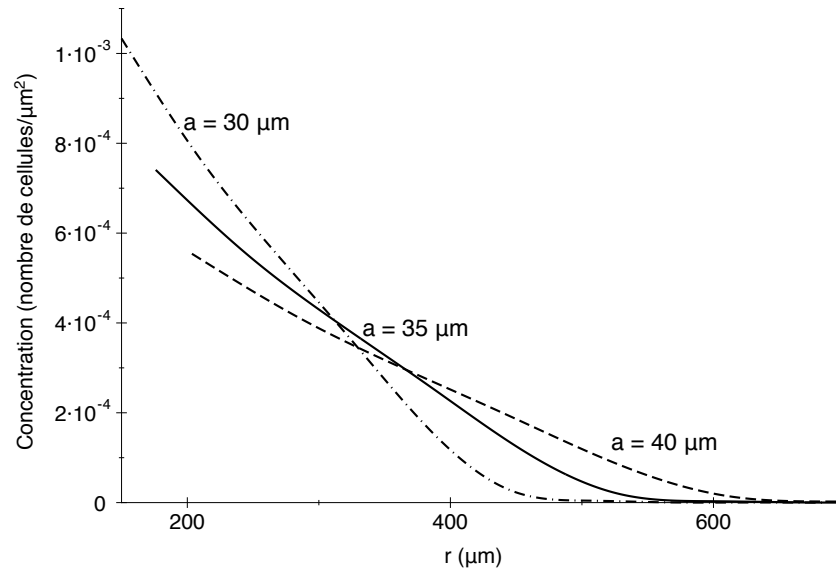


FIG. 3.11 – Profils de concentration obtenus d'après simulations pour différentes tailles des sites du pavage, ici des hexagones [6].

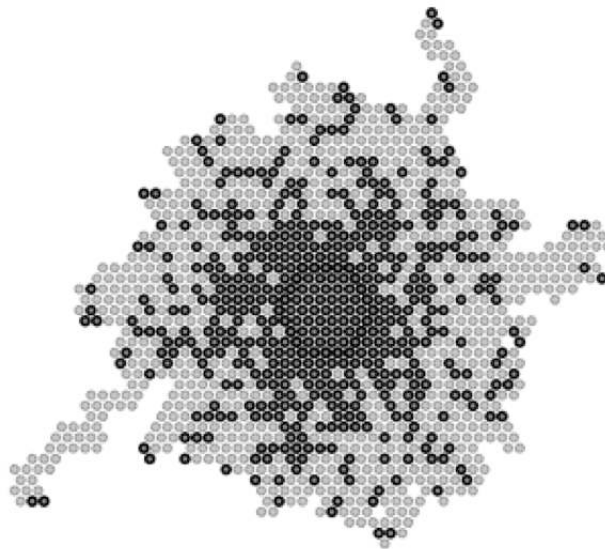


FIG. 3.12 – Exemple de migration de cellules tumorales (cercles en noir foncé) issues d'un sphéroïde. La surface de migration correspondante est représentée en additionnant les cercles en gris clair aux cercles gris foncés [7].

lequel toutes les cellules sont contenues. Elle dépend donc du temps : plus les cellules migrent, plus la surface de migration augmente. Un exemple typique est donné sur la figure 3.12.

Étant donné qu’il est difficile d’écrire un programme pour délimiter la surface occupée par les cellules tumorales, j’ai utilisé une astuce qui consiste à déterminer la surface balayée par les cellules migrantes. Il s’agit, pour cela, de superposer deux pavages identiques, un pour la dynamique des cellules et un pour calculer la surface de migration. Lorsqu’une cellule passe sur un site, le site équivalant sur le pavage de la surface de migration passe en position “occupée” et le restera même quand la cellule se sera déplacée. Ainsi, tous les sites qui auront “vu” passer une cellule seront marqués. Dans le cas du pavage hexagonal, la surface de migration correspond alors au nombre de sites occupés dans le pavage “de surface” multipliée par la surface élémentaire d’un hexagone.

Cette technique ne sera pas appliquée au pavage hexagonal déformé. Nous aurions pu calculer la surface de chaque site. Cependant, les résultats étant comparables entre les deux pavages (régulier et déformé), nous avons préféré faire évoluer les cellules tumorales sur un pavage hexagonal non déformé lorsque nous voulions utiliser la surface de migration.

De plus, il est possible que la valeur de la surface ainsi déterminée soit surestimée. En déterminant cette surface “à la main”, nous trouvons une légère différence qui peut se rattraper en appliquant un facteur correctif aux données simulées. Cependant, étant donné que nous nous intéressons au rapport de surface entre deux situations expérimentales différentes, un tel facteur ne joue aucun rôle.

3.1.2.3 Les vitesses de migration

Les vitesses de migration résultent d’un calcul délicat. En effet, elles peuvent très vite s’avérer fausses si le calibrage du temps est erroné. C’est pour cette raison que nous préférons parler de rapport de vitesses plutôt que de valeurs absolues.

Nous calculons trois types de vitesses : des vitesses déterminées sur des intervalles de temps courts (correspondant typiquement à des intervalles de temps de l’ordre de la dizaine de minutes), d’autres sur des intervalles de temps longs (plusieurs heures) et les dernières sur des intervalles de temps très longs (plusieurs dizaines d’heures). Ces intervalles de temps sont ajustés pour correspondre aux données expérimentales.

Lorsque ces vitesses de migration sont calculées pour chaque cellule étudiée, nous estimons la moyenne des vitesses déterminées sur différents intervalles de temps. Ces moyennes sont obtenues en ajustant les distributions des différentes vitesses par une gaussienne ($ae^{-(v-v_0)^2/2\sigma^2}$). Nous faisons ensuite le rapport entre la moyenne des vitesses sur temps courts et la moyenne des vitesses sur temps longs. Ce rapport permet également de donner une indication sur la trajectoire suivie par les cellules : s’il vaut 1, la trajectoire est essentiellement unidirectionnelle alors que s’il est grand devant 1, la trajectoire de la cellules est très chahutée.

Les vitesses sur intervalles très longs ne sont pas calculées sur toutes les cellules. Seules les cellules éjectées pendant les 100 à 200 premières itérations de la simulation (suivant l’étude réalisée) sont prises en compte. En effet, il est plus probable que ces cellules migrent pendant toute la durée de l’évolution plutôt que de rester bloquées près du sphéroïde. Nous pourrions ainsi estimer une vitesse de migration sur plusieurs jours (typiquement 2).

3.1.3 Les règles de migration

Sur le réseau choisi (soit hexagonal régulier, soit hexagonal déformé), un centre de diamètre de l'ordre de quelques cellules fournit, sans s'épuiser³, des cellules tumorales. C'est à partir de ce centre que les cellules vont pouvoir migrer par pas, sachant qu'un pas représente la distance entre deux polygones du pavage, notée a dans le cas hexagonal dans la partie 3.1.1, dont la taille correspond au diamètre d'une cellule tumorale ($30 - 35 \mu\text{m}$).

3.1.3.1 Dans le cas de la diffusion pure

Dans le cas de la diffusion pure, chaque cellule peut migrer sur le site de "son choix". Cependant, un site ne peut être occupé que par une cellule. Les règles de migration que nous définissons sont les suivantes :

- à chaque pas de temps, ou "itération" de la simulation, chaque cellule éjectée du centre a possibilité de migrer l'une après l'autre selon un ordre défini par une permutation aléatoire (**règle 1**) ;
- afin de ne pas avoir un centre qui se viderait de ses cellules, lorsqu'une cellule de la périphérie du centre migre, elle laisse un trou qui est immédiatement comblé par une cellule "éjectée du sphéroïde" (**règle 2**) ;
- pour chaque cellule qui a possibilité de migrer, un site parmi les sites voisins est choisi aléatoirement. Ainsi chaque site voisin a la même probabilité d'être choisi qu'il soit libre ou occupé (dans le cas hexagonal régulier, cette probabilité vaut $\frac{1}{6}$). Si le site choisi est libre, la cellule peut migrer (voir la figure 3.13) sinon elle ne bouge pas (**règle 3**).

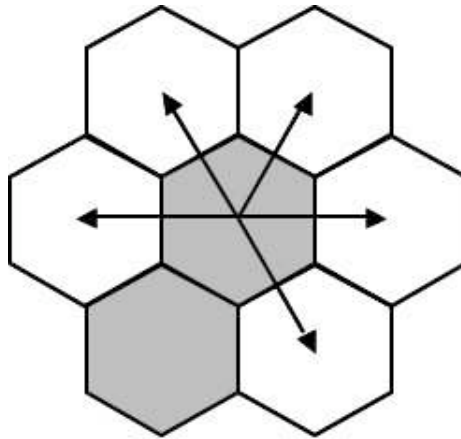


FIG. 3.13 – Migration aléatoire de cellules (en gris) sur un pavage hexagonal. La cellule centrale peut se déplacer suivant les flèches sur tous les sites libres (en blanc).

Ces règles simples peuvent être modifiées par des règles de migration tenant compte des interactions dont je vais expliquer le principe dans la partie suivante. Cependant, les règles

³Cette caractéristique ne vient pas de la prolifération dans le centre mais plutôt du fait qu'il correspond expérimentalement à un sphéroïde en trois dimensions qui se comporte comme un réservoir de cellules tumorales.

de migration 1 et 2 sont des règles fixes et ne seront, en aucun cas, modifiées.

3.1.3.2 Introduction de l'inertie

Une modification de la règle de migration n° 3 peut être introduire pour tenir compte d'un effet "d'inertie". Par "inertie", nous entendons le fait qu'une cellule ait tendance à garder la même direction de migration sur une distance équivalente à plusieurs diamètres de cellule. La conséquence de cette inertie est que la cellule ne peut pas changer brusquement de direction de migration. Nous pouvons ajouter cette condition dans notre modèle en autorisant la cellule à se déplacer uniquement "vers l'avant" : la cellule garde en mémoire son ancien déplacement et ne peut migrer que vers les trois hexagones situés en avant par rapport à cet ancien déplacement (voir la figure 3.14).

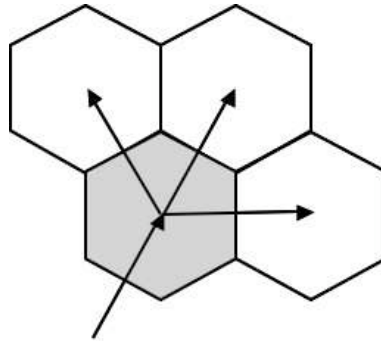


FIG. 3.14 – Migration avec inertie. La cellule centrale (en gris) peut se déplacer suivant les flèches si les sites indiqués sont libres (en blanc).

La notion d'inertie de mouvement de la cellule est un concept physique basé sur le fait qu'une cellule ne peut pas subitement inverser sa direction de migration. Cette inertie peut aussi être due à un signal, comme suggéré par Deisboeck et al. [28].

Pour conclure, nous avons décidé de choisir une distance de mémoire équivalent à un diamètre de cellule (soit un pas dans l'automate). Nous supposons que la distance de persistance ne dépasse pas une distance d'un diamètre de cellule.

3.2 Les interactions dans le modèle

Bien que ce travail ait pour but d'intégrer les interactions entre cellules tumorales ou entre cellules tumorales et substrat, il est difficile de tenir compte de toutes les interactions citées dans le premier chapitre. Lors de mon travail de thèse, notre équipe s'est concentrée sur deux types d'interactions :

- les interactions de contact cellule/cellule via les *gap junctions* (voir partie 1.2.2),
- les interactions dues au chimio-répulsif dont l'existence a été révélée par l'équipe de Rolando F. Del Maestro [29, 30, 79, 109, 114] (voir partie 1.2.1.2).

3.2.1 Les jonctions communicantes

Dans notre modèle, nous pouvons rencontrer deux types de jonctions communicantes : les jonctions homotypes (entre cellules tumorales) et les jonctions hétérotypes (entre cellules tumorales et astrocytes sains). Afin de valider notre modèle de migration, la première étape que nous avons réalisée a été de se limiter à des interactions homotypes. Cela revient à faire migrer les cellules tumorales sur un substrat acellulaire. Une fois ce modèle validé, nous avons pu mettre les cellules tumorales en contact avec des astrocytes sains et regarder en quoi la présence d'astrocytes, et donc de jonctions hétérotypes, modifie cette migration.

3.2.1.1 Les jonctions homotypes seules

Lorsque les cellules tumorales migrent sur un substrat acellulaire (par exemple sur un substrat de collagène), les cellules tumorales sont uniquement en interaction avec d'autres cellules tumorales. Dans cette situation, on est en présence de jonctions homotypes seules.

Attraction ou répulsion ?

La solution qui a été retenue pour intégrer ces jonctions dans notre modèle est d'introduire un paramètre p qui quantifie l'intensité des interactions entre cellules tumorales. Ce paramètre p est compris entre 0 et 1. Il permet de tenir compte d'une attraction (pour $p > 0.5$) ou d'une répulsion (pour $p < 0.5$) induite par cette interaction de contact. De même, nous pouvons retrouver le cas de la diffusion lorsque $p = 0.5$.

D'après [74, 85] et comme expliqué dans la partie 1.2.2.3, la communication jonctionnelle semble réduire la migration des cellules tumorales. Ainsi, les jonctions communicantes devraient correspondre dans notre modèle à une attraction entre cellules tumorales et nous devrions nous trouver dans le cas où $p > 0.5$.

Modification de la règle 3 de migration des cellules tumorales

L'introduction d'interactions de contact dans notre modèle va modifier la règle 3 de la migration. En effet, chaque site ne sera plus choisi équiprobablement.

Explication générale

Dans le cas de l'attraction, la cellule aura tendance à “vouloir” rester en contact avec une de ces cellules tumorales voisines. Les sites voisins qui se situent de part et d'autre de ces cellules voisines (sites indiqués par des flèches en trait épais sur la figure 3.15) auront donc une probabilité plus importante d'être choisis que les sites sans voisines (sites indiqués par des flèches en trait fin sur la figure 3.15). Si nous voulons considérer une attraction maximale, correspondant à $p = 1$, alors la cellule ne pourra migrer qu'en restant au contact d'une voisine. Ainsi, dans ce cas, si la cellule n'a pas de voisine, elle s'arrête de migrer.

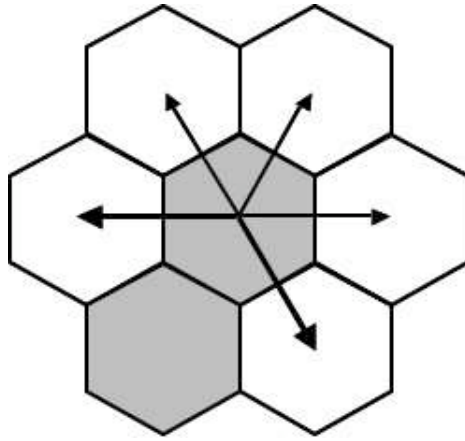


FIG. 3.15 – Migration sur un pavage hexagonal de cellule (en gris) favorisée lorsqu'elle reste en contact avec une de ses voisines ($p > 0.5$). La cellule centrale peut se déplacer suivant les flèches sur tous les sites libres (en blanc) avec une probabilité plus grande pour les sites indiqués par des flèches en trait épais.

Le cas de la répulsion revient à fuir les sites préférés dans le cas de l'attraction ; dans la disposition de la figure 3.15, les sites ayant une plus grande probabilité d'être choisis sont donc ceux indiqués par les flèches en trait fin. De même, pour la répulsion maximale, la cellule ne peut migrer que vers des sites sans voisines. Si de tels sites ne sont pas disponibles, la cellule s'arrête (elle aura possibilité de migrer à l'itération suivante, si un site sans voisine se libère).

Modification de la règle 3

Dans mon programme, pour chaque évolution, un site et un nombre r , compris entre 0 et 1, sont déterminés aléatoirement. Si $r < p$, la cellule doit migrer à côté d'une cellule voisine ; si, de plus, le site choisi remplit cette condition, la cellule migre. Inversement, si $r > p$, la cellule doit éviter tout contact avec ses voisines ; donc si le site choisi n'est pas en contact avec une voisine de la cellule, elle peut s'y déplacer. Par contre, si ces conditions ne sont pas remplies, la cellule ne bouge pas.

Nous pouvons donc remarquer que si $p = 1$, la cellule ne pourra migrer que si elle reste en contact avec une de ses voisines : c'est le cas de l'attraction maximale. De même si $p = 0$, nous retrouvons le cas de la répulsion maximale où la cellule fuit le contact avec les autres cellules tumorales.

3.2.1.2 Addition des jonctions hétérotypes

Les jonctions hétérotypes interviennent dans notre modèle lorsque les cellules tumorales migrent sur un substrat composé d'une monocouche d'astrocytes sains. Dans ce cas, nous considérerons deux couches : la première étant la monocouche d'astrocytes et la deuxième la couche où les cellules tumorales évoluent. Ainsi, une cellule tumorale et un astrocyte peuvent occuper la même position, mais dans des plans différents.

Définition de nouveaux paramètres

Dans notre modèle, nous définissons un pourcentage d'occupation effective de la monocouche d'astrocytes P_{occ} : il représente le rapport entre le nombre de sites occupés par des astrocytes et le nombre total de sites de la monocouche.

De plus, les jonctions hétérotypes entre cellules tumorales et astrocytes s'ajoutent aux jonctions homotypes dont j'ai décrit le principe dans la partie précédente (partie 3.2.1.1). L'intensité de l'interaction due aux jonctions homotypes est toujours quantifiée par le paramètre p . Nous ajoutons alors le paramètre q pour quantifier l'intensité des jonctions hétérotypes.

Modification de la règle 3 de migration des cellules tumorales

Chaque cellule a une probabilité p de migrer sur un site lui permettant de rester au contact d'une de ses voisines ou une probabilité q de migrer sur un astrocyte (sur un site déjà occupé par un astrocyte dans la couche inférieure). Lorsque $q > 0.5$, les cellules tumorales se déplacent préférentiellement sur un astrocyte tandis que si $q < 0.5$, les cellules tumorales évitent les sites occupés par un astrocyte.

Pour que la cellule migre, il suffit qu'une des deux conditions soit remplie (soit la condition sur les jonctions homotypes, soit la condition sur les jonctions hétérotypes). Par exemple, si p et q sont tous les deux égaux à 1, le site choisi doit soit se situer sur un astrocyte (déplacements indiqués par les flèches en trait plein sur la figure 3.16), soit posséder une cellule voisine en commun avec la cellule qui doit migrer (déplacement indiqué par la flèche en pointillés sur la figure 3.16). Le site choisi peut également accueillir une cellule s'il remplit les deux conditions précédentes (site en gris à côté d'un voisin indiqué par la flèche horizontale pointant vers la gauche sur la figure 3.16).

Nombre de cellules en contact et valeur de P_{occ}

Dans le cas de la migration sur une monocouche d'astrocytes, chaque cellule tumorale peut communiquer, au plus, avec 6 autres cellules tumorales (ses 6 voisines, situées dans la même couche où les cellules évoluent) et 7 astrocytes (celui en dessous de la cellule tumorale et les 6 astrocytes qui l'entourent, situés dans la couche inférieure qui représente la monocouche d'astrocytes).

Cependant, d'après l'étude de Oliveira et al. [85], une cellule de type GL15 communique avec environ 4 astrocytes. Il ne faut donc pas, dans notre modèle, introduire une monocouche inférieure remplie d'astrocytes, bien que cela soit le cas expérimentalement.

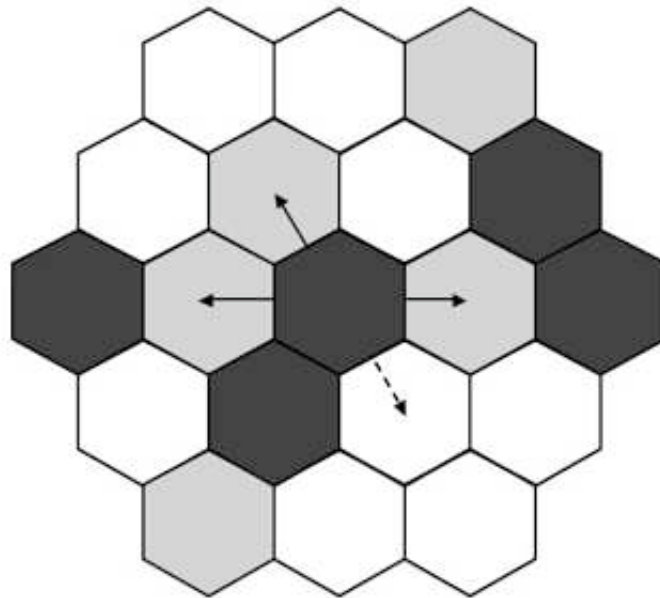


FIG. 3.16 – Exemple de mouvements possibles pour la cellule centrale sur une monocouche d’astrocytes dans le cas où $p = q = 1$. Les cellules tumorales sont représentées en gris foncé alors que les sites occupés par des astrocytes sont en gris clair. La cellule peut migrer sur un astrocyte (flèches en trait plein) ou rester en contact avec une de ses voisines (flèche en pointillés).

Ce couplage hétérocellulaire a été mesuré sur des cellules gliales en co-culture avec des astrocytes selon la méthode de Goldberg et al. [50, 85]. Cette méthode consiste à marquer les cellules tumorales avec une petite molécule fluorescente (la calcéïne) qui ne peut franchir la membrane lipidique et ne peut diffuser dans les cellules voisines, que via les *gap junctions*. Les cellules tumorales sont également marquées par un colorant membranaire (DiI) qui ne peut pas diffuser au travers des canaux des jonctions communicantes. Ces cellules doublement marquées sont ensuite déposées sur une monocouche d'astrocytes non marqués où les cellules vont incuber à 37°C pendant environ 20 heures. La communication hétérocellulaire est évaluée par le rapport entre le nombre d'astrocytes marqués à la calcéïne (qui a diffusé via les canaux hétérocellulaires entre les cellules GL15 et les astrocytes) et le nombre de cellules GL15 doublement marquées.

Ainsi, si une cellule tumorale ne communique qu'avec 4 astrocytes, il faut réduire le nombre d'astrocytes dans la monocouche. C'est pour cette raison que chaque site de la couche inférieure n'est pas nécessairement occupé par un astrocyte. Nous ajoutons alors le paramètre P_{occ} dans notre modèle pour obtenir une "mesure" de la communication hétérocellulaire comparable à la valeur expérimentale : le pourcentage effectif d'occupation de la monocouche d'astrocytes. Si ce pourcentage est de 55 %, alors le nombre d'astrocytes en contact avec une cellule tumorale chute à 4, au lieu des 7 initialement introduits par une monocouche remplie d'astrocytes. Dans notre modèle, nous pourrions jouer sur la valeur de ce paramètre.

3.2.2 Le chimio-répulsif

Étant donné que nous avons très peu de renseignements sur la substance chimio-répulsive mise en évidence par le *Montreal Neurological Institute* du *Brain Tumour Research Centre* dirigé par Rolando F. Del Maestro [29, 30, 79, 109, 114], nous avons fait quelques hypothèses pour permettre son introduction dans notre modèle de migration.

Hypothèses et nouveau paramètre

Puisqu'il s'agit vraisemblablement d'une substance chimique, il est nécessaire d'utiliser un pas plus fin que celui utilisé pour la dynamique des cellules⁴. Ainsi, il est assez raisonnable de supposer que la diffusion du chimio-répulsif est régie par une équation de diffusion continue.

Comme cela a été évoqué dans la partie 1.2.1.2 et basé sur la remarque de Werbowetski et al. [114], la substance chimique semble produite dans le centre hypoxique, et probablement nécrotique, du sphéroïde. Dans notre modèle, nous simplifions la situation en supposant un point source central nous permettant d'obtenir une forme explicite de la concentration C du chimio-répulsif (équation 3.9) :

$$C(r, t) = Ae^{-\frac{r^2}{4D_c t}} \quad (3.9)$$

⁴Dans le cas de la migration des cellules, la valeur d'un pas est centrée sur la taille d'un site (étant volontairement choisi proche du diamètre d'une cellule : entre 30 et 35 μm) et dont l'écart type dépend du pavage utilisé.

où D_c est le coefficient de diffusion du chimio-répulsif et A le facteur de normalisation (qui ne joue aucun rôle dans notre étude).

Nous supposons que les cellules, et donc leur migration, ne sont pas sensibles à la quantité de chimio-répulsif mais plutôt au gradient de la concentration du chimio-répulsif. Lorsque des cellules sont soumises à l'action d'un chimio-attracteur (par exemple des facteurs de croissance [12] dans des expériences de migration de cellules dans des chambres de Boyden), les cellules migrent dans la direction d'une augmentation de gradient du chimio-attractant. Dans le cas d'un chimio-répulsif, les cellules migreraient dans la direction d'une diminution de gradient.

Cette hypothèse a aussi été avancée par Werbowetski et al. [114], même s'ils suspectent une dépendance de la valeur absolue de la concentration lorsque celle-ci est très élevée. Nous supposons que les concentrations de la substance présente dans nos simulations se situent en dessous de cette gamme de valeurs et nous ne tenons pas compte de cette dépendance⁵. L'avantage de cette hypothèse est que l'introduction du chimio-répulsif n'ajoute qu'un paramètre ajustable au modèle, à savoir D_c .

Modification de la règle 3 de migration des cellules tumorales

L'introduction du chimio-répulsif étant complexe, je commencerai par expliquer le cas sans interactions de contact. Je m'attacherai ensuite à décrire la modification de la règle de migration lorsque les deux types d'interactions (courte et longue portée) sont prises en compte.

Cas sans interaction de contact

La règle 3 de migration des cellules est modifiée par la réponse des cellules au gradient de la concentration du chimio-répulsif. Pour déterminer le mouvement de la cellule, les sites voisins i se voient attribuer un poids qui dépend de la différence de concentrations entre le site de départ (C_0) et le site d'arrivée (C_i pour $i \in [1, n]$ où n est le nombre de sites voisins du site de départ) (équation (3.10)) :

$$\Delta_i = C_i - C_0. \quad (3.10)$$

À cette différence de concentration Δ_i , nous ajoutons une constante B et nous choisissons de retenir uniquement les valeurs de $\Delta_i + B$ positives. Nous obtenons alors des poids donnés par l'équation (6.1) :

$$\delta_i = \begin{cases} \Delta_i + B & \text{si } \Delta_i + B > 0 \\ 0 & \text{sinon} \end{cases}. \quad (3.11)$$

Cela signifie que la cellule peut migrer en “descendant le gradient” et, pour de faibles valeurs négatives du gradient, le “remonter”. Nous avons ajusté la valeur de cette coupure B une fois pour toutes en supprimant, après 24 heures d'évolution, 25% des mouvements possibles vers des sites où la différence de concentrations est trop négative.

⁵C'est pour cette raison que nous considérons que le facteur de normalisation A dans la formule (3.9) de la concentration de chimio-répulsif C ne modifie pas la migration des cellules dans nos simulations.

Ensuite, nous définissons une probabilité de migration associée à chaque site voisin en renormalisant les δ_i positifs par leur somme. Nous obtenons alors des probabilités q_i (où $i \in [1, n]$ avec n le nombre de sites voisins), associées à chaque site, dont les valeurs sont comprises entre 0 et 1. Ces probabilités sont nulles lorsque les différences de concentrations sont trop négatives, c'est-à-dire lorsque les valeurs des δ_i associés sont nulles (voir relation (6.1)).

De même que pour le cas avec interactions de contact, la cellule “choisit” un site parmi ses sites voisins, noté site j ($j \in [1, n]$) et un nombre aléatoire s compris entre 0 et 1 est déterminé. Le cellule migrera vers ce site j si :

$$Q_{j-1} < s < Q_j, \text{ avec } Q_j = \sum_{i=1}^j q_i, \text{ pour } j \in [1, n]. \quad (3.12)$$

Nous considérons que $Q_0 = 0$. Donc, d'après cette convention, $Q_1 = q_1$ et $Q_n = 1$.

Si s ne satisfait pas cette condition, alors la cellule ne migre pas. Elle en aura la possibilité à l'itération suivante. Ainsi, chaque cellule peut migrer vers un site i choisi selon une probabilité égale à q_i qui est proportionnelle à la valeur du gradient de concentration corrigé par la coupure B .

Pour résumer, le gradient du chimio-répulsif sécrété par le centre du sphéroïde introduit une force motrice qui dirige la migration des cellules : les cellules essaient d'éviter des concentrations trop élevées de chimio-répulsif en suivant la direction d'un gradient descendant et migrent préférentiellement radialement loin du centre.

En ajoutant les interactions de contact

Il s'agit maintenant de modifier la règle de migration n° 3 pour faire intervenir à la fois les effets du chimio-répulsif et les interactions de contact entre cellules tumorales⁶. La manière que nous avons choisie pour combiner ces deux effets est de commencer par appliquer les règles relatives aux interactions de contact entre cellules tumorales.

Dans le cas où l'attraction est maximale entre cellules tumorales, le site choisi doit être en contact avec au moins une des cellules voisines de la cellule invasive et doit vérifier la condition décrite dans le paragraphe précédent (“*cas sans interaction de contact*”). Pour renforcer l'effet du chimio-répulsif, nous avons ajouté une condition lorsque la cellule n'a aucune cellule voisine : alors un site sera choisi et la cellule pourra y migrer en suivant la règle de migration lorsque la cellule est soumise au chimio-répulsif seul.

3.2.3 Introduction de différentes interactions suivant la taille du sphéroïde

Werbowski et al. [114] ont montré que la taille des sphéroïdes influe sur la quantité de chimio-répulsif sécrété. Ils décrivent en particulier cette caractéristique en étudiant un effet inhibiteur du chimio-répulsif sur l'invasion des cellules gliales. Pour étudier cet effet, ils

⁶Les expériences de l'équipe de Del Maestro ne faisant pas intervenir de cellules saines, les interactions de contact ont lieu uniquement entre cellules tumorales.

prélèvent les milieux de culture dans lesquels ont évolué des sphéroïdes de différentes tailles. Ils implantent ensuite des sphéroïdes (de cellules gliales C6 et U251) dans des gels de collagène qui baignent dans ces milieux prélevés. Il s'avère alors que l'inhibition est plus prononcée lorsque les milieux sont prélevés étaient en contact avec de plus larges sphéroïdes. Ceci permet de suggérer que la quantité de chimio-répulsif sécrétée est reliée à la taille du sphéroïde.

3.3 Conclusion

Lors de mon travail de thèse, j'ai étudié la migration de cellules gliales issues de sphéroïdes de différentes tailles à l'aide de l'automate cellulaire dont les règles ont été définies dans ce chapitre. La première partie de ce travail concerne les cellules de "petits" sphéroïdes ($100 - 220 \mu\text{m}$). Dans ce cas de petits sphéroïdes, il est raisonnable de considérer le fait qu'il n'y a pas de sécrétion de chimio-répulsif. N'interviennent alors que les interactions à courte portée. Par la suite, je me suis intéressée à la migration de cellules issues de sphéroïdes "plus larges" (400 à $600 \mu\text{m}$ de diamètre). Pour cette condition de taille du sphéroïde, la migration des cellules est soumise aux interactions de contact ainsi qu'aux interactions à plus longue portée dues au chimio-répulsif.

Dans ce chapitre, j'ai exposé la manière de modéliser les deux situations (avec interactions de contact uniquement, et avec interactions de contact et à longue portée). Deux substrats de migration seront utilisés par la suite (voir les chapitres suivants) : un substrat composé de molécules de la matrice extracellulaire, ne contenant pas d'autres cellules et un substrat cellulaire composé d'astrocytes sains. Sur le premier substrat, les cellules tumorales migrantes subissent uniquement des interactions de contact homotypes. Cependant, lorsque les cellules migrent sur des cellules saines, des interactions hétérotypes s'ajoutent aux interactions homotypes. Nous souhaitons comprendre l'importance du rôle joué par ces différents types d'interactions (interactions de contact homotypes et hétérotypes et interactions à longue portée) dans la migration des cellules tumorales.

Chapitre 4

Migration de cellules issues de sphéroïdes de diamètre inférieur à $300\mu\text{m}$

Le premier cas d'étude auquel je me suis intéressée est la migration de cellules de gliomes issues de sphéroïdes de “petite taille”. Je parle de petits sphéroïdes lorsque les sphéroïdes sont suffisamment petits pour ne pas développer de régions stressées (hypoxiques ou nécrotiques). Dans ces sphéroïdes, toutes les cellules ont accès à une quantité raisonnable d'oxygène et de nutriments qui diffusent en tout point du sphéroïde, leur permettant de survivre.

Si ces cellules ne se situent pas dans une région stressée, elles ne sécrètent pas de chimio-répulsif comme expliqué dans les parties 1.2.1.2 et 3.2.3. Je focalise donc mon étude de migration de cellules issues de petits sphéroïdes sur les interactions à courte portée et plus particulièrement sur les interactions de contact via les jonctions communicantes.

En effet, plusieurs études ont montré que la communication jonctionnelle influence fortement la migration des cellules gliales [67, 74, 85, 120]. Il est également suggéré que cette communication est utilisée et détournée par les cellules gliales pour entraîner un changement phénotypique des astrocytes sains à leur contact [4] et permettre une migration accrue à leur contact [85]. Oliveira et al. [85] ont exploré cette dernière hypothèse en détail et ont mis en évidence une différence entre les communications jonctionnelles homotype et hétérotype.

Mon étude est basée sur le modèle de migration à deux dimensions explicité dans le chapitre 3¹. Les données obtenues par simulation sont comparées à des données expérimentales réalisées par C. Christov, anatomopathologiste, S. Féréol et leurs collègues de l'hôpital Henri Mondor à Créteil. Dans ces expériences, les cellules de gliomes migrent sur deux substrats différents : un substrat acellulaire composé de molécules de la matrice extracellulaire (collagène IV) et une monocouche d'astrocytes sains. Alors que le premier cas d'étude permet de se focaliser sur les interactions homotypes (entre cellules tumorales), le deuxième introduit la communication hétérotype (entre cellules tumorales et cellules saines) créant ainsi un modèle qui se rapproche de la réalité *in vivo*.

¹Pour la définition de tous les paramètres concernant le modèle, vous pouvez vous référer à l'annexe ajoutée avant les références bibliographiques.

4.1 Protocole et résultats expérimentaux

Le système expérimental choisi est un système simplifié de migration de cellules de glioblastome humain *in vitro* sur un substrat inerte de collagène. De cette façon, seules les interactions entre cellules tumorales interviennent. Par la suite, un système plus complexe de migration des mêmes cellules sur substrat d'astrocytes a été utilisé, pour lequel les interactions entre cellules tumorales et cellules saines sont présentes. Ce dernier système est bien sûr moins éloigné des conditions *in vivo*, mais plus complexe.

4.1.1 Culture cellulaire

Les expériences ont été réalisées à partir de cellules d'une lignée issue de glioblastome humain, la lignée GL15 [6, 7, 26, 53, 85]. Bien que ces modèles de sphéroïdes ne reproduisent pas exactement les gliomes *in vivo*, ils présentent l'avantage d'être formés à partir de cellules facilement accessibles et manipulables. De plus, ils sont constitués de populations cellulaires relativement homogènes qui donnent des résultats reproductibles.

4.1.1.1 Lignée cellulaire et sphéroïdes

La lignée humaine GL15 a été obtenue après la mise en culture de glioblastomes humains provenant d'une biopsie ou d'une exérèse "complète" réalisée chez un patient [11].

Le processus de formation de sphéroïdes a été intensément étudié et utilisé, comme décrit dans les articles [26, 53, 85]. Cette méthode consiste à faire croître les cellules dans un milieu de culture de cellules GL15. Ce milieu de culture est composé de 50% de milieu minimum essentiel (MEM) et de 50% de DMEM (*Dulbecco's Modified Eagle's Medium*) complété avec 10% de serum de veau fœtal (ATGC Biotechnologie, France), 2 mM de glutamine, 3.3 mM de D-glucose (dextrose), 100 UI/ml de pénicilline et 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de streptomycine (Eurobio, France). Les cellules sont placées à 37°C dans un incubateur humidifié à 5% de CO_2 . Les cellules sont ensuite trypsinisées et centrifugées à 300 G pendant 10 minutes. Elles sont enfin resuspendues à une concentration de 2.10^4 cellules/ cm^2 dans 3 mL de milieu de cellules GL15 sur des boîtes de Pétri recouvertes d'agar. Les cellules sont gardées dans leur milieu de culture, renouvelé par moitié tous les jours, dans un incubateur à 37°C . Dans ces conditions, les cellules GL15 forment des sphéroïdes (d'un diamètre compris entre 200 et $1200\mu\text{m}$) en 10 – 14 jours.

4.1.1.2 Inhibition des jonctions communicantes

L'effet de l'inhibition des jonctions communicantes a été évalué en traitant les cultures cellulaires avec du carbenoxolone (CBX, Sigma, France). Le CBX est utilisé pour son inhibition spécifique de la communication jonctionnelle en entraînant un changement de conformation des canaux intracellulaires de connexines. Pour inhiber les jonctions communicantes, les cultures sont traitées avec une concentration de 30 μM de CBX. À cette concentration, lorsque les cellules tumorales migrent sur une monocouche d'astrocytes, la communication hétérotype est réduite de moitié sans effet toxique ni sur les astrocytes, ni sur les cellules GL15 [85].

4.1.2 Étude de la migration

Les modèles de migration *in vitro* à deux dimensions utilisent, comme support de migration, le plastique recouvert de molécules de la matrice extracellulaire (le collagène IV). Ces expériences sont facilement réalisables et permettent une étude détaillée de la motilité cellulaire. Dans ces modèles, les interactions des cellules tumorales avec leur environnement cellulaire ne sont pas reproduites. Les cellules tumorales n'interagissent qu'avec d'autres cellules tumorales (interactions homotypes seules).

Des modèles de co-culture sur monocouche d'astrocytes ont été mis au point pour étudier les interactions spécifiques entre cellules tumorales et astrocytes sains et l'influence des cellules saines sur les cellules tumorales [85, 120]. Néanmoins, ces modèles ne permettent pas d'apprécier l'ensemble des interactions des cellules de glioblastome avec leur environnement.

4.1.2.1 Migration sur collagène IV

Le fond des boîtes de Pétri standard de 3.5 cm est recouvert de collagène de type IV, un substrat qui permet la migration de cellules de gliomes. Pour cela, le collagène IV est décongelé à 4°C pendant toute une nuit, dilué dans de l'eau stérile et déversé dans les boîtes de Pétri. La concentration choisie est de 1 μ g/cm². Ensuite, les boîtes sont recouvertes d'une fine couche d'albumine de sérum bovin (BSA pour *Bovine serum albumin* en anglais) stérile. Les sphéroïdes, préalablement sélectionnés et prélevés individuellement sous microscope, sont déposés sur le fond des boîtes contenant 200 μ l de milieu de culture spécifique aux cellules GL15. Les boîtes sont enfin laissées dans un incubateur à 37°C pendant 6 heures pour permettre l'attachement des sphéroïdes à la surface de la boîte, après quoi 3 ml de milieu de culture GL15 sont ajoutés.

4.1.2.2 Migration sur monocouche d'astrocytes

Les monocouches d'astrocytes sont obtenues à partir d'hémisphères cérébraux de souris C57/bl6 (Charles River, France) [73]. Une monocouche constituée de 95%² d'astrocytes est formée après le retrait des fibroblastes et une incubation de 7 à 10 jours dans un milieu de culture astrocytaire : MEM, (GIBCO, France) complété avec 10% de serum de veau fœtal (ATGC Biotechnologie, France), 2 mM de glutamine, 3.3 mM de D-glucose (dextrose), 100 UI/ml de pénicilline, 100 μ g/ml de streptomycine et 0.5X d'acides aminés (Eurobio, France). Le milieu est changé tous les trois jours. Des études de migration des astrocytes de la monocouche ont été menées. Ces études ont montré que les mouvements qui animent les astrocytes sont uniquement des mouvements "chaotiques" d'amplitude négligeable ($1.24 \pm 0.36 \mu$ m sur 5 heures) [7].

²95% des cellules de ces monocouches ainsi constituées expriment la protéine acide fibrillaire gliale (GPAF) et sont donc des astrocytes (cf. partie 1.2.2.3).

4.1.2.3 Analyse de la migration

L'observation sous microscope commence lorsque la viabilité des cellules et l'attachement des sphéroïdes ont pu être vérifiés. Suivant les expériences, la migration des cellules GL15 a été suivie pendant 42 heures (sur astrocytes) ou 4 jours (sur collagène). Les cellules GL15 issues de sphéroïdes et évoluant sur collagène IV sont photographiées à intervalles de 12 heures jusqu'à 48 heures puis une fois à 4 jours. Pour les cellules GL15 migrant sur une monocouche d'astrocytes, les données ont été prises toutes les 12 heures à partir de 18 heures de migration, et ce jusqu'à 42 heures. Ces expériences sont réalisées sous microscope inversé Leica couplé avec une caméra CCD Coolsnap. Entre deux observations, les cellules sont maintenues dans un incubateur standard.

Un autre cadre d'expériences a été défini pour évaluer la vitesse de migration des cellules et les chemins suivis par les cellules migrantes. Pour cela, les cellules incubent dans une chambre montée sur un microscope inversé Axiophot 2 et des images obtenues par contraste de phase sont réalisées toutes les 10 ou 20 minutes pendant 5 heures avec une caméra CCD AxioCam (Zeiss, Allemagne). Le domaine d'observation correspond à un champ microscopique ($\times 20$) choisi proche du sphéroïde. Les trajectoires des cellules présentes dans le champ pendant toute la durée de l'observation sont analysées.

4.1.3 Traitement des résultats expérimentaux

La figure 4.1 présente un exemple de quatre photographies obtenues après 12, 24, 36 et 48 heures de migration. De ces photographies, nous pouvons déterminer deux types de données : la concentration de cellules et la surface de migration (correspondant à la surface occupée par les cellules et expliquée dans le cadre du modèle dans la partie 3.1.3.2). En faisant une analyse plus poussée, il est possible de déterminer des vitesses de migration des cellules.

4.1.3.1 Concentration cellulaire

Pour déterminer les profils de concentration de cellules tumorales, nous superposons sur chaque photographie, à différents instants à intervalles de 12 heures, un système de cercles, également espacés (voir figure 4.1), centrés sur le sphéroïde. Sur la figure 4.1, les zones centrales noires correspondent à la présence du sphéroïde. Nous comptons ensuite le nombre de cellules contenues dans chaque couronne d'épaisseur constante (de l'ordre de 2 diamètres de cellule soit $70\mu\text{m}$) et nous divisons ce nombre par la surface de la couronne pour obtenir la concentration cellulaire en fonction de la distance au centre.

La figure 4.2 donne les profils de concentration moyens obtenus d'après photographies après 12, 24, 36 et 48 heures d'évolution, dans le cas d'une migration sur substrat de collagène de type IV. Les barres d'erreur ne sont pas représentées sur cette figure pour éviter de la surcharger. La figure 4.3 permet de se rendre compte de la dispersion expérimentale, ici après 36 heures de migration. Cette figure montre la courbe moyenne de concentration cellulaire ainsi que les courbes correspondant aux cas de concentrations expérimentales maximale et minimale.

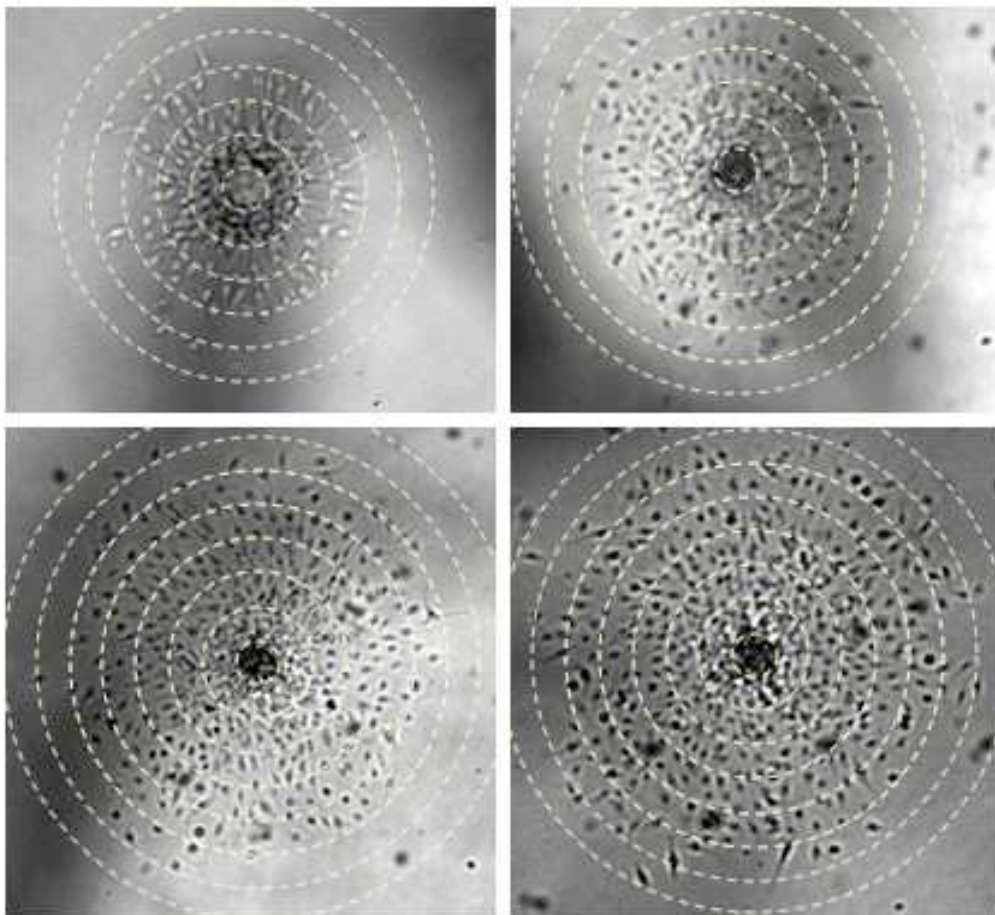


FIG. 4.1 – Clichés de migration de cellules GL15 issues d'un sphéroïde après 12, 24, 36 et 48 heures de migration [6].

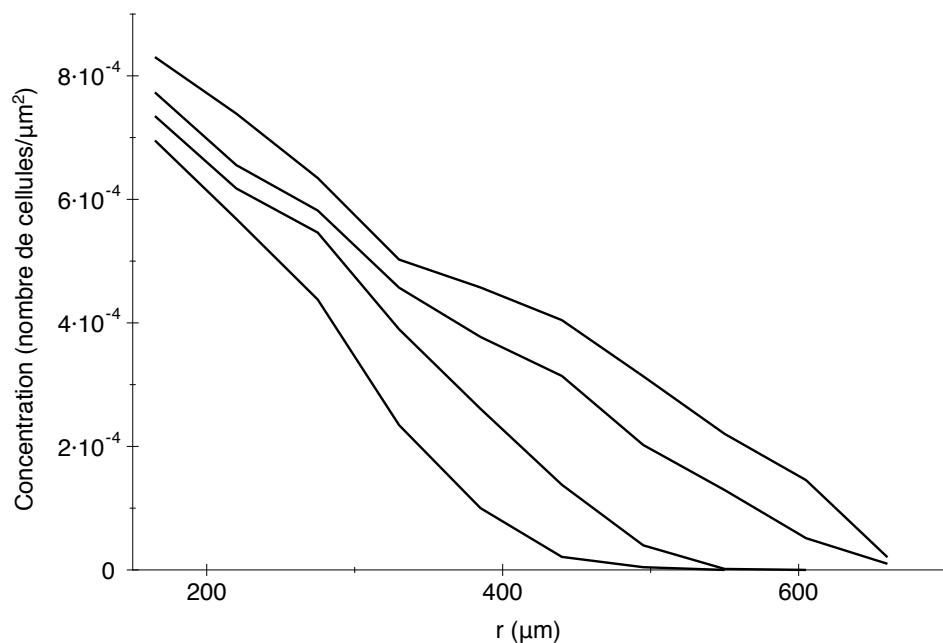


FIG. 4.2 – Profils de concentration expérimentale moyenne en fonction de la distance au centre du sphéroïde, après 12, 24, 36 et 48 heures de migration [6].

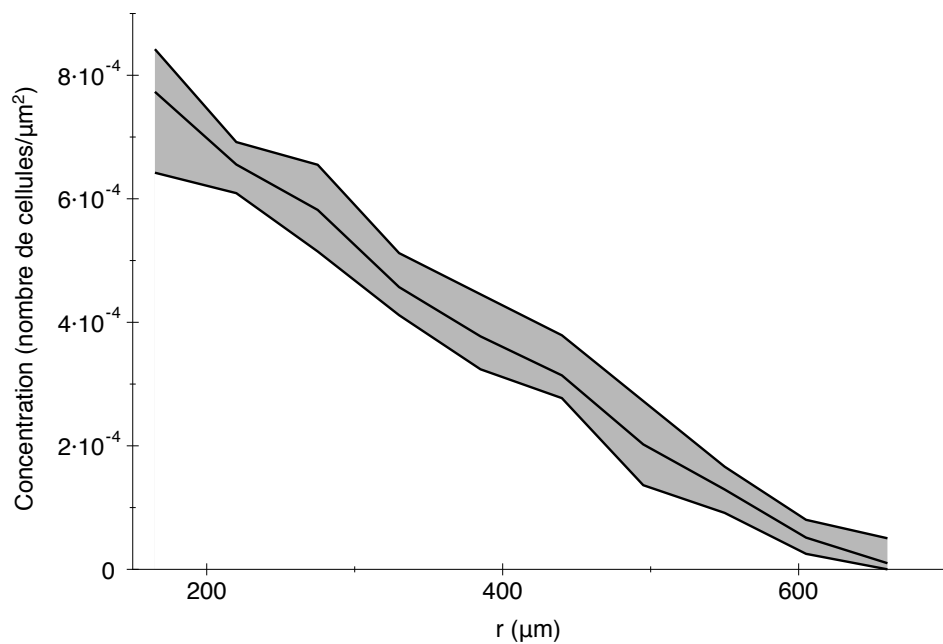


FIG. 4.3 – Dispersion expérimentale : concentration moyenne expérimentale après 36 heures de migration, ainsi que les valeurs les plus importantes et les plus faibles de concentration [6].

Les profils de concentration ont été calculés uniquement pour la migration de cellules GL15 sur un substrat de collagène IV. En effet, les astrocytes présents dans la monocouche sont visibles, au même titre que les cellules tumorales GL15. Il est alors impossible de les différencier sans marquage préalable. C'est pour cette raison qu'un autre type de données a été utilisé : la surface de migration.

4.1.3.2 Surface de migration

La surface de migration est obtenue en traçant une enveloppe contenant au minimum 95% des cellules et en mesurant la surface délimitée par cette enveloppe (voir figure 4.4).

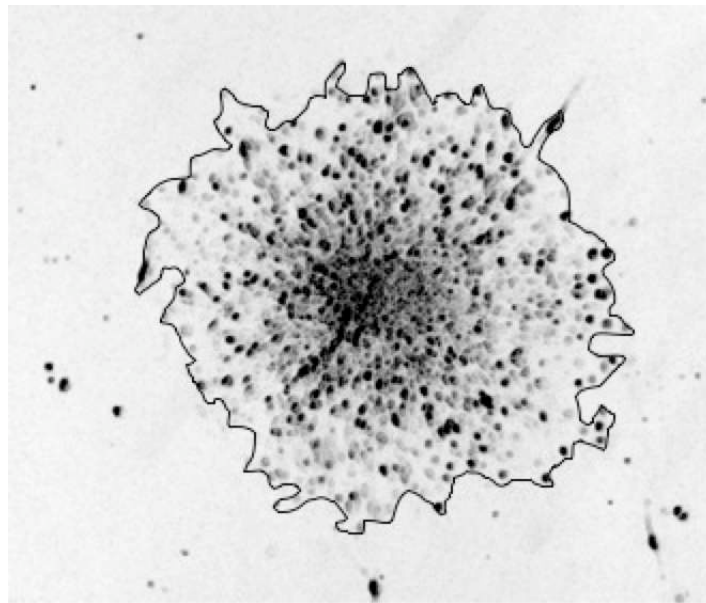


FIG. 4.4 – Exemple de migration de cellules GL15 issues d'un sphéroïde après une évolution de 48 heures, avec l'enveloppe de la surface de migration [7].

Sur la figure 4.4, nous pouvons voir un exemple de motif expérimental de migration après une évolution de 48 heures ainsi que l'enveloppe de la surface de migration. À l'extérieur de cette enveloppe, nous pouvons remarquer la présence de cellules isolées (moins de 5% du nombre total de cellules).

Ces surfaces de migration sont utilisées pour comparer les cas avec et sans inhibition des jonctions communicantes (avec du CBX), sur collagène IV et sur monocouche d'astrocytes.

Les données expérimentales que j'ai utilisées lors de ma thèse proviennent de deux sources : les premières sont issues de la publication [85] et j'ai pu extraire les autres de photographies fournies par C. Christov³. Les nouvelles données correspondent à la migration de cellules GL15 sur collagène IV, avec et sans CBX, 12, 24, 36 et 48 heures après le début de la migration. Les données publiées [85] concernent la migration de cellules GL15 sur monocouche d'astrocytes (18, 30 et 42 heures) et sur collagène IV (valeurs à 4 jours), avec et sans CBX.

³Les expériences ont été réalisées à la plate-forme d'Imagerie Cellulaire et Tissulaire de l'IFR10, Institut Mondor de Médecine Moléculaire et INSERM E0011 située à Créteil.

Nous avons calculé le rapport entre la surface de migration moyenne avec une inhibition de la communication jonctionnelle et la surface de migration moyenne dans la situation témoin. Ces rapports sont déterminés pour des évolutions sur collagène et sur astrocytes. Dans le cas de la migration sur collagène, les valeurs sont obtenues en moyennant 5 à 6 sphéroïdes pour différents temps d'évolution (12, 24, 36 et 48 heures pour les données extraites par mes soins et 4 jours pour les données de [85]), avec et sans inhibition des jonctions communicantes. Les clichés, correspondant à deux situations typiques d'évolution de 48 heures (situation témoin, figure 4.5a, et situation avec inhibition des jonctions communicantes, figure 4.5b), sont présentés sur la figure 4.5. Nous remarquons que la surface de migration est supérieure lorsque les jonctions communicantes sont inhibées : les cellules migrent davantage.

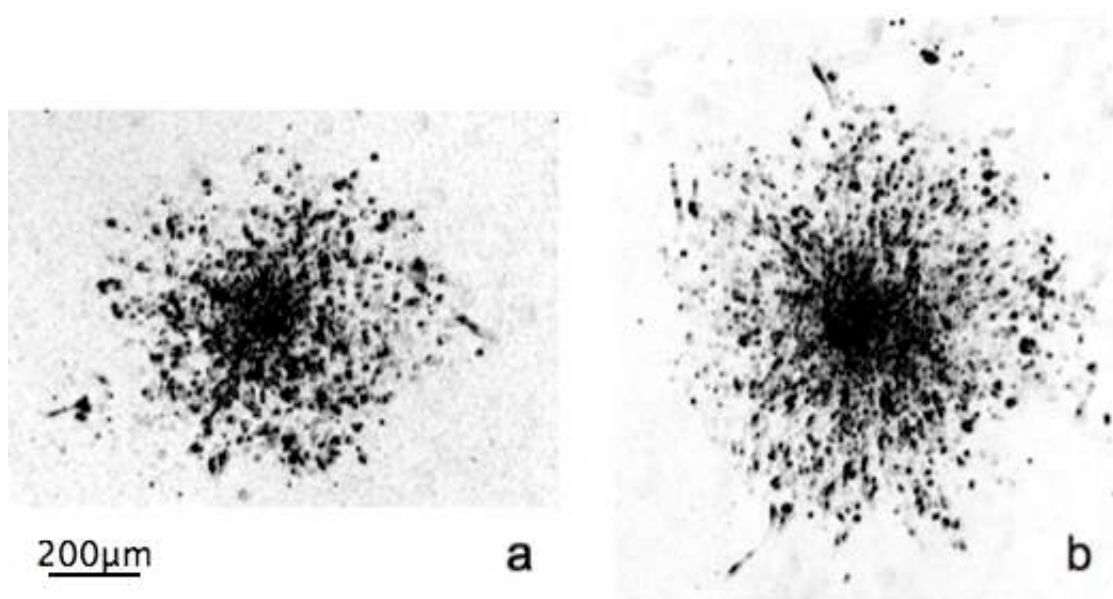


FIG. 4.5 – Exemple d'évolution de cellules tumorales issues d'un sphéroïde et migrant sur un substrat de collagène IV (après 48 heures de migration) : (a) dans la situation témoin et (b) dans la situation où les jonctions communicantes sont inhibées par du CBX.

En ce qui concerne la migration sur une monocouche d'astrocytes, la surface moyenne de migration est donnée à partir de 5 sphéroïdes pour 18, 30 et 42 heures de migration (valeurs cumulatives publiées dans [85]), avec et sans CBX.

Ces rapports expérimentaux sont donnés sur la figure 4.6. Les données relatives à la migration sur un substrat de collagène IV sont représentées par des losanges alors que les triangles marquent les valeurs de migration sur monocouche d'astrocytes.

Nous pouvons remarquer, d'après la figure 4.6, que les cinq rapports sont supérieurs à 1 dans le cas de migrations sur collagène IV : cela signifie que les cellules migrent davantage lorsque les jonctions homotypes sont inhibées. Contrairement au cas sur collagène, la migration sur astrocytes est réduite lorsque la communication jonctionnelle est inhibée par du carbenoxolone (les trois rapports de surface de migration, présentés sur la figure 4.6, sont inférieur à 1).

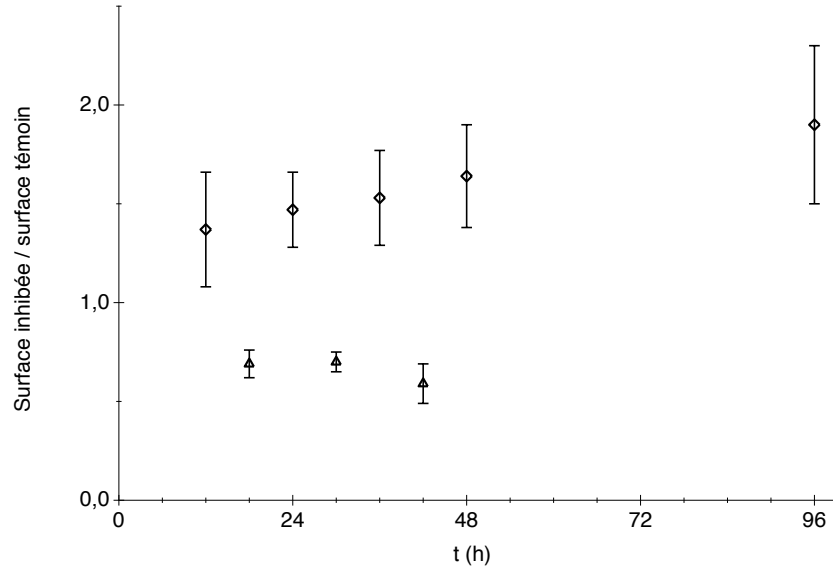


FIG. 4.6 – Rapports expérimentaux de surfaces entre inhibition et situation témoin en fonction de la durée de l'évolution. Les cinq losanges représentent les valeurs pour la migration sur collagène IV (12, 24, 36, 48 heures et 4 jours) et les triangles les données pour la migration sur monocouche d'astrocytes (18, 30 et 42 heures).

Par la suite, nous appellerons “surface de migration avec communication inhibée”, la surface de migration lorsque les jonctions communicantes ont été inhibées par du CBX et “surface de migration témoin”, la surface dans la situation témoin (sans inhibition des jonctions par du CBX). Nous nous focalisons sur la valeur du rapport entre surface de migration avec communication inhibée et surface de migration témoin, à laquelle nous ferons référence en employant l'expression de “rapport entre inhibition et situation témoin”.

4.1.3.3 Vitesse de migration

Pour déterminer les vitesses et les chemins de migration des expériences de migration sur collagène IV, les images de cellules obtenues par contraste de phase ont été segmentées en utilisant un algorithme de détection de contours (logiciel d'analyse d'images KS400 3.0). L'image finale obtenue représente le contour de la cellule et permet de définir son centre de masse (voir figure 4.7⁴). Les déplacements de ce centre de masse sont utilisés pour calculer les vitesses moyennées sur des temps courts (20 minutes), v_c , et des temps longs (5 heures, v_l). Nous pouvons aussi déterminer le chemin suivi par les cellules individuelles migrantes.

Les figures 4.8⁴ montrent les distributions de ces vitesses, ajustées par une gaussienne, $ae^{-(v-v_0)^2/2\sigma^2}$, permettant d'estimer les valeurs des deux vitesses moyennes ($\bar{v}_c$ et $\bar{v}_l$), ainsi que leur écart type. Nous obtenons, d'après ces deux histogrammes, une vitesse moyenne sur temps court $\bar{v}_c$ de $15.6 \pm 3.2 \mu\text{m/h}$ et une vitesse moyenne sur temps long $\bar{v}_l$ de $2.7 \pm 1.1 \mu\text{m/h}$.

La valeur à laquelle nous nous intéressons est le rapport entre les vitesses moyennes pour

⁴Données de C. Christov, communication interne.

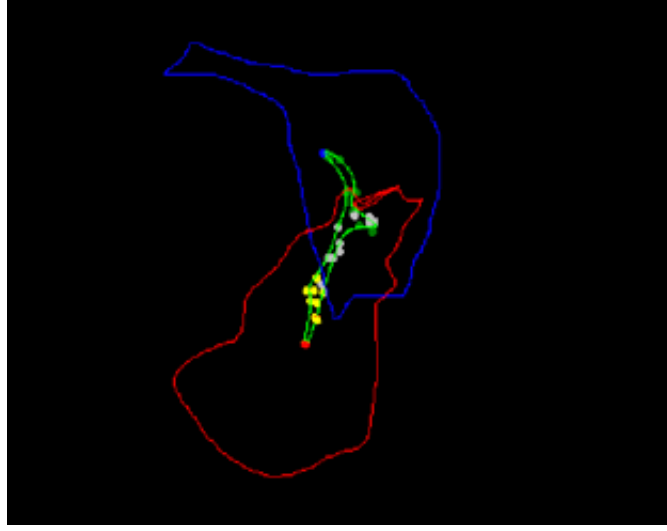


FIG. 4.7 – Contour et centre de masse d’une cellule GL15 migrante (données de C. Christov). Le contour bleu délimite le cellule à sa position initiale, alors que l’enveloppe rouge correspond au contour de la cellule à l’instant final de l’acquisition. La position du centre masse de la cellule est représentée par un point de couleur bleu à l’instant initial, rouge à l’instant final et grise et jaune pour les positions intermédiaires.

des intervalles courts et longs ($\bar{v}_c/\bar{v}_l$). Ce rapport permet de quantifier la complexité de la trajectoire suivie par la cellule (ou plus exactement de la trajectoire du centre de masse de la cellule). Si cette valeur est proche de 1, alors la migration de la cellule est dirigée et la trajectoire est quasiment linéaire. Si le rapport est supérieur à 1, il indique une trajectoire plus “chaotique”. La valeur du rapport obtenue d’après les données expérimentales est de 5.8, indiquant une trajectoire très chahutée.

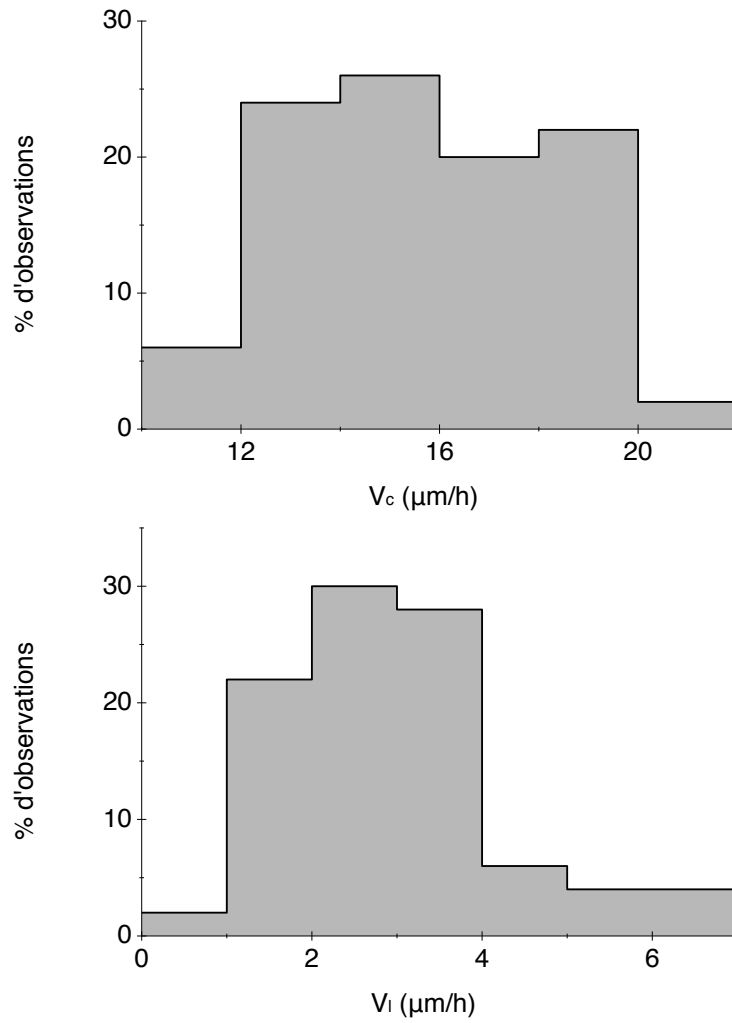


FIG. 4.8 – Distributions des vitesses expérimentales de migration des cellules GL15 moyennée sur un temps court ($\bar{v}_c$, partie gauche de la figure) et sur un temps plus long ($\bar{v}_l$, partie droite de la figure).

4.2 Ajustements des paramètres

Une des étapes importantes à effectuer pour pouvoir comparer les simulations avec les expériences est d'ajuster deux paramètres physiques : le temps et l'espace. Le calibrage de ces deux grandeurs dépend de la taille des cellules étudiées ainsi que la taille des sphéroïdes expérimentaux.

4.2.1 Calibrage du temps

Dans notre modèle, le temps correspond aux itérations successives de l'automate cellulaire. Pour avoir une idée du temps physique, il faut établir une correspondance entre le temps physique et le nombre d'itérations du modèle, ou trouver une autre relation. Une quantité pouvant être utilisée et facilement accessible, tant dans les simulations que dans les expériences, est le nombre de cellules éjectées du sphéroïde (qui dépend également de la taille du sphéroïde).

Les figures 4.9 donnent le nombre de cellules éjectées du sphéroïde en fonction du temps pour les expériences (figure du haut) et du nombre d'itérations du modèle pour les simulations⁵ (figure du bas). Les barres d'erreur, pour la figure expérimentale 4.9, correspondent à la dispersion des données (écart type) pour un nombre de sphéroïdes étudiés variant de 4 à 7, suivant la durée de migration. Sur la figure 4.9⁵, l'écart type traduisant la dispersion des données simulées est représenté en zone grisée autour de la valeur moyenne. Ce faible écart type (comparé à celui obtenu dans les expériences) est calculé à partir d'un grand nombre d'évolutions réalisées (300).

Nous pouvons remarquer que les deux courbes, donnant le nombre de cellules éjectées en fonction du temps physique ou en fonction du nombre d'itérations, ont un comportement essentiellement linéaire (excepté pour un faible nombre d'itérations dans le cas des simulations). Nous pouvons donc lier, par une relation affine, le nombre d'itérations de l'automate au temps physique grâce à sa relation avec le nombre de cellules éjectées du sphéroïde. Ce comportement nous permet de pouvoir choisir indifféremment le nombre d'itérations ou le nombre de cellules éjectées comme définition du temps dans notre modèle. Quelque soit la solution choisie, il sera possible, une fois le calibrage effectué à partir des expériences, de définir le temps physique dans notre modèle. Cependant, compte tenu du comportement fortement non linéaire de la courbe simulée pour un nombre d'itérations inférieur à 50, je dois préciser que la courbe de la figure 4.9 n'a été ajustée qu'à partir d'un nombre de cellules supérieur à 130. Notons que ce nombre d'itérations correspond à une migration de plus de 12 heures (voir les figures 4.9). Étant donné que les données expérimentales commencent à partir de 12 heures de migration, ceci nous permet de ne pas considérer cette zone non linéaire de la courbe.

Selon les études, il est préférable d'utiliser l'une ou l'autre des relations pour l'ajustement du temps physique. Nous verrons, dans la partie 4.2.3, les relations choisies pour calibrer notre modèle suivant les expériences réalisées.

⁵Remarque : le nombre de cellules éjectées en fonction du nombre d'itérations de l'automate varie suivant la taille du centre choisi. Ici, le rayon du centre est de 3,5 cellules (soit un diamètre de 7 cellules).

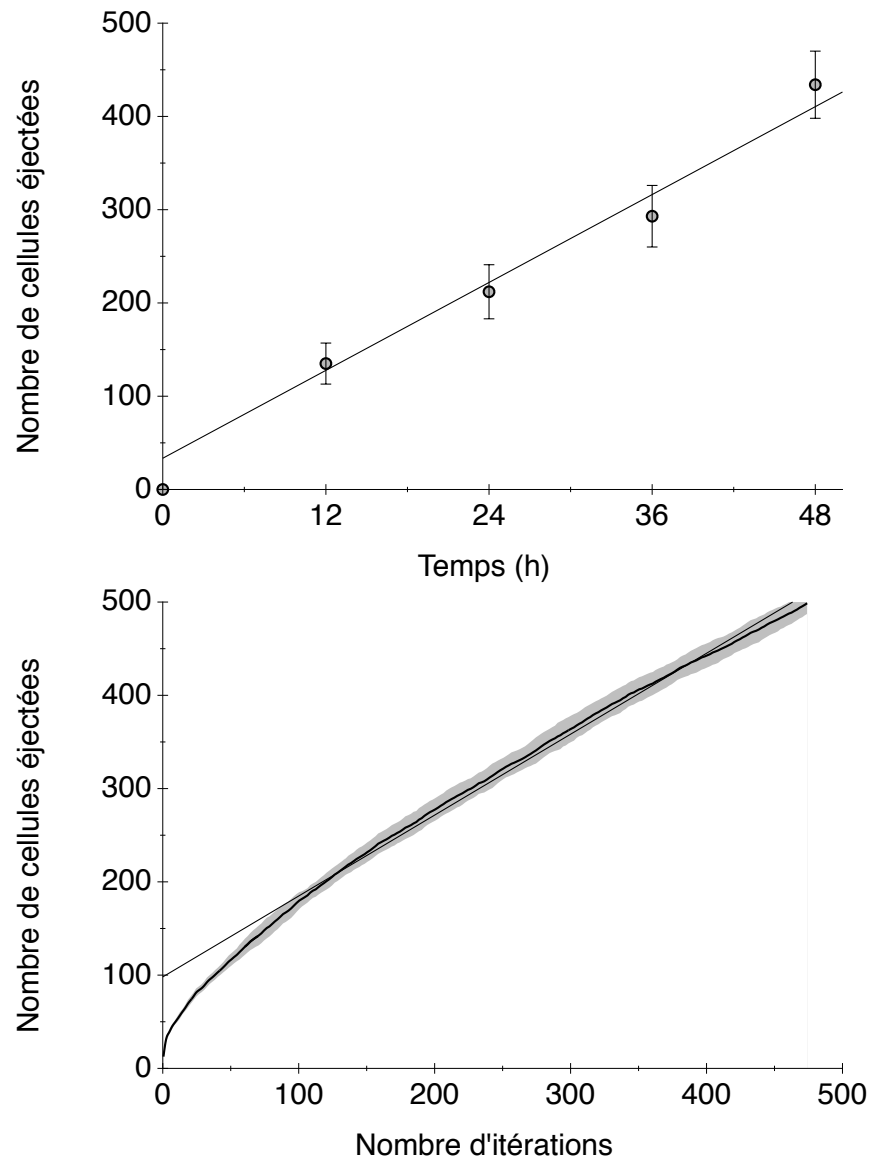


FIG. 4.9 – Nombre de cellules éjectées en fonction du temps (pour des sphéroïdes expérimentaux d'un diamètre d'environ $220\mu\text{m}$) ou en fonction du nombre d'itérations (pour des simulations d'évolution de sphéroïdes de "7 cellules" de diamètre) ajusté par une droite (données pour le modèle).

4.2.2 Calibrage de l'espace

Le calibrage de l'espace tient compte du fait que nous avons choisi de représenter les cellules individuellement. Ainsi, comme cela a été mentionné à plusieurs reprises dans le chapitre 3, le pas du maillage de l'automate doit être proche d'un diamètre cellulaire.

Comme expliqué dans la partie 3.1.2.1, l'espace est calibré pour faire coïncider les profils de concentration et la taille du centre (dont le diamètre doit être proche du diamètre du sphéroïde expérimental) avec les données expérimentales. Pour cela, il faut que le pas du maillage a soit de l'ordre de la taille des cellules. Le pas a peut être fixe (dans le cas d'un pavage hexagonal) ou variable (lors de l'utilisation du pavage hexagonal déformé).

Dans le cas hexagonal pur, toutes les cellules sont assimilées à des hexagones de la même taille dont la surface s est donnée par la formule (3.7). La surface d'un hexagone doit donc être équivalente à la surface d'une cellule tumorale qui, je le rappelle, a plutôt une forme allongée. Le paramètre du pavage⁶ doit être choisi entre 30 et $40\mu\text{m}$. La figure 3.11 montrait les profils de concentration pour 3 pas différents : 30, 35 et $40\mu\text{m}$. Nous pouvons remarquer que la concentration à proximité du sphéroïde dépend fortement de la valeur choisie pour le pas. C'est, en partie, cette valeur de concentration dans la première couronne entourant le sphéroïde, qui va nous permettre de quantifier l'espace. Selon les données expérimentales présentées dans la partie 4.1.3.1, la concentration à proximité du centre varie de 6 à 8.5×10^{-4} cellules/ μm^2 (en tenant compte des erreurs). D'après la figure 3.11, ces valeurs de concentration sont plus proches des données du modèle pour un pas égal à $35\mu\text{m}$. C'est cette valeur qui a été choisie et est utilisée dans les résultats présentés dans ce chapitre.

Lorsque le pavage est déformé, le "diamètre d'une cellule" est en moyenne égal au pas du pavage a . Le diamètre varie, autour de sa moyenne a , selon la déformation que nous introduisons dans le modèle (voir partie 3.1.1.3).

4.2.3 Valeurs des paramètres en fonction des expériences

Les données expérimentales que nous avons utilisées dans cette partie, correspondent à deux séries distinctes où les conditions varient légèrement : la taille des sphéroïdes n'est pas la même dans les deux séries. Il faut donc ajuster cela dans notre modèle. En effet, la taille du sphéroïde conditionne également le nombre de cellules éjectées en fonction du temps ou du nombre d'itérations.

Le diamètre d'un sphéroïde est, dans notre modèle, proportionnel à un nombre impair de diamètres cellulaires : un diamètre de sphéroïde est composé d'une cellule centrale et de cellules mises de part et d'autre de cette cellule centrale. Nous pouvons donc avoir des diamètres d égaux à $3a$, $5a$, $7a$...

4.2.3.1 Concentration cellulaire et intensité des jonctions

Dans la première série, nous avons extrait les profils de concentration expérimentaux (et les vitesses de migration) de cellules tumorales migrant sur un substrat de collagène. Les

⁶Ce paramètre est noté a et correspond à la distance entre les centres de deux sites voisins.

diamètres de sphéroïdes expérimentaux sont en moyenne égaux à $220\mu\text{m}$. Dans ce cas, le paramètre a du pavage est fixé à $35\mu\text{m}$ et le rayon du centre à $r = 3.5a$ (où r est la distance entre les centres des cellules de la périphérie et le centre du site central), correspondant à un diamètre de $245\mu\text{m}$ [6].

Pour ces études de la concentration sur collagène dans la situation témoin, nous avons choisi d'utiliser le nombre de cellules éjectées. Pour cela, nous utiliserons les ajustements affines réalisés sur les courbes de la figure 4.9.

4.2.3.2 Surface de migration et rôle de la communication jonctionnelle

Les données de la deuxième série d'expériences sont les suivantes : les surfaces de migration des cellules tumorales sur collagène et sur monocouche d'astrocytes. Dans ces expériences, le diamètre moyen du sphéroïde est de $100\mu\text{m}$ [85]. Les simulations correspondantes sont obtenues pour la même valeur du paramètre a ($35\mu\text{m}$) mais pour des sphéroïdes plus petits : de diamètre égal à $105\mu\text{m}$ [7].

En ce qui concerne le calibrage du temps, pour les simulations suivantes :

- lorsque les jonctions communicantes sont inhibées sur collagène,
- avec et sans inhibition de ces jonctions sur monocouche d'astrocytes,

la relation linéaire est établie, une fois pour toute, dans le cas de la situation témoin entre le temps physique et le nombre d'itérations du modèle. Nous utiliserons alors le tableau 4.1 donnant la correspondance entre le temps physique et le temps de l'automate (soit le nombre d'itérations).

Temps (heures)	Nombre d'itérations
12	110 ± 01
18	164 ± 04
24	218 ± 06
30	271 ± 09
36	325 ± 11
42	378 ± 13
48	432 ± 16
96	860 ± 30

TAB. 4.1 – Correspondance entre le temps physique et le nombre d'itérations de l'automate pour l'étude de la surface de migration sur deux substrats différents, avec et sans inhibition de la communication jonctionnelle (valeurs assimilables à une évolution d'un sphéroïde de $105\mu\text{m}$ de diamètre).

4.3 Résultats

Le modèle ainsi que ses paramètres ayant été fixés, nous pouvons maintenant présenter quelques résultats typiques. Dans cette partie, nous étudierons les caractéristiques de l'évolution de sphéroïdes sur deux substrats différents : un substrat acellulaire (le collagène IV) et une monochouche d'astrocytes. Pour ce faire, nous analyserons les profils de concentration cellulaire et les surfaces de migration en faisant varier les paramètres du modèle : les intensités des communications jonctionnelles homotype et hétérotype, via les paramètres p et q introduits dans le chapitre 3.

4.3.1 Concentration cellulaire et intensité des jonctions homotypes

Les évolutions de migration cellulaire sont réalisées sur une durée de 48 heures, pour différentes valeurs du paramètre p (cf. partie 3.2.1.1). Les cellules migrent en partant de la couronne périphérique du sphéroïde central sur un substrat de collagène. Dans ce cas, seules les interactions entre cellules tumorales sont prises en compte et les cellules migrent selon les règles 1 et 2 décrites dans la partie 3.1.3.1 (ces règles permettent à chaque cellule d'évoluer à chaque itération du modèle et au centre de ne pas se vider de ces cellules) et selon la règle 3 d'interaction détaillée dans la partie 3.2.1.1 (dans les cas des interactions homotypes seules).

4.3.1.1 Exemples de migration de cellules tumorales

Trois situations représentatives de trois valeurs du paramètre p d'interaction ($p = 1$, $p = 0.5$ et $p = 0$) sont données sur la figure 4.10. Le cas $p = 1$ correspond à l'attraction maximale entre cellules, $p = 0.5$ est proche de la diffusion pure, tandis que $p = 0$ décrit une situation dans laquelle les cellules se repoussent au lieu de s'attirer.

Il est également intéressant de remarquer que, comme nous l'attendions, le fait de diminuer la valeur de p revient à augmenter la motilité des cellules, menant ainsi à des distributions plus diffuses. En effet, si les cellules ont besoin d'interagir, elles vont avoir tendance à rester groupées près du sphéroïde. Contrairement au cas précédent, si les cellules se repoussent, elles vont migrer vers les espaces vides de cellules et vont donc fuir le sphéroïde.

4.3.1.2 Profils de concentration cellulaire

L'automate est utilisé dans deux conditions différentes :

- les cellules migrent en réponse aux interactions de contact à travers les jonctions communicantes,
- la migration des cellules dépend de l'intensité des interactions homotypes mais aussi d'une certaine inertie, introduite pour éviter aux cellules de faire "demi-tour" pendant un laps de temps très court.

Dans cette partie, nous comparons les concentrations cellulaires extraites des simulations (calculées selon la méthode décrite dans la partie 3.1.2.1) avec les concentrations expérimentales pour les valeurs du paramètre p suivantes : $p = 1$, $p = 0.5$ et $p = 0$. Ces comparaisons ont pour intérêt de déterminer l'intensité des interactions homotypes. Nous pourrions ainsi monter

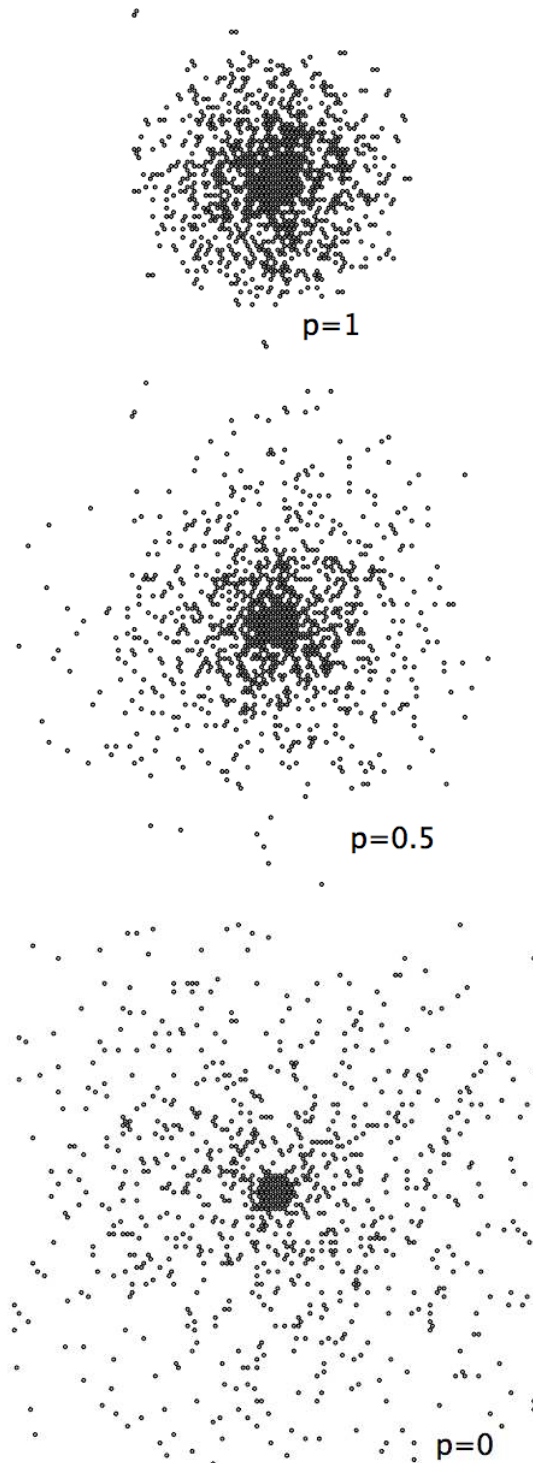


FIG. 4.10 – Exemples de migration cellulaire après 48 heures d'évolution, d'après l'automate, pour différentes valeurs du paramètre d'interaction p ($p = 1$, $p = 0.5$ et $p = 0$).

l'existence d'attraction ou de répulsion entre cellules tumorales, ou qualifier la migration des cellules tumorales de diffusion.

Interactions homotypes seules

Les profils de concentration extraits des simulations, calculés selon la méthode décrite dans la partie 3.1.2.1, sont représentés sur la figure 4.11. Nous pouvons remarquer que la diminution du paramètre p entraîne une dispersion plus importante des cellules. Elles fuient plus rapidement le sphéroïde et la concentration cellulaire proche du sphéroïde en est nettement réduite. Ainsi, la gamme de valeurs de p pouvant être explorée est très grande (voir la figure 4.11). Il apparaît alors clairement possible d'extraire celle qui ajustera au mieux le résultat expérimental. La valeur de p ainsi déterminée nous donnera un renseignement sur l'intensité de l'interaction entre cellules tumorales.

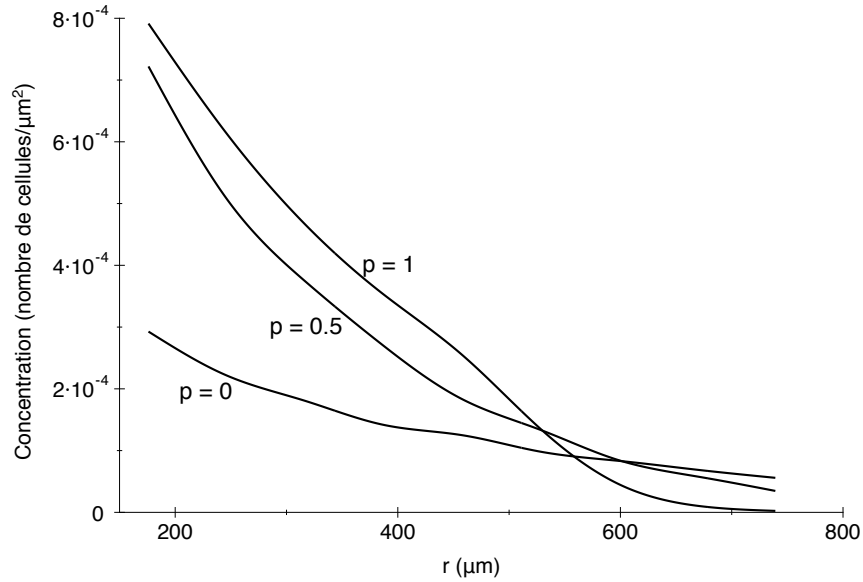


FIG. 4.11 – Profils de concentration pour différents cas d'interactions homotypes ($p = 1$ pour l'attraction maximale, $p = 0,5$ pour la diffusion et $p = 0$ pour la répulsion maximale entre cellules tumorales).

Sur la figure 4.12, nous comparons le profil expérimental à ceux simulés pour différentes valeurs de p ($p = 0.5$ et $p = 1$), pour une évolution de 24 heures. Pour chacune des valeurs de p , nous avons calculé le χ^2 en prenant la courbe extraite des simulations pour ajuster le profil de concentration calculé à partir des expériences. Le χ^2 est calculé de la manière suivante :

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^n \frac{[c_s(i) - c_e(i)]^2}{\sigma_e(i)^2}, \quad (4.1)$$

avec n le nombre de points expérimentaux, $c_s(i)$ les concentrations cellulaires obtenues à partir des simulation, $c_e(i)$ les concentrations cellulaires expérimentales à l'instant correspondant au point i et $\sigma_e(i)^2$ la variance expérimentale.

Il apparaît alors que la valeur du χ^2 la plus petite est obtenue pour le cas $p = 1$. En effet, le rapport des χ^2 , entre le χ^2 pour le cas $p = 0.5$ et le χ^2 pour $p = 1$, vaut 65.

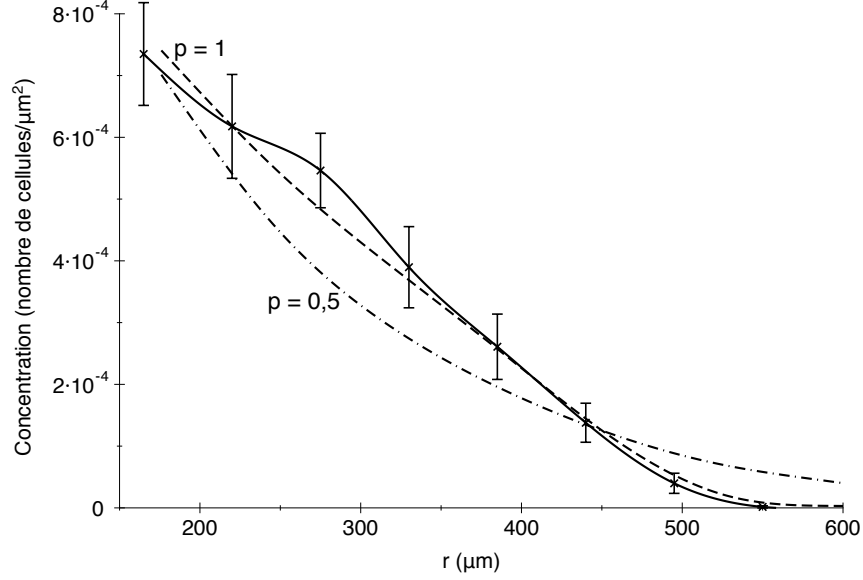


FIG. 4.12 – Comparaison du profil de concentration expérimental (courbe en trait plein avec les barres d'erreur expérimentale) avec les données simulées pour le cas de l'attraction maximale entre cellules tumorales ($p = 1$, courbe en pointillés) et le cas de la diffusion ($p = 0.5$, courbe en trait-point).

Ajout de l'inertie

L'inertie négligée auparavant est maintenant introduite (voir la partie 3.1.3.2). Sur la figure 4.13, nous présentons l'effet de l'inertie dans le cas maximal d'attraction $p = 1$. Il est clair que l'ajout de cet effet produit une plus forte diffusion des cellules. Nous pouvons alors conclure, après comparaison entre les nouveaux profils de concentration simulés et les profils expérimentaux, que l'attraction maximale ($p = 1$), combinée à l'inertie, n'améliore pas l'accord avec les données expérimentales. Le rapport des χ^2 des deux ajustements (rapport entre le χ^2 pour le cas de l'attraction maximale avec inertie des cellules et le χ^2 du cas sans inertie) est en effet de 41.

Évolution de la concentration

La figure 4.14 donne les profils de concentration pour 12, 24, 36 et 48 heures. Nous pouvons remarquer que les courbes de concentration sont pratiquement linéaires. Ces courbes n'ont pas une queue très prononcée. Ces deux caractéristiques penchent en défaveur d'une migration par diffusion. La concentration des cellules migrantes dépend donc fortement des interactions de contact entre cellules, dont le comportement dévie d'un comportement migratoire purement diffusif.

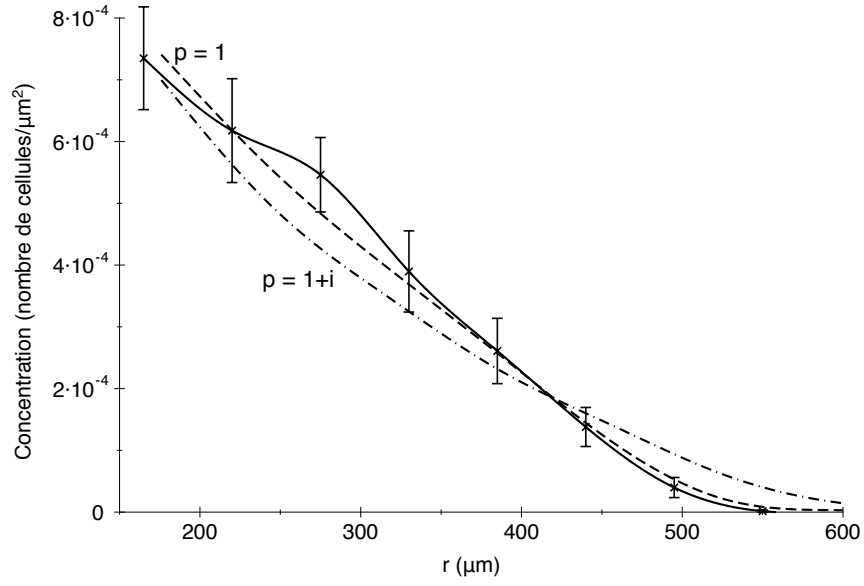


FIG. 4.13 – Comparaison du profil de concentration expérimental (courbe en trait plein avec les barres d'erreur expérimentale) avec les données simulées pour le cas de l'attraction maximale entre cellules tumorales ($p = 1$, courbe en pointillées) et l'attraction maximale avec inertie ($p = 1 + i$, courbe en trait-point).

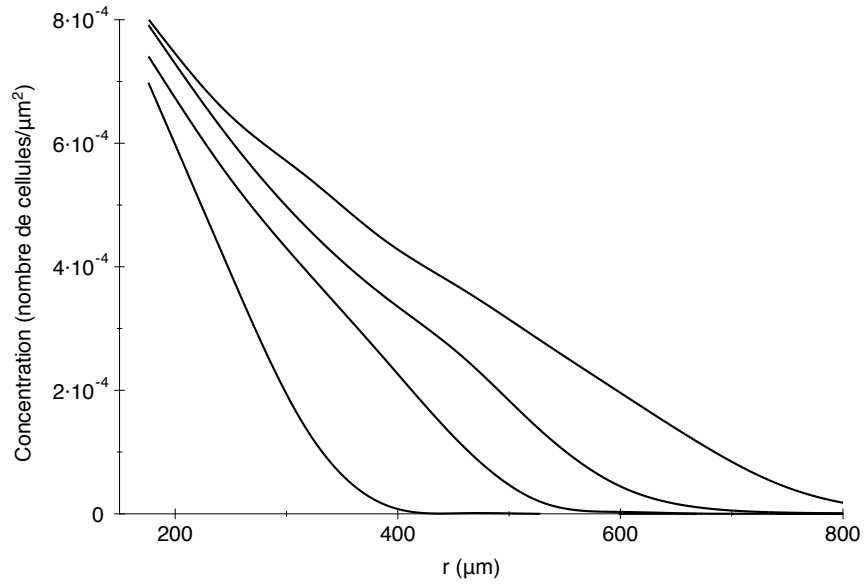


FIG. 4.14 – Profils de concentration obtenus à partir du modèle, pour des nombres d'itérations correspondant à des évolutions de 12, 24, 36 et 48 heures.

4.3.1.3 Distributions des vitesses

Notre analyse est complétée par une étude des distributions des vitesses obtenues à l'aide des simulations. Quelques mots d'avertissement sont cependant nécessaires ici. L'échelle de temps de 20 min utilisée dans l'étude expérimentale est particulièrement courte. Elle correspond en effet à environ deux itérations de l'automate. De plus, l'utilisation d'un pavage hexagonal impose un mouvement minimal du centre de la cellule d'au moins un diamètre cellulaire, c'est-à-dire $35\mu\text{m}$ dans notre modèle. La comparaison des valeurs absolues des vitesses de notre modèle et de celles obtenues expérimentalement n'est ainsi pas particulièrement intéressante. Par contre, le rapport entre les vitesses moyennes sur des intervalles courts et longs ($\bar{v}_c/\bar{v}_l$) a une signification puisque c'est une mesure de la complexité de la trajectoire du centre de gravité de la cellule. Le rapport calculé à partir des simulations est de 5.8, en accord parfait avec la valeur expérimentale (voir partie 3.1.2.3 et les figures 4.8). Cette valeur est obtenue pour une migration dépendant uniquement des interactions homotypes.

Les distributions des vitesses confirment le fait que l'introduction de l'inertie n'est pas nécessaire. En effet, dans ce cas, le rapport entre les vitesses moyennées sur des intervalles courts et longs est égal à 2.3. Ce rapport, plus faible que dans le cas sans inertie, confirme le fait que l'inertie introduit des trajectoires plus linéaires, moins chahutées.

Nous avons également analysé la vitesse de migration des cellules sur 48 heures. Pour cela, nous nous focalisons sur les seules cellules qui ont été éjectées pendant les 12 premières minutes. La distribution de ces vitesses est présentée sur la figure 4.15. À ces échelles de temps, la distance parcourue par les cellules est bien supérieure au pas minimal de notre modèle (égal au paramètre du maillage a et au "diamètre" d'une cellule). Ainsi, le caractère discret de notre modèle a un effet minimal sur la valeur des vitesses et donc sur la distribution des vitesses. Il serait intéressant de comparer cette valeur de $6.6 \pm 2.8\mu\text{m/h}$ à des données expérimentales de vitesses, calculées sur un intervalle de temps très long.

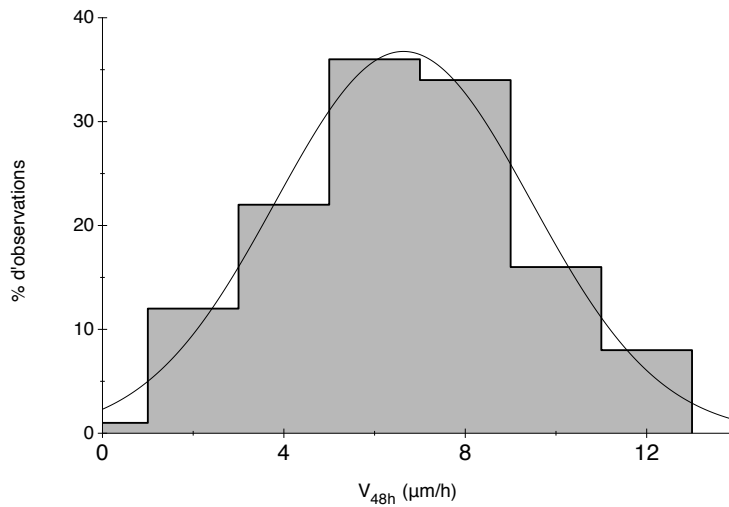


FIG. 4.15 – Distribution des vitesses moyennes sur une évolution de 48 heures, des cellules éjectées pendant les 12 premières heures (à partir du modèle).

Les valeurs des vitesses de migration que j'ai pu trouver dans la littérature, conduisent à des valeurs similaires, mais assez dispersées. Les auteurs de [20, 27, 55] se sont intéressés à la migration de cellules de glioblastomes (cellules de la lignée U87 ou issues de crâniotomies) sur des substrats de composés de la matrice extracellulaire. Les vitesses sont calculées sur des temps courts ou très longs. Hegedüs et al. [55] ont mesuré une vitesse moyenne sur une heure comprise entre 6 et $25\mu\text{m/h}$, dépendant de la concentration cellulaire (lorsque cette concentration est faible, les cellules ont un comportement aléatoire alors que la migration semble dirigée lorsque la concentration cellulaire est élevée). Les deux autres publications s'intéressent à la vitesse calculée sur 24 heures : Deisboeck et al. [27] ont déterminé des vitesses de migration comprises entre 1.7 et $5\mu\text{m/h}$ alors que Chicoine et al. [20] donnent une vitesse moyenne de $12.5\mu\text{m/h}$. Ces derniers ont par ailleurs remarqué, que la vitesse des cellules augmente lorsqu'elles évoluent dans un milieu contenant davantage de sérum.

4.3.1.4 Conclusion

Dans cette partie, nous avons étudié la migration *in vitro* de cellules de glioblastomes en deux dimensions sur un substrat de collagène. Notre approche, basée sur un automate cellulaire, permet de modéliser la migration de cellules. Cet automate permet d'introduire des interactions de contact entre cellules (en définissant des règles de migration). En comparant notre modèle à des expériences de migration *in vitro*, nous pouvons en conclure que nous devons introduire une attraction entre cellules tumorales pour reproduire les données expérimentales. Sous cette condition, la cellule ne peut migrer que si elle reste en contact avec l'une de ses anciennes voisines. Un autre effet a été introduit dans notre modèle et étudié : l'inertie. Cet effet force les cellules à migrer "en avant", afin d'éviter qu'elles ne fassent demi-tour pendant un laps de temps très court. Cependant, nous avons montré que l'introduction d'inertie dans notre automate n'améliore pas les résultats (courbe de concentration et vitesses de migration).

Pour conclure sur notre modèle de migration, nous avons montré qu'il existait une attraction entre cellules tumorales. Cette attraction est nécessaire pour reproduire les résultats expérimentaux. Cet effet a pour conséquence de montrer que la migration ne résulte pas d'un phénomène de diffusion : les cellules ne diffusent pas de manière brownienne.

Bien que les expériences dont nous tirons nos conclusions soient éloignées des conditions *in vivo*, nous supposons que ces interactions de contact entre cellules doivent jouer un rôle dans la migration des cellules tumorales et dans l'invasion des tissus sains. Néanmoins, nous ne sommes pas en mesure, d'après ces résultats, de déterminer l'origine de cette attraction entre cellules. Cette attraction de contact peut résulter de différents mécanismes impliquant les cadhérines ou les jonctions communicantes.

Pour se rapprocher des conditions *in vivo* et essayer de trancher sur l'implication des jonctions communicantes dans l'attraction entre cellules, l'étape suivante consiste à analyser le comportement des cellules tumorales en inhibant leurs jonctions communicantes et/ou en présence d'astrocytes sains.

4.3.2 Surface de migration et rôle de la communication jonctionnelle

Dans cette partie, nous étudions l'effet de la communication jonctionnelle sur la migration des cellules tumorales sur deux substrats différents : un substrat composé de collagène IV (communication homotype) et une monocouche d'astrocytes (communication hétérotype). Notre modèle est décrit dans le chapitre 3. Dans les deux cas de migration, les règles 1 et 2, décrites dans la partie 3.1.3.1, s'appliquent. Seule la règle 3 est modifiée selon la présence ou non d'interactions hétérotypes. Dans le cas où seules les jonctions homotypes interviennent (c'est-à-dire lorsque les cellules migrent sur du collagène), la règle 3 est décrite dans la partie 3.2.1.1. Lorsque la communication hétérotype s'y ajoute, la règle de migration 3 est modifiée de manière à faire intervenir les astrocytes (voir la partie 3.2.1.2).

Pour quantifier les interactions dues aux jonctions homotypes et hétérotypes, nous comparons notre modèle à des expériences publiées dans [85]) et quelques données supplémentaires, que nous avons extraites de nouvelles expériences. Dans [85], présentant notamment les résultats de migration sur une monocouche d'astrocytes, les auteurs quantifient l'invasion en calculant les rapports de surface de migration. C'est en utilisant ces données de surface de migration que nous comparons notre modèle aux expériences (voir la partie 3.1.2.2 pour la calcul de la surface de migration).

4.3.2.1 Migration sur collagène

Nous calculons, d'après notre modèle, les surfaces de migration (voir la partie 3.1.2.2) à des instants correspondant à des évolutions de 12, 24, 36 et 48 heures (comparées aux nouvelles données expérimentales) et 4 jours (comparée au résultat publié dans [85]). Les valeurs expérimentales des rapports de surface sont présentées sur la partie supérieure de la figure 4.6.

Avec notre modèle, nous cherchons à reproduire la migration avec et sans inhibition des jonctions communicantes et donc le rôle des jonctions communicantes. Rappelons que lorsque les cellules migrent sur du collagène, seules les jonctions communicantes homotypes interviennent.

Situation témoin

Pour le cas de la migration sur un substrat de collagène, nous avons vu, dans la partie 4.3.1.2, qu'il est nécessaire d'introduire une attraction maximale entre cellules tumorales pour reproduire la concentration expérimentale (voir la figure 4.12). Cela signifie que nous devons prendre le paramètre p égal à 1. Nous supposons que la même attraction maximale est présente dans ces expériences (et dans le modèle). Nous choisissons donc de simuler la situation témoin en prenant $p_+ = 1^7$. Nous avons alors simulé la migration de cellules tumorales issues d'un sphéroïde dont la taille correspond à la valeur expérimentale. Nous nous sommes intéressés à

⁷L'index + est associé à la valeur de la probabilité dans la situation témoin, alors que l'index - est utilisé dans le cas où les jonctions communicantes sont inhibées.

la surface de migration des cellules tumorales. Chaque évolution a été réalisée 300 fois afin d'obtenir une grande statistique en un temps raisonnable.

Situation où les jonctions communicantes sont inhibées

Quand les jonctions communicantes sont inhibées, l'attraction entre cellules tumorales diminue. Ces résultats ont été observés expérimentalement (voir la partie 4.1.3.2). La figure 4.5, où apparaissent deux évolutions de cellules tumorales issues d'un sphéroïde (dans la situation témoin et dans la situation où l'inhibition des jonctions communicantes est effective), montre que les cellules migrent davantage lorsque les jonctions communicantes sont inhibées. Ainsi, l'inhibition de ces jonctions a pour conséquence vraisemblable une diminution de l'attraction entre cellules. En effet, nous avons pu voir, d'après notre automate cellulaire, que les cellules migrent plus loin et plus vite lorsque le paramètre p diminue et donc, lorsque l'attraction des cellules décroît (voir les figures 4.10 et 4.11).

Nous représentons donc cette décroissance de l'attraction en diminuant la valeur du paramètre p_-^7 , tout en gardant $p_- \geq 0.5$. En effet, nous supposons que l'inhibition des jonctions communicantes ne peut introduire une forme de répulsion entre les cellules tumorales. Notons que si les effets de l'inhibition des jonctions communicantes sont reproduits par le modèle avec une valeur de p_- égale à 0.5, cela signifie que l'attraction entre cellules tumorales est uniquement due à l'action de ces jonctions.

De même que pour la situation témoin, nous focalisons notre étude sur le calcul de la surface de migration, surface que nous comparons à la surface dans la situation témoin en calculant le rapport entre les deux surfaces ("rapport de surface entre inhibition et situation témoin"). Le même nombre d'évolutions que dans la situation témoin a été simulé pour limiter les fluctuations des données.

Comparaison entre situation où les jonctions communicantes sont inhibées et situation témoin

Une fois les deux situations simulées, nous comparons les surfaces de migration dans la situation témoin ($p_+ = 1$) et dans la situation où les jonctions communicantes sont inhibées ($0.5 \leq p_- < 1$). Sur la figure 4.16, nous avons tracé le rapport de surface entre inhibition et situation témoin, en fonction du nombre d'itérations de l'automate. Sur cette figure, sont superposés les rapports expérimentaux à 12, 24, 36 et 48 heures, ainsi qu'à 4 jours. D'après les simulations, le rapport augmente (bien que lentement) avec le temps et dépend fortement de la valeur du paramètre p_- . Ce rapport de surface est supérieur à 1 dès que p_- est inférieur à 1. Cette observation est cohérente avec le fait que les cellules migrent davantage lorsque les jonctions communicantes sont inhibées.

La comparaison avec les données expérimentales nous indique que la valeur de p_- que nous devons considérer, se situe dans la région 0.5–0.6. En effet, pour ces valeurs de p_- , les courbes obtenues à partir des simulations sont comprises dans les barres d'erreur expérimentale. Nous avons opté pour une valeur de p_- égale à 0.5 pour notre comparaison finale. La raison pour laquelle nous avons choisi ce rapport est que les résultats obtenus sont ceux qui se rapprochent

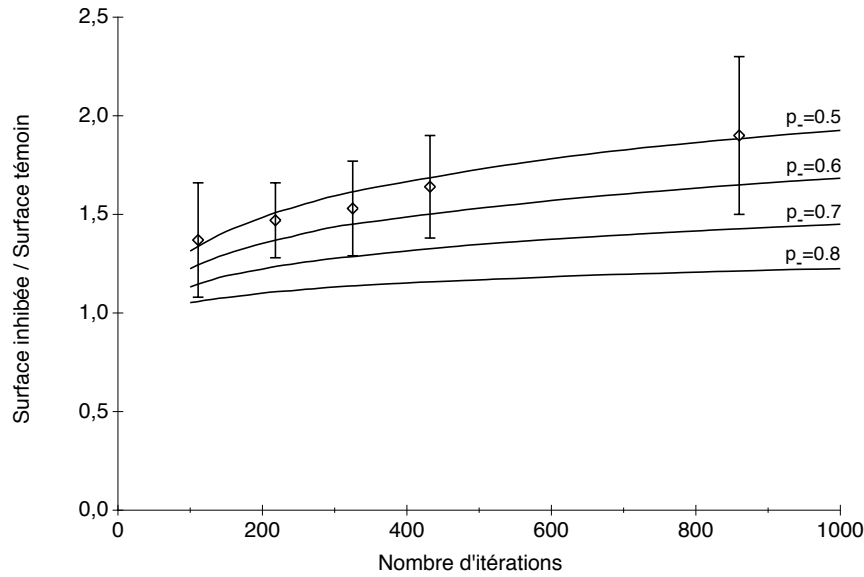


FIG. 4.16 – Rapport de surface entre inhibition et situation témoin pour les données expérimentales (losanges à 12, 24, 36 et 48 heures ainsi qu'à 4 jours, avec les barres d'erreur expérimentales) et les données simulées (courbes), pour différentes valeurs de p_- . L'écart type pour le modèle (non représenté sur la figure par souci de clarté) est égal à 0,18, quelque soit le nombre d'itérations de l'automate.

le plus des points expérimentaux (sans barre d'erreur). Cette valeur revient également à inhiber toute attraction entre cellules tumorales.

Notons que les barres d'erreur sur les résultats des simulations ont été estimées à 0,18, quelque soit le nombre d'itérations. Ces erreurs sont bien inférieures aux erreurs expérimentales et n'ont pas été représentées sur la figure par souci de clarté.

Remarque : variation du rapport en fonction de la taille du sphéroïde

Sur la figure 4.17, nous pouvons remarquer que les résultats dépendent fortement de la taille du sphéroïde. Sur cette figure, le rapport de surface de migration entre inhibition ($p_- = 0.5$) et situation témoin ($p = 1$) (aussi appelé "Surface inhibée/Surface témoin") est donné en fonction du rayon du sphéroïde. Il est donc important de calibrer le modèle afin d'avoir des tailles de centres très similaires aux tailles des sphéroïdes expérimentaux. Cependant, compte tenu de la caractéristique discrète du maillage, ces tailles de sphéroïdes ne peuvent pas être exactement égales. Il faut donc essayer de s'en rapprocher le plus possible.

Dans les résultats précédents, nous avons pris des centres dont le diamètre est égal à $105\mu\text{m}$. Dans les expériences correspondantes, le diamètre des sphéroïdes est en moyenne égale à $100\mu\text{m}$. Il est donc difficile d'avoir des valeurs plus concordantes, compte tenu de la taille du pas qui est de $35\mu\text{m}$. C'est cette valeur de $105\mu\text{m}$ de diamètre que nous continuerons d'utiliser pour la suite des résultats.

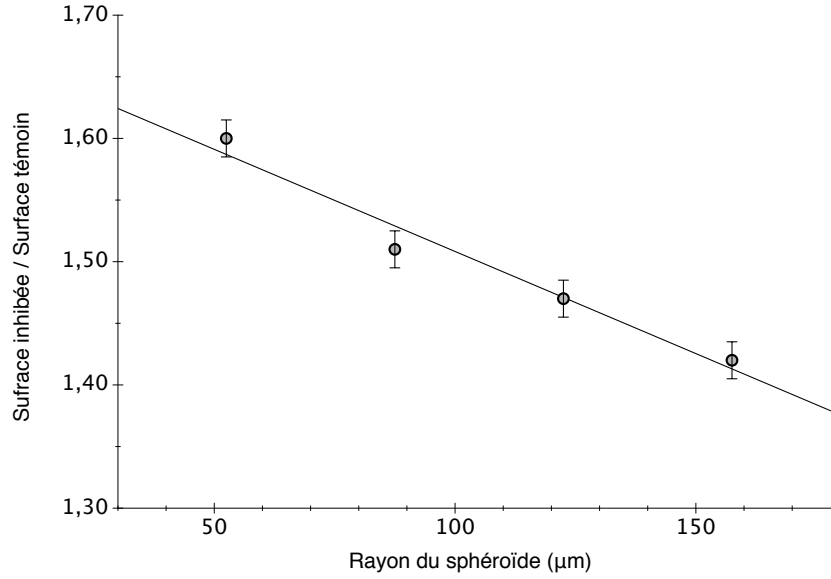


FIG. 4.17 – Rapports de surface entre inhibition ($p_- = 0.5$) et situation témoin, à partir de l'automate, en fonction du rayon du sphéroïde, pour une migration de 24 heures.

4.3.2.2 Migration sur monocouche d'astrocytes

En ce qui concerne la migration sur une monocouche d'astrocytes, les données expérimentales avec lesquelles nous comparons notre modèle (publiées dans [85]) sont obtenues après 18, 30 et 42 heures de migration. Les jonctions communicantes sont soit actives, soit inhibées. Dans le cas de la migration sur une monocouche d'astrocytes, les jonctions hétérotypes s'ajoutent aux jonctions homotypes.

Situation témoin

Pour modéliser cette migration, nous commençons par nous intéresser à la situation témoin où les jonctions communicantes sont actives. Nous avons vu, sur collagène, que les interactions entre cellules correspondent à une attraction maximale entre cellules lorsque ces jonctions sont actives. Nous supposons que nous pouvons transférer ce comportement à la migration sur une monocouche d'astrocytes, en considérant une attraction maximale entre cellules (quelles soient tumorales ou saines). Le paramètre quantifiant l'interaction entre cellules tumorales (interaction homotype), p_+ , est pris égal à 1 ; de même que le paramètre donnant l'intensité de l'interaction entre cellules tumorales et astrocytes sains (interaction hétérotype), q_+ . Ces simulations ont été effectuées pour différentes valeurs du pourcentage d'occupation effective de la couche d'astrocytes P_{occ} (voir partie 3.2.1.2).

Situation où les jonctions communicantes sont inhibées

Lorsque les jonctions communicantes sont inhibées, l'attraction entre cellules tumorales est réduite. Cela conduit à diminuer le paramètre p dans notre modèle (ainsi, $p_- < 1$). La même diminution d'attraction doit être observée entre cellules tumorales et astrocytes sains.

Nous obtenons cela lorsque q_- est inférieur à 1. Nous émettons l'hypothèse que le CBX agit de la même manière sur les jonctions homotypes et hétérotypes. Cette hypothèse conduit à la condition que p_- et q_- doivent être égaux. De plus, nous supposons que le CBX a un effet équivalent sur les jonctions communicantes, que les cellules tumorales migrent sur un substrat de collagène ou sur une monocouche d'astrocytes. En conséquence, l'inhibition des jonctions homotypes amène à considérer $p_- = 0.5$ (voir partie 4.3.2.1) et donc $q_- = 0.5$. Les simulations de migration de cellules tumorales lorsque les jonctions communicantes sont inhibées sont également réalisées pour différentes valeurs de P_{occ} , afin de comparer les surfaces de migration dans les situations où les jonctions sont, ou non, inhibées.

Comparaison entre situation où les jonctions communicantes sont inhibées et situation témoin

Nous avons calculé le rapport de la surface de migration entre inhibition (avec $p_- = q_- = 0.5$) et situation témoin (avec $p_+ = q_+ = 1$). La figure 4.18 montre la variation du rapport de surface de migration entre inhibition et situation témoin en fonction du pourcentage d'occupation de la monocouche d'astrocytes P_{occ} . Nous pouvons noter que, contrairement à la situation sur collagène, le rapport de surface de migration est ici inférieur à 1 : l'inhibition des jonctions communicantes correspond à une diminution de l'invasion des cellules tumorales.

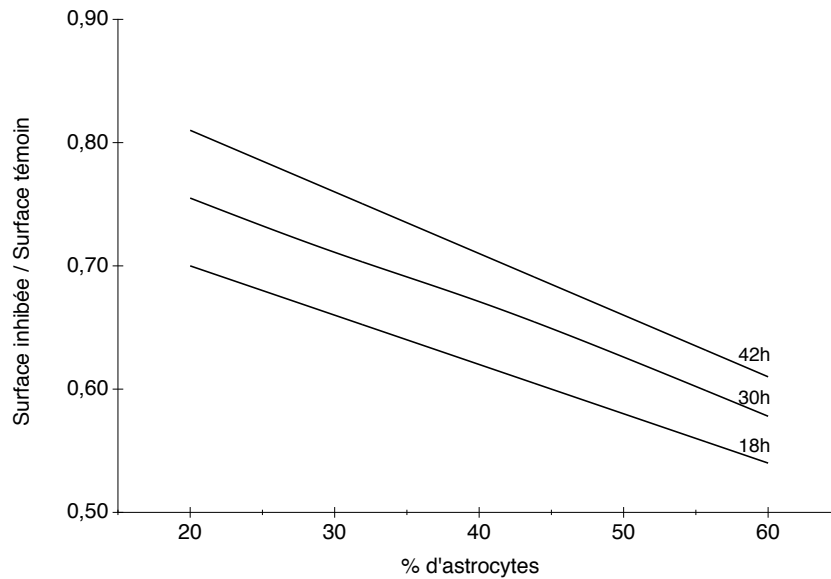


FIG. 4.18 – Rapport de surface entre inhibition et situation témoin pour les simulations, en fonction du pourcentage d'occupation effective de la couche d'astrocytes P_{occ} , pour différents temps de migration (18, 30 et 42 heures). L'écart type pour le modèle (non représenté sur la figure par souci de clarté) est égal, quelque soit le nombre d'itérations de l'automate, à 0,06.

Ces valeurs sont à comparer avec les données expérimentales référencées dans le tableau 4.2.

Si nous comparons les données expérimentales et les résultats issus des simulations, nous devons avoir le pourcentage P_{occ} compris entre 38 et 45 %. Afin de choisir un chiffre "rond",

Temps (heures)	Surface inhibée/Surface témoin
18	0.69 ± 0.09
30	0.70 ± 0.06
42	0.62 ± 0.11

TAB. 4.2 – Valeurs expérimentales du rapport de surface entre inhibition et situation témoin, lorsque les cellules tumorales migrent sur une monocouche d’astrocytes.

nous avons choisi d’utiliser $P_{occ} = 40\%$ pour notre comparaison finale.

4.3.2.3 Comparaisons finales

Les comparaisons finales entre simulations et expériences sont présentées sur la figure 4.19. La partie supérieure de la figure, où les valeurs des rapports sont représentées par des losanges, correspond à la migration sur un substrat de collagène. En effet, comme nous l’avons remarqué dans la partie 4.3.2.1, l’inhibition des jonctions communicantes entraîne une migration des cellules plus importante. Les triangles de la partie inférieure de la figure 4.19 font référence aux évolutions sur une monocouche d’astrocytes. Dans cette situation, le rapport de surface de migration entre inhibition et situation témoin est inférieur à 1 : l’inhibition des jonctions communicantes diminue la motilité des cellules.

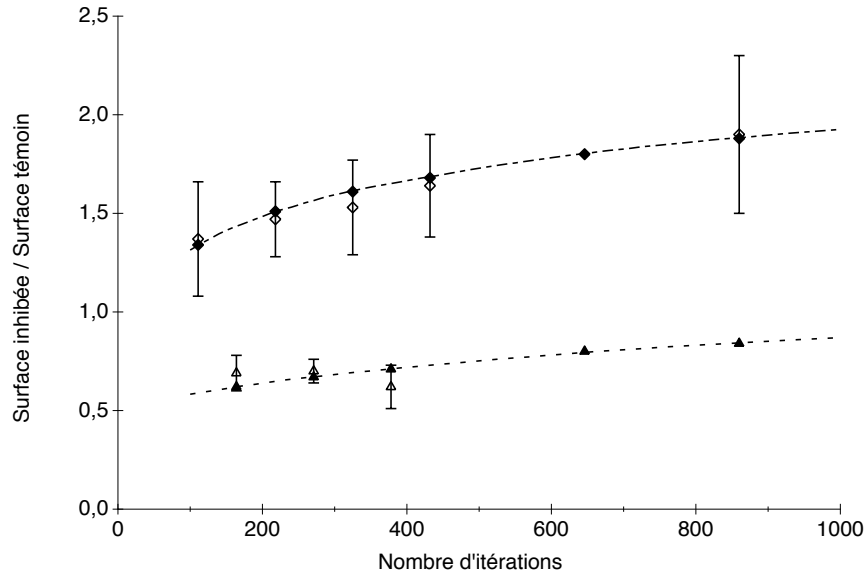


FIG. 4.19 – Rapport de surface entre inhibition et situation témoin à partir des données expérimentales (symboles blancs) et à partir des simulations (courbes en pointillés et symboles noirs), en fonction du nombre d’itérations. Le cas de la migration sur un substrat de collagène IV est représenté avec des losanges et celui de la migration sur une monocouche d’astrocytes avec des triangles. L’écart type pour le modèle (non représenté sur la figure par souci de clarté) est égal, quelque soit le nombre d’itérations de l’automate, à 0.18 pour la migration sur collagène et 0.06 pour la migration sur astrocytes.

Sur la figure 4.20, nous pouvons voir 4 exemples d’évolutions de migration sur collagène

(figure 4.20 (a) et (b)) et sur astrocytes (figure 4.20 (c) et (d)), avec et sans inhibition des jonctions communicantes, d'après notre modèle. Les figures 4.20 (a) et (b) représentent deux évolutions sur collagène, après 48 heures de migration, dans la situation témoin où $p_+ = 1$ (figure 4.20 (a)) et dans la situation où les jonctions communicantes sont inhibées avec $p_- = 0.5$ (figure 4.20 (b)). Nous pouvons remarquer, à l'oeil nu, que les cellules tumorales migrent davantage lorsque les jonctions communicantes sont inhibées. La migration sur astrocytes correspond aux figures 4.20 (c) et (d), après une évolution de 42 heures. Le pourcentage d'occupation effective de la couche d'astrocytes P_{occ} est choisi égal à 40%. La situation témoin où $p_+ = q_+ = 1$ est représentée sur la figure 4.20 (c). La figure 4.20 (d) fait référence à la migration des cellules tumorales lorsque les jonctions communicantes sont inhibées, avec $p_+ = q_+ = 0.5$. Sur ces figures, les astrocytes sont représentés en gris clair alors que la position des cellules tumorales est marquée par la présence de cercles gris foncés. Nous pouvons observer que la migration des cellules tumorales est réduite lorsque la communication jonctionnelle est inhibée.

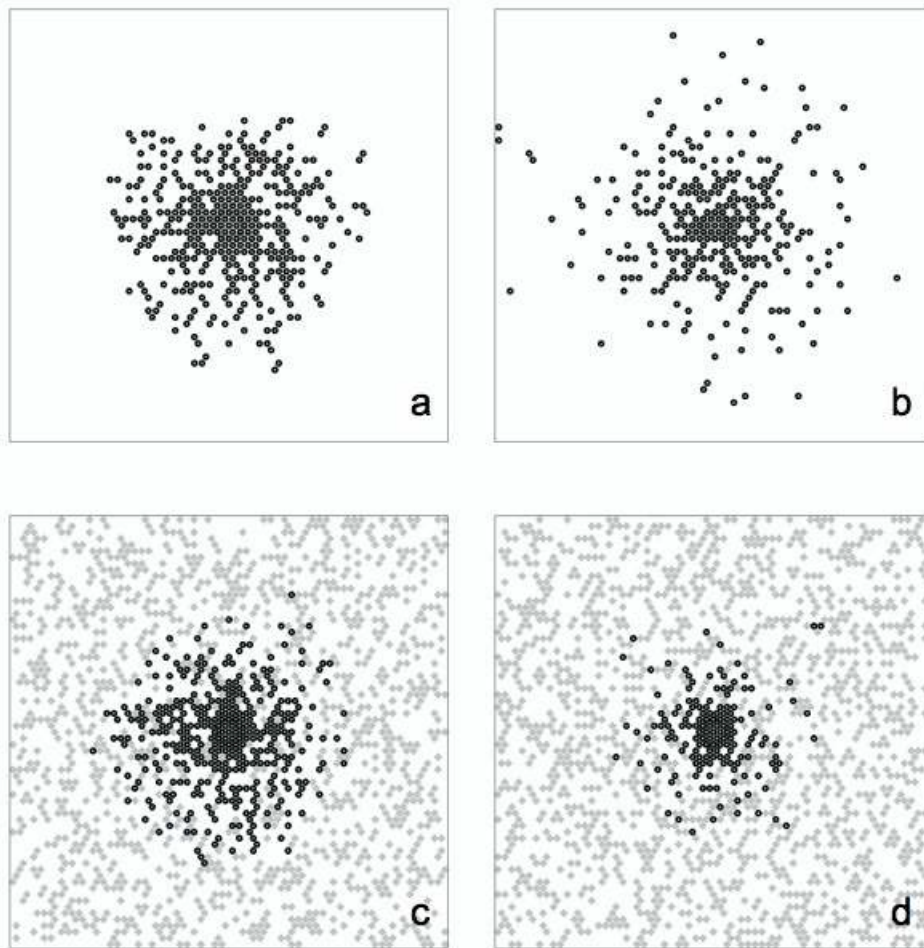


FIG. 4.20 – Exemples d'évolution de cellules tumorales issues d'un sphéroïde et migrant sur un substrat de collagène pendant 48 heures : (a) cas $p = 1$ et (b) cas $p = 0.5$ (à partir de l'automate).

4.3.2.4 Conclusion

Cette deuxième étude a permis de se pencher sur le rôle des jonctions communicantes dans l'attraction entre cellules. En effet, nous avons analysé le comportement migratoire des cellules tumorales lorsque ces jonctions sont, ou non, inhibées. Notre modèle est le même que celui utilisé précédemment. Les interactions de contact sont introduites en faisant apparaître des règles locales de migration.

Migration sur un substrat de collagène

Pour simuler la migration des cellules tumorales sur un substrat de collagène, les cellules ont une probabilité p de migrer vers un site libre situé à proximité de l'une de ses anciennes voisines. Ce paramètre est compris entre 0 et 1. Dans les conditions "normales"⁸, l'attraction est maximale, p_+ doit être égal à 1. Une diminution de p correspond à une diminution de l'attraction entre cellules tumorales.

Les expériences de migration sur un substrat de collagène ont montré que lorsque ces jonctions sont inhibées, l'attraction entre cellules tumorales est très réduite voire supprimée. Ainsi, notre modèle reproduit la migration de cellules tumorales, dont les jonctions ont été inhibées, en prenant une valeur de p_- proche de 0.5 – 0.6 (voir figure 4.16). Nous avons opté pour $p_- = 0.5$. Cette valeur correspond à l'absence totale d'attraction (et de répulsion) entre cellules tumorales lorsque les jonctions communicantes sont inhibées.

Migration sur une monocouche d'astrocytes

Je rappelle que dans le cas de la migration sur une monocouche d'astrocytes, nous considérons deux couches : une pour l'évolution des cellules tumorales et l'autre correspondant à la monocouche d'astrocytes. Les cellules tumorales ne pénètrent pas dans cette dernière couche mais se déplacent sur les astrocytes. Cependant, expérimentalement, les cellules tumorales ne communiquent, via les jonctions communicantes, qu'avec un nombre limité d'astrocytes. C'est pour cette raison que nous avons introduit le pourcentage d'occupation effective de la monocouche P_{occ} auquel nous avons attribué la valeur de 40 %.

Dans le cas de la migration sur une monocouche d'astrocytes, les cellules tumorales se déplacent dans leur couche avec la même règle que précédemment, selon la valeur du paramètre p . A cette condition, s'ajoute une autre, liée à l'introduction des astrocytes : nous introduisons la probabilité q d'aller sur un astrocyte. Sans inhibition des jonctions communicantes, nous avons $p_+ = q_+ = 1$. Lorsque ces jonctions sont inhibées, nous devons diminuer ces deux paramètres dans les mêmes proportions : nous obtenons alors $p_- = q_- = 0.5$.

Nous obtenons alors que la migration est réduite lorsque les cellules tumorales évoluent sur une monocouche d'astrocytes, ce qui est compatible avec les données expérimentales. En effet, lorsque $q = 0.5$, 50 % des cellules tumorales évitent les sites situés sur un astrocyte. Les astrocytes jouent alors un rôle d'obstacle dans la migration des cellules tumorales. Ce phénomène explique pourquoi la migration est réduite, comparée au cas où $q = 1$.

⁸c'est-à-dire sans inhibition des jonctions communicantes.

Si ce dernier résultat est confirmé *in vivo*, il pourrait avoir un intérêt clinique : la migration des cellules tumorales pourrait être réduite en inhibant les canaux jonctionnels des cellules tumorales. Cependant, il n'existe pas, à l'heure actuelle, de processus pouvant inhiber les jonctions communicantes de manière ciblée. Par exemple, lorsque le CBX est appliqué, toutes les cellules sont touchées et non uniquement les cellules tumorales.

4.4 Conclusion générale

Dans ce chapitre, j'ai présenté des résultats de notre automate où les jonctions homotypes et hétérotypes sont modélisées de la même manière, en introduisant une attraction locale entre cellules. Cet automate, bien que très simple, permet de reproduire la migration de cellules tumorales sur deux substrats différents (sur un substrat de collagène et sur une monocouche d'astrocytes) et le rôle des communications jonctionnelles homotype et hétérotype. Nous prenons en compte un nombre très faible de paramètres (2 ou 4 suivant le substrat de migration) :

- a : la taille de la cellule,
- p : la probabilité qu'une cellule tumorales migre sur un site libre en contact avec l'une de ses anciennes voisines (mesure de l'intensité de communication homotype),
- q : la probabilité qu'une cellule tumorale migre sur un site libre situé sur un astrocyte (mesure de l'intensité de communication hétérotype) (*uniquement pour la migration sur une monocouche d'astrocytes*),
- P_{occ} : le pourcentage d'occupation effective de la monocouche (*uniquement pour la migration sur une monocouche d'astrocytes*).

Ce modèle a montré :

- qu'il est nécessaire de tenir compte des interactions de contact qui interviennent lors de la migration des cellules tumorales pour reproduire les profils de concentration expérimentaux,
- que ces interactions introduisent une attraction entre cellules tumorales,
- que les jonctions communicantes sont, du moins en partie, responsables de cette attraction,
- que l'inhibition des jonctions communicantes, entraîne une migration accrue des cellules tumorales évoluant sur un substrat de collagène,
- que la migration des cellules tumorales, évoluant sur des monocouches d'astrocytes, est réduite lorsque la communication jonctionnelle est inhibée,
- que l'introduction d'une interaction à longue portée n'est pas nécessaire pour reproduire les données expérimentales de migration de cellules tumorales issues de petits sphéroïdes.

Chapitre 5

Migration de cellules issues de sphéroïdes de diamètre supérieur à $400\ \mu\text{m}$

Il s'agit maintenant de s'intéresser à la migration de cellules issues de sphéroïdes plus grands. Par sphéroïdes “plus grands”, nous entendons des sphéroïdes dont la taille est suffisamment importante pour qu'ils développent des régions stressées (hypoxiques et/ou nécrotiques). Or, les cellules de zones hypoxiques et/ou nécrotiques du sphéroïde sécrèteraient un chimio-répulsif (cf. partie 1.2.1.2). En outre, plus la taille de ce sphéroïde est importante, plus les parties stressées sont étendues. Ainsi, il est cohérent de supposer que la quantité de chimio-répulsif sécrété est reliée à la taille du sphéroïde. Il faut également que les sphéroïdes soient assez grands pour développer des zones stressées. L'équipe de Del Maestro [29] a montré l'existence d'une région nécrotique centrale pour des sphéroïdes d'un diamètre proche de $600\ \mu\text{m}$ ($597 \pm 45\ \mu\text{m}$). Cependant, une telle région ne peut exister que si elle est suffisamment distante de l'interface entre le sphéroïde tumoral et le tissu sain. Cette distance doit notamment être supérieure à la limite de diffusion de l'oxygène et/ou des nutriments, équivalente à quelques diamètres de cellules. Ainsi, il est convenable de considérer que les sphéroïdes dont le diamètre serait inférieur à $200 - 300\ \mu\text{m}$ ne possèdent pas de région dépourvue en nutriments ou en oxygène. C'est pourquoi nous n'avons pas tenu compte de la présence d'un chimio-répulsif dans l'étude précédente (voir chapitre 4).

Nous souhaitons maintenant étudier les effets d'interactions à longue portée et plus particulièrement du chimio-répulsif dont l'existence a été supposée par l'équipe de Del Maestro [29, 30, 79, 109, 114] (voir les parties 1.2.1.2 et 3.2.2).

Nous comparons notre modèle à des données expérimentales publiées dans [114]. Pour cela, nous nous basons sur les résultats présentés dans le chapitre précédent. Ces résultats ont mis en évidence la présence d'une interaction attractive entre cellules. Nous prenons donc notre modèle utilisé dans le chapitre précédent auquel nous ajouterons des interactions à longue portée en suivant la méthode d'introduction du chimio-répulsif décrite dans la partie 3.2.2. Ces interactions rendent compte des effets du chimio-répulsif émis par le centre du sphéroïde à partir duquel il diffuse.

5.1 Expériences de Werbowetski et al.

Les résultats expérimentaux que nous avons utilisés ont été publiés dans [114]. Le système développé consiste à quantifier le comportement invasif des cellules tumorales issues de sphéroïdes implantés dans un gel de collagène. D'après les résultats obtenus, les auteurs concluent à l'existence d'un chimio-répulsif sécrété par le sphéroïde. Ce chimio-répulsif agit sur les cellules de gliomes qui modifient leur comportement migratoire en réponse au gradient de la concentration du chimio-répulsif, bien établi à 48 heures.

5.1.1 Culture cellulaire et sphéroïdes

Dans cet article, les cellules étudiées sont issues de lignées de gliomes (la lignée C6, d'astrocytome murin et la lignée U251, de glioblastome humain) et de biopsies de glioblastome humain, ou sont des astrocytes humains. Nous utiliserons uniquement les résultats obtenus à partir des expériences avec les cellules C6.

La lignée C6 est l'une des lignées de rat les plus utilisées. Les cellules C6 dérivent de tumeurs chimiquement induites par des agents alkylants carcinogènes¹ (tels que le méthyl-nitrosourée et l'éthyl-nitrosourée) [94].

Les sphéroïdes de cellules C6 sont obtenus en utilisant une technique similaire à celle expliquée dans le chapitre précédent (voir partie 4.1.1.1). Les sphéroïdes sélectionnés ont un diamètre variant de 450 à 600 μm . Ces sphéroïdes sont ensuite implantés, selon un modèle d'implantation de sphéroïdes développé par l'équipe de Del Maestro, à l'aide d'une pipette Pasteur, dans une solution de collagène I placée sur des boîtes de culture. Les boîtes sont ensuite placées, pendant quelques dizaines de minutes, à 37°C dans un incubateur humidifié à 5% de CO_2 où la solution de collagène se gélifie. Enfin, le gel est recouvert de 500 μl de milieu composé de milieu de culture de cellules C6 et de DMEM. Ce modèle a été largement utilisé pour analyser le comportement invasif de cellules tumorales [30, 109].

5.1.2 Résultats expérimentaux

Dans l'article [114], l'invasion des cellules C6 est observée quotidiennement en utilisant un microscope inversé à contraste de phase. Cette invasion est, en particulier, quantifiée en comptant le nombre de cellules invasives dans chaque couronne (de 75 μm d'épaisseur) entourant le sphéroïde.

Nous nous sommes concentrés sur les résultats obtenus pour les conditions expérimentales suivantes :

- un sphéroïde isolé,
- deux sphéroïdes en co-culture espacés de d , où d est la distance entre les surfaces des deux sphéroïdes,

¹Ces molécules établissent des liaisons chimiques fortes avec l'ADN. Elles peuvent ainsi favoriser l'apparition d'ADN porteur de malformations susceptibles de dégénérer en cancers chimio-induits.

et en fonction du quadrant où est située la cellule² (voir figure 5.1). Le quadrant A fait face au second sphéroïde ; le quadrant C est situé à l'opposé du quadrant A et les quadrants B sont adjacents aux quadrants A et C.

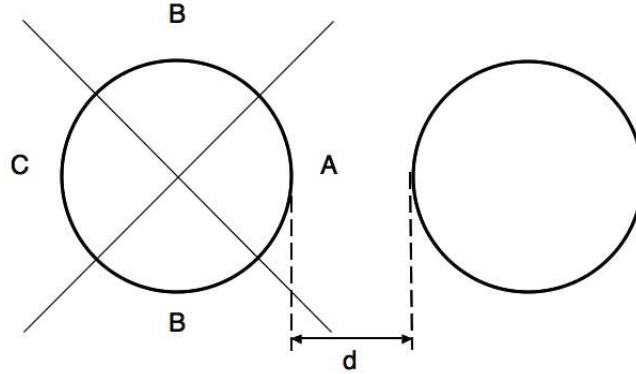


FIG. 5.1 – Représentation schématique des différents quadrants (A, B et C) d'un sphéroïde distant de d d'un autre sphéroïde.

5.1.2.1 Sphéroïde isolé

Dans le cas d'un sphéroïde isolé, nous utilisons ces données pour calculer la concentration cellulaire en fonction de la distance au centre du sphéroïde. Cette concentration est calculée à partir des résultats donnant le nombre de cellules par couronne et par quadrant, en sommant les données des quatre quadrants. Nous pouvons faire cette dernière opération, dans le cas d'un sphéroïde isolé. En effet, les auteurs de [114] n'observent pas de différence significative entre les différents nombres de cellules obtenus pour chaque quadrant : l'évolution d'un sphéroïde isolé est isotrope. La figure 5.2 donne la courbe de concentration, en fonction de la distance au centre, d'un sphéroïde à 48 heures.

Nous pouvons remarquer que cette courbe de concentration est proche d'une droite pour une distance au centre comprise entre 300 et $600\ \mu\text{m}$. Entre 600 et $700\ \mu\text{m}$, nous visualisons une légère cassure dans la pente de cette droite, cassure que nous localisons précisément à $660\ \mu\text{m}$.

À l'aide de notre modèle, nous avons vu que, dans le cas des interactions de contact uniquement, la courbe de concentration est pratiquement linéaire (voir la partie 4.3.1.2). Cette cassure semble donc nous indiquer qu'il manque quelque chose dans notre modèle pour reproduire la courbe de concentration expérimentale.

5.1.2.2 Deux sphéroïdes en co-culture

Dans ces expériences, deux sphéroïdes sont placés à une distance d l'un de l'autre (avec d la distance entre les surfaces des deux sphéroïdes, comme représenté sur la figure 5.1). Les

²Notons la présence, sur la figure 5.1, de deux quadrants B. En effet, par soucis de symétrie, toutes les données de ces deux quadrants, adjacents au quadrant A, ont été moyennées. Nous ferons donc référence à ces quadrants en parlant du ou des "quadrant(s) B".

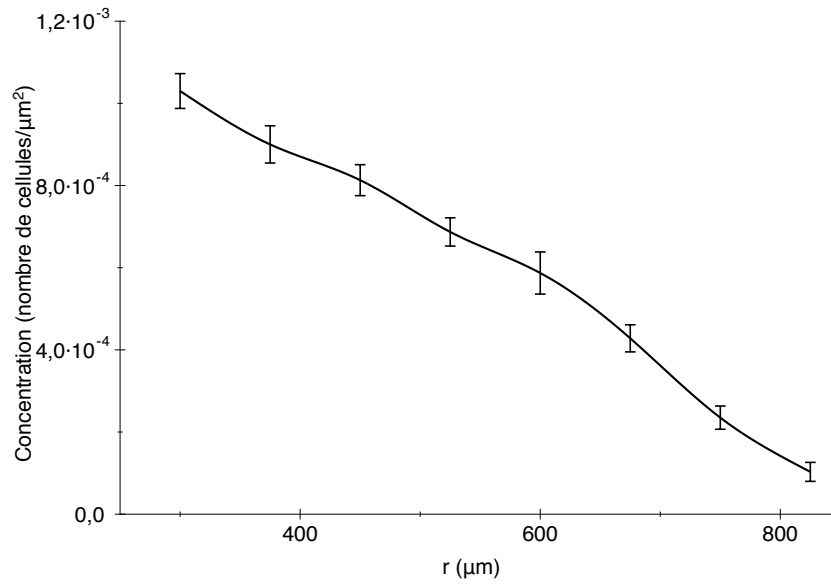


FIG. 5.2 – Profil de concentration expérimental, pour une évolution de 48 heures pour un sphéroïde isolé, obtenu à partir des données de [114]. Les barres d'erreur sont estimées à partir des barres d'erreur expérimentales sur le décompte du nombre de cellules par couronne.

cellules migrent après s'être détachées de l'un ou l'autre des deux sphéroïdes. La figure 5.3 présente la distribution des cellules dans les quadrants A³ (quadrant face à l'autre sphéroïde) et B³ (quadrants adjacents), après 24 et 48 heures. Pour les sphéroïdes étudiés à 24 heures, ils sont espacés de d compris entre 100 et $200\ \mu\text{m}$; alors que ceux étudiés à 48 heures sont espacés de 400 à $600\ \mu\text{m}$.

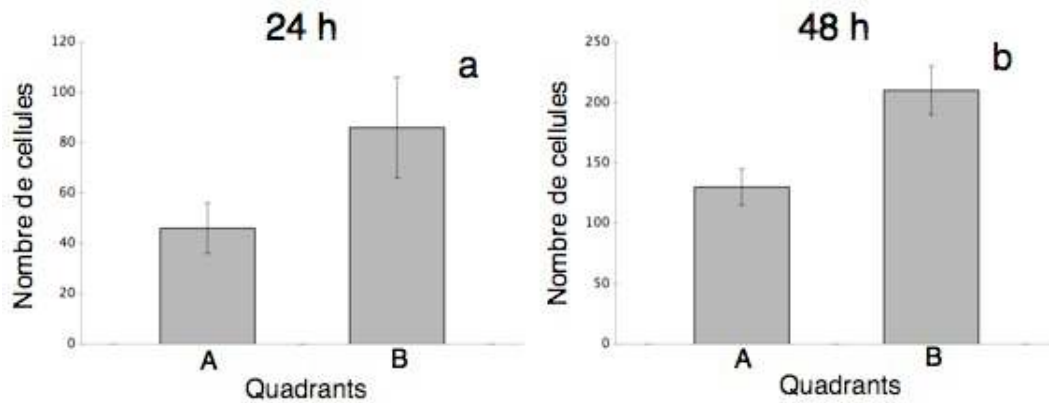


FIG. 5.3 – Nombre de cellules dans les quadrants A et B : (a) à 24 heures ($100 < d < 200\ \mu\text{m}$) et (b) à 48 heures ($400 < d < 600\ \mu\text{m}$) à partir des données de [114].

Sur ces distributions, nous pouvons remarquer que le nombre de cellules est toujours plus faible dans le quadrant A, celui qui fait face à l'autre sphéroïde, que dans les quadrants B. Cette différence significative peut être expliquée par différents phénomènes :

³quelque soit la distance au centre des cellules situées dans le quadrant.

- une modification physique de la matrice de collagène causée par la présence d’un deuxième sphéroïde à proximité (cependant, cette hypothèse a été écartée par Werbowetski et al. [114] en réalisant une série d’expériences où le deuxième sphéroïde est remplacé par une bille de verre),
- la présence physique d’un deuxième sphéroïde, et des cellules issues de celui-ci ; les cellules sont donc en “compétition” pour l’occupation de l’espace. Lorsque l’espace entre les deux sphéroïdes est entièrement occupé par des cellules invasives, les cellules ne peuvent plus migrer et le nombre de cellules dans le quadrant A ne peut plus augmenter,
- la présence d’un chimio-répulsif qui va affecter l’évolution des cellules issues du sphéroïde adjacent.

Grâce à notre modèle, nous avons testé ces deux dernières hypothèses dans des expériences simulées de deux sphéroïdes adjacents. Dans le premier cas, les cellules tumorales ne sont soumises qu’aux interactions de contact avec d’autres cellules tumorales (voir partie 3.2.1.1). Ensuite, les interactions due à un chimio-répulsif ont été ajoutées (voir partie 3.2.1.2) pour comparer les résultats obtenus avec et sans chimio-répulsif.

5.1.3 Conclusion

D’après ces résultats, entre autres, le groupe de Del Maestro conclut à l’existence d’un chimio-répulsif sécrété par le sphéroïde et agissant sur la migration des cellules tumorales. Cependant, bien qu’ils confirment son existence, ils n’ont pas réussi à identifier la substance en question. Ils ne donnent pas non plus d’estimation du coefficient de diffusion. Nous espérons, grâce à notre modèle, pouvoir donner une estimation précise de ce coefficient de diffusion.

5.2 Ajustements des paramètres

De même que pour le chapitre 4, il est important de procéder à l'étape d'ajustement de paramètres avant de pouvoir faire toute comparaison avec les expériences. Il s'agit ici de déterminer le calibrage du temps et de l'espace mais également d'estimer un ordre de grandeur pour la valeur du coefficient de diffusion D_c du chimio-répulsif.

5.2.1 Calibrage du temps

Nous établissons la relation entre le temps physique et le nombre de cellules éjectées d'après les expériences. Cette relation varie suivant les conditions expérimentales : évolution d'un sphéroïde isolé ou de deux sphéroïdes évoluant côte à côte.

5.2.1.1 Sphéroïde isolé

Pour un sphéroïde isolé, le tableau 5.1 donne la correspondance entre le temps et le nombre de cellules éjectées d'après les expériences.

Temps (heures)	Nombre de cellules éjectées
24	270 ± 30
48	1070 ± 70

TAB. 5.1 – Tableau de correspondance entre le nombre de cellules éjectées du sphéroïde et le temps (en heures) pour une évolution impliquant un sphéroïde isolé.

Nous pouvons remarquer que le nombre de cellules est très faible après 24 heures. Nous supposons que, contrairement aux expériences mentionnées dans le chapitre précédent et réalisées par nos collaborateurs, le temps $t = 0$ est déterminé au moment de l'implantation du sphéroïde ou après la gélification⁴. En supposant que la relation entre le nombre de cellules éjectées et le temps est linéaire (comme cela a été montré précédemment), nous estimons que les premières cellules commencent à migrer 16 heures après l'implantation du sphéroïde.

5.2.1.2 Deux sphéroïdes en co-culture

Dans le cas de l'étude de deux sphéroïdes adjacents, les correspondances entre le temps et le nombre de cellules éjectées sont données dans le tableau 5.2, d'après les données expérimentales. Ce nouveau tableau de correspondance diffère dans le cas de deux sphéroïdes évoluant côte à côte. En effet, les cellules issues d'un sphéroïde sont gênées, physiquement, par la présence de l'autre sphéroïde. Le nombre de cellules éjectées en est alors affecté.

Dans le cas de deux sphéroïdes en co-culture, il n'existe pas de relation linéaire entre le temps et le nombre de cellules éjectées. Nous ne pourrions donc regarder qu'aux temps où nous

⁴Je rappelle que, dans les expériences réalisées par nos collaborateurs, le temps t est choisi égal à 0 lorsque les premières cellules se détachent du sphéroïde.

Migration de cellules issues de sphéroïdes de diamètre supérieur à 400 μm

Temps (heures)	Distance d entre les 2 sphéroïdes (μm)	Nombre de cellules éjectées
24	0 – 100	195 ± 15
	100 – 200	290 ± 50
48	250 – 400	700 ± 40
	400 – 600	770 ± 50

TAB. 5.2 – Tableau de correspondance entre le nombre de cellules éjectées d’un sphéroïde et le temps (en heures) pour les expériences de deux sphéroïdes en co-culture.

avons des données expérimentales. En effet, si les sphéroïdes sont proches, et que l’espace entre ces sphéroïdes est comblé par des cellules tumorales, alors le nombre de cellules éjectées peut se mettre à stagner artificiellement.

5.2.2 Calibrage de l’espace

Pour cette étude, nous avons utilisé une version plus réaliste de notre modèle : le maillage hexagonal déformé. Nous partons donc d’un ensemble de points représentant le centre de site de forme hexagonale. Cet ensemble de point est modifié en introduisant le paramètre de variabilité v . Si ce paramètre vaut 1, le pavage devient aléatoire.

La taille moyenne d’un site, correspondant toujours à la taille moyenne d’une cellule de glioblastome, est prise égale à 30 μm . L’écart type par rapport à cette moyenne dépend de la valeur choisie pour le paramètre de variabilité v . Pour les résultats de ce chapitre, nous avons pris : $v = 1^5$.

Le diamètre des sphéroïdes expérimentaux est compris entre 450 et 600 μm . En correspondance, nous avons choisi de créer un centre dont le diamètre est équivalent à 17 sites, soit une moyenne de 510 μm .

5.2.3 Valeur du coefficient de diffusion de la substance

Une fois ces deux paramètres ajustés, il est nécessaire de s’intéresser à la valeur du coefficient de diffusion D_c du chimio-répulsif. Ce chimio-répulsif doit être une substance chimique dont la taille est très inférieure à la taille d’une cellule. De ce fait, les molécules du chimio-répulsif doivent diffuser plus vite que les cellules. Ainsi, le coefficient de diffusion du chimio-répulsif doit être supérieur au coefficient de diffusion des cellules.

Notons, comme il a été mentionné dans le chapitre précédent, que la migration des cellules ne peut être assimilée à une diffusion pure. Cependant, nous avons pu, à partir de ces données expérimentales, estimer, de manière grossière, un coefficient de diffusion effectif D_0 pour quantifier l’invasion des cellules tumorales. Nous déterminons ce coefficient de diffusion, à partir de la moyenne de la position des cellules au carré en fonction du temps : $D_0 = 0.19 \pm 0.01 \mu\text{m}^2/\text{s}$. Cette valeur est proche des valeurs *in vivo* observées par Burgess

⁵Des simulations de migration sont en cours avec un paramètre de variation plus faible, afin d’obtenir un pavage moins aléatoire,

et al. [13] ($10^{-4} - 10^{-3} \text{ cm}^2/\text{jour} \approx 0.1 - 1 \mu\text{m}^2/\text{s}$). En exprimant le temps en fonction du nombre de cellules éjectées, nous obtenons $D_0 = 31 \pm 2 \mu\text{m}^2/\text{cellule éjectée}$.

Il faut maintenant, à partir de cette valeur, choisir un coefficient de diffusion pour le chimio-répulsif. Nous avons déjà mentionné le fait que ce coefficient de diffusion D_c doit être supérieur au “coefficient de diffusion” des cellules. De plus, il ne doit pas être trop grand sinon le profil de concentration du chimio-répulsif serait très plat ; ce dernier n’aurait qu’un effet très limité sur la migration des cellules. En considérant ce qui précède, nous avons choisi de nous intéresser à une valeur de D_c comprise entre 1 et 10 fois le coefficient de diffusion des cellules. Cette valeur limite de $10D_0$ sera justifiée par la suite (voir partie 5.3.1.1).

Ce facteur 10 entre les deux coefficients de diffusion peut paraître faible compte tenu de la différence de taille entre une molécule et une cellule. Cependant, il faut garder à l’esprit que les molécules de chimio-répulsif diffusent dans un gel de collagène. Or, le collagène gélifié est 100 à 1000 fois plus visqueux que de l’eau [84]. Dans un tel milieu, un coefficient $D_c = 1 \mu\text{m}^2/\text{s}$ correspond à une particule diffusive dont le rayon est compris entre 0.2 et 2 nm. Ces valeurs concordent avec la taille d’une petite protéine ou d’une grosse molécule.

5.3 Résultats

Dans cette partie, nous nous intéressons tout d'abord aux résultats du modèle. Nous comparons ensuite ces résultats avec les données expérimentales. Dans les deux cas, les situations étudiées correspondent aux cas suivants :

- un sphéroïde isolé, avec l'étude de la concentration cellulaire en fonction de la distance au centre du sphéroïde,
- deux sphéroïdes adjacents, avec l'étude de la distribution des cellules selon les quadrants définis dans la figure 5.1.

5.3.1 Étude du modèle

Nous proposons deux séries d'expériences virtuelles inspirées du travail de Werbowetski et al. [114]. La première consiste à étudier l'évolution de cellules issues d'un sphéroïde : nous voulons montrer que l'introduction d'un chimio-répulsif modifie la migration des cellules ainsi que les profils de concentration. Dans le deuxième type "d'expériences", deux sphéroïdes sont implantés côte à côte et interagissent l'un avec l'autre.

5.3.1.1 Sphéroïde isolé

La figure 5.5 donne un exemple d'évolution sur un pavage aléatoire.

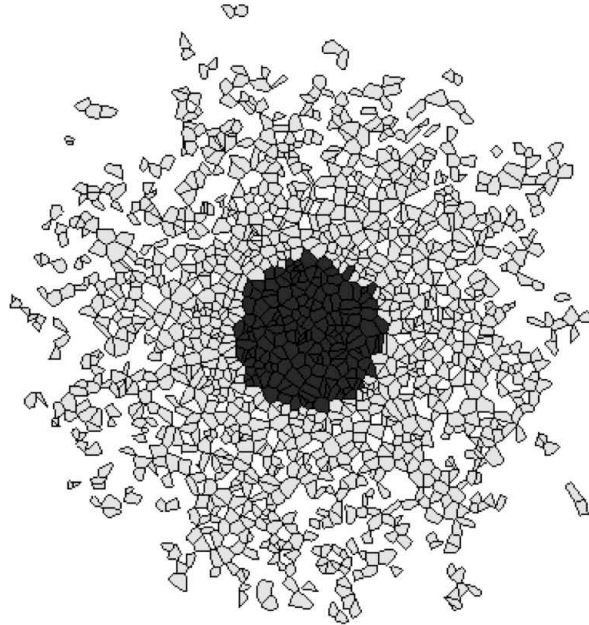


FIG. 5.4 – Exemple typique de migration de cellules issues d'un sphéroïde où ces dernières sont soumises aux interactions de contact et à longue portée ($t = 1000$ cellules éjectées, $D_c = 235\ \mu\text{m}^2/\text{cellule éjectée}$).

Profils de concentration

Pour extraire les profils de concentration à partir de nos simulations, nous déterminons le nombre de cellules dans des couronnes, également espacées, à partir de la surface du sphéroïde en contact avec le substrat. Pour obtenir la concentration en fonction de la distance au centre du sphéroïde, il suffit de diviser ces nombres par la surface de chaque couronne. Calculer les concentrations de cette manière présente l'avantage suivant : le même protocole peut être utilisé pour calculer les concentrations expérimentales, à partir de photographies. Sur la figure 5.5, nous pouvons comparer les profils de concentration dans les cas avec et sans interactions à longue portée, pour trois temps différents (donc pour trois nombres de cellules éjectées). Les courbes avec interactions à longue portée (c'est-à-dire avec introduction du chimio-répulsif) sont données pour un coefficient de diffusion du chimio-répulsif D_c égal à $235\ \mu\text{m}^2/\text{cellule éjectée}$.

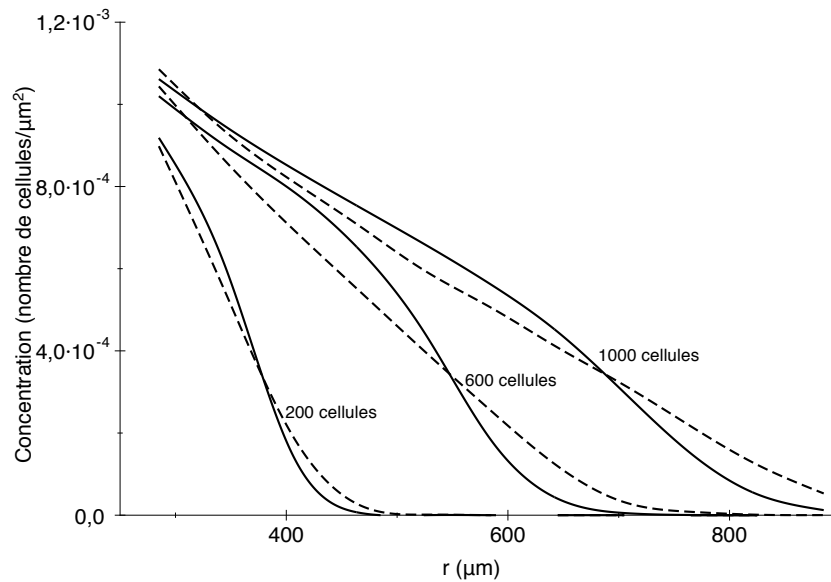


FIG. 5.5 – Profils de concentration en fonction de la distance au centre du sphéroïde pour des temps correspondants à 200, 600 et 1000 cellules “éjectées du sphéroïde”. La courbe en pointillés représente la concentration dans le cas sans interaction à longue portée ; la courbe en trait plein, celle dans le cas avec interactions à longue portée ($D_c = 235\ \mu\text{m}^2/\text{cellule éjectée}$). Pour un soucis de clarté, nous ne représentons pas les barres d’erreur (de l’ordre de quelques pour-cents).

Lorsque les cellules ne sont pas soumises à une interaction à longue portée, les profils de concentration sont approximativement linéaires, comme nous avons pu l’observer dans le chapitre 4 et particulièrement dans la partie 4.3.1.2. En présence de chimio-répulsif, les courbes de concentration sont différentes. Les concentrations présentent un profil linéaire en deux parties : une première partie, proche du sphéroïde, avec une pente faible et une deuxième partie, plus éloignée du sphéroïde, avec une pente plus importante. La cassure entre les deux parties des courbes peut être localisée en réalisant un ajustement linéaire en deux parties. La figure 5.6 présente un exemple d’ajustement en deux parties pour la courbe de concentration obtenue lorsque 600 cellules se sont détachées du sphéroïde. Pour un coefficient de diffusion

$D_c = 235 \mu\text{m}^2/\text{cellule}$ éjectée, la cassure est localisée, dans cette situation, à 490 μm . Le changement de pente se situe autour de 330 μm pour 200 cellules éjectées et 690 μm pour 1000 cellules éjectées. L'erreur sur la localisation de ce changement de pente est de l'ordre de quelques micromètres.

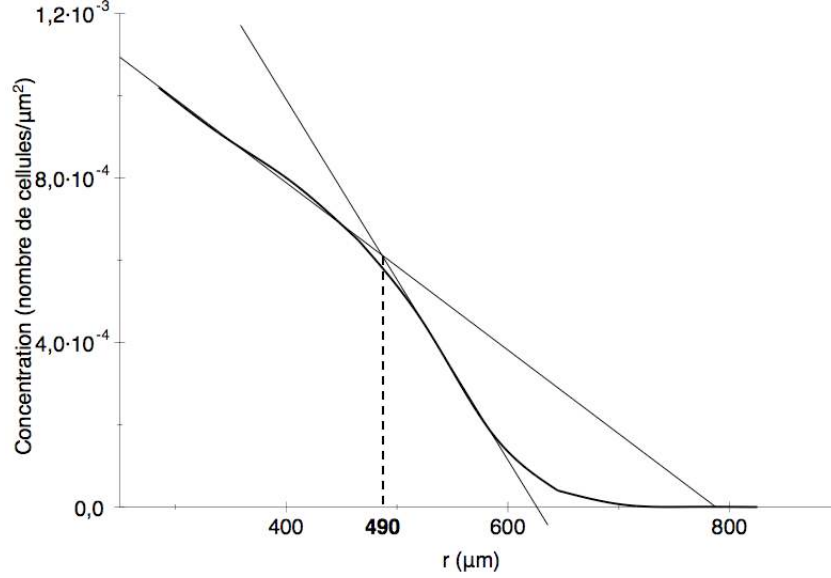


FIG. 5.6 – Profil de concentration en fonction de la distance au centre du sphéroïde (pour 600 cellules “éjectées du sphéroïde” et $D_c = 235 \mu\text{m}^2/\text{cellule}$ éjectée), présenté avec son ajustement en deux parties. La cassure est localisée par la position où les deux droites de l’ajustement se croisent, à 490 μm .

Effet du gradient de la concentration du chimio-répulsif sur la migration des cellules

Nous comparons la position de ce changement de pente avec la position du maximum du gradient de la concentration du chimio-répulsif. En effet, nous voulons vérifier que ce changement de pente, caractéristique de la présence du chimio-répulsif, est dû au maximum de son gradient. La position du maximum varie comme $r = \sqrt{2D_c t}$. Nous pouvons donc déduire la valeur du coefficient de diffusion du chimio-répulsif à partir de la pente de l’ajustement linéaire de la courbe représentant la position du changement de pente au carré en fonction du nombre de cellules éjectées. Ces résultats sont présentés sur la figure 5.7.

Sur la figure 5.7, nous pouvons remarquer une relation linéaire entre le carré de la position du changement de pente et le temps (défini en nombre de cellules éjectées). Le changement de pente des courbes de concentration résulte donc de l’effet du maximum du gradient du chimio-répulsif sur la migration des cellules tumorales. À partir de cette figure, nous pouvons estimer la valeur du coefficient de diffusion : $D_c = 224 \pm 15 \mu\text{m}^2/\text{cellule}$ éjectée. Cette valeur est très proche de la valeur du paramètre de diffusion choisi dans nos simulations : $D_c = 235 \mu\text{m}^2/\text{cellule}$ éjectée.

Avant la position du maximum du gradient, la concentration cellulaire est plus importante que dans le cas sans interactions à longue portée : les cellules sont repoussées loin du centre du

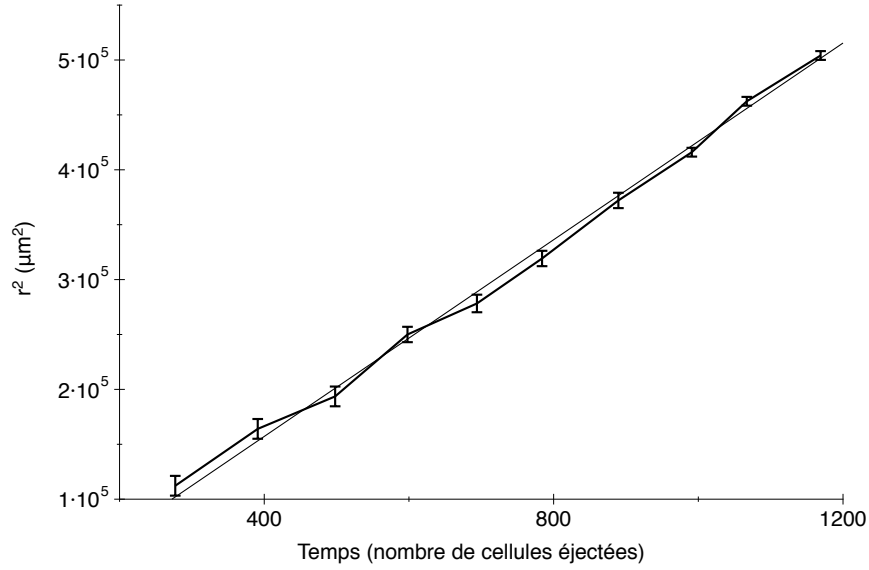


FIG. 5.7 – r^2 en fonction du nombre de cellules éjectées. Les barres d'erreur sont estimées en tenant compte de l'erreur de localisation du changement de pente (déterminé par l'ajustement linéaire en deux parties) sur la courbe de concentration. L'ajustement de la courbe donne un coefficient de diffusion $D_c = 224 \pm 15 \mu\text{m}^2/\text{cellule}$ éjectée.

sphéroïde. Lorsque les cellules sont situées au-delà de la position du maximum, elles ne sont pas encore soumises aux plus importantes valeurs du gradient et sont donc moins repoussées. Ceci explique les faibles valeurs de la concentration pour ces distances.

Valeur maximale du coefficient de diffusion du chimiorépulsif

Pour un coefficient de diffusion plus important qu'un coefficient seuil D_{max} , la diffusion du chimio-répulsif devient trop rapide et n'a plus d'effet visible sur la courbe de concentration si le chimio-répulsif diffuse plus vite que les cellules les plus rapides. Pour estimer cette valeur, nous localisons les cellules les plus rapides à une distance d'environ $r_0 + 2\sqrt{2D_0t}$ du centre du sphéroïde, où r_0 est le rayon du sphéroïde. Le coefficient seuil D_{max} pour lequel l'effet du répulsif est encore visible doit alors satisfaire la condition suivante :

$$\sqrt{2D_{max}t} = r_0 + 2\sqrt{2D_0t} \quad (5.1)$$

En considérant $D_0 = 33 \mu\text{m}^2/\text{cellule}$ éjectée, $r_0 = 285 \mu\text{m}$ et $t = 1000$ cellules éjectées, nous obtenons $D_0 \approx 320 \mu\text{m}^2/\text{cellule}$ éjectée, ce qui correspond à nos observations à partir des simulations. Ainsi, pour une valeur de D_c plus importante que D_{max} , qui est en effet de l'ordre de $10D_0$, le changement de pente n'est plus visible.

Nous pouvons conclure que, si $D_c < 10D_0$, cette méthode permet une estimation assez fiable du coefficient de diffusion du chimio-répulsif sécrété par le centre du sphéroïde. Cependant, il peut être difficile de localiser précisément le changement de pente à partir de courbes de concentration expérimentales. Nous proposons une autre série d'expériences vir-

tuelles, avec deux sphéroïdes adjacents, où la signature du chimio-répulsif peut être mieux visible expérimentalement.

5.3.1.2 Deux sphéroïdes adjacents

Dans ces expériences virtuelles, deux sphéroïdes sont placés côte à côte, à une distance d (où d est la distance entre la surface des deux sphéroïdes). À partir de ces sphéroïdes, les cellules se détachent, migrent et interagissent. Dans le cas où nous considérons des interactions à longue portée, les cellules d'un sphéroïde seront soumises au chimio-répulsif sécrété par son propre sphéroïde ainsi qu'à celui sécrété par le sphéroïde adjacent. Nous supposons alors que les cellules sont sensibles au gradient de la concentration totale de chimio-répulsif, représentée sur la figure 5.8. De plus, elles interagissent localement avec les cellules issues du même sphéroïde qu'elles ainsi que celles du sphéroïde adjacent. Naturellement, les règles de migration dépendant des interactions de contact sont les mêmes dans les deux cas, les cellules ne pouvant distinguer de quel sphéroïde sont issues les cellules avec lesquelles elles sont en contact.

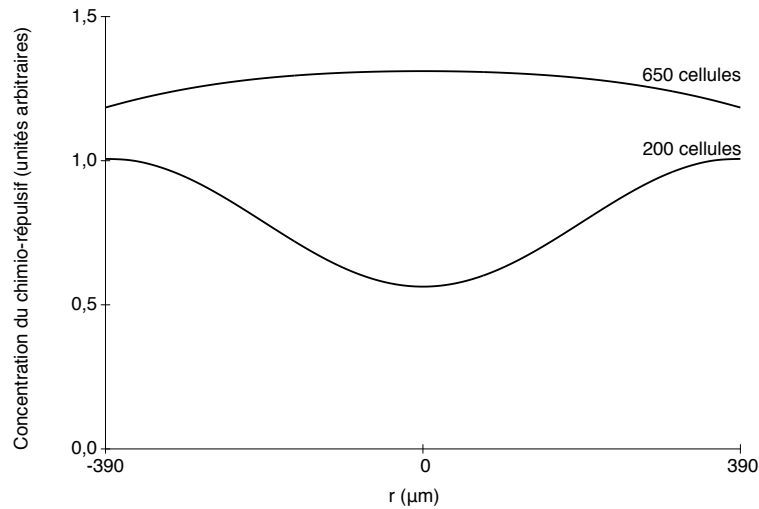


FIG. 5.8 – Concentration du chimio-répulsif ($D_c = 235\ \mu\text{m}^2/\text{cellule}$ éjectée) ressentie par les cellules situées entre les deux sphéroïdes (avec $d = 300\ \mu\text{m}$) pour $t = 200$ et 650 cellules éjectées. La concentration est donnée en fonction de la distance (dont l'origine est choisie au milieu des deux sphéroïdes).

Dans les simulations, nous nous intéressons à la distribution des cellules dans les quatre quadrants définis sur la figure 5.1. La présence d'un second sphéroïde, proche du premier, induit une anisotropie dans cette distribution. Les deux quadrants A font face à l'autre sphéroïde. Le quadrant opposé au quadrant A est le quadrant C. Les quadrants B font référence aux quadrants restants.

Si les sphéroïdes sont trop proches ($0 < d < 200\ \mu\text{m}$), l'espace entre eux est comblé très rapidement et l'effet d'un chimio-répulsif est difficilement visible. Cependant, plus la distance entre les sphéroïdes est grande, plus le gradient de la concentration du chimio-répulsif est plat. Finalement, un bon compromis est de placer les sphéroïdes à des distances de l'ordre de $300 - 600\ \mu\text{m}$.

Exemple de migration

Les motifs de migration sont très différents lorsque le chimio-répulsif est présent ou non. Les cellules, ayant migré à partir des deux sphéroïdes, sont représentées sur les figures 5.9 (a) et (b) ($t = 750$ cellules éjectées par sphéroïde). Les profils correspondants de concentration cellulaire dans le quadrant A sont donnés sur les figures 5.9 (c) et (d). Dans le cas où seules les interactions de contact sont prises en compte (voir les figures 5.9 (b) et (d)), les cellules issues des deux sphéroïdes ne co-existent pas uniquement dans l'espace entre les deux sphéroïdes, correspondant aux surfaces délimitées par les quadrants A, mais également dans les quadrants B. Ce phénomène n'est pas observable lorsque les interactions à longue portée ($D_c = 235\ \mu\text{m}^2/\text{cellule éjectée}$) sont ajoutées aux interactions de contact (voir les figures 5.9 (a) et (c)). En effet, nous pouvons voir, sur la figure 5.9 (a), que les cellules issues des deux sphéroïdes ne se mélangent que très peu et la zone de présence commune se limite à une épaisseur de 2 à 3 cellules. Les cellules issues d'un sphéroïde sont repoussées par le chimio-répulsif sécrété par le sphéroïde adjacent et sont bloquées au niveau de l'extremum de la concentration totale du chimio-répulsif situé exactement au milieu des deux sphéroïdes (voir la courbe de la concentration totale du chimio-répulsif sur la figure 5.8).

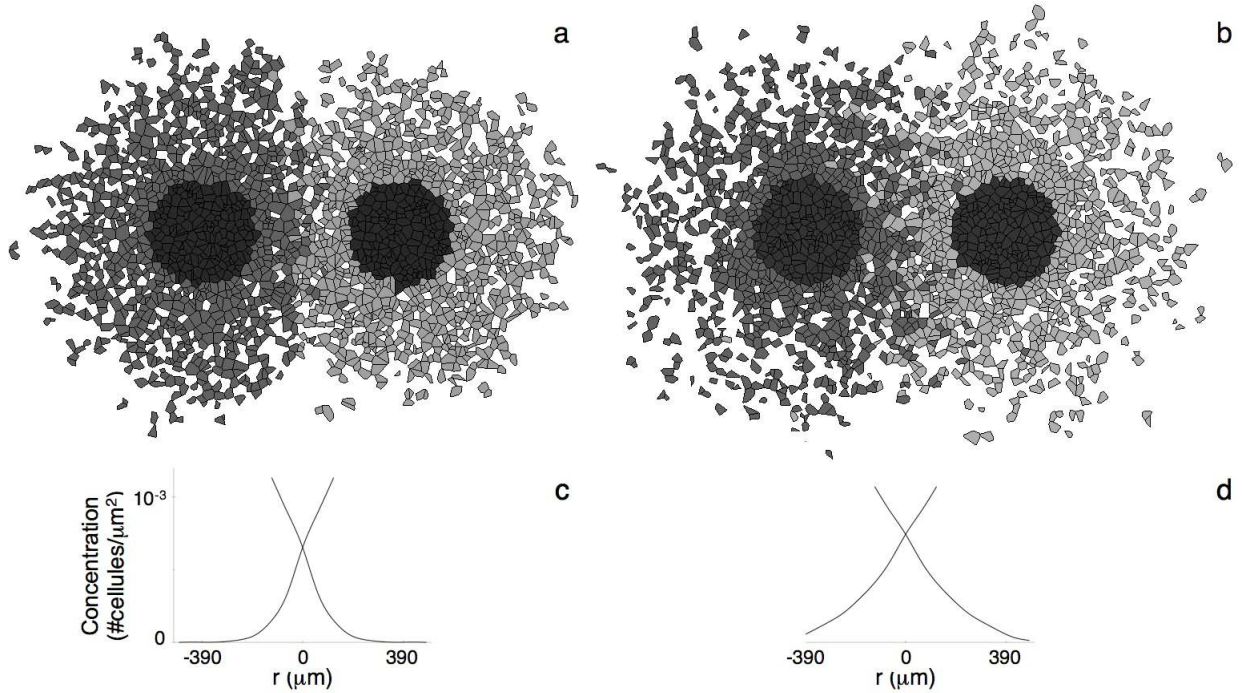


FIG. 5.9 – Deux exemples typiques de migration de cellules issues de deux sphéroïdes adjacents (a et b) ainsi que les profils de concentration (de cellules dans le quadrant A) correspondants ($t = 750$ cellules éjectées par sphéroïde). Les simulations sont effectuées avec (a et c) et sans (b et d) chimio-répulsif. La distance entre les deux sphéroïdes est de $300\ \mu\text{m}$.

Distribution anisotrope des cellules

Étant donné que les quadrants A font face au sphéroïde adjacent, les cellules situées dans ces quadrants sont les premières à être affectées par la présence du second sphéroïde, tandis que le nombre de cellules dans les quadrants C reste relativement non-affecté. De ce fait, les quadrants C peuvent jouer un rôle de quadrants “témoins”. Nous analysons l’évolution de la différence du nombre de cellules entre les quadrants C et A (noté “ $C - A$ ”) d’un sphéroïde en fonction du temps (voir la figure 5.10). Pour des “grands” temps (> 800 cellules éjectées), la différence ($C - A$) est clairement supérieure dans le cas avec chimio-répulsif par rapport au cas avec interactions de contact uniquement. Le répulsif diffuse plus vite que les cellules et atteint les cellules du sphéroïde adjacent très tôt dans l’évolution. Le chimio-répulsif sécrété par un sphéroïde ralentit les cellules de l’autre sphéroïde (principalement celles situées dans le quadrant A). Les cellules sont alors bloquées au niveau de l’extremum de la concentration totale (voir la figure 5.8) : elles ne peuvent pas dépasser la médiatrice du segment dont les extrémités sont les centres des deux sphéroïdes. Le nombre de cellules dans le quadrant A se met alors à stagner (et le nombre de cellules dans ($C - A$) augmente), avant que le quadrant A soit plein.

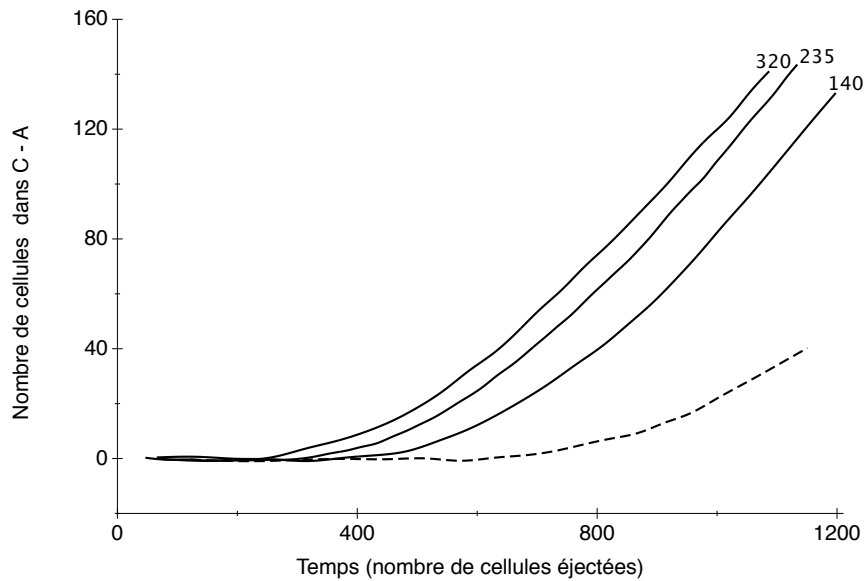


FIG. 5.10 – Nombre de cellules dans ($C - A$) en fonction du nombre de cellules éjectées pour $d = 600$ avec (courbes en trait plein pour $D_c = 140, 235$ et $320\ \mu\text{m}^2/\text{cellule éjectée}$) et sans (courbe en pointillés) chimio-répulsif.

Nous définissons $T_{C=A}$ comme l’intervalle de temps pendant lequel la différence entre les quadrants A et C est inférieure à 3 cellules (voir figure 5.10). Sur la figure 5.11, $T_{C=A}$ est représenté en fonction de la distance entre les deux sphéroïdes (comprise entre 30 et $600\ \mu\text{m}$). Nous pouvons remarquer que pour de faibles distances, pour $30 < d < 200\ \mu\text{m}$, $T_{C=A}$ est comparable dans les deux cas, avec et sans chimio-répulsif : l’espace entre les deux sphéroïdes est comblé très rapidement, avant que les cellules puissent ressentir les effets du chimio-répulsif. Il est donc nécessaire de placer les sphéroïdes à une distance supérieure à $200\ \mu\text{m}$

afin de pouvoir distinguer les cas avec et sans interactions à longue portée. Pour des distances d supérieures à $200\ \mu\text{m}$, l'intervalle de temps $T_{C=A}$ est toujours inférieur dans le cas avec interactions à longue portée par rapport au cas avec interactions de contact uniquement (voir la figure 5.11). Ainsi, ces comportements bien différents, dans les cas avec ou sans interactions à longue portée, peuvent aider à trancher, d'après les expériences, sur la présence ou non d'un chimio-répulsif sécrété par les sphéroïdes.

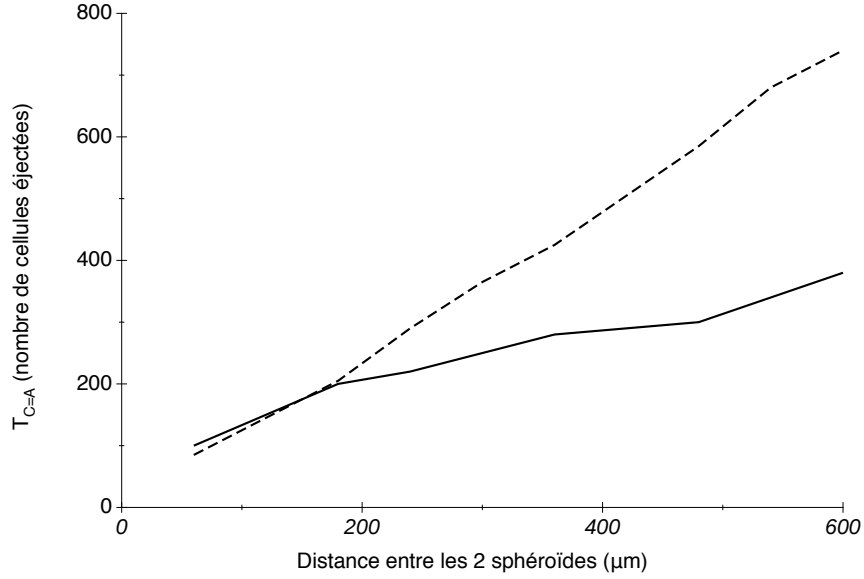


FIG. 5.11 – $T_{C=A}$ en fonction de la distance d entre les deux sphéroïdes ($30 < d < 600\ \mu\text{m}$), dans les cas avec (ligne en trait plein, $D_c = 235\ \mu\text{m}^2/\text{cellule éjectée}$) et sans (ligne en pointillés) interactions à longue portée.

5.3.2 Comparaison avec les expériences

Les données publiées sur un chimio-répulsif sécrété par le sphéroïde et agissant sur la migration des cellules tumorales sont très rares. Seulement le groupe de Del Maestro a réalisé des expériences pour tester l'hypothèse d'un chimio-répulsif sécrété par le sphéroïde. Basé sur les résultats publiés dans [114], ils concluent à l'existence d'une telle substance. Ils trouvent un "effet significatif" de la substance entre 250 et $600\ \mu\text{m}$ à 48 heures. Le coefficient de diffusion D_c de la substance serait alors compris, d'après notre paramétrisation, entre 40 et $260\ \mu\text{m}^2/\text{cellule éjectée}$.

Dans cette partie, nous comparons les résultats de nos simulations (avec et sans interactions à longue portée) avec les expériences, présentées dans la partie 5.1 afin de conclure sur l'existence d'un chimio-répulsif. Nous espérons, de plus, en cas de présence avérée de chimio-répulsif, obtenir une valeur précise du coefficient de diffusion de la substance (dans le cas d'expériences avec des sphéroïdes isolés).

5.3.2.1 Sphéroïde isolé

La première série d'expériences que nous avons comparées à notre modèle concerne l'évolution de sphéroïdes isolés. La figure 5.12 donne les profils de concentration à partir des expériences et des simulations, avec et sans introduction d'interactions à longue portée. Le changement de pente, dont nous avons remarqué la présence sur la courbe expérimentale dans la partie 5.1.2.1 et qui semble être la signature de la présence d'un chimio-répulsif (voir partie 5.3.1.1), est bien reproduit sur la courbe de concentration obtenue à partir des simulations avec interactions à longue portée (pour $D_c = 220 \mu\text{m}^2/\text{cellule}$ éjectée, courbe en pointillés sur la figure 5.12). Cet accord est toujours acceptable pour un éventail de valeur de $\pm 30 \mu\text{m}^2/\text{cellule}$ éjectée autour de $D_c = 220 \mu\text{m}^2/\text{cellule}$ éjectée. La forme de la courbe de concentration, obtenue à partir des simulations sans interactions à longue portée (courbe en trait-point de la figure 5.12), a une forme très différente, plus linéaire : les simulations, sans chimio-répulsif, ne permettent pas de reproduire les données expérimentales.

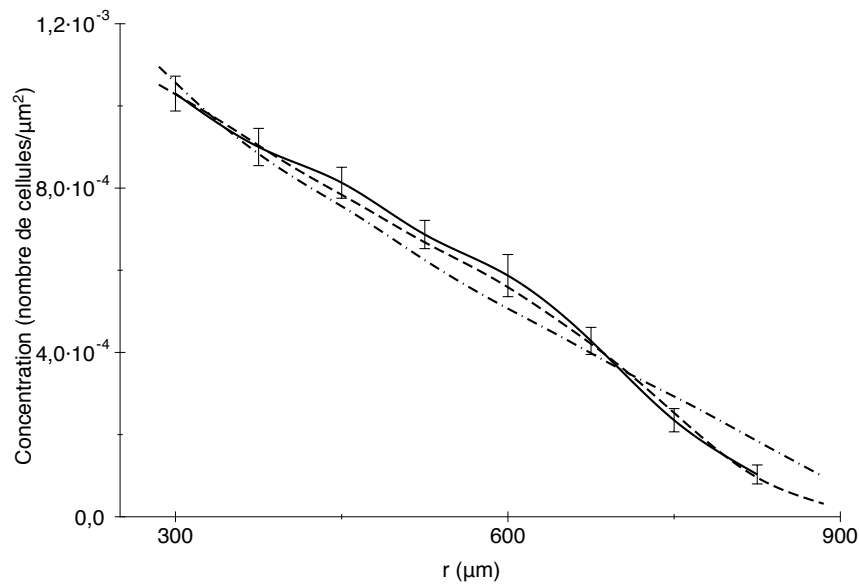


FIG. 5.12 – Profils de concentration à 48 heures. La courbe en trait plein présente, avec les barres d'erreur, la concentration expérimentale. Les deux autres courbes sont obtenues à partir des simulations. La courbe en pointillées représente la concentration avec chimio-répulsif ($D_c = 220 \mu\text{m}^2/\text{cellule}$ éjectée) et celle en "trait-point" la concentration avec interactions de contact uniquement.

L'étude de la concentration cellulaire nous permet de soutenir l'hypothèse d'un chimio-répulsif sécrété par le sphéroïde et de donner une estimation du coefficient de diffusion ($D_c = 220 \mu\text{m}^2/\text{cellule}$ éjectée). Cependant, afin d'affiner la valeur du coefficient de diffusion, plus d'expériences sont nécessaires. Ces expériences supplémentaires nous permettraient de tracer la courbe de la position du changement de pente au carré (r^2) en fonction du temps, comme nous avons pu faire avec les données simulées (voir la figure 5.7).

5.3.2.2 Deux sphéroïdes adjacents

La seconde série d'expériences, que nous avons utilisées afin de les comparer à nos simulations, consiste à faire évoluer deux sphéroïdes côte à côte. Avec notre modèle, nous observons l'influence d'un sphéroïde sur l'autre, en présence et en absence de chimiorépulsif; et nous comparons ces résultats avec les expériences présentées dans la partie 5.1.2.2. Ces résultats permettent de donner une idée de la distribution des cellules. Pour cela, nous calculons le nombre de cellules par quadrants, qui sont représentés sur la figure 5.1.

Pour des sphéroïdes isolés, nous n'observons pas de différences significatives entre les quatre quadrants. Cela confirme la migration isotrope des cellules en l'absence d'un second sphéroïde. Cela n'est pas le cas lorsqu'un deuxième sphéroïde est présent (voir les parties 5.1.2.2 et 5.3.1.2). Tout d'abord, les motifs de migration obtenus par Werbowetski et al. [114] semblent correspondre à la situation avec interactions à longue portée. En effet, les auteurs rapportent le fait que les cellules issues des deux sphéroïdes adjacents se mélangent très difficilement, ce que nous observons dans nos simulations avec interactions à longue portée (voir la figure 5.9 (a)). Pour imager la situation, ils décrivent la présence d'un "mur" sur lequel les cellules butent et qu'elles ne peuvent franchir. Ce "mur" est reproduit dans nos simulations dans le cas où les interactions à longue portée sont introduites, contrairement au cas où elles ne sont pas présentes (voir les figures 5.9 (a) et (b)).

Pour comparer des données plus quantitatives, nous regardons la distributions des cellules dans les quadrants A et B. Pour les simulations, nous prenons la valeur de D_c correspondant au meilleur ajustement de la courbe de concentration expérimentale (pour un sphéroïde isolé), c'est-à-dire $D_c = 220 \mu\text{m}^2/\text{cellule}$ éjectée. La figure 5.13 donne les résultats obtenus à partir des expériences et des simulations (avec et sans interactions à longue portée). Les données des simulations, avec interactions à longue portée, sont très proches des données expérimentales, à 24 et 48 heures.

À 24 heures, pour de faibles distances entre les sphéroïdes, l'effet stérique l'emporte sur le chimio-répulsif. Comme nous avons pu le voir d'après les simulations, pour de faibles distances (inférieures à 200 μm), la surface entre les deux sphéroïdes est rapidement saturée, et il n'y a plus de places vacantes pour de nouvelles cellules migrantes. Par conséquent, les cellules, situées à la surface du sphéroïde dans le quadrant A, ne peuvent plus se détacher pour migrer. L'effet est similaire avec ou sans chimio-répulsif (voir les figures 5.13 (a), (b) et (c)). À 48 heures, la différence entre les deux situations simulées est plus visible : le nombre de cellules dans le quadrant A est plus faible dans le cas où les interactions à longue portée sont introduites (voir les figures 5.13 (e) et (f)). L'effet physique, relié au nombre de sites libres, n'est pas suffisant pour reproduire les résultats expérimentaux, comme nous pouvons le voir sur les figures 5.13 (d) et (f). Les interactions à longue portée (avec $D_c = 220 \mu\text{m}^2/\text{cellule}$ éjectée) doivent être introduites pour obtenir un meilleur ajustement des données expérimentales (voir les figures 5.13 (d) et (e)).

Cette seconde série d'expériences tend à confirmer l'existence d'un chimio-répulsif sécrété par le sphéroïde.

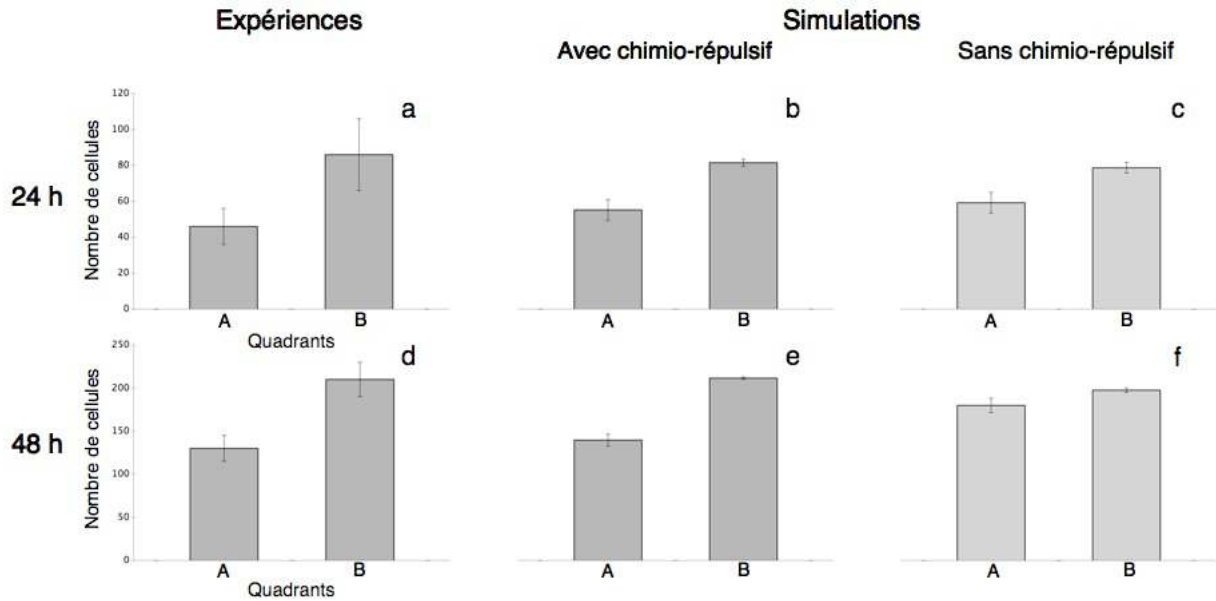


FIG. 5.13 – Nombre de cellules dans les quadrants A et B à 24 heures pour $100 < d < 200\ \mu\text{m}$ (a,b,c) et à 48 heures $400 < d < 600\ \mu\text{m}$ (d,e,f). (a,d) Données expérimentales de Werbowetski et al. [114]. (b,e) Simulations avec interactions à longue portée, $D_c = 220\ \mu\text{m}^2/\text{cellule}$ éjectée. (c,f) Simulations sans interactions à longue portée.

5.4 Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons présenté une comparaison détaillée de nos résultats de simulations avec des données expérimentales de Werbowetski et al. [114]. Nous obtenons un très bon accord entre les expériences et simulations, lorsque les interactions à longue portée sont présentes. Les deux séries d'expériences tendent à confirmer l'existence d'un chimio-répulsif sécrété par le sphéroïde ; elles permettent également d'estimer le coefficient de diffusion de la substance chimio-répulsive, responsable des effets à longue portée : $D_c = 220 \pm 30\ \mu\text{m}^2/\text{cellule}$ éjectée ($= 1.4 \pm 0.2\ \mu\text{m}^2/\text{s}$).

Nous pouvons noter que l'évolution du chimio-répulsif est introduite de manière très simple : la source de chimio-répulsif est ponctuelle, localisée au centre de la tumeur et les cellules ne sont sensibles qu'au gradient de sa concentration. Malgré une bonne compatibilité entre les données expérimentales et simulées, nous ne prétendons pas décrire la réalité biologique. Il est possible qu'une action plus complexe du chimio-répulsif puisse conduire aux mêmes effets. Nous proposons juste un possible scénario, compte tenu de la faible connaissance actuelle du phénomène. Il est possible qu'une source plus étendue ou de forme complexe au sein du sphéroïde puisse amener à des résultats différents. Pour se rapprocher de la réalité biologique, des améliorations sont envisagées :

- considérer une source centrale plus étendue de chimio-répulsif. L'intérêt porté à une source plus étendue vient de l'observation des auteurs de [109, 114] : ils ont montré que le taux d'invasion augmente significativement avec la taille des sphéroïdes.
- considérer plusieurs sources, éloignées du centre. Le fait de considérer des sources mul-

tiples pourrait nous permettre de nous rapprocher d'une situation plus réaliste. En effet, les tumeurs sont loin d'être sphériques et des régions stressées peuvent se développer à différents temps, et pas nécessairement au centre de la tumeur.

- définir une probabilité de migration dépendant du gradient de concentration, avec un terme inhibiteur de mouvement si la concentration dépasse une certaine valeur seuil. En effet, Werbowetski et al. [114] ont remarqué qu'une concentration uniforme très élevée⁶ de chimio-répulsif a un effet inhibiteur sur la migration des cellules tumorales. Nous estimons cependant que, dans le cadre de nos "expériences", la concentration de chimio-répulsif est en dessous de ce seuil.

Dans ces deux derniers chapitres, nous avons montré que le profil de concentration est différent, lorsque les cellules migrantes sont soumises aux interactions de contact uniquement et lorsqu'elles subissent des interactions de contact et des interactions à plus longue portée dues au chimio-répulsif. Ces profils de concentration simulés ont été comparés à des données expérimentales qui ont montré des résultats différents suivant la taille des sphéroïdes étudiés. En effet, les cellules tumorales issues de "petits sphéroïdes" ne sont soumises qu'à des interactions de contact. Cependant, lorsque la taille de ces sphéroïdes augmente, une nouvelle interaction, celle-ci à plus longue portée, entre en jeu et agit sur la migration des cellules, modifiant ainsi le profil de concentration. Cette interaction est attribuée à un chimio-répulsif qui semble sécrété par les zones stressées (manquant d'oxygène, de nutriments, subissant une trop grande pression...) du sphéroïde. Or, ces régions stressées ne peuvent apparaître que si la taille du sphéroïde est suffisamment grande. Il serait intéressant de faire varier, expérimentalement, la taille des sphéroïdes afin de déterminer la taille minimale pour laquelle le chimio-répulsif n'a plus d'effet sur les cellules invasives. La concentration correspondant à cette taille limite de sphéroïde aurait un profil linéaire, sans cassure, comme dans le cas des simulations pour des cellules soumises à des interactions de contact uniquement. Nous pensons également qu'un profil de concentration linéaire existerait dans le cas de larges sphéroïdes, si la sécrétion de chimio-répulsif est inhibée.

⁶Cette concentration élevée est obtenue en prélevant un milieu dans lequel ont évolué des sphéroïdes pendant 9 jours.

Chapitre 6

Du microscopique au macroscopique

Si le modèle microscopique est très utile pour étudier la migration d'un petit nombre de cellules tumorales sur un substrat en deux dimensions, cette étude devient beaucoup plus délicate lorsque le nombre de cellules augmente et que le problème devient tri-dimensionnel. Notre nouvelle approche est de passer du modèle microscopique au modèle macroscopique. À l'heure actuelle, dans les modèles microscopiques utilisés pour décrire la croissance de gliomes la migration de cellules tumorales est décrite par une diffusion pure dont le coefficient de diffusion peut éventuellement tenir compte de la position de la cellule dans le cerveau.

Notre approche macroscopique consiste à tenir compte des interactions locales entre cellules. Pour cela, nous déterminons un coefficient de diffusion effectif dépendant des interactions de contact, à partir du modèle microscopique. Dans ce chapitre, nous étudions le cas de cellules issues de sphéroïdes de petite taille et migrant sur un substrat de collagène.

6.1 Calculs simplifiés : étude uni-dimensionnelle

Nous allons commencer par étudier un cas simple, uni-dimensionnel. La figure 6.1 présente un exemple de configuration au temps t . Nous allons nous intéresser à l'état du site i à l'instant t . Nous considérons que chaque cellule migre selon le taux de transition $\lambda = 1/\tau$ (où τ correspond au temps de mise à jour de tous les sites du système) sur un site libre.

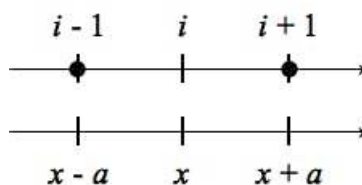


FIG. 6.1 – Exemple de configuration à une dimension : le site i (localisé en x) est vide ; les deux autres sites (positionnés en $(x-a)$ et $(x+a)$) sont occupés par une cellule.

6.1.1 Migration par diffusion

Dans le cas de la migration par diffusion, une cellule migre indifféremment sur un site libre voisin. Notons $\hat{\rho}_i$ le taux d'occupation du site i , égal à 1 ou 0. Si le site i est libre ($\hat{\rho}_i(t) = 0$) et les deux sites voisins sont occupés ($\hat{\rho}_{i-1}(t) = \hat{\rho}_{i+1}(t) = 1$), comme schématisé sur la figure 6.1, nous pouvons écrire :

$$\hat{\rho}_i(t + dt) = \begin{cases} 0 & \text{avec la probabilité } 1 - 2\lambda dt \\ 1 & \text{avec la probabilité } 2\lambda dt \end{cases}. \quad (6.1)$$

Nous allons maintenant détailler le calcul de $\hat{\rho}_i(t + dt)$, quelle que soit la configuration initiale. Tout d'abord, deux configurations, données dans le tableau 6.1, ne permettent aucune évolution (voir tableau 6.1). Précisons que pour ces configurations, $\hat{\rho}_i(t + dt) = \hat{\rho}_i(t)$.

Site $i - 1$	Site i	Site $i + 1$
—	—	—
•	•	•

TAB. 6.1 – Situations dans lesquelles l'état du site i ne peut évoluer.

Le tableau 6.2 présente toutes les configurations des sites $i - 1$, i et $i + 1$ au temps t permettant une évolution, ainsi que la situation modifiée au temps $t + 1$.

Site $i - 1$	Site i	Site $i + 1$	$\curvearrowright$	Site $i - 1$	Site i	Site $i + 1$
—	—	•	$\rightarrow$	—	•	—
•	—	—	$\rightarrow$	—	•	—
•	—	•	$\rightarrow$	—	•	•
—	•	—	$\rightarrow$	•	•	—
—	•	•	$\rightarrow$	—	—	•
•	•	—	$\rightarrow$	•	—	—
—	•	•	$\rightarrow$	•	—	•
•	•	—	$\rightarrow$	•	—	•

TAB. 6.2 – Situations pour lesquelles l'état du site i évolue.

L'équation suivante permet de calculer l'état du site i au temps $t + 1$ en fonction de l'état des sites $i - 1$, i et $i + 1$ au temps t , dans le cas uni-dimensionnel¹ :

¹Dans cette équation, nous prendrons la convention suivante : $\rho_i = \rho_i(t)$

$$\hat{\rho}_i(t+dt) - \hat{\rho}_i(t) = \frac{1}{2} \begin{cases} (1 - \hat{\rho}_{i-1})(1 - \hat{\rho}_i)\hat{\rho}_{i+1}\lambda dt \\ + \hat{\rho}_{i-1}(1 - \hat{\rho}_i)(1 - \hat{\rho}_{i+1})\lambda dt \\ + 2\hat{\rho}_{i-1}(1 - \hat{\rho}_i)\hat{\rho}_{i+1}\lambda dt \\ - 2(1 - \hat{\rho}_{i-1})\hat{\rho}_i(1 - \hat{\rho}_{i+1})\lambda dt \\ - (1 - \hat{\rho}_{i-1})\hat{\rho}_i\hat{\rho}_{i+1}\lambda dt \\ - \hat{\rho}_{i-1}\hat{\rho}_i(1 - \hat{\rho}_{i+1})\lambda dt \end{cases} \quad (6.2)$$

Nous allons prendre la moyenne de l'expression 6.2, en utilisant la convention suivante : $\langle \hat{\rho}_i(t) \rangle = \rho_i(t)$. Alors, $\rho_i(t)$ pourra prendre toutes les valeurs comprises entre 0 et 1. De plus, en utilisant la définition de la dérivée, nous obtenons :

$$\rho_i(t+dt) - \rho_i(t) = \frac{d\rho_i(t)}{dt}dt + \mathcal{O}(dt^2), \quad (6.3)$$

et nous arrivons à l'expression simplifiée suivante¹ :

$$\frac{d\rho_i(t)}{dt} = \frac{1}{2}(1 - \rho_i)(\rho_{i-1} + \rho_{i+1})\lambda - \frac{1}{2}\rho_i(2 - \rho_{i-1} - \rho_{i+1})\lambda \quad (6.4)$$

$$= \frac{1}{2}(\rho_{i-1} - 2\rho_i + \rho_{i+1})\lambda \quad (6.5)$$

Nous souhaitons maintenant passer à la limite continue. Pour cela, nous supposons qu'il existe une fonction $\rho(x, t)$ telle que :

$$\rho_i(t) = \rho(x_i, t) \quad \text{avec } x_i = ia, \quad (6.6)$$

où a est la distance entre deux sites voisins. Quand a tend vers 0, si $\rho(x, t)$ est C^∞ (indéfiniment dérivable) alors nous pouvons écrire son développement en série de Taylor en $x+a$ et $x-a$:

$$\rho(x+a, t) = \rho(x, t) + a \frac{\partial \rho(x, t)}{\partial x} + \frac{a^2}{2} \frac{\partial^2 \rho(x, t)}{\partial x^2} + \mathcal{O}(a^3) \quad (6.7)$$

$$\rho(x-a, t) = \rho(x, t) - a \frac{\partial \rho(x, t)}{\partial x} + \frac{a^2}{2} \frac{\partial^2 \rho(x, t)}{\partial x^2} + \mathcal{O}(a^3) \quad (6.8)$$

À partir de ces trois dernières équations (6.6, 6.7 et 6.8), nous arrivons à la limite continue de l'équation 6.5 et le taux d'occupation cellulaire est décrite par l'équation suivante :

$$\frac{\partial \rho(x, t)}{\partial t} = \frac{a^2 \lambda}{2} \frac{\partial^2 \rho(x, t)}{\partial x^2} + \mathcal{O}(a^3). \quad (6.9)$$

Nous retrouvons l'équation de diffusion, dans le cas d'un coefficient de diffusion D constant :

$$\frac{\partial \rho(x, t)}{\partial t} = D \nabla^2 \rho(x, t). \quad (6.10)$$

Ainsi, le taux d'occupation est décrit par une équation de diffusion, dont le coefficient D est constant et égal à $a^2 \lambda / 2$ correspond bien à celui obtenu à partir d'un phénomène de diffusion et nous avons réussi à établir le lien, dans ce cas très simple, entre le modèle microscopique et le modèle macroscopique.

6.1.2 Migration avec interactions entre cellules

Nous allons maintenant faire intervenir l'interaction entre cellules en introduisant le paramètre p . Les cellules ont une probabilité p de venir immédiatement à côté d'une cellule et $(1 - p)$ de migrer sur un site sans cellule voisine. Nous devons tenir compte de l'état des sites $i - 2$ et $i + 2$. L'équation suivante donne l'état du site i au temps $t + dt$, en tenant compte des interactions entre cellules² :

$$\frac{\hat{\rho}_i(t + dt) - \hat{\rho}_i(t)}{dt} = \frac{\lambda}{2} \left\{ \begin{aligned} & (1 - \hat{\rho}_{i-1}) (1 - \hat{\rho}_i) \hat{\rho}_{i+1} (1 - p) \\ & + \hat{\rho}_{i-1} (1 - \hat{\rho}_i) (1 - \hat{\rho}_{i+1}) (1 - p) \\ & + 2\hat{\rho}_{i-1} (1 - \hat{\rho}_i) \hat{\rho}_{i+1} p \\ & - \hat{\rho}_i (1 - \hat{\rho}_{i+1}) [\hat{\rho}_{i+2} p + (1 - \hat{\rho}_{i+2}) (1 - p)] \\ & - [\hat{\rho}_{i-2} p + (1 - \hat{\rho}_{i-2}) (1 - p)] (1 - \hat{\rho}_{i-1}) \hat{\rho}_i(t). \end{aligned} \right. \quad (6.11)$$

Nous appliquons la même procédure que précédemment et nous aboutissons à l'équation suivante :

$$\frac{\partial \rho(x, t)}{\partial t} = \nabla \cdot [D(\rho(x, t)) \nabla \rho(x, t)], \quad (6.12)$$

avec³

$$D(\rho) = 2D_0[(1 - p) + 2(1 - 2p)\rho - 3(1 - 2p)\rho^2], \quad (6.13)$$

où $D_0 = D$ pour $p = 1/2$ ($D_0 = a^2\lambda/2$). L'équation obtenue est une équation de diffusion dont le coefficient de diffusion D dépend du taux d'occupation ; elle devient donc non linéaire. Nous retrouvons une diffusion linéaire pour $p = 1/2$, c'est-à-dire lorsque les interactions entre cellules ne sont pas prises en compte.

Ainsi, le fait d'introduire des règles d'interaction dans notre modèle microscopique entraîne une non-linéarité dans l'équation décrivant l'évolution du taux d'occupation ρ .

²Dans cette équation, nous prendrons la convention suivante : $\rho_i = \rho_i(t)$

³Dans cette équation, nous prendrons la convention suivante : $\rho = \rho(x, t)$

6.2 Passage à deux dimensions

Les coefficients des différents termes du coefficient de diffusion dépendent de la dimension, des règles de migration et du nombre de sites voisins. Dans le cadre de notre étude, nous nous sommes intéressés aux interactions de contact dans le cas d'une migration bi-dimensionnelle, sur un pavage hexagonal. Cependant, la méthode de calcul présentée dans la partie 6.1 devient très longue. Nous utilisons la méthode développée par [32, 40, 41, 61].

Nous cherchons à généraliser le processus qui consiste à faire passer une cellule d'un site i à un site j , en nous assurant préalablement que le site i est occupé par une cellule et que le site j est vide. Nous commençons par définir les distributions de probabilité des différentes configurations par des vecteurs d'un espace affine. Nous représentons les règles d'évolution par un opérateur agissant sur l'espace affine. Pour chaque site i du pavage, nous introduisons deux vecteurs de base $|0_i\rangle$ et $|1_i\rangle$; $|0_i\rangle$ correspond à la configuration où le site i est vide et $|1_i\rangle$ à la configuration où le site i est plein (c'est-à-dire occupé par une cellule). Ainsi, l'état d'un site i du pavage sera représenté par un vecteur u_i qui sera une combinaison linéaire des deux vecteurs de base $(\alpha|0_i\rangle + \beta|1_i\rangle)$.

6.2.1 Cas simples

Avant d'expliquer le formalisme dans la géométrie qui nous intéresse, où le nombre de sites est de N , et le nombre de configurations égale à 2^N , nous simplifions le problème en nous limitant à deux pavages simples : le premier composé d'un site et le deuxième de deux sites.

6.2.1.1 Pavage composé d'un site unique

Si le pavage ne contient qu'un site i , il n'existe que deux configurations possibles : le site est vide ou le site est plein. Pour caractériser la situation, nous introduisons le taux (ou la probabilité) d'occupation ρ du site unique, qui suffit à définir entièrement l'ensemble des configurations possibles. Dans notre cas, nous représentons cette distribution par le vecteur $u_i := (1 - \rho)|0_i\rangle + \rho|1_i\rangle$; le coefficient devant chaque vecteur de base donne la probabilité d'observation de la configuration correspondante.

L'étape suivante consiste à modéliser les règles stochastiques. Prenons le cas simple du processus stochastique de la décroissance radioactive : lorsque le site est plein, il a une certaine probabilité, constante, par unité de temps α de se vider ; si le site est vide, il le restera. Le taux d'occupation $\rho_i(t)$ du site i obéit à l'équation différentielle suivante :

$$\frac{d\rho_i(t)}{dt} = -\alpha\rho_i(t). \quad (6.14)$$

Par conséquent, l'évolution du vecteur qui décrit la distribution de probabilité suit l'équation suivante :

$$\frac{du_i(t)}{dt} = \alpha(a_i - a_i^+ a_i)u_i(t). \quad (6.15)$$

où a_i et a_i^+ sont des matrices 2×2 . Dans la base $|0\rangle, |1\rangle$,

$$a_i = \begin{pmatrix} 0 & 1 \\ 0 & 0 \end{pmatrix} \quad \text{et} \quad a_i^+ = \begin{pmatrix} 0 & 0 \\ 1 & 0 \end{pmatrix}. \quad (6.16)$$

Ces symboles ont été empruntés à la mécanique quantique : a_i et a_i^+ se comportent comme les matrices d'annihilation et de création. La matrice d'évolution, $a_i - a_i^+ a_i$, possède deux termes : le premier, a_i , permet d'augmenter la probabilité d'être dans l'état $|0_i\rangle$ proportionnellement à la probabilité d'être dans la configuration $|1_i\rangle$. Le deuxième terme, $a_i^+ a_i$, permet d'assurer la conservation de la probabilité totale (sans ce terme, la probabilité de la configuration $|1_i\rangle$ serait inchangée).

6.2.1.2 Pavage composé de deux sites

Si le pavage est composé de deux sites, appelés i et j , quatre configurations sont possibles et la distribution peut être représentée par le vecteur $\alpha|0_i, 0_j\rangle + \beta|1_i, 0_j\rangle + \gamma|0_i, 1_j\rangle + \delta|1_i, 1_j\rangle$, avec $\alpha + \beta + \gamma + \delta = 1$. Dans ce cas, les quatre vecteurs de base sont les produits tensoriels des vecteurs de base du site i et du site j : $|0_i, 0_j\rangle = |0_i\rangle \otimes |0_j\rangle$, $|0_i, 1_j\rangle = |0_i\rangle \otimes |1_j\rangle$, $|1_i, 0_j\rangle = |1_i\rangle \otimes |0_j\rangle$ et $|1_i, 1_j\rangle = |1_i\rangle \otimes |1_j\rangle$. Dans le cas particulier où les sites i et j sont statistiquement indépendants (c'est-à-dire que la probabilité que les sites i et j soient occupés est égale à la probabilité d'occupation du site i (ρ_i) multipliée par la probabilité d'occupation du site j (ρ_j)), ce vecteur peut se factoriser comme il suit : $[(1 - \rho_i)|0_i\rangle + \rho_i|1_i\rangle] \otimes [(1 - \rho_j)|0_j\rangle + \rho_j|1_j\rangle]$.

Nous considérons maintenant le processus stochastique suivant : une cellule est transférée du site i (si le site est occupé) vers le site j (s'il est vide) à un taux κ alors le site i devient vide et le site j occupé. L'équation d'évolution du vecteur u représentant la distribution de probabilité des quatre configurations est la suivante :

$$\frac{du(t)}{dt} = \kappa[a_j^+ a_i - (\mathbb{I} - a_j^+ a_j) a_i^+ a_i] u(t). \quad (6.17)$$

Les matrices a_i et a_i^+ sont des matrices 4×4 , agissant sur l'espace de dimension 4 où évolue le vecteur u . La matrice a_i est égale au produit tensoriel de la matrice a_i précédente (agissant sur l'espace bi-dimensionnel de u_i) et de la matrice identité de l'espace bi-dimensionnel de u_j . Le symbole $\mathbb{I}$ fait référence à la matrice identité agissant sur l'espace de dimension 4. Le premier terme de la matrice d'évolution, $a_j^+ a_i$, permet d'augmenter la probabilité d'occupation du site j proportionnellement à la probabilité que le site i soit occupé et que le site j soit vide. Le second terme, $(\mathbb{I} - a_j^+ a_j) a_i^+ a_i$ assure la conservation de la probabilité totale ($\mathbb{I} - a_j^+ a_j = a_j a_j^+$ correspond à la probabilité que le site j soit vide et $a_i^+ a_i$ à la probabilité que le site i soit occupé).

6.2.2 Généralisation et matrice d'évolution

Nous pouvons généraliser cette méthode à n'importe quel processus stochastique. Si le processus obéit à différentes règles qui s'appliquent en parallèle (par exemple "pour chaque couple de sites voisins i et j , une cellule peut passer d'un site i à un site j si le site i est occupé

et le site j est libre, vidant alors le site i pour remplir le site j ”), la matrice d’évolution est la somme des matrices d’évolution correspondant à chaque règle (dans l’exemple précédent, cela serait la somme sur les couples de sites voisins des matrices $a_j^+ a_i - (\mathbb{I} - a_j^+ a_j) a_i^+ a_i$). Il est équivalent de définir le processus par ses règles stochastiques ou par l’expression de la matrice d’évolution de son vecteur de probabilité de configuration u . En appliquant cette technique, nous trouvons que le processus de migration des cellules est décrit par la matrice d’évolution suivante :

$$\hat{W} = \frac{1}{V} \sum_i \sum_{j \in V_i} [a_j^+ a_i - (\mathbb{I} - a_j^+ a_j) a_i^+ a_i] \times F(\{a_k^+ a_k\}_{k \in V_i \text{ et } V_j}), \quad (6.18)$$

Le nombre de voisins par site (égal à 6 dans les cas d’un pavage hexagonal) est symbolisé par V . Nous utilisons l’écriture ($j \in V_i$) pour faire référence aux sites j voisins de i . De même, ($k \in V_i$ et V_j) indique les deux voisins communs de i et de j . F est une fonction dont le nombre de variables dépend du nombre de voisins communs de i et de j . Dans le cas hexagonal bi-dimensionnel, les variables sont au nombre de deux (chaque variable donne le nombre de cellules par site voisin commun à i et j) ; pour chaque couple (i, j) , F est appliqué aux matrices $a_k^+ a_k$ et $a_l^+ a_l$, où k et l sont les deux voisins communs aux sites i et j . Les deux variables de F sont $\hat{\rho}_k$ et $\hat{\rho}_l$, les nombres de cellules sur les deux sites voisins communs à i et j , égaux à 0 ou 1 (0 si le site est vide et 1 s’il est occupé par une cellule)⁴. L’expression de F est choisie pour que, pour chaque couple $\hat{\rho}_k$ et $\hat{\rho}_l$ des sites i et j ⁵, $F(\hat{\rho}_k, \hat{\rho}_l)$ soit égal au taux de transition d’une cellule du site i vers le site j (à condition que le site i soit occupé et que le site j soit vide). Dans notre cas (bi-dimensionnel avec une évolution sur un pavage hexagonal) :

$$F(\hat{\rho}_k, \hat{\rho}_l) = p(\hat{\rho}_k + \hat{\rho}_l)(3 - \hat{\rho}_k - \hat{\rho}_l)/2 + (1 - p)(1 - \hat{\rho}_k)(1 - \hat{\rho}_l) \quad (6.19)$$

ce qui est égal à :

$$F(\hat{\rho}_k, \hat{\rho}_l) = p(\hat{\rho}_k + \hat{\rho}_l - \hat{\rho}_k \hat{\rho}_l) + (1 - p)(1 - \hat{\rho}_k)(1 - \hat{\rho}_l). \quad (6.20)$$

En effet, si nous prenons le cas $p = 1$, la cellule ne peut migrer que si elle a au moins un site voisin avec le site d’arrivée occupé par une cellule (c’est-à-dire si $\hat{\rho}_k$ ou $\hat{\rho}_l$ égale à 1). Si $\hat{\rho}_k = \hat{\rho}_l = 0$, alors le taux de transition $F(\hat{\rho}_k, \hat{\rho}_l)$ est nul : la cellule n’avance pas vers le site j . Cependant, si au minimum un des sites voisins communs k ou l est occupé (c’est-à-dire si $n_k + n_l \geq 1$), alors le taux de transition est égal à 1 : la cellule migre du site i vers le site j .

À partir de cette matrice d’évolution, nous souhaitons décrire l’évolution de la probabilité d’occupation de chaque site i , $\rho_i(t)$. Pour arriver à l’équation d’évolution de $\rho_i(t)$, nous utiliserons la technique de dérivation d’équations d’évolution non corrélées décrite dans [31]. En particulier, la définition du champ conjugué ψ du taux d’occupation ρ nous donne accès à des propriétés de dérivation intéressantes. L’équation d’évolution est écrite de la manière suivante :

$$\partial_t \rho_i = -\partial_{\psi_i(t)} \langle \hat{W} \rangle, \quad (6.21)$$

⁴Notons que $(\hat{\rho}_k)^2 = \hat{\rho}_k$ et $(\hat{\rho}_l)^2 = \hat{\rho}_l$.

⁵ $(\hat{\rho}_k, \hat{\rho}_l) = (1, 1), (1, 0)$, etc.

∂_t représente la dérivée par rapport au temps et $\partial_{\psi_i(t)}$ la dérivée par rapport à la fonction $\psi_i(t)$. $\langle \hat{W} \rangle$ est la moyenne de la matrice d'évolution, calculée en remplaçant $\mathbb{I}$ par 1, chaque $a_i^+ a_i$ par $\rho_i(t)$, chaque $a_i(t)$ par $\rho_i(t) \exp[\psi_i(t)]$, et chaque $a_i^+(t)$ par $[1 - \rho_i(t)] \exp[-\psi_i(t)]$. Ce faisant, nous négligeons les corrélations entre les taux d'occupations des sites voisins, c'est-à-dire que la probabilité que les site i et j soient occupés est égale au produit des taux d'occupation de i et j (ρ_i et ρ_j). Cette approximation permet de passer à la limite continue et de simplifier les calculs. Ici, nous pourrions faire l'approximation suivante : la moyenne d'un produit de deux termes est supposée égale au produit des moyennes. Le résultat obtenu est alors le suivant :

$$\frac{\partial \rho_i(t)}{\partial t} = -\frac{1}{V} \rho_i(t) \sum_{j \in V_i} [1 - \rho_j(t)] F(\rho_k, \rho_l) + (1 - \rho_i(t)) \frac{1}{V} \sum_{j \in V_i} \rho_j(t) F(\rho_k, \rho_l) \quad (6.22)$$

$$= -\frac{1}{V} \sum_{j \in V_i} [\rho_i(t) + \rho_j(t)] F(\rho_k, \rho_l). \quad (6.23)$$

Nous obtenons alors N équations, avec N le nombre de sites du pavage. Chaque équation décrit l'évolution du taux d'occupation du site i .

6.2.3 Limite continue

Grâce au calcul précédent, nous pouvons maintenant décrire le système par le biais de N équations d'évolution pour les N probabilités d'occupation de chaque site i , $\rho_i(t)$. Nous souhaitons remplacer les N quantités $\rho_i(t)$ par une fonction unique $\rho(\vec{r}, t)$ telle que $\rho(\vec{r}_i, t) = \rho_i(t)$ quelque soit t et avec $\vec{r}_i$ la position du centre du site i . Si le pas du pavage a est fini, il existe une infinité de fonctions décrivant cette caractéristique. Cependant, à la limite $a \rightarrow 0$, il n'en reste plus qu'une qui soit au minimum deux fois dérivable. Pour un site i donné, nous remplaçons chaque quantité $\rho_j(t) = \rho(\vec{r}_j, t)$ par son développement de Taylor. Par souci de clarté, nous introduisons la quantité $\vec{u}_{i \rightarrow j} := (\vec{r}_j - \vec{r}_i)/a$, vecteur unité du site i vers le site j . Nous obtenons alors le développement suivant :

$$\begin{aligned} \rho(\vec{r}_j, t) &= \rho(\vec{r}_i) + a \vec{u}_{i \rightarrow j} \cdot \nabla \rho(\vec{r}_i, t) + \\ &\quad (a^2/2) \vec{u}_{i \rightarrow j} \cdot H(\rho(\vec{r}_i, t)) \vec{u}_{i \rightarrow j} + \mathcal{O}(a^3) \end{aligned} \quad (6.24)$$

où $\cdot$ est le produit scalaire, ∇ l'opérateur gradient et H est la matrice hessienne de $\rho(\vec{r}_i, t)$. À deux dimensions (lorsque les deux axes de l'espace sont repérés par x et y), H s'écrit de la manière suivante :

$$H(\rho(\vec{r}_i, t)) = \begin{pmatrix} \frac{\partial^2 \rho(\vec{r}_i, t)}{\partial x^2} & \frac{\partial^2 \rho(\vec{r}_i, t)}{\partial x \partial y} \\ \frac{\partial^2 \rho(\vec{r}_i, t)}{\partial y \partial x} & \frac{\partial^2 \rho(\vec{r}_i, t)}{\partial y^2} \end{pmatrix}. \quad (6.25)$$

Après cette substitution, tous les termes d'ordre 0 en a disparaissent grâce à la conservation locale du nombre de cellules (pas de prolifération ni d'apoptose) ; les termes d'ordre 1 en a disparaissent également, du fait de la symétrie des règles d'évolution (pas de biais entre “la droite et la gauche”, “le haut et le bas”) et de la régularité de la matrice. Étant donné que nous nous intéressons à la limite continue (avec $a \rightarrow 0$), nous négligeons les termes d'ordre supérieur

ou égal à 3 en a . Après calculs, nous trouvons, pour notre modèle, l'équation d'évolution de la probabilité d'occupation ($\rho(t)$) suivante :

$$\frac{\partial \rho(\vec{r}, t)}{\partial t} = \text{div}[D(\rho(\vec{r}, t)) \nabla \rho(\vec{r}, t)], \quad (6.26)$$

avec ⁶

$$D(\rho) = 2D_0[(1 - p) - 2(1 - 2p)\rho + (1 - 2p)\rho^2], \quad (6.27)$$

où D_0 est la valeur de D pour $p = 1/2$ et $D_0 = a^2\lambda/8$. De même que dans le cas unidimensionnel, nous arrivons à une équation de diffusion non linéaire, dont le coefficient de diffusion D dépend du taux d'occupation ρ .

Nous pouvons également définir le vecteur densité de courant $\vec{j}$ en utilisant la loi de Fick, avec un coefficient de diffusion non linéaire :

$$\vec{j}(\vec{r}, t) = -\frac{1}{s}D(\rho(\vec{r}, t))\nabla \rho(\vec{r}, t) \quad (6.28)$$

et une équation de conservation de la concentration cellulaire $c(\vec{r}, t)$ ⁷ (qui vient de l'absence d'apoptose et de prolifération dans notre modèle) :

$$\frac{\partial c(\vec{r}, t)}{\partial t} = -\text{div}[\vec{j}(\vec{r}, t)]. \quad (6.29)$$

En remplaçant l'expression du vecteur densité de courant $\vec{j}(\vec{r}, t)$ donnée par l'équation (6.28) dans cette équation de conservation (6.29), nous retrouvons l'équation d'évolution de $\rho(\vec{r}, t)$ (6.26).

6.2.4 Étude de D_0

Pour déterminer D_0 , nous nous plaçons dans la cas d'une géométrie simple avec une source linéaire. Nous considérons alors un cylindre (pavage avec des conditions périodiques dans une direction) de longueur $L = N_L a\sqrt{3}/2$ et de circonférence $H = N_H a$ connecté à une source de cellules ($\rho = 1$) à son extrémité gauche et à un puits ($\rho = 0$) à son extrémité droite (voir la figure 6.2). N_L et N_H sont deux entiers.

Pour simuler les réservoirs (source et puits) situés aux limites du système étudié, les cellules sont soumises à des règles spéciales d'évolution : dès qu'une cellule quitte un site de l'extrémité gauche du cylindre, ce site est immédiatement occupé par une nouvelle cellule, et, a contrario, dès qu'une cellule arrive sur un site de l'extrémité droite du cylindre, elle disparaît aussitôt. Au départ, les cellules sont situées uniquement au niveau du réservoir plein à partir duquel elles vont migrer. Nous laissons le système évoluer jusqu'à ce qu'il atteigne un état d'équilibre stable avec un courant permanent de cellules. Lors de cet état, les pertes et arrivées des cellules dans les deux réservoirs se compensent en moyenne.

⁶Dans cette équation, nous prendrons la convention suivante : $\rho = \rho(\vec{r}, t)$

⁷Rappelons que la concentration cellulaire et le taux d'occupation sont liés par l'expression suivante : $c(\vec{r}, t) = \rho(\vec{r}, t)/s$.

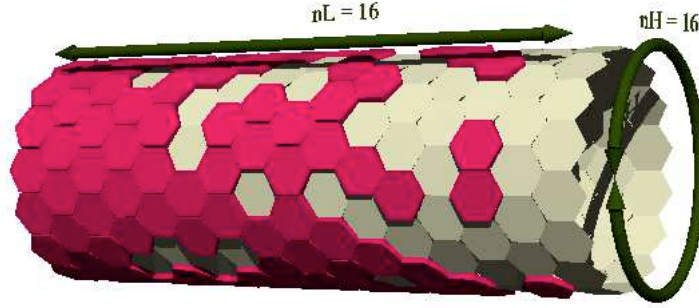


FIG. 6.2 – Vue 3D d'un cylindre connecté à une source de cellules du côté gauche et à un puits du côté droit, avec une configuration typique de cellules dans l'état stable pour un paramètre d'interaction $p = 0.8$.

Dans l'état stable, le taux d'occupation peut être calculé numériquement grâce à la loi de Fick 6.28, ou à l'équation différentielle partielle (EDP) 6.26. Pendant le régime stationnaire (où aucune quantité macroscopique ne dépend du temps), les asymétries initiales du système ont disparu et $\rho(\vec{r})$ ne dépend pas de y (direction qui suit la circonférence du cylindre) : le système est invariant par translation dans cette direction. De plus, $\rho(\vec{r})$ est telle que le courant de cellules est uniforme : $\vec{j}$ est indépendant de x et de y . La loi de Fick 6.28 peut alors s'écrire de la manière suivante :

$$\frac{D[\rho(x)]}{s} \frac{\partial \rho(x)}{\partial x} = -j. \quad (6.30)$$

6.2.4.1 Expression de $\rho(x)$

Nous utilisons et comparons nos deux approches : macroscopique et microscopique.

Approche macroscopique

En traitant j comme un paramètre, et connaissant l'expression de D en fonction de ρ , il est possible d'obtenir la fonction donnant x en fonction de ρ :

$$x(\rho) = \left[1 + \frac{\rho[(2p-1)\rho-3] - 3(1-p)}{p+1} \right] L. \quad (6.31)$$

Ce calcul ne donne pas directement une expression pour $\rho(x)$ mais nous pouvons facilement extraire l'information recherchée à partir de cette formule (6.31). Nous pouvons également tracer la courbe de $\rho(x)$ par une représentation paramétrique $(x(\rho), \rho)$.

Approche microscopique

Nous connaissons déjà l'expression de D en fonction de ρ . Il suffit alors de déterminer le courant de cellules (par unité de longueur et par unité de temps) j ainsi que le taux d'occupation ρ en fonction de x pour vérifier que nous retrouvons la même expression de D_0 ,

à partir de l'automate cellulaire. Le moyen le plus simple est de se placer dans le cas où p vaut $1/2$. Sous cette condition, nous avons un coefficient de diffusion D constant, égal par définition à D_0 . De plus, si nous nous plaçons à un moment où le système a atteint un état stationnaire hors équilibre, le courant de cellules entre la source et le puits devient constant. En prenant en compte toutes ces considérations, nous obtenons une expression simple de D_0 , à partir de l'équation 6.30 :

$$D_0 = -js \left[\frac{\partial x}{\partial \rho(x)} \right]^{-1}. \quad (6.32)$$

À partir de l'équation 6.32, nous pouvons remarquer que, étant donné que D_0 et j sont constants, la dérivée de $\rho(x)$ par rapport à x doit l'être également. Le profil de $\rho(x)$ doit donc être linéaire, comme nous pouvons le voir sur la figure 6.4. Nous avons, de plus, $\rho(0) = 1$ et $\rho(L) = 0$. L'équation de $\rho(x)$ peut alors s'écrire simplement, en accord avec le modèle macroscopique⁸ :

$$\rho(x) = 1 - x/L \quad (6.33)$$

et nous obtenons la valeur de la dérivée spatiale de $\rho(x)$: $\partial\rho(x)/\partial x = -L^{-1}$.

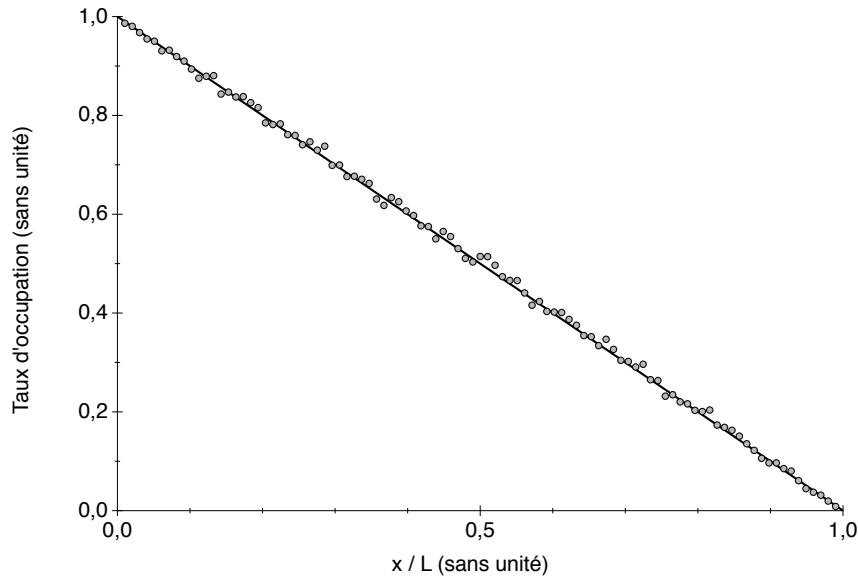


FIG. 6.3 – Taux d'occupation en fonction de la distance de la ligne source. Cette courbe correspond à la migration de cellules entre la ligne-source et la ligne-uits, pour $p = 0.5$. L'ajustement permet d'estimer la valeur de $\partial\rho(x)/\partial x$.

6.2.4.2 Expression du courant stationnaire de cellules j

L'étape suivante consiste à déterminer la valeur du courant stationnaire de cellules j .

⁸En prenant le cas où $p = 1/2$, la formule (6.31) nous donne le même résultat.

Approche macroscopique

L'expression de j (lors du régime stationnaire) peut être obtenue en remplaçant l'expression de $\rho(x)$ déterminée à partir de la formule 6.31 dans la formule 6.30, en prenant les conditions aux bornes (au niveau des deux réservoir, l'un vide et l'autre plein) suivantes : $\rho(0) = 1$ et $\rho(L) = 0$:

$$j = \frac{1+p}{6\sqrt{3}L} \frac{1}{\tau}. \quad (6.34)$$

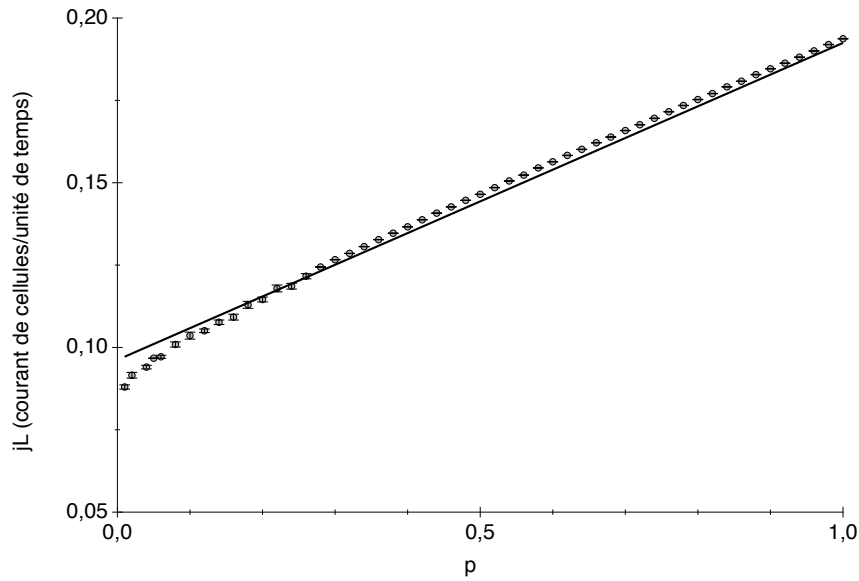


FIG. 6.4 – Courant stationnaire de cellules jL entre les réservoirs plein et vide, en fonction de p .

Approche microscopique

En pratique, d'après l'automate, nous ne mesurons pas exactement j , nous utilisons le courant de cellules qui arrive sur la ligne-puits J . Ce courant diffère de j par un facteur H (avec H la longueur de la ligne-puits⁹) : $J = jH$. Sur la figure 6.5, nous pouvons remarquer que le courant atteint une valeur stationnaire : il augmente progressivement puis atteint un plateau. C'est cette valeur plateau de $J = (26.3 \pm 0.8).10^{-2}$ cellules/itération que nous mesurons pour déterminer D_0 .

Nous obtenons alors $D_0 = (12.8 \pm 0.4).10^{-2}a^2/\text{itération}$, en considérant une configuration hexagonale où la surface des site s est donnée par $s = a^2\sqrt{3}/2$.

⁹Notons que pour notre approche microscopique, les hexagones ne se pas disposés de la même manière que sur la figure 6.2 (ils ont subi une rotation de $\pi/2$) : la longueur du cylindre est $L = N_L a$ et de circonférence $H = N_H a\sqrt{3}/2$

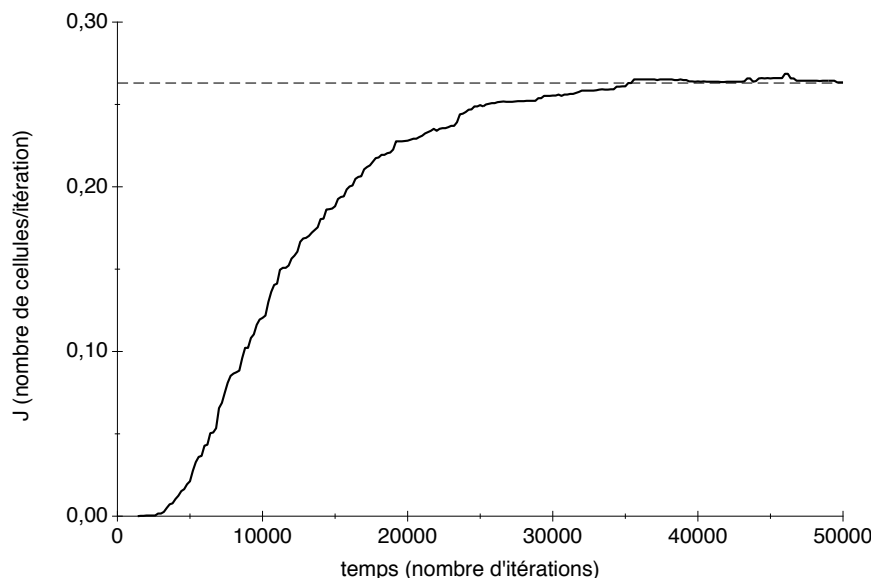


FIG. 6.5 – Courant de cellules J en fonction du temps (l'unité de temps utilisé est l'itération), pour $p = 1/2$.

6.3 Comparaison des deux modèles

L'étape suivante consiste à calculer numériquement la solution de l'équation de diffusion non linéaire à chaque pas de temps. Afin de comparer ce résultat avec ceux de l'automate cellulaire et les données expérimentales, nous écrivons l'équation dans une géométrie radiale avec une source de cellules circulaire, correspondant au centre de cellules dans le modèle microscopique ou au sphéroïde dans les expériences. Nous rendons l'équation de diffusion discrète et nous calculons sa solution en utilisant une méthode implicite [89]. Les dérivées spatiales sont évaluées au temps $t + 1$. Nous choisissons la condition suivante : le taux d'occupation ρ est pris égal à 1 au niveau du centre, quel que soit le temps. Le temps est compté en nombre d'itérations de l'automate, i.e. la solution de l'équation de diffusion est calculée au temps correspondant à la dernière itération de l'automate.

6.3.1 Migration entre un réservoir plein et un réservoir vide

Avant de nous intéresser à la source circulaire, nous souhaitons vérifier le calcul de D_0 dans le cas d'une source linéaire. Pour cela, nous comparons les taux d'occupation calculés à partir des deux méthodes : la résolution numérique de l'équation de diffusion non linéaire et l'automate cellulaire, pour différentes valeurs du paramètre d'interaction p (voir la figure 6.7). Les taux d'occupation sont donnés lorsque le système a atteint un état stationnaire. Pour la plupart de valeurs de p , l'accord entre les deux méthodes est très bon, compte tenu de la taille des barres d'erreur. Nous avons obtenu le même très bon accord en essayant plusieurs distances entre les deux réservoirs, en commençant par une taille équivalente à 16 diamètres de cellule. Cependant, nous pouvons distinguer deux situations où les deux modèles sont en désaccord. Tout d'abord, nous pouvons observer un effet de bord lorsque p vaut 1. À

proximité du réservoir vide, un écart important est visible entre le taux d'occupation moyen sur le dernier site de l'automate cellulaire et la valeur correspondante obtenue à partir de notre équation de diffusion. Sur la courbe violette marquée par des cercles pleins de la figure 6.7, nous voyons que le taux d'occupation augmente au niveau du dernier marqueur. En effet, pour cette valeur spécifique du paramètre d'interaction p , une cellule doit “attendre” l'arrivée d'une seconde pour atteindre le réservoir vide. L'une des deux cellules peut alors tomber dans le puits, laissant l'autre seule et le processus doit se répéter (voir la figure 6.6). Nous pouvons donc observer une stagnation des cellules sur la ligne située juste avant le réservoir vide. De plus, lorsque p est proche de 0, l'accord entre les deux modèles est moins bon (comme par exemple pour $p = 0.05$ sur la figure 6.7). Le fait de négliger les corrélations pourrait être responsable de ce phénomène, pour des valeurs de p très proches de 0.



FIG. 6.6 – Une cellule (en rouge) doit attendre la présence d'une autre cellule voisine pour pouvoir tomber dans le réservoir vide (situé à droite de la figure).

6.3.2 Migration à partir d'une source circulaire : le sphéroïde

La comparaison entre les taux d'occupation obtenus à partir de l'automate et à partir de la solution numérique de l'équation de diffusion, calculés au même instant, est présentée sur la figure 6.9. Comme pour la migration de cellules entre les réservoirs plein et vide (voir la figure 6.7), l'accord entre les deux méthodes est très bon, excepté pour $p = 0$ près de la source. La solution numérique pour $p = 0$ ne correspond pas au taux d'occupation calculé d'après l'automate, en tout cas, pas aussi bien que pour les valeurs de p strictement supérieures à 0. Cet effet est certainement dû aux corrélations entre les cellules voisines que nous avons négligées et qui seraient plus importantes dans le cas particulier de $p = 0$. Cependant, ce cas est un cas extrême et si la valeur de p est très proche de 0, les différences entre les résultats de l'automate et de l'équation de diffusion sont réduites. En général, l'accord entre les profils obtenus grâce aux deux méthodes est bon, ce qui nous permet de valider l'équation de diffusion non linéaire déterminée à partir de l'automate.

Ce bon accord nous permet de faire une comparaison entre la solution numérique de l'équation de diffusion et les taux d'occupation expérimentaux. Le modèle microscopique utilisé comme base pour la détermination de l'équation de diffusion non linéaire correspond aux expériences présentées dans la partie 4.1 (les cellules sont issues de petits sphéroïdes et

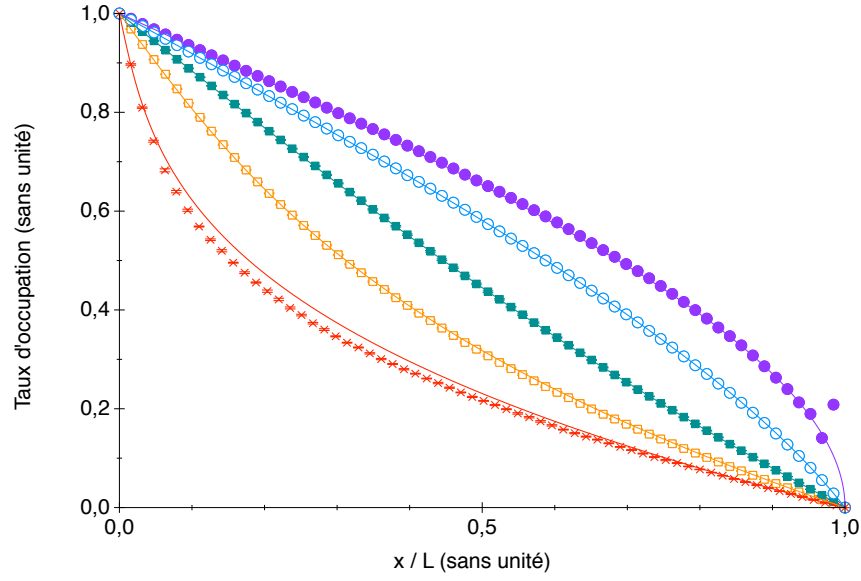


FIG. 6.7 – Taux d'occupation obtenus à partir de l'automate (marqueurs) et à partir de la solution numérique de l'équation de diffusion (courbes en trait plein) pour $p = 1$ (violet, ronds pleins), 0.7 (bleu, ronds vides), 0.4 (vert, carrés pleins), 0.2 (orange, carrés vides) et 0 (rouge, croix), dans le cas d'une migration entre deux réservoirs linéaires (l'un plein et l'autre vide).

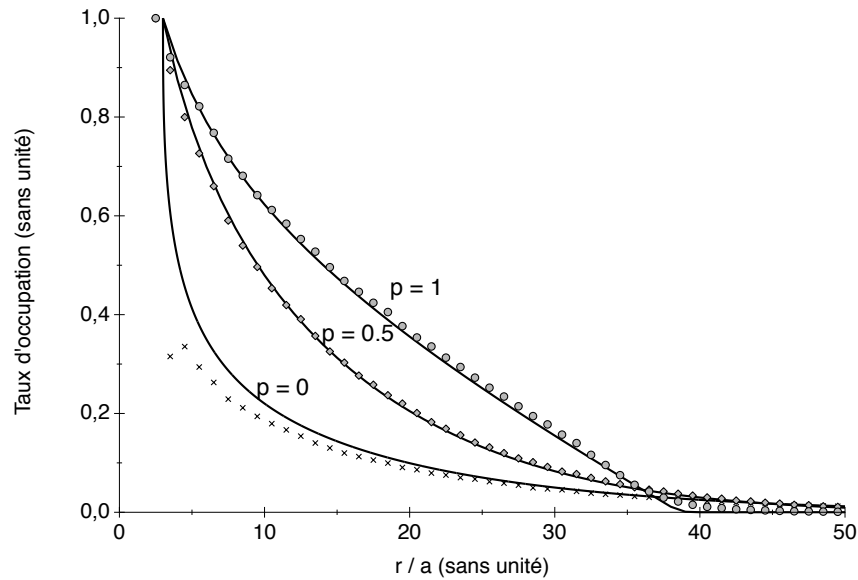


FIG. 6.8 – Taux d'occupation obtenus à partir de l'automate (courbes marquées par des points) et à partir de la solution numérique de l'équation de diffusion (courbes en trait plein) pour $p = 1$, 0.5 et 0 , dans le cas d'une source circulaire. Les barres d'erreur de l'automate sont comprises dans l'épaisseur des marqueurs.

migrent sur du collagène; seules les interactions de contact sont prises en compte). Sur la figure 6.9, les taux d'occupation expérimentaux et ceux obtenus en résolvant numériquement l'équation de diffusion non linéaire sont comparés. Nous pouvons préciser que l'équation du modèle macroscopique a été résolue pour $p = 0.95$. En effet, pour la solution numérique obtenue pour $p = 1$, les taux d'occupation chutent rapidement à 0 et les courbes présentent un bord abrupt. Ces singularités, même si elles peuvent se révéler intéressantes du point de vue théorique, ne pourraient exister expérimentalement que dans le cas de tumeurs solides (c'est-à-dire pour des tumeurs avec des bords bien délimités). Le fait de prendre $p = 0.95$ permet d'éviter de tels artefacts. Pour le calcul de la solution numérique de l'équation de diffusion non linéaire, le temps est exprimé en heures. La longueur d'une unité spatiale est prise égale à $35 \mu\text{m}$ (comme pour le modèle macroscopique présenté dans le chapitre 4) et est équivalente à la taille caractéristique des cellules gliales. Nous trouvons que la valeur de D_0 donnant le meilleur ajustement des taux d'occupation expérimentaux est $1260 \pm 100 \mu\text{m}^2/\text{h}$ (voir la figure 6.9).

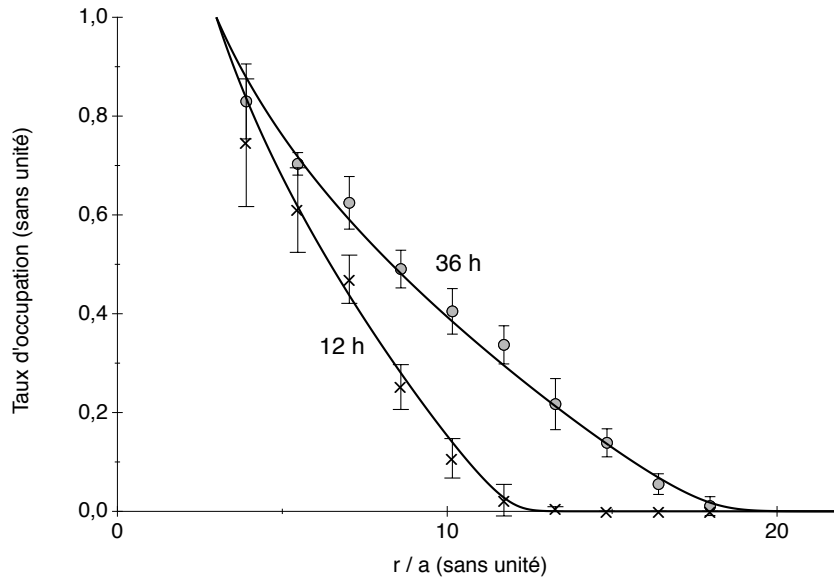


FIG. 6.9 – Comparaison entre les taux d'occupation obtenus à partir de la solution numérique de l'équation de diffusion (courbes en trait plein) pour $p = 1$ et les données expérimentales à 12 heures (croix) et 36 heures (cercles). $D_0 = 1260 \pm 100 \mu\text{m}^2/\text{h}$ avec $a = 35 \mu\text{m}$.

Pour ce type d'expériences *in vitro*, où les cellules sont suivies individuellement, l'automate reste un moyen très efficace de modéliser le système. Dans cette situation, le temps est compté en nombre de cellules éjectées du sphéroïde, la taille du pavage équivaut à la taille effective d'une cellule gliale; le seul paramètre du modèle reste l'intensité des interactions de contact entre cellules, p . Cependant, pour des tumeurs réelles où le nombre de cellules s'approche des 10^7 , l'automate devient ingérable (au niveau du temps de calcul) et l'approche macroscopique, via une équation de diffusion, est plus efficace.

6.4 Introduction de la prolifération

En suivant l'approche bi-dimensionnelle développée par Murray, Tracqui et Woodward dans les publications [80, 105, 110, 111, 116], nous pouvons étudier la croissance tumorale grâce au modèle macroscopique en couplant la diffusion (avec le coefficient de diffusion non linéaire présenté dans l'équation 6.27) et la prolifération¹⁰ :

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} = \nabla \cdot (D(\rho) \nabla \rho) + \kappa \rho. \quad (6.35)$$

Nous avons ajusté nos paramètres κ et D_0 aux valeurs utilisées dans [80, 105, 110, 111, 116] : $\kappa = 0.012/\text{jour}$ et $D_0 = 0.0013 \text{ cm}^2/\text{jour}$. La figure 6.10 présente quelques profils de concentration en cellules tumorales pour les trois valeurs de p suivantes : 1, 0.5 et 0. Les profils sont d'autant plus diffus que le paramètre p est faible.

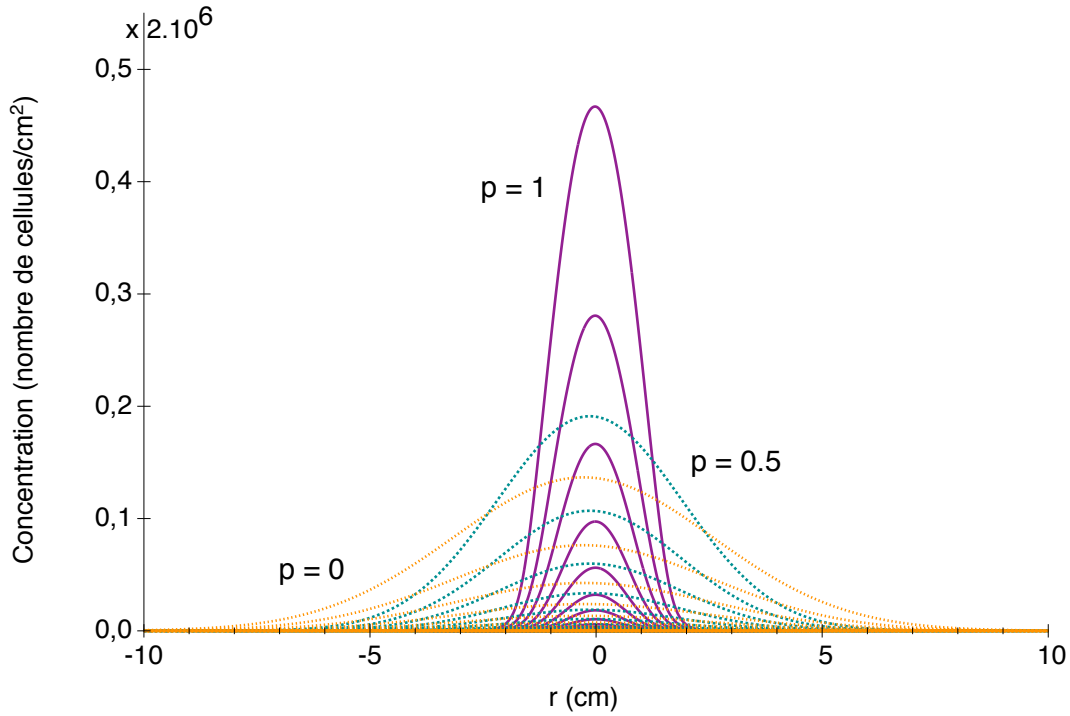


FIG. 6.10 – Concentration en cellules tumorales, pour $p = 1$ (en violet), 0.5 (en vert) et 0 (en orange), pour différents temps. Le taux de prolifération κ considéré est de 0.012/jour et le coefficient D_0 est égal à 0.0013 cm²/jour.

¹⁰Dans l'équation suivante, nous prendrons la convention suivante : $\rho = \rho(\vec{r}, t)$

6.5 Conclusion

Nous avons réussi à établir un lien entre la modélisation macroscopique de la migration de cellules tumorales (décrite dans les chapitres 3, 4 et 5) et la description macroscopique, basée sur une équation de type diffusion utilisée dans la plupart des modèles phénoménologiques de croissance tumorale.

Le modèle microscopique présente certains avantages. Il permet tout d’abord une visualisation simple des résultats : nous pouvons “voir les cellules” migrantes. De plus, il peut être directement comparé aux expériences. Il a rendu possible la mise en évidence de caractéristiques de la migration. Nous pouvons citer, par exemple, l’attraction de contact entre cellules, que nous avons introduite dans l’article [6] pour reproduire les données expérimentales. Néanmoins, la modélisation microscopique présente certains inconvénients. Dans nos approches, nous nous sommes limités à la géométrie bi-dimensionnelle. En effet, bien qu’une extension tri-dimensionnelle du modèle microscopique soit, en principe, possible, cela conduirait à une complication notable. En outre, même en nous limitant à une migration bi-dimensionnelle, la situation faisant intervenir des millions de cellules présentes dans une tumeur est impossible à modéliser en un temps de calcul raisonnable. Nos simulations de migration impliquent généralement quelques milliers de cellules.

Une description macroscopique traite des quantités moyennes, comme des concentrations cellulaires (ou les taux d’occupation). Ainsi, une telle approche permet de dépasser le faible nombre de cellules qu’un automate peut traiter. Cependant, les interactions de contact ne sont pas étudiées à moins de les faire intervenir explicitement dans les équations macroscopiques. Notre travail présenté dans ce chapitre a consisté à faire le lien entre le modèle microscopique et le modèle macroscopique, en tenant compte des interactions de contact.

Nous avons utilisé, en premier lieu, une modélisation microscopique de migration cellulaire basée sur un automate cellulaire. Une comparaison avec des expériences de migration *in vitro* a permis de valider ce modèle (voir les chapitres 4 et 5). En partant de l’automate cellulaire (avec une géométrie et des règles de migration données), nous avons déterminé une équation de diffusion non linéaire en utilisant les limites continues adéquates. Notre principal résultat est que les interactions entre cellules modifient le processus de diffusion en introduisant des non-linéarités dans le système.

Cependant, notre modèle est basé sur un automate précis, avec une géométrie et des règles de migration particulières. Il existe bien d’autres possibilités. Pour rester proche d’une situation “réelle”, il est essentiel que, pour la géométrie choisie, chaque site ait un nombre suffisamment important de sites voisins. En effet, un nombre trop faible de sites voisins diminuerait artificiellement la dynamique du système. De plus, les règles de migration ont été choisies en comparant l’automate aux expériences. Néanmoins, il serait intéressant de regarder la robustesse du coefficient de diffusion non linéaire en changeant la géométrie : en introduisant une déformation du pavage hexagonal ou en mimant la migration des cellules tumorales sur un substrat différent, sur une monocouche d’astrocytes par exemple comme dans l’article [7].

Conclusion

Alors que la plupart des modèles développés à l'heure actuelle s'intéressent à simuler la progression tumorale (en particulier les modèles déterministes utilisant des équations aux dérivées partielles), l'enjeu de départ de cette thèse était d'étudier les mécanismes à l'origine de l'invasion tumorale et, plus modestement, la migration de cellules tumorales *in vitro*. Nous avons souhaité nous focaliser sur une tumeur pour laquelle l'invasion joue un rôle déterminant dans le pronostic vital particulièrement mauvais : le glioblastome, tumeur cérébrale de grade IV.

Compte tenu de la complexité des mécanismes impliqués dans l'invasion tumorale *in vivo*, nous souhaitons nous intéresser à un système plus simple : la migration de cellules tumorales issues de glioblastomes sur différents substrats. Ces substrats étaient de différentes natures : soit acellulaire (composé de collagène), soit plus proche de la réalité *in vivo* : une monocouche d'astrocytes. La simplification du système biologique nous a permis de créer le modèle de migration le plus simple possible, en introduisant un nombre minimal de paramètres que nous avons pu étudier grâce à la comparaison systématique de nos résultats de simulations avec des expériences *in vitro*. Le type de modèle choisi est un modèle microscopique stochastique basé sur un automate cellulaire, dont le pavage est soit hexagonal, soit hexagonal déformé. Sur ce pavage, chaque cellule est représentée par un polygone et migre selon des règles pré-définies et dépendant des interactions introduites. Deux types d'interactions ont été sélectionnées :

- les interactions de contact (interactions communicantes) entre cellules tumorales d'une part et entre cellules tumorales et astrocytes (qui interviennent lorsque le substrat de migration est une monocouche d'astrocytes) d'autre part,
- les interactions attribuées à la présence d'un chimio-répulsif.

Les principaux résultats ont permis de conclure sur l'existence d'une attraction entre cellules tumorales lorsque les cellules tumorales migrent sur un substrat de collagène. Plus précisément, les cellules tumorales ont besoin de rester au contact de cellules tumorales voisines pour migrer. Dans le cas où les cellules évoluent sur une monocouche d'astrocytes, les interactions de contact entre cellules tumorales et astrocytes s'ajoutent et ces interactions semblent faciliter la migration des cellules tumorales. Dans cette situation, avec notre modèle, les cellules tumorales n'ont plus besoin de rester en contact avec des cellules tumorales voisines pour migrer si elles restent en contact avec un astrocyte sain.

Une autre série d'expériences où les jonctions communicantes ont été inhibées a permis de confirmer le rôle de ces jonctions dans "l'attraction" entre cellules tumorales et entre cellules tumorales et astrocytes. Cette inhibition a permis de mettre en évidence un résultat remarquable : les cellules tumorales, au contact des astrocytes, migrent moins lorsque les jonctions communicantes sont inhibées. Ce résultat tend donc à montrer que la communication entre astrocytes et cellules tumorales faciliterait la migration de ces dernières.

De plus, la confrontation entre les résultats de nos simulations et ceux expérimentaux pour lesquels les cellules tumorales sont issues de plus gros amas cellulaires est en accord avec la présence d'une substance chimio-répulsive, encore inconnue, qui serait sécrétée par les zones hypoxiques de la tumeurs. Un travail approfondi a permis de donner une estimation du coefficient de diffusion de cette substance. Cette estimation pourrait permettre, en connaissant de manière assez précise la viscosité du collagène dans lequel migrent les cellules tumorales, d'évaluer le rayon de la molécule impliquée.

Enfin, forts de ces résultats, nous avons réussi à construire, à partir de notre modèle microscopique, un modèle macroscopique déterministe. Ce modèle a été construit sur la base d'une équation aux dérivées partielles, pour décrire la diffusion des cellules tumorales sur un substrat de collagène, tenant compte des interactions entre cellules tumorales. Les premiers résultats ont permis de valider l'approche macroscopique en comparant les données de nos deux modèles. Ainsi, la migration des cellules tumorales ne peut se réduire à une simple diffusion, comme cela est supposé dans les principaux modèles macroscopiques. Il est nécessaire de tenir compte des interactions entre cellules tumorales et entre cellules tumorales et substrat.

Perspectives

Ainsi, pendant ce travail de thèse, nous avons développé deux approches complémentaires, l'une "microscopique" qui permet de reproduire la migration des cellules tumorales au niveau cellulaire et l'autre plus "macroscopique" permettant d'obtenir la densité de cellules tumorales. Ces deux approches sont valables dans des cas différents :

- la première (microscopique) permet de reproduire des expériences *in vitro* de migration d'un nombre modéré de cellules issues de sphéroïdes,
- la deuxième (macroscopique) permet de nous rapprocher d'une tumeur plus réaliste.

Nous espérons pouvoir faire évoluer chacune d'elle pour se rapprocher au maximum des conditions *in vivo*, tout en donnant un biologique aux paramètres physiques.

Modèle microscopique

Bien que le modèle microscopique développé soit très épuré, les résultats ont permis de démontrer l'importance d'une telle modélisation dans la compréhension de phénomènes biologiques. Cependant, il reste à trouver le sens biologique précis caché derrière les paramètres

physiques du modèle (c'est-à-dire p et q). Nous avons beaucoup insisté sur les jonctions communicantes mais n'y faut-il pas voir d'autres interactions de contact comme les cadhérines par exemple ?

Une autre question qui reste en suspens concerne la prolifération. Est ce que les cellules migrantes ne prolifèrent réellement pas ? Pour répondre à ce questionnement, il est nécessaire de réaliser d'autres expériences *in vitro* d'évolutions de sphéroïdes avec des conditions plus favorables à la prolifération. Il s'agirait donc d'ajouter la prolifération au modèle microscopique, tout au moins pour les cellules qui restent immobiles quelques instants.

Pour améliorer la modélisation microscopique, il est, également, important d'étudier la forme des cellules tumorales migrantes. En effet, en migrant, les cellules gliales s'allongent fortement dans la direction du mouvement. Pour mieux représenter ceci, il est possible de modifier légèrement le modèle afin qu'une cellule occupe deux sites au lieu d'un. Néanmoins, il peut s'avérer nécessaire de modifier le pavage de l'espace pour créer des sites aux formes allongées. Il faudrait alors que le pavage évolue en même temps que les cellules. Suite à ces modifications, il serait intéressant de regarder les trajectoires et les vitesses des cellules tumorales et de les comparer à des données expérimentales.

De plus, les résultats ont été obtenus en comparant nos données à des données expérimentales *in vitro*. Nous nous devons de vérifier la validité de ces résultats dans des conditions *in vivo* ou, tout du moins, dans des conditions plus proches de l'*in vivo*. Ceci reviendrait à utiliser des expériences où les cellules migrent sur (ou dans) un substrat plus complexe. Par exemple, nous pourrions comparer notre modèle à des données issues d'expériences de migration de cellules tumorales dans des tranches de cerveau. Pour cela, il pourrait être intéressant de faire évoluer un nombre modéré de cellules dans un automate à trois dimensions. Cela reviendrait à ajouter de nouvelles interactions, entre cellules tumorales et matrice extracellulaire par exemple. Ceci pourrait permettre également "d'observer" si les cellules tumorales issues de glioblastomes sécrètent ou non des métalloprotéases matricielles qui dégradent la matrice extracellulaire et dont l'activité faciliterait l'invasion tumorale. Nous pourrions également étudier la migration des cellules tumorales le long des fibres de la substance blanche.

Modèle macroscopique

Nous avons vu que notre modèle macroscopique de migration de cellules tumorales est obtenu à partir des règles de migration imposées dans notre modèle microscopique. Ainsi, chaque amélioration apportée au modèle microscopique, notamment celles concernant les interactions entre cellules tumorales et substrat, peut être transposée au modèle macroscopique. En ce qui concerne le modèle macroscopique, la prochaine étape consiste à modifier le coefficient de diffusion non linéaire afin de tenir compte des interactions entre cellules tumorales et astrocytes. Cette étape permettra de modéliser la migration de cellules tumorales sur une monocouche d'astrocytes, comme avec le modèle microscopique. De plus, si une extension du modèle microscopique est effectué concernant les interactions entre cellules tumorales et

substrat, nous pourrions ajouter ces nouvelles interactions au modèle macroscopique à trois dimensions. Des données anatomiques (chez le petit animal en premier lieu) pourraient permettre d'établir une cartographie des interactions qui agiraient sur les cellules tumorales. Si une telle évolution est possible, nous pouvons imaginer que le coefficient de diffusion non linéaire des cellules, dépendant des interactions entre cellules tumorales et entre cellules tumorales et substrat, pourrait varier suivant la position des cellules. Dans ce cas le modèle permettrait d'obtenir les courbes de densité de vraies tumeurs. En outre, ce modèle pourrait nous renseigner sur l'importance relative entre interactions cellules tumorales-cellules tumorales et interactions cellules tumorales-substrat.

Ensuite, il serait intéressant de comparer les courbes iso-densité entre notre modèle de diffusion non linéaire et les modèles avec une diffusion constante. Ceci permettrait de quantifier l'importance des interactions microscopiques sur des données macroscopiques. Une application possible de notre approche serait d'étudier le comportement des cellules tumorales invasives après un traitement chirurgical et d'estimer le temps entre la résection et la récurrence.

Enfin, rêvons un peu (sur la base des premiers résultats de ce travail de thèse)! Nous nous rappelons que la motilité des cellules tumorales dont les jonctions communicantes ont été inhibées et migrant sur une monocouche d'astrocytes est réduite. Supposons qu'il soit possible de trouver un médicament qui, spécifique aux cellules tumorales, puisse bloquer les jonctions communicantes. La migration des cellules tumorales *in vivo* serait-elle également réduite? Ce médicament, bien que largement hypothétique, pourrait-il ralentir l'évolution d'une telle tumeur?

Annexe : définition des paramètres

- a unité spatiale de l'automate (égale à la distance entre deux sites voisins)
- c concentration de cellules tumorales
- C concentration en chimio-répulsif
- D coefficient de diffusion des cellules (dans certains cas particuliers, nous pourrons utiliser la notation D_0)
- D_c coefficient de diffusion du chimio-répulsif
- j courant de cellules
- J courant de cellules j multiplié par une longueur
- p paramètre d'interaction entre cellules tumorales
- p_+ fait référence à la valeur du paramètre dans des conditions témoins
 - p_- est utilisé lorsque les jonctions communicantes sont inhibées
- P_{occ} pourcentage d'occupation effective de la monocouche d'astrocytes
- q paramètre d'interaction entre cellules tumorales et astrocytes
- q_+ fait référence à la valeur du paramètre dans des conditions témoins
 - q_- est utilisé lorsque les jonctions communicantes sont inhibées
- s surface d'un site de l'automate
- v paramètre de variabilité (qui permet de déformer un pavage régulier)
- V nombre moyen de sites voisins
- $\hat{W}$ matrice d'évolution du système (définie pour le passage du modèle microscopique au modèle macroscopique)

κ taux de prolifération

λ taux de transition d'une cellule d'un site à un autre ($\lambda = 1/\tau$)

$\hat{\rho}_i$ taux d'occupation du site i (égal à 1 s'il est occupé et 0 s'il est vide)

ρ_i taux d'occupation moyen du site i (égal à $\langle \hat{\rho}_i(t) \rangle$)

τ temps de mise à jour de tous les sites du système (pendant ce temps, chaque cellule a la possibilité de migrer)

Bibliographie

- [1] Ali-Osman F (Éditeur), *Brain Tumors*, Contemporary Cancer Research, Humana Press, Totowa-New Jersey, 2005.
- [2] Alvord EC Jr, Simple model of recurrent gliomas, *J. Neurosurg.* 1991, 75(2) :337-8.
- [3] Alarcón T, Byrne HM, Maini PK, A cellular automaton model for tumour growth in inhomogeneous environment, *J. Theor. Biol.* 2003, 225(2) :257-74.
- [4] Aronica E, Gorter JA, Jansen GH, Leenstra S, Yankaya B, Troost D, Expression of connexin 43 and connexin 32 gap-junction proteins in epilepsy-associated brain tumors and in the perilesional epileptic cortex, *Acta Neuropathol. (Berl)* 2001, 101 :449-459.
- [5] Asano K, Duntsch CD, Zhou Q, Weimar JD, Bordelon D, Robertson JH, Pourmotabbed T, Correlation of N-cadherin expression in high grade gliomas with tissue invasion, *J Neurooncol.* 2004, 70(1) :3-15.
- [6] Aubert M, Badoual M, Fereol S, Christov C, Grammaticos B, A cellular automaton model for the migration of glioma cells, *Phys. Biol.* 2006, 3(2) :93-100.
- [7] Aubert M, Badoual M, Christov C, Grammaticos B, A model for glioma cell migration on collagen and astrocytes, *J. R. Soc. Interface.* 2008, 5(18) :75-83.
- [8] Aubert M, Badoual M, Grammaticos B, A model for short- and long-range interactions of migrating tumour cell, soumis.
- [9] Béhin A, *Tumeurs intracrâniennes*, Référentiel National, Collège des Enseignants de Neurologie, 2002 (<http://www.univ-rouen.fr/servlet/com.univ.utils.LectureFichierJoint?CODE=157&LANGUE=0>).
- [10] Bianchi CC, Tampieri D, Guiot MC, Hall J, Intracranial Dissemination of Glioblastoma Multiforme in Adults, *NeuroImage*, 2005, 21 :6-7.
- [11] Bocchini V, Casalone R, Collini P, Rebel G, Lo Curto F, Changes in glial fibrillary acidic protein and karyotype during culturing of two cell lines established from human glioblastoma multiforme, *Cell Tissue Res.* 1991, 265(1) :73-81.
- [12] Brockmann MA, Ulbricht U, Grüner K, Fillbrandt R, Westphal M and Lamszus K, Glioblastoma and cerebral microvascular endothelial cell migration in response to tumor-associated growth factors, *Neurosurgery.* 2003, 52 :1391-9.
- [13] Burgess PK, Kulesa PM, Murray JD, Alvord EC, The interaction of growth rates and diffusion coefficients in a three-dimensional mathematical model of gliomas, *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 1997, 56(6) :704-13.
- [14] Calka P, An explicit expression for the distribution of the number of sides of the typical Poisson-Voronoi cell, *Adv. Appl. Prob. (SGSA)* 2003, 35 :863-870.

BIBLIOGRAPHIE

- [15] Carozza SE, Wrench M, Miike R, Newman B, Olshan AF, Savitz DA, Yost M, Lee M, Occupation and adult gliomas, *Am. J. Epidemiol.* 2000, 152(9) :838-46.
- [16] Casciari JJ, Sotirchos SV, Sutherland RM, Variations in tumor cell growth rates and metabolism with oxygen concentration, glucose concentration, and extracellular pH, *J. Cell. Physiol.* 1992, 151(2) :386-94.
- [17] Cavallaro U, Christofori G, Cell adhesion and signalling by cadherins and Ig-CAMs in cancer, *Nat Rev Cancer.* 2004, 4(2) :118-32.
- [18] Chaplain MA, Mathematical modelling of angiogenesis, *J. Neurooncol.* 2000, 50(1-2) :37-51.
- [19] Chaplain MA, McDougall SR, Anderson AR, Mathematical modeling of tumor-induced angiogenesis, *Annu. Rev. Biomed. Eng.* 2006, 8 :233-57.
- [20] Chicoine MR, Silbergeld DL, Assessment of brain tumor cell motility in vivo and in vitro, *J. Neurosurg.*, 1995, 82(4) :615-22.
- [21] Clatz O, Bondiau PY, Delingette H, Sermesant M, Warfield SK, Malandain G, Ayache N, Brain tumor growth simulation, Tech Rep 5187, INRIA, 2004.
- [22] Clatz O, Sermesant M, Bondiau PY, Delingette H, Warfield SK, Malandain G, Ayache N, Realistic simulation of the 3-D growth of brain tumors in MR images coupling diffusion with biomechanical deformation, *IEEE Trans. Med. Imaging.* 2005, 24(10) :1334-46.
- [23] Daumas-Duport C, Varlet P, Tucker ML, Beuvon F, Cervera P, Chodkiewicz JP, Oligodendrogliomas. Part I : Patterns of growth, histological diagnosis, clinical and imaging correlations : a study of 153 cases, *J. Neurooncol.* 1997, 34(1) :37-59.
- [24] Daumas-Duport C, Tucker ML, Kolles H, Cervera P, Beuvon F, Varlet P, Udo N, Koziak M, Chodkiewicz JP, Oligodendrogliomas. Part II : A new grading system based on morphological and imaging criteria. *J. Neurooncol.* 1997, 34(1) :61-78.
- [25] Davidson JS, Baumgarten IM, Harley EH, Reversible inhibition of intercellular junctional communication by glycyrrhetic acid, *Biochem Biophys Res Commun.*, 1986, 134(1) :29-36.
- [26] de Boüard S, Christov C, Guillamo JS, Kassar-Duchossoy L, Palfi S, Leguerinel C, Masset M, Cohen-Hagenauer O, Peschanski M, Lefrançois T, Invasion of human glioma biopsy specimens in cultures of rodent brain slices : a quantitative analysis, *J Neurosurg.* 2002, 97(1) :169-76.
- [27] Deisboeck TS, Berens ME, Kansal AR, Torquato S, Stemmer-Rachamimov AO, Chiocca EA, Pattern of self-organization in tumour systems : complex growth dynamics in a novel brain tumour spheroid model, *Cell Prolif.* 2001, 34(2) :115-34.
- [28] Deisboeck TS, Demuth T, Mansury Y, Correlating velocity patterns with spatial dynamics in glioma cell migration, *Acta Biotheor.* 2005, 53(3) :181-90.
- [29] Del Duca D, Werbowetski T, Del Maestro R, Spheroid preparation from hanging drops : characterization of a model of brain tumour invasion, *J. Neurooncol.* 2004, 67(3) :295-303.
- [30] Del Maestro R, Shivers R, McDonald W, Del Maestro A, Dynamics of C6 astrocytoma invasion into three-dimensional collagen gels, *J. Neurooncol.* 2001, 53(2) :87-98.
- [31] Deroulers C, Monasson R, Field-theoretic approach to metastability in the contact process, *Phys Rev E* 2004, 69(1), 016126-1-16.
- [32] Doi M, Second quantization representation for classical many-particle system, *J Phys A - Math Gen.* 1976, 9(9) :1465-1477.

BIBLIOGRAPHIE

- [33] Drasdo D, Höhme S, A single-cell-based model of tumor growth in vitro : monolayers and spheroids, *Phys. Biol.* 2005, 2(3) :133-47.
- [34] Düchting W, Dehl G, Spread of cancer cells in tissues : modelling and simulation, *Int J Biomed Comput*, 1980, 11(3) :175-95.
- [35] Düchting W, Vogelsaenger T, Three-dimensional pattern generation applied to spheroidal tumor growth in a nutrient medium, *Int J Biomed Comput*, 1983, 12(5) :377-98.
- [36] Düchting W, Vogelsaenger T, Aspects of modelling and simulating tumor growth and treatment, *J Can Res Clin Oncol*, 1983, 105(1) :1-12.
- [37] Düchting W, Vogelsaenger T, Recent progress in modelling and simulation of three-dimensional tumor growth and treatment, *Biosystems*, 1985, 18(1) :79-91.
- [38] Engelhard HH, Current diagnosis and treatment of oligodendroglioma, *Neurosurg. Focus.* 2002, 12(2) :E2.
- [39] Engelhard HH, Stelea A, Mundt A, Oligodendroglioma and anaplastic oligodendroglioma : clinical features, treatment and prognosis, *Surg. Neurol.* 2003, 60(5) :443-56.
- [40] Felderhof BU, Spin relaxation of the ising chain, *Rep. Math. Phys.* 1971, 1 :215-234.
- [41] Felderhof BU, Note a spin relaxation of the ising chain, *Rep. Math. Phys.* 1971, 2(2) :151-152.
- [42] Freyer JP, Role of necrosis in regulating the growth saturation of multicellular spheroids, *Cancer Res.* 1988, 48(9) :2432-9.
- [43] Fukushima Y, Ohnishi T, Arita N, Hayakawa T, Sekiguchi K, Integrin alpha3beta1-mediated interaction with laminin-5 stimulates adhesion, migration and invasion of malignant glioma cells, *Int J Cancer.* 1998, 76(1) :63-72.
- [44] Gardner M, Mathematical Games. The fantastic combinations of John Conway's new solitaire game "life", *Sci. Am.* 1970, 223 :120-123.
- [45] Gatenby RA, Gawlinski ET, A reaction-diffusion model of cancer invasion, *Cancer Res.* 1996, 56(24) :5745-53.
- [46] Gevertz JL, Torquato S, Modeling the effects of vasculature evolution on early brain tumor growth, *J. Theor. Biol.* 2006, 243(4) :517-31.
- [47] Giese A, Kluwe L, Laube B, Meissner H, Berens ME, Westphal M, Migration of human glioma cells on myelin, *Neurosurgery.* 1996, 38(4) :755-64.
- [48] Giese A, Bjerkvig R, Berens ME, Westphal M, Cost of migration : invasion of malignant gliomas and implications for treatment, *J. Clin. Oncol.* 2003, 21(8) :1624-36.
- [49] Gilbert MR, Loghin M, The Treatment of Malignant Gliomas, *Curr. Treat. Options Neurol.* 2005, 7(4) :293-303.
- [50] Goldberg GS, Bechberger JF, Naus CC, A pre-loading method of evaluating gap junctional communication by fluorescent dye transfer, *Biotechniques.* 1995, 18 :490-497.
- [51] Goldberg GS, Bechberger JF, Tajima Y, Merritt M, Omori Y, Gawinowicz MA, Narayanan R, Tan Y, Sanai Y, Yamasaki H, Naus CC, Tsuda H, Nicholson BJ, Connexin43 suppresses MFG-E8 while inducing contact growth inhibition of glioma cells, *Cancer Res.* 2000, 60(21) :6018-26.
- [52] Goldbrunner RH, Bernstein JJ, Tonn JC, Cell-extracellular matrix interaction in glioma invasion, *Acta Neurochir (Wien).* 1999, 141(3) :295-305.

BIBLIOGRAPHIE

- [53] Guillo JM, Lisovsky F, Christov C, Le Gu  rnel C, Defer GL, Peschanski M, Lefran  ois T, Migration pathways of human glioblastoma cells xenografted into the immunosuppressed rat brain, *J Neurooncol.* 2001, 52(3) :205-15.
- [54] Hansson Mild K, Hardell L, Kundi M, Mattsson MO, Mobile telephones and cancer : is there really no evidence of an association ? (review), *Int J. Mol. Med.* 2003, 12(1) :67-72.
- [55] B. Heged  s, A. Cz  r  k, I. Fazekas, T. B  bel, E. Madar  sz, T. Vicsek, Locomotion and proliferation of glioblastoma cells in vitro : statistical evaluation of videomicroscopic observations, *J Neurosurg.* 2000, 92 :428-434.
- [56] Hermoye L, Wakana S, Laurent JP, Jiang H, Cosnard G, van Zijl P, Mori S, White matter atlas, <http://www.dtiatlas.org/>.
- [57] Holder JW, Elmore E, Barrett JC, Gap junction function and cancer, *Cancer Res.* 1993, 53(15) :3475-85.
- [58] Hood JD, Cheresch DA, Role of integrins in cell invasion and migration, *Nat Rev Cancer.* 2002, 2(2) :91-100.
- [59] Huang RP, Hossain MZ, Sehgal A, Boynton AL, Reduced connexin43 expression in high-grade human brain glioma cells, *J Surg Oncol.* 1999, 70 :21-24.
- [60] Jbabdi S, Mandonnet E, Duffau H, Capelle L, Swanson KR, P  l  grini-Issac M, Guillevin R, Benali H, Simulation of anisotropic growth of low-grade gliomas using diffusion tensor imaging, *Magn. Reson. Med.* 2005, 54(3) :616-624.
- [61] Kadanoff LP, Swift J, Transport coefficients near the critical point : a master-equation approach, *Phys. Rev.* 1968, 165(1) :310 ;
- [62] Kansal AR, Torquato S, Harsh IV GR, Chiocci EA, Deisboeck TS, Cellular automaton of idealized brain tumor growth dynamics, *Biosystems.* 2000, 55(1-3) :119-27.
- [63] Kansal AR, Torquato S, Harsh GR IV, Chiocci EA, Deisboeck TS, Simulated brain tumor growth dynamics using a three-dimensional cellular automaton, *J. Theor. Biol.* 2000, 203(4) :367-82.
- [64] Kaplan MI, Morgan WF, The nucleus is the target for radiation-induced chromosomal instability, *Radiat. Res.* 1998, 150(4) :382-90.
- [65] Kreth FW, Warnke PC, Scheremet R, Ostertag CB, Surgical resection and radiation therapy versus biopsy and radiation therapy in the treatment of glioblastoma multiforme, *J. Neurosurg.* 1993, 78(5) :762-6.
- [66] Krutovskikh VA, Oyamada M, Yamasaki H, Sequential changes of gap-junctional intercellular communications during multistage rat liver carcinogenesis : direct measurement of communication in vivo, *Carcinogenesis.* 1991, 12(9) :1701-6.
- [67] Lin JH, Takano T, Cotrina ML, Arcuino G, Kang J, Liu S, Gao Q, Jiang L, Li F, Lichtenberg-Frate H, Haubrich S, Willecke K, Goldman SA, Nedergaard M, Connexin 43 enhances the adhesivity and mediates the invasion of malignant glioma cells, *J Neurosci.* 2002, 22(11) :4302-4311
- [68] Loewenstein WR, Junctional intercellular communication and the control of growth, *Biochim Biophys Acta.* 1979, 560(1) :1-65.
- [69] Lonardi S, Tosoni A, Brandes AA, Adjuvant chemotherapy in the treatment of high grade gliomas, *Cancer. Treat. Rev.* 2005, 31(2) :79-89.

BIBLIOGRAPHIE

- [70] Lyons SA, Chung WJ, Weaver AK, Ogunrinu T, Sontheimer H, Autocrine glutamate signaling promotes glioma cell invasion, *Cancer Res.*, 2007, 67(19) :9463-71.
- [71] Macarthur DC, Buxton N, The management of brain tumours, *J. R. Coll. Surg. Edinb.*, 2001, 46(6) :341-8.
- [72] Mantzaris NV, Webb S, Othmer HG, Mathematical modeling of tumor-induced angiogenesis, *J. Math. Biol.* 2004, 49(2) :111-87.
- [73] McCarthy KD, de Vellis J, Preparation of separate astroglial and oligodendroglial cell cultures from rat cerebral tissue, *J Cell Biol.* 1980, 85(3) :890-902.
- [74] McDonough WS, Johansson A, Joffe H, Giese A, Berens ME, Gap junction intercellular communication in gliomas is inversely related to cell motility, *Int J Dev Neurosci.* 1999, 17 :601-611
- [75] Merrill RM, Fugal S, Novilla LB, Raphael MC, Cancer risk associated with early and late maternal age at first birth, *Gynecol. Oncol.* 2005, 96(3) :583-93.
- [76] Mertsch S, Schmitz N, Jeibmann A, Geng JG, Paulus W, Senner V, Slit2 involvement in glioma cell migration is mediated by Robo1 receptor, *J Neurooncol.* 2008, 87(1) :1-7.
- [77] Merzak A, McCrea S, Koocheckpour S, Pilkington GJ, Control of human glioma cell growth, migration and invasion in vitro by transforming growth factor beta 1, *Br J Cancer.*, 1994, 70(2) :199-203.
- [78] Mori S, van Zijl PC, Fiber tracking : principles and strategies - a technical review, *NMR Biomed.*, 2002, 15(7-8) :468-80.
- [79] Mueller MM, Werbowetski T, Del Maestro RF, Soluble factors involved in glioma invasion, *Acta Neurochir (Wien)*, 2003, 145(11) :999-1008.
- [80] Murray JD, *Mathematical Biology II : Spatial Models and Biomedical Applications*, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, Third Edition, 2003, 536-613.
- [81] Nakada M, Miyamori H, Yamashita J, Sato H, Testican 2 abrogates inhibition of membrane-type matrix metalloproteinases by other testican family proteins, *Cancer Res.* 2003, 63(12) :3364-9.
- [82] Nakada M, Nakada S, Demuth T, Tran NL, Hoelzinger DB, Berens ME, Molecular targets of glioma invasion, *Cell Mol Life Sci.*, 2007, 64(4) :458-78.
- [83] Naus CC, Elisevich K, Zhu D, Belliveau DJ, Del Maestro RF, In vivo growth of C6 glioma cells transfected with connexin43 cDNA, *Cancer Res.* 1992, 52(15) :4208-13.
- [84] Newman S, Cloître M, Allain C, Forgacs G, Beysens D, Viscosity and elasticity during collagen assembly in vitro : relevance to matrix-driven translocation, *Biopolymers* 1997, 3 :337-47.
- [85] Oliveira R, Christov C, Guillamo JS, de Bouard S, Palfi S, Venance L, Tardy M, Peschanski M, Contribution of gap junctional communication between tumor cells and astroglia to the invasion of the brain parenchyma by human glioblastomas, *BMC Cell. Biol.* 2005, 6(1) :7-23.
- [86] Patel AA, Gawlinski ET, Lemieux SK and Gatenby RA, A cellular automaton model of early tumor growth and invasion, *J. Theor. Biol.* 2001, 213(3) :315-31.
- [87] Perego C, Vanoni C, Massari S, Raimondi A, Pola S, Cattaneo MG, Francolini M, Vicentini LM, Pietrini G, Invasive behaviour of glioblastoma cell lines is associated with altered organisation of the cadherin-catenin adhesion system, *J Cell Sci.* 2002, 115(16) :3331-40.
- [88] Plate KH, Breier G, Millauer B, Ullrich A, Risau W, Up-regulation of vascular endothelial growth factor and its cognate receptors in a rat glioma model of tumor angiogenesis, *Cancer Res.*, 1993, 53(23) :5822-7.

BIBLIOGRAPHIE

- [89] Press W, Flannery B, Teukolsky S, Vetterling W, *Numerical Recipes in C : The Art of Scientific Computing*, Cambridge University Press, Second Edition, 1992.
- [90] Rieger J, Wick W, Weller M, Human malignant glioma cells express semaphorins and their receptors, neuropilins and plexins, *Glia* 2003, 42(4) :379-89.
- [91] Rooprai HK, Rucklidge GJ, Panou C, Pilkington GJ, The effects of exogenous growth factors on matrix metalloproteinase secretion by human brain tumour cells, *Br. J. Cancer*. 2000, 82(1) :52-5.
- [92] Scherer HJ, The forms of growth in gliomas and their practical significance, *Brain*, 1940, 63 :1-35.
- [93] Schlienger M, Touboul E, Balosso J, Housset M, *Tumeurs cérébrales*, 1999.
- [94] Schmidek HH, Nielsen SL, Schiller AL, Messer J, Morphological studies of rat brain tumors induced by Nnitrosomethylurea, *J Neurosurg*. 1971, 34 :335-340.
- [95] Schuz J, Bohler E, Schlehofer B, Berg G, Schlaefer K, Hettinger I, Kunna-Grass K, Wahren-dorf J, Blettner M, Radiofrequency electromagnetic fields emitted from base stations of DECT cordless phones and the risk of glioma and meningioma (Interphone Study Group, Germany), *Radiat. Res*. 2006, 166 :116-9.
- [96] Shinoura N, Chen L, Wani MA, Kim YG, Larson JJ, Warnick RE, Simon M, Menon AG, Bi WL, Stambrook PJ, Protein and messenger RNA expression of connexin43 in astrocytomas : implications in brain tumor gene therapy, *J Neurosurg*. 1996, 84(5) :839-845
- [97] Silbergeld DL, Chicoine MR, Isolation and characterization of human malignant glioma cells from histologically normal brain, *J. Neurosurg*. 1997, 86(3) :525-31.
- [98] Silvera SA, Jain M, Howe GR, Miller AB, Rohan TE, Dietary carbohydrates and breast cancer risk : a prospective study of the roles of overall glycemic index and glycemic load *Int. J. Cancer*. 2005, 114(4) :653-8. Erratum in : *Int. J. Cancer*. 2006, 118(9) :2372.
- [99] Silvera SA, Miller AB, Rohan TE, Cigarette smoking and risk of glioma : a prospective cohort study, *Int. J. Cancer*. 2006, 118(7) :1848-51.
- [100] Soroceanu L, Manning TJ, Jr., Sontheimer H, Reduced expression of connexin-43 and functional gap junction coupling in human gliomas, *Glia* 2001, 33 :107-117.
- [101] Stark AM, Nabavi A, Mehdorn HM, Blömer U, Glioblastoma multiforme-report of 267 cases treated at a single institution, *Surg. Neurol*. 2005, 63(2) :162-9.
- [102] Stewart BW, Kleihues P, *Le cancer dans le monde*, OMS, IARC Press Lyon 2005, ISBN 92-832-0416-6.
- [103] Sutherland RM, Cell and environment interactions in tumor microregions : the multicell spheroid model, *Science*. 1988, 240(4849) :177-84.
- [104] Swanson KR, page d'accueil du site Internet de recherche <http://www.pathology.washington.edu/research/labs/labpage.php?LAB=swanson&PAGE=ABOUT>.
- [105] Swanson KR, Alvord EC Jr, Murray JD, A quantitative model for differential motility of gliomas in grey and white matter, *Cell. Prolif*. 2000, 33(5) :317-29.
- [106] Swanson KR, Alvord EC Jr, Murray JD, Virtual brain tumours (gliomas) enhance the reality of medical imaging and highlight inadequacies of current therapy, *Br. J. Cancer*. 2002, 86(1) :14-8.

BIBLIOGRAPHIE

- [107] Swanson KR, Bridge C, Murray JD, Alvord ED Jr, Virtual and Real Brain Tumors : Using Mathematical Modeling to Quantify Glioma Growth and Invasion, *J. Neurol. Sci.* 2003, 216(1) :1-10.
- [108] Swanson KR, Alvord EC Jr, Murray JD, Dynamics of a Model for Brain Tumors Reveals a Small Window for Therapeutic Intervention, *Discrete and Continuous Dynamical Systems - Series B*, 2004, 4 :289-295.
- [109] Tamaki M, McDonald W, Amberger VR, Moore E, Del Maestro RF, Implantation of C6 astrocytoma spheroid into collagen type I gels : invasive, proliferative, and enzymatic characterizations, *J. Neurosurg.* 1997, 87(4) :602-9.
- [110] Tracqui P, Cruywagen GC, Woodward DE, Bartoo GT, Murray JD, Alvord EC Jr, A mathematical model of glioma growth : the effect of chemotherapy on spatio-temporal growth, *Cell. Prolif.*, 1995, 28(1) :17-31.
- [111] Tracqui P, From passive diffusion to active cellular migration in mathematical models of tumour invasion, *Acta Biotheor.* 1995, 43(4) :443-64.
- [112] Van Brocklyn JR, Young N, Roof R, Sphingosine-1-phosphate stimulates motility and invasiveness of human glioblastoma multiforme cells, *Cancer Lett.* 2003, 199(1) :53-60.
- [113] Weis C, Wiesenhofer B, Humpel C, Nerve Growth Factor Plays a Divergent Role in Mediating Growth of Rat C6 Glioma Cells via Binding to the P75 Neurotrophin Receptor, *J. Neuro-Oncol.*, 2002, 56(1) :59-67.
- [114] Werbowetski T, Bjerkvig R, Del Maestro RF, Evidence for a secreted chemorepellent that directs glioma cell invasion, *J. Neurobiol.* 2004, 60(1) :71-88.
- [115] Wigertz A, Lonn S, Mathiesen T, Ahlbom A, Hall P, Feychting M, Swedish Interphone Study Group, Risk of brain tumors associated with exposure to exogenous female sex hormone, *Am. J. Epidemiol.* 2006, 164(7) :629-36.
- [116] Woodward DE, Cook J, Tracqui P, Cruywagen GC, Murray JD, Alvord EC Jr, 1996, A mathematical model of glioma growth : the effect of extent of surgical resection, *Cell. Prolif.* 29(6) :269-88.
- [117] Yamasaki H, Gap junctional intercellular communication and carcinogenesis, *Carcinogenesis.* 1990, 11(7) :1051-8.
- [118] Ye ZC, Sontheimer H, Glioma cells release excitotoxic concentrations of glutamate, *Cancer Res.* 1999, 59(17) :4383-91.
- [119] Yotti LP, Chang CC, Trosko JE, Elimination of metabolic cooperation in Chinese hamster cells by a tumor promoter, *Science.* 1979, 206(4422) :1089-91.
- [120] Zhang W, Couldwell WT, Simard MF, Song H, Lin JH, Nedergaard M, Direct gap junction communication between malignant glioma cells and astrocytes, *Cancer Res.* 1999, 59 :1994-2003.

RÉSUMÉ

Le glioblastome est une tumeur cérébrale maligne particulièrement agressive et le pronostic vital des patients atteints par cette tumeur est très mauvais. La médiane de survie est de l'ordre de 12 mois même lorsqu'une stratégie thérapeutique a pu être mise en place. Un des facteurs qui pourrait expliquer la difficulté à traiter ces tumeurs par voie chirurgicale est l'invasion des cellules tumorales dans le tissu sain environnant. De plus, les mécanismes à l'origine de ce phénomène sont, en partie, méconnus. L'objectif que nous nous étions fixé pour mon travail de thèse était de s'intéresser à ces mécanismes d'invasion en étudiant la migration *in vitro* de cellules tumorales issues de glioblastomes. Pour cela, nous avons créé un modèle de migration microscopique, basé sur un automate cellulaire, reproduisant la migration de cellules tumorales sur deux substrats différents : substrat de collagène et monocouche d'astrocytes. Les cellules migrent selon des règles prédéfinies et dépendant des interactions (de contact ou à plus longue portée) introduites. La confrontation des simulations avec les expériences a permis de valider le modèle et de mettre en évidence deux phénomènes : une communication par contact entre cellules tumorales et entre cellules tumorales et astrocytes (cette dernière favoriserait l'invasion des cellules tumorales) et la sécrétion à partir de la masse tumorale d'une substance chimio-répulsive favorisant sur la migration des cellules. Afin de décrire l'évolution d'une masse tumorale plus réaliste, nous avons construit et validé un modèle macroscopique (équation de diffusion non linéaire) à partir de l'automate, en tenant compte des interactions entre cellules tumorales.

ABSTRACT

Glioblastomas are a particularly aggressive form of tumour and the outcome for patients with this tumour is extremely poor. The median survival time of a patient is roughly equal to 12 months even if a treatment has been implemented. One factor that makes gliomas so difficult to treat is their high invasiveness, enabling tumour cells to migrate from the main tumour mass into the surrounding healthy tissue. Moreover not much is known about the mechanisms underlying this phenomenon. The aim we set for my thesis work was to interest ourselves in these invasion mechanisms by studying *in vitro* migration of glioblastoma cells. To this end we created a microscopic model, based on a cellular automaton, for the description of the glioblastoma cell migration on two kinds of substrates : collagen and monolayer of astrocytes. Cells migrate according to predefined rules, depending on the interactions (contact or long-range) assumed. The comparison between simulations and experiments allows us to validate the model and to stress two phenomena : communication between tumour cells and between tumour cells and astrocytes (this communication could favour the invasion of tumour cells) and secretion of a chemorepellent factor, from the main tumour bulk, acting on cell migration. To describe the evolution of a more realistic tumour mass, we constructed and validated, starting from the automaton, a macroscopic model (nonlinear diffusion equation), by taking in account the interactions between them.