

ВЛИЯНИЕ ХИМИОТЕРАПИИ НА ПРОГРЕССИЮ БИКЛОНАЛЬНОЙ ОПУХОЛИ – АНАЛИЗ МЕТОДОМ МАТЕМАТИЧЕСКОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ

© 2019 г. М.Б. Кузнецов*, А.В. Колобов* **

*Физический институт им. П.Н. Лебедева РАН, 119991, Москва, Ленинский просп., 53

**Институт вычислительной математики РАН, 119333, Москва, ул. Губкина, 8

E-mail: kuznetsovmb@mail.ru

Поступила в редакцию 18.10.18 г.

После доработки 18.10.18 г.

Принята к публикации 13.12.18 г.

Методом математического моделирования исследовано влияние химиотерапии на композиционный состав солидной биклональной опухоли, в которой клетки одной популяции имеют более высокую скорость деления, а другой – более высокую собственную подвижность. Показано, что при малой чувствительности клеток к химиотерапевтическому препарату проведение химиотерапии увеличивает область в пространстве параметров, где доминирует быстроделющаяся популяция. При сильной химиотерапии этот эффект проявляется слабее, при этом в параметрическом пространстве появляется область, где происходит обратная смена доминирующей популяции с быстроделющейся на более подвижную.

Ключевые слова: математическое моделирование, опухолевая прогрессия, клеточная гетерогенность, химиотерапия.

DOI: 10.1134/S0006302919020170

Одним из ключевых признаков злокачественных опухолей, существенно осложняющих их лечение, является нестабильность их генома [1]. Известно, что каждая злокачественная опухоль содержит большое количество генетически и эпигенетически отличающихся популяций, при этом ее популяционный состав постоянно меняется, что объясняется очень высокой скоростью мутаций в злокачественных клетках по сравнению с мутациями в нормальных клетках организма [2]. Развитие заболевания определяется эволюцией популяций опухолевых клеток под действием отбора, одним из движущих факторов которого является борьба клеток друг с другом за питательные ресурсы. Очевидно, что в число ключевых свойств, способствующих распространению конкретной популяции в композиционном составе опухоли, входят высокая скорость пролиферации, так как она напрямую влияет на количество клеток этой популяции, и высокая собственная подвижность, так как она способствует распространению опухоли по окружающим тканям. Как правило, степень злокачественности опухоли коррелирует с этими

показателями, так как при развитии каждой опухоли на большом временном масштабе должны постепенно отбираться все более быстро делящиеся и быстро распространяющиеся по ткани клетки (см., например, работу [3]).

Однако для каждой отдельно взятой клетки, причем не только опухолевой, но и нормальной, скорости пролиферации и миграции находятся в обратной связи, т.е. чем больше клетка делится, тем меньше она мигрирует, и наоборот [4]. Это связано с тем фактом, что скорости этих процессов зависят от двух параллельных метаболических путей, в каждом из которых активно используется глюкоза: производство энергии для миграции происходит путем гликолиза, а с помощью пентозофосфатного пути из глюкозы производятся необходимые элементы для синтеза белков, жиров и нуклеиновых кислот. Профили экспрессии генов ферментов, соответствующих этим метаболическим путям, также находятся в обратной связи, что означает, что мутации, приводящие к усилению экспрессии генов одного из процессов и соответственно увеличению скорости самого процесса, приведут к снижению экспрессии генов другого процесса и, как следствие, его скорости. Такие мутации, очевидно, имеют двойное влияние на

Сокращения: VEGF – фактор роста эндотелия сосудов (vascular endothelial growth factor).

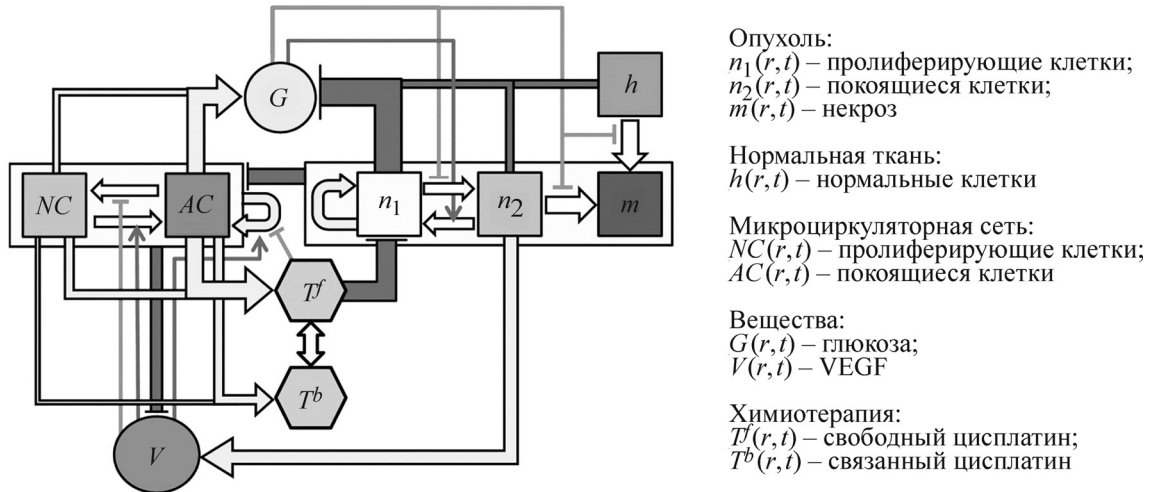


Рис. 1. Блок-схема модели роста опухоли и химиотерапии. Белые стрелки обозначают переходы между переменными, серые стрелки отмечают стимулирующие влияния, которые увеличивают плотность соответствующей переменной либо интенсивность соответствующего перехода, темные линии указывают на ингибирующие взаимодействия.

эволюционную приспособленность популяции, усиливая одну из ключевых характеристик клеток за счет другой, определяя взаимную борьбу результирующих популяций на малом временном масштабе.

Еще одним фактором эволюции клеточных популяций в опухоли является их противодействие неблагоприятным условиям внешней среды, в том числе иммунитету организма и различным видам противоопухолевой терапии, проведение которых может изменить эволюционную приспособленность популяций и соответственно поменять ход эволюции опухоли. Например, известно, что антиангиогенная терапия, целью которой является ограничение поступления питательных веществ к опухоли вследствие прекращения роста сосудов к ней, может приводить к более инвазивному характеру опухоли и повышению ее метастатической активности [5]. В своей предыдущей работе [6] мы исследовали с помощью математической модели конкурентную борьбу между популяциями биклональной опухоли с обратными связанными параметрами скоростей пролиферации и миграции и влияние антиангиогенной терапии на результат этой борьбы. В качестве результата было получено теоретическое обоснование прогрессии опухоли к более инвазивному типу при антиангиогенной терапии. В этой работе мы исследуем, как на такую конкурентную борьбу в биклональной опухоли влияет химиотерапия. Такая задача является одним из первых шагов, необходимых для всестороннего теоретического исследования влияния различных ви-

дов терапии на прогрессию поликлональной опухоли.

Математическое моделирование химиотерапии является актуальной темой для изучения [7,8], как и исследование эволюционной борьбы близких по свойствам опухолевых популяций с учетом их взаимодействия с микроокружением [9,10]. Что касается работ, исследующих влияние терапии на клеточный состав опухоли, то большинство из них посвящены оптимизации химиотерапии при наличии в составе опухоли резистентных к ней популяций [11–13]. Вопрос о влиянии химиотерапии на прогрессию опухоли в отсутствие резистентности к терапии был поставлен в работе [14], где исследовалась пространственно нераспределенная модель лейкемии и было показано, что во время химиотерапии эволюционное преимущество получают сравнительно медленно пролиферирующие клетки. В данной работе мы, в частности, покажем, что обратная ситуация возможна в случае солидной опухоли, для которой учет пространственной структуры является критически важным.

Модель. На рис. 1 продемонстрирована блок-схема основных связей между переменными модели. Каждая переменная является функцией координат пространства и времени, которые далее опущены для простоты представления. На схеме для простоты не отражена гетерогенность опухоли, так как обе популяции подчиняются одинаковым законам и не взаимодействуют друг с другом напрямую. Модель

содержит несколько десятков параметров, значения которых взяты из различных экспериментов либо оценены с целью воспроизведения известных особенностей роста злокачественной опухоли и ее структуры. Параметры модели и

их обоснования приведены в приложении к данной работе.

Динамика опухоли. Уравнения, описывающие динамику опухолевых и нормальных клеток, выглядят следующим образом:

$$\left. \begin{aligned} \frac{\partial n_1}{\partial t} &= \overbrace{B_n n_1}^{\text{Деление}} - \overbrace{P_{1n}[G]n_1 + P_{2n}[G]n_2}^{\text{Переходы}} - \overbrace{k_{Tn} T n_1}^{\text{Действие химиотерапии}} - \nabla[\mathbf{I} n_1], \\ \frac{\partial n_2}{\partial t} &= \overbrace{P_{1n}[G]n_1 - P_{2n}[G]n_2}^{\text{Переходы}} - \overbrace{d_t[G]n_2}^{\text{Гибель}} - \overbrace{\nabla[\mathbf{I} n_2]}^{\text{Конвекция}} + \overbrace{D_n \Delta n_2}^{\text{Миграция}}, \\ \text{где } P_{1n}[G] &= k_{1n} \exp[-k_2 G], \quad P_{2n}[G] = \frac{1}{2} k_{3n} (1 - \tanh[\varepsilon_{tr} (G_{tr} - G)]), \end{aligned} \right\} n = a, b$$

$$k_{Tb} = k_{Ta} \frac{B_b}{B_a}, \quad k_{1b} = k_{1a} \frac{B_b}{B_a}, \quad k_{3b} = k_{3a} \frac{B_b}{B_a}, \tag{1}$$

$$\frac{\partial h}{\partial t} = - \overbrace{d_h [G] h}^{\text{Гибель}} - \overbrace{\nabla[\mathbf{I} h]}^{\text{Конвекция}},$$

$$\frac{\partial m}{\partial t} = \overbrace{d_t [G] (a_2 + b_2) + d_h [G] h + k_{Ta} T a_1 + k_{Tb} T b_1}^{\text{Гибель клеток}} - \overbrace{\nabla[\mathbf{I} m]}^{\text{Конвекция}},$$

$$\text{где } a_1 + a_2 + b_1 + b_2 + m + h = 1,$$

$$\nabla \mathbf{I} = B_a a_1 + B_b b_1 + D_a \Delta a_2 + D_b \Delta b_2,$$

$$d_i [G] = \frac{1}{2} d_i^{\max} (1 + \tanh\{\varepsilon_d (G_d - G)\}), \quad i = t, h.$$

Опухоль состоит из двух популяций, обозначаемых буквами *a* и *b*. Скорости собственной подвижности и скорости деления популяций отличаются, при этом в данной работе эти параметры для популяции *a* будут постоянными, а параметры для популяции *b* будут варьироваться так, что $D_b > D_a$, $B_b < B_a$, т.е. клетки популяции *b* всегда будут более подвижными, но будут делиться медленнее. Каждая популяция является функционально гетерогенной, что означает, что часть ее клеток в данный момент пролиферирует, но не мигрирует (этому состоянию соответствует цифра 1), а остальные клетки – мигрируют, но не делятся (этому состоянию соответствует цифра 2), в соответствии с широко известным принципом дихотомии пролиферации и миграции злокачественных клеток [15]. Функции $P_{1n}[G]$, $P_{2n}[G]$ определяют переходы злокачественных клеток из пролиферирующего состояния в состояние покоя (под покоем здесь и далее подразумевается приостановка клеточного цикла, а не движения – в этом состоянии клетки мигрируют) и обратно. Скорости переходов из одного состояния в другое зависят от концентрации глюкозы, выбранной в качестве ключевого питательного вещества, так как она является и ключевым элемен-

том для биосинтеза, и важнейшим энергетическим субстратом для опухолевых клеток [16]. Вид функций перехода подробно описан в работе [17]. Мы полагаем, что скорости клеточных переходов зависят от длины клеточного цикла, поэтому их отношения для двух популяций пропорциональны отношению скоростей деления клеток. Кроме того, так как в модели мы считаем, что действие химиотерапии заключается только в повреждении ДНК делящихся клеток, чувствительности клеток к химиотерапии также пропорциональны отношению их скоростей деления. Покоящиеся опухолевые клетки $a_2 + b_2$, как и нормальные клетки *h*, гибнут при острой нехватке глюкозы, увеличивая степень некроза в ткани.

Опухоль растет в несжимаемой плотной ткани, что означает, что сумма всех элементов ткани постоянна (и для удобства нормирована на единицу). Локальная кинетика опухолевых клеток влияет на распределение клеток и некротических участков по ткани – например, пролиферирующие клетки вытесняют окружающие ткани, обеспечивая увеличение размера опухоли. Для учета этих эффектов используется конвективная скорость $\mathbf{I}(r, t)$, вывод ее формулы приведен в работе [6].

Динамика фактора роста эндотелия сосудов и капилляров. Фактор роста эндотелия сосудов (VEGF – vascular endothelial growth factor) рассматривается в модели как единственный активатор ангиогенеза. Известно, что при метаболическом стрессе его секреция клетками значительно увеличивается [18], поэтому в модели учитывается только его производство покоящимися клетками опухоли. В модели также учитывается интернализация VEGF рецепторами эндотелиальных клеток, диффузия VEGF в ткани и его деградация.

Для описания микроциркуляторной сети в модели используются две переменные, соответствующие ее нормальной и ангиогенной части, NC и AC , которые вводятся для учета различий в проницаемости капилляров. Внутри опухоли, включая некротную ткань, происходит разрушение капилляров, при этом мы не рассматриваем сам процесс деградации в деталях и предполагаем, что его скорость пропорциональна общей плотности опухоли. Капилляры движутся вместе с конвективными потоками, но скорость их движения предполагается более низкой, чем у клеток, благодаря их связности друг с другом. При этом сама динамика капилляров не влияет на значение конвективной скорости, так как их объем считается пренеб-

режимо малым по сравнению с объемом клеток. Действие VEGF на капилляры приводит к ангиогенезу, описываемому образованием ангиогенных капилляров AC на основе капилляров обоих типов, а также к «денормализации» капилляров, выраженной при переходе из NC в AC , который используется в модели, чтобы описать стимуляцию увеличения проницаемости сосудов фактором роста эндотелия сосудов. Оба действия моделируются с помощью широко известной зависимости вида Михаэлиса–Ментен, благодаря которой скорости соответствующих процессов равны нулю при отсутствии VEGF и приближаются к максимальным значениям при достаточно высокой его концентрации. Скорость ангиогенеза уменьшается при проведении химиотерапии, так как химиотерапевтический препарат препятствует делению всех клеток, включая эндотелиальные. Общая плотность капиллярной сети ограничена сверху. При падении концентрации VEGF структура капилляров нормализуется, что выражается обратным переходом из AC в NC . Стремление капиллярной сети вернуться в нормальное состояние, обусловленное объемом кровотока, также учтено в модели. Вышесказанное отражено в следующих уравнениях:

$$\begin{aligned}
 \frac{\partial V}{\partial t} &= \overbrace{(p(a_2 + b_2))}^{\text{Секреция}} - \overbrace{\omega V(NC + AC)}^{\text{Интернализация}} - \overbrace{D_V V}^{\text{Деградация}} + \overbrace{D_V \Delta V}^{\text{Диффузия}}, \\
 \frac{\partial NC}{\partial t} &= \overbrace{-l(a_1 + a_2 + b_1 + b_2 + m)NC}^{\text{Деградация}} + \overbrace{\frac{v_{\text{nor}} V^*}{V + V^*} AC}^{\text{Нормализация}} - \overbrace{\frac{v_{\text{den}} V}{V + V^*} NC}^{\text{Денормализация}} - \overbrace{\mu(NC - 1)NC \cdot \Theta[NC - 1]}^{\text{Нормализация плотности}} - \overbrace{\nabla[\gamma \mathbf{I} \cdot NC]}^{\text{Конвекция}}, \\
 \frac{\partial AC}{\partial t} &= \overbrace{-l(a_1 + a_2 + b_1 + b_2 + m)AC}^{\text{Деградация}} - \overbrace{\frac{v_{\text{nor}} V^*}{V + V^*} AC}^{\text{Нормализация}} + \overbrace{\frac{v_{\text{den}} V}{V + V^*} NC}^{\text{Денормализация}} - \overbrace{\text{Re}^{-k_A T} \frac{V}{V + V^*} (NC + AC) \left(1 - \frac{NC + AC}{C_{\text{max}}}\right)}^{\text{Ангиогенез}} - \overbrace{\nabla[\gamma \mathbf{I} \cdot AC]}^{\text{Конвекция}}.
 \end{aligned}
 \tag{2}$$

Такая подробная модель микроциркуляторной сети необходима не только для рассмотрения действия химиотерапии на прогрессию злокачественной опухоли, но и для дальнейшего изучения влияния на нее комбинированной терапии, состоящей из химиотерапии и антиангиогенной терапии.

Динамика глюкозы. Динамика глюкозы G определяется ее притоком из крови в ткань, диффузией в ткани и ее потреблением опухолевыми и нормальными клетками, которое опи-

сывается традиционным образом, а именно формулой Михаэлиса–Ментен. Мы полагаем, что скорости потребления глюкозы пролиферирующими и покоящимися (мигрирующими) клетками различных популяций пропорциональны соответственно скоростям деления и миграции клеток. Приток глюкозы определяется процессом диффузии через стенки капилляров [19]. При этом скорость притока глюкозы достаточно мала, так что ее концентрация незначительно падает за время протекания крови по капилляру – экспериментальные данные сви-

детельствуют о небольшой разнице в концентрации глюкозы в артериальной и венозной крови не только в нормальных тканях, но и в опухолях (см., например, работу [20]), поэтому концентрация глюкозы в крови в данной модели считается постоянной. Приток глюкозы

увеличивается вследствие увеличения количества капилляров, а также денормализации их структуры, так как ангиогенные капилляры обладают повышенной проницаемостью. Уравнение для концентрации глюкозы в ткани выглядит следующим образом:

$$\frac{\partial G}{\partial t} = \overbrace{(P_{NC,G}NC + P_{AC,G}AC)(G_{bl} - G)}^{\text{Приток}} - \overbrace{(q_{a1}a_1 + q_{b1}b_1 + q_{a2}a_2 + q_{b2}b_2 + q_h h)}^{\text{Потребление}} \frac{G}{G + G^*} + \overbrace{D_G \Delta G}^{\text{Диффузия}}, \quad (3)$$

где $q_{b1} = q_{a1} \frac{B_b}{B_a}$, $q_{b2} = q_{a2} \frac{D_b}{D_a}$,

Химиотерапия. Для рассмотрения химиотерапевтического препарата мы используем параметры цисплатина. При проведении химиотерапии цисплатин поступает в кровеносную систему путем внутривенных инъекций, которые отражаются в модели скачкообразными увеличениями его концентрации в крови. Опираясь на принятые клинические протоколы, в данной работе мы моделируем курс, состоящий из шести инъекций с трехнедельными интервалами. Цисплатин имеет низкую молекулярную массу в 300 Да, активно связывается с белками крови и, как результат, существует в крови в двух формах – в виде свободных малых молекул активного лекарственного средства и большого неактивного комплекса, связанного с белком, их концентрации обозначаются как T_{bl}^f и T_{bl}^b соответственно. Обе формы препарата поступают из крови в ткань, где они диффундируют и продолжают переходить из свободной формы

T^f в связанную с белками T^b и обратно. Скорость связывания цисплатина с белками должна зависеть от концентрации белков, которая обычно намного выше в крови, чем в нормальной ткани. Однако, поскольку мы рассматриваем опухолевую ткань, к моменту терапии белки крови должны накопиться внутри нее до уровня, сопоставимого с их уровнем в крови из-за повышенной проницаемости стенок ангиогенных капилляров, поэтому мы полагаем коэффициент связывания цисплатина с белками крови внутри ткани равным соответствующему значению в крови. Мы также пренебрегаем выводом из крови препарата, связанного с белками, а также его связыванием с тканевыми элементами как очень медленными процессами по сравнению с соответствующими процессами для свободного цисплатина. Таким образом, уравнения для динамики цисплатина имеют следующий вид:

$$\begin{aligned} \frac{\partial T^f}{\partial t} &= \overbrace{(P_{NC,T^f}NC + P_{AC,T^f}AC)(T_{bl}^f - T^f)}^{\text{Приток}} - \overbrace{d_T T^f - k_{on} T^f + k_{off} T^b}_{\text{Связывание Реакции с белками}} + \overbrace{D_{T^f} \Delta T^f}_{\text{Диффузия}}, \\ \frac{\partial T^b}{\partial t} &= \overbrace{(P_{NC,T^b}NC + P_{AC,T^b}AC)(T_{bl}^b - T^b)}^{\text{Приток}} + \overbrace{k_{on} T^f - k_{off} T^b}_{\text{Реакции с белками}} + \overbrace{D_{T^b} \Delta T^b}_{\text{Диффузия}}, \\ \frac{\partial T_{bl}^f}{\partial t} &= \overbrace{F_T^{iv}}^{\text{Введение}} - \overbrace{k_{on} T_{bl}^f + k_{off} T_{bl}^b}_{\text{Реакции с белками}} - \overbrace{d_{T,bl} T_{bl}^f}_{\text{Вывод из крови}}, \\ \frac{\partial T_{bl}^b}{\partial t} &= \overbrace{k_{on} T_{bl}^f + k_{off} T_{bl}^b}_{\text{Реакции с белками}}. \end{aligned} \quad (4)$$

Численное решение. Система уравнений (1)–(4) решается в одномерной области размером $L = 10$ см. Мы используем плоскую геометрию, так как она не влияет на качественные результаты по сравнению со сферически-симметричным случаем. Начальные условия соответствуют нормальной ткани с $h(x, 0) = 1$, $NC(x, 0) = 1$

с небольшой колонией пролиферирующих опухолевых клеток шириной 0,1 мм возле левой границы, где $n_1(x, 0) = 1$, $h(x, 0) = 0$. Первоначальное распределение глюкозы $S(x, 0)$ равномерно и рассчитывается как его установившаяся концентрация в нормальной ткани. Значения остальных переменных в начальный мо-

мент времени равны нулю. Для всех переменных на левой границе в качестве граничного условия выбран нулевой поток; значения переменных на правой границе постоянны и соответствуют нормальной ткани. При расчете конвективной скорости считается, что на левой границе она равна нулю, что приводит к следующему уравнению для нее:

$$I(x, t) = \int_0^x [B_a a_1 + B_b b_1] dr + D_a \nabla a_2 + D_b \nabla b_2.$$

При численном решении уравнения для VEGF и глюкозы рассматривали в квазистационарном приближении ввиду большой скорости их реакций по сравнению с соответствующими скоростями для остальных переменных. Для их решения использовали метод прогонки, для остальных переменных был использован метод расщепления по физическим процессам, т.е. кинетические уравнения, уравнения диффузии и конвективные уравнения решались последовательно на каждом временном шаге. Кинетические уравнения решали методом Рунге–Кутты четвертого порядка, для уравнения диффузии была использована схема Кранка–Николсон. Эти стандартные методы описаны во множестве книг, например в работе [21]. Конвективные уравнения решались методом коррекции потоков Бориса–Бука [22] с применением явной антидиффузионной схемы.

РЕЗУЛЬТАТЫ

На рис. 2 продемонстрированы распределения переменных модели для трех случаев роста опухоли: при свободном росте (т.е. без терапии), при относительно слабой химиотерапии с чувствительностью клеток популяции a к цисплатину $k_{Ta} = 10$ и при относительно сильной химиотерапии с $k_{Ta} = 45$. Все параметры в этих расчетах совпадают, кроме величин чувствительности клеток к препарату, которые выбраны таким образом, чтобы в конце слабой химиотерапии в живых оставалось около миллиона клеток опухоли, а в конце сильной – не более нескольких сотен. В данной работе мы не рассматриваем случай полного уничтожения опухоли, так как основное внимание уделяем изменению ее популяционного состава при рецидиве. При численном счете химиотерапия начинается по достижению опухолью радиуса 1 см. Значения скоростей пролиферации опухолевых популяций a и b равны $B_a = 0,02 \text{ ч}^{-1}$ и $B_b = 0,014 \text{ ч}^{-1}$, значения их коэффициентов

миграции равны $D_a = 1,4 \cdot 10^{-10} \text{ см}^2$ и $D_b = 2,5 \cdot 10^{-10} \text{ см}^2$. После нормировки эти значения равны соответственно $B_a = 0,02$; $B_b = 0,014$; $D_a = 0,005$ и $D_b = 0,009$; значения нормировочных параметров приведены в приложении к данной работе. Необходимо обратить внимание, что для лучшей визуализации: 1) на рисунках изображены различные участки расчетной области, но в одном масштабе; 2) значения некоторых переменных не соответствуют их нормировочным значениям, при этом коэффициенты масштабирования отмечены в легенде рисунка.

На рис. 2а изображен момент, когда опухоль достигает радиуса 1 см. До этого момента численные решения для всех трех случаев совпадают. Видно, что в опухоли преобладают клетки быстроделющейся популяции a , при этом опухолевая масса состоит в основном из покоящихся клеток a_2 и некротической ткани m , доля которой растет к центру опухоли (левому краю расчетной области). Там покоящиеся клетки более длительное время испытывают нехватку глюкозы G , что в значительной степени вызвано разрушением капилляров $NC + AC$ внутри опухоли. Фактор роста эндотелия сосудов V сконцентрирован внутри опухоли и активно расходится в перитуморальной области, где в основном расположена ангиогенная часть микроциркуляторной сети AC , что локально увеличивает приток глюкозы даже по сравнению с ее притоком в нормальной ткани. Это приводит к локализации вблизи границы опухоли пролиферирующих клеток a_1 , а также едва различимого скопления клеток b_1 в этой области. Преобладание клеток популяции a на начальном этапе роста опухоли объясняется тем, что когда опухоль представляет собой сравнительно небольшое скопление клеток и пространственные эффекты еще не играют существенную роль, эти клетки имеют значительное преимущество за счет большей скорости пролиферации, что хорошо видно на рис. 3а, на котором изображена динамика числа клеток обеих популяций для рассматриваемого случая. Однако далее доля клеток более подвижной популяции b начинает увеличиваться и к моменту достижения опухолью радиуса 7 см, изображенном на рис. 2в, она составляет практически 100%. Движущим фактором изменения композиционного состава опухоли является борьба клеток за питательный ресурс, при этом по профилям покоящихся клеток на рис. 2б и по рис. 3а видно, что эта борьба проходит немонотонно. Доминирование популяции b начинается, когда ее

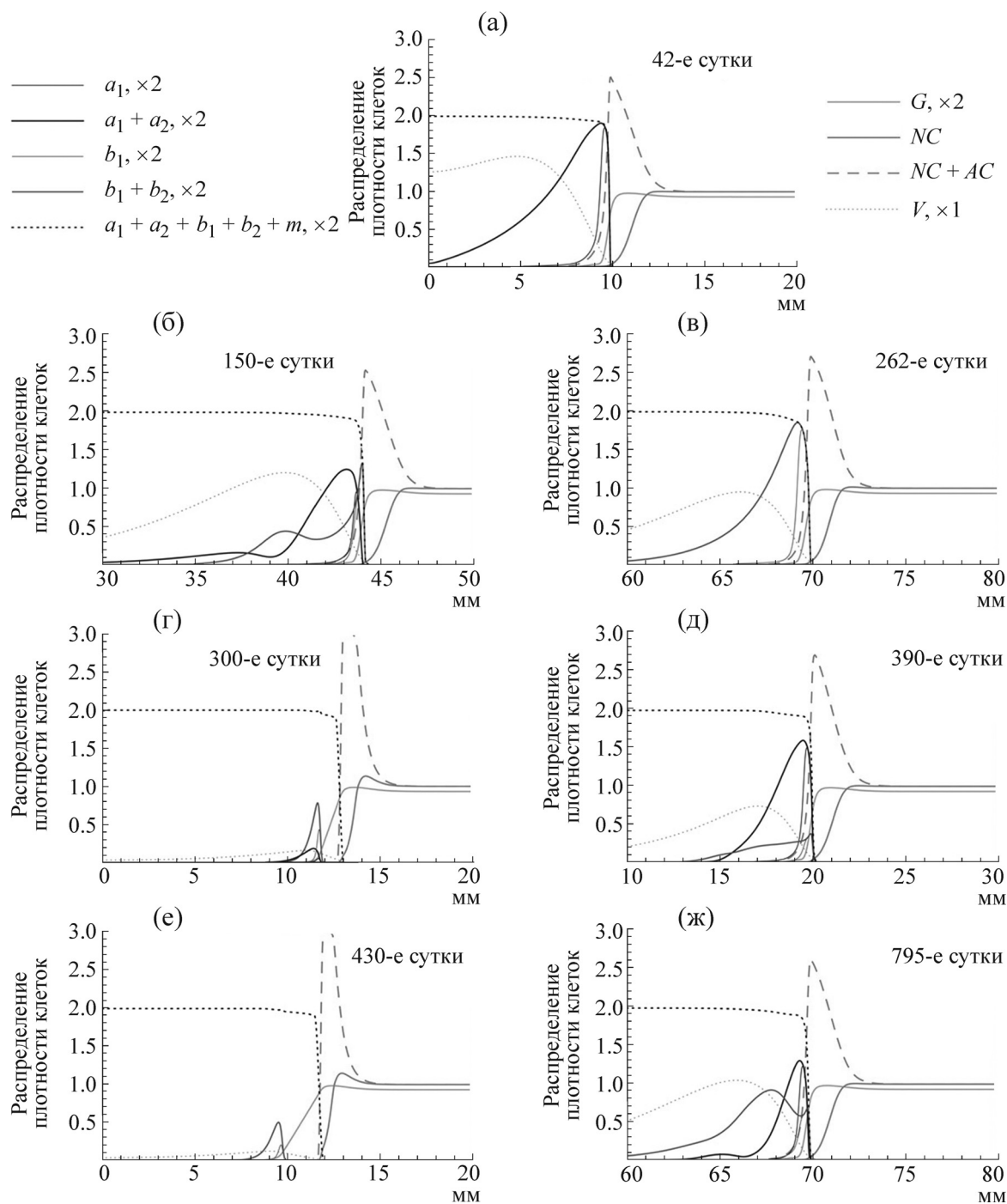


Рис. 2. Распределения плотностей пролиферирующих и покоящихся клеток быстроделющейся опухолевой популяции a_1 и a_2 , более подвижной опухолевой популяции b_1 и b_2 , некротической ткани m , концентрации глюкозы G , плотности поверхности нормальной и ангиогенной микроциркуляторной сети NC и AC и концентрации VEGF V при базовом наборе параметров, скорости пролиферации популяции b $B_b = 0,014$ и коэффициенте миграции популяции b $D_b = 0,009$: (а) – в момент перед началом химиотерапии; (б) и (в) – в отсутствие химиотерапии; (г) и (д) – после химиотерапии с чувствительностью клеток популяции a к цисплатину $k_{Ta} = 10$ (слабая ХТ); (е) и (ж) – после химиотерапии с чувствительностью клеток популяции a к цисплатину $k_{Ta} = 45$ (сильная ХТ).

клеткам удается расположиться ближе к основной массе капилляров и за счет активного потребления глюкозы критично уменьшить ее

приток к популяции a . Стоит отметить, что при смене доминирующей популяции с a на b скорость роста опухоли (определяемая как ско-

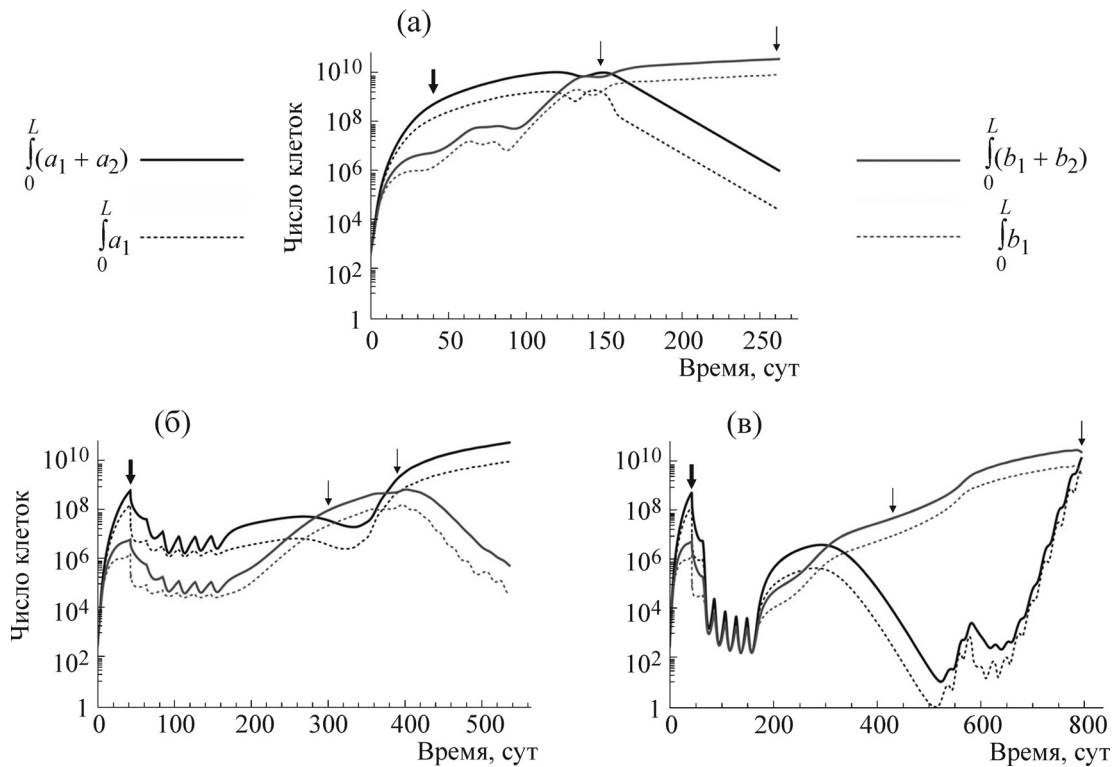


Рис. 3. Число клеток быстроделющейся опухолевой популяции a_1 и a_2 и более подвижной опухолевой популяции b_1 и b_2 в зависимости от времени при базовом наборе параметров: (а) – в отсутствие терапии; (б) – при химиотерапии с чувствительностью клеток популяции a к цисплатину $k_{Ta} = 10$ (слабая ХТ); (в) – после химиотерапии с чувствительностью клеток популяции a к цисплатину $k_{Ta} = 45$ (сильная ХТ). Стрелки указывают на моменты времени, распределения переменных для которых изображены на рис. 2, при этом толстые стрелки соответствуют одному и тому же моменту времени за день перед началом терапии, которому соответствует рис. 2а. Графики обрываются, когда опухоли достигают радиуса 7 см.

рость смещения ее границы) снижается с $\approx 2,2$ мм в неделю до $\approx 1,6$ мм в неделю.

Рис. 2г соответствует случаю слабой химиотерапии, которая начинается на 42-е сутки и состоит из шести инъекций цисплатина, проводимых с трехнедельными интервалами. Таким образом, последняя инъекция производится на 147-е сутки роста опухоли и к изображенному моменту практически весь цисплатин уже выведен из ткани и крови и поэтому не показан. Поведение системы при проведении химиотерапии аналогично представленному в работе [23]. Наиболее уязвимыми для химиотерапии оказываются клетки, расположенные на краю опухоли, вблизи капилляров, из которых цисплатин поступает в ткань. К окончанию химиотерапии оставшиеся живые клетки опухоли концентрируются на расстоянии 4 мм от границы опухоли, при этом ее радиус незначительно увеличивается за счет некроза в результате гибели клеток. Далее клетки движутся к границе опухоли, при этом с приближением к капиллярам скорость движения опухолевых клеток увеличивается. Стоит отметить, что во вре-

мя проведения химиотерапии плотность микроциркуляторной сети несколько падает после каждой инъекции препарата (ее пиковое значение опускается примерно на 10%), однако каждый раз она успевает полностью восстановиться до следующей инъекции, так как VEGF производится в достаточном для этого объеме оставшимися живыми клетками опухоли. Как видно из рис. 2г, в начале роста опухолевого рецидива внутри опухоли капиллярная сеть разрушена полностью. Однако ее плотность в нормальной ткани на границе с опухолью достигает своего максимального значения $C_{\max} = 3$, чего не происходит при свободном росте опухоли, когда ее граница движется гораздо быстрее.

На рис. 3б, демонстрирующем динамику опухолевых клеток для рассматриваемого случая, видно, что во время проведения химиотерапии графики числа клеток обеих популяций идут почти параллельно в логарифмическом масштабе, что означает, что композиционный состав опухоли сохраняется. Это происходит несмотря на то, что клетки популяции a более чувствительны к терапии, за счет того, что

имеющиеся пролиферирующие клетки популяции *b* в среднем расположены ближе к источнику цисплатина, и в результате эффективные скорости гибели клеток обеих популяций в этом случае оказываются сравнимы. Сразу после окончания химиотерапии, как и в случае со свободным ростом опухоли, начинается рост доли клеток более подвижной популяции *b* (см. рис. 2г), однако когда опухолевые клетки добираются до границы некротической массы, ситуация качественно меняется. Увеличение общего количества опухолевых клеток приводит к ускорению движения границы опухоли, вследствие чего капилляры не успевают полностью разрушиться внутри опухолевой массы (см. рис. 2д). Это приводит к увеличению притока глюкозы к живым клеткам, что играет на руку быстропролиферирующей популяции *a*, которая в результате этого снова опережает популяцию *b* по числу клеток. Как видно из рис. 3б, при дальнейшем росте опухоли количество клеток популяции *b* монотонно снижается – было проверено, что это происходит по крайней мере до достижения опухоли радиуса 16,5 см на 755-е сутки роста, когда число клеток популяции *b* формально становится меньше единицы, что означает полное вымирание популяции (на этом моменте численный счет был остановлен). При этом структура опухоли становится близкой к показанной на рис. 2а, и скорость роста опухоли, определяемая в основном скоростью пролиферации ее клеток, возвращается к предтерапевтическому значению. Различия в скоростях пролиферации клеток двух популяций определяют ключевые отличия в структурах опухолей, состоящих практически целиком из клеток одной из популяций (см. рис. 2а, 2в) – опухоль, состоящая из клеток популяции *a*, при том же радиусе имеет на 6% больше пролиферирующих клеток (при том, что скорость деления ее пролиферирующих клеток выше на 43% – увеличение их числа ограничивается пропорционально увеличенным потреблением глюкозы), на 61% больше покоящихся клеток (которые накапливаются вследствие эффективно более быстрого перехода клеток в состояние покоя) и, как следствие, большую концентрацию VEGF внутри, однако, несмотря на это, максимальная плотность капиллярной сети в ее случае все-таки ниже из-за более высокой скорости движения ее границы.

Рис. 2е и 2ж соответствуют случаю относительно сильной химиотерапии, динамика численности клеток популяций для которого показана на рис. 3в. В результате такой терапии погибает значительно большее количество клеток, и оставшиеся клетки концентрируются

практически в самом центре опухоли. При таком расположении клеток возрастает роль того факта, что клетки популяции *a* более чувствительны к химиотерапии, поэтому, несмотря на их преобладание до начала терапии, уже после второй инъекции препарата количество клеток двух популяций почти сравнивается. При этом, так как в промежутке между инъекциями клетки популяции *a* восстанавливаются быстрее, к окончанию химиотерапии равновесие популяций сохраняется. В начале возобновления роста опухоли, как и при начале ее роста, клетки быстроделющейся популяции *a* в первое время начинают доминировать, но с усилением роли пространственных эффектов со временем популяция *b* удается захватить лидерство еще задолго до достижения границы опухоли (см. рис. 2е) и сохранить его на гораздо более длительный период, чем в случае слабой химиотерапии. Такое различие определяется в основном тем фактом, что в этом случае движение клеток опухоли до границы занимает значительно большее время – при этом, как видно из рис. 3в, достижение ими границы около 520-х суток, аналогично описанной выше ситуации в случае со слабой химиотерапией, значительно стимулирует пролиферацию оставшихся к этому моменту клеток популяции *a*. В результате этого доля ее клеток после некоторого переходного периода начинает монотонно увеличиваться. Также на длительное доминирование клеток популяции *b* в рассматриваемом случае, по сравнению со случаем слабой химиотерапии, оказывает влияние то, что в конце химиотерапии их доля в популяции гораздо выше (50% против 1%). Кроме того, при проведении настолько сильной химиотерапии капиллярная сеть полностью нормализуется ко времени третьей инъекции и опухолевый ангиогенез проявляется только около 180-х суток счета. Таким образом, данная терапия имеет антиангиогенный эффект, который также должен усиливать преимущество более подвижной популяции, как было показано нами в работе [6]. Однако после нормализации структуры опухоли число клеток популяции *a* растет почти экспоненциально и к моменту достижения опухолью радиуса 7 см, как видно на рис. 2ж, популяции становятся сравнимы по числу клеток. В дальнейшем популяция *a* захватывает лидерство (этот переход сопровождается увеличением скорости роста опухоли) и сохраняет его по крайней мере вплоть до достижения физиологически незначимых значений числа клеток популяции *b*. Стоит отметить, что аналогично было проверено что доминирование популяции *b* при свободном росте опухоли про-

исходит по крайней мере вплоть до достижения физиологически незначимых значений числа клеток популяции a . Таким образом, при выбранных значениях параметров динамика изучаемой системы чувствительна к внешним воздействиям, и проведение химиотерапии способно качественно изменить ее долгосрочное поведение.

Расчеты, аналогичные представленным выше, были проведены при вариации скорости пролиферации популяции b от $B_b = 0,007$ до $B_b = B_a = 0,02$ и ее коэффициента миграции от $D_b = D_a = 0,005$ до $D_b = 0,012$. Таким образом, клетки популяции b всегда делятся не быстрее и мигрируют не медленнее, чем клетки популяции a . На рис. 4 различными оттенками изображен композиционный состав опухоли при ее свободном росте, а также при проведении слабой и сильной химиотерапии. При этом на всех рисунках левая верхняя точка параметрической плоскости имеет одинаковый цвет, соответствующий равенству числа клеток двух популяций, так как их параметры совпадают в этой точке. Значения параметров для рассмотренного выше случая обозначены крестами. В качестве условия остановки расчетов выбрано достижение опухолью радиуса 7 см. Как было отмечено выше (при рассмотрении случая сильной химиотерапии), композиционный состав опухоли в этот момент может не совпадать с ее составом через некоторое время. Однако именно такое условие было выбрано как приближенное к реальности с точки зрения постановки эксперимента, так как очевидно, что реальная опухоль не может расти сколь угодно долго, и кроме того, конечная точка биологического эксперимента, как правило, определяется до его проведения. Для рассмотрения динамики композиционного состава опухолей мы в каждом случае сравниваем составы свободных и подвергшихся терапии опухолей как в один и тот же момент времени – а именно, когда свободно растущая опухоль достигает радиуса 7 см, – так и при достижении этого радиуса обеими опухолями.

Рис. 4а соответствует свободному росту опухолей в момент, когда они дорастают до радиуса 7 см. На нем выделяются две области, в которых к этому моменту практически полностью доминирует одна из популяций. Эти области расположены таким образом, что при вариации параметров популяции b для ее победы в борьбе с популяцией a уменьшение скорости пролиферации ее клеток должно быть скомпенсировано достаточно сильным увеличением их собственном подвижности. При этом при значительной разнице в значениях пара-

метров относительно небольшое увеличение B_b должно быть для этой цели скомпенсировано сравнительно большим увеличением D_b . Несмотря на то что из данного рисунка неясно, существуют ли значения подвижности клеток, позволяющие ей доминировать при малых значениях B_b , в дополнительных расчетах было установлено, что такие значения есть, например популяция b составляет практически 100% опухолевых клеток при достижении свободной опухолью радиуса 7 см при значениях параметров $B_b = 0,012$; $D_b = 0,02$ и $B_b = 0,07$; $D_b = 0,05$ (при этом последнее значение D_b находится значительно ниже физиологического предела подвижности опухолевых клеток, например для глиобластомы после нормализации этот параметр может быть около 0,5 и выше). Немонотонность границы между областями при малых значениях D_b , видимо, обуславливается наличием нескольких качественно различных вариантов поведения системы в приграничной области и высокой чувствительностью результатов к начальным условиям.

Как было уже отмечено выше, поведение системы в приграничной области также чувствительно к внешним воздействиям, в качестве которого мы рассматриваем проведение химиотерапии. При относительно малой чувствительности опухолевых клеток к химиотерапевтическому препарату область доминирования быстропролиферирующей популяции a в момент достижения опухолью радиуса 7 см увеличивается по сравнению со случаем свободного роста опухоли и видимая часть границы между областями доминирования популяций сглаживается (см. рис. 4в). При этом примерно в каждом третьем из рассмотренных случаев, в которых при свободном росте побеждает популяция b , происходит смена доминирующей популяции на a . Как было указано выше, на данный переход оказывает сильное влияние увеличение притока глюкозы при достижении клетками границы опухолевой массы после проведения химиотерапии. При этом, как показывает рис. 4б, в примерно половине из рассмотренных случаев число клеток популяции a превышает число клеток популяции b еще до достижения клетками этой границы (так как это в каждом случае происходит позже момента, когда свободно растущая опухоль дорастает до радиуса 7 см). В таких случаях число клеток популяции b , которое до достижения границы опухоли увеличивалось, начинает резко уменьшаться при ее достижении, усиливая доминирование популяции a .

В случае сильной химиотерапии, как показывает рис. 4г, на начальном этапе возобнов-

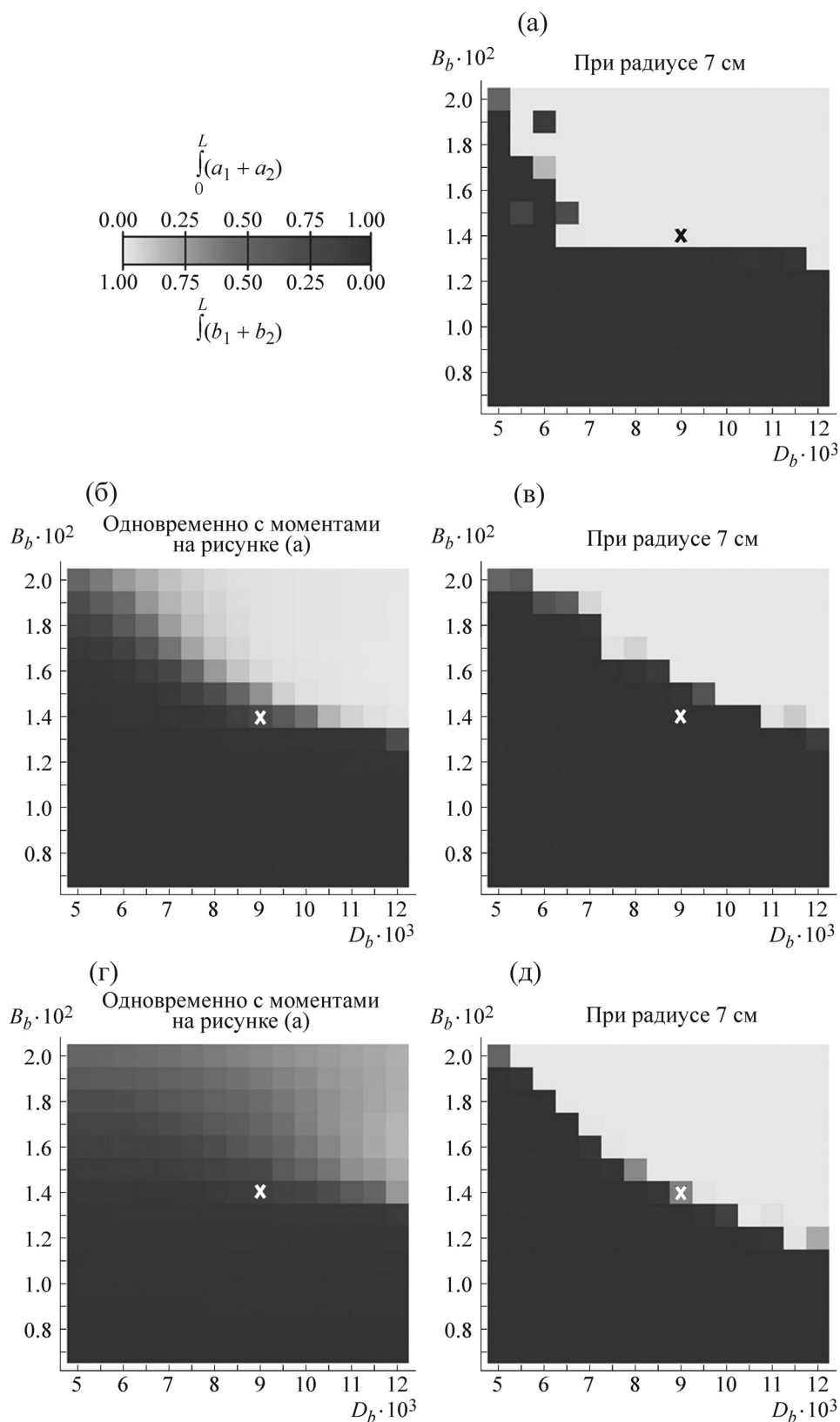


Рис. 4. Доля клеток быстроделющейся опухолевой популяции $a_1 + a_2$ и более подвижной опухолевой популяции $b_1 + b_2$ в указанные моменты времени при базовом наборе параметров: (а) – в отсутствие терапии; (б) и (в) – после химиотерапии с чувствительностью клеток популяции a к цисплатину $k_{Ta} = 10$ (слабая ХТ); (г) и (д) – после химиотерапии с $k_{Ta} = 45$ (сильная ХТ). Значения параметров для случая, рассмотренного на рис. 2 и 3, обозначены крестами.

ления опухолевого роста после терапии область доминирования быстропролиферирующей популяции *a* значительно увеличивается. Это связано с тем, что возобновление роста опухоли в этом случае происходит при слабом проявлении пространственных эффектов. Однако в случае сильной химиотерапии ряд факторов, приведенных выше, стимулирует развитие более подвижной популяции *b*. В связи с этим при сравнении композиционных составов опухолей при их одинаковом радиусе 7 см в случае свободного роста и проведении сильной химиотерапии (см. рис. 4а, 4д) только примерно в каждом шестом из рассмотренных случаев, в которых при свободном росте популяция *b* побеждала, происходит смена доминирующей популяции на *a*. Более того, в пяти из численно исследованных случаев при больших различиях в параметрах популяций происходит обратный переход с *a* на *b*.

ОБСУЖДЕНИЕ

В данной работе было исследовано влияние химиотерапии на композиционный состав солидной биклональной опухоли, клетки одной из популяций в составе которой делятся медленнее, чем другой, но обладают большей собственной подвижностью. Было показано, что при достаточно малой чувствительности опухолевых клеток к химиотерапевтическому препарату проведение химиотерапии увеличивает область в пространстве параметров клеточных популяций, где в долгосрочном периоде доминирует быстроделаящая популяция, несмотря на то, что ее клетки более чувствительны к химиотерапии. При достаточно сильной химиотерапии этот эффект проявляется слабее, при этом в области, где параметры популяций различаются достаточно сильно, сильная химиотерапия, наоборот, приводит к смене доминирующей популяций с быстроделаящейся на более подвижную.

Полученные результаты объясняются тем, что в некоторой зоне на границе областей доминирования популяций исследуемая модель чувствительна к начальным условиям и внешним воздействиям, в частности к изменению притока глюкозы к опухоли. Проведение антиангиогенной терапии уменьшает его, чем, как было показано в нашем предыдущем исследовании [6], стимулирует увеличение доли более подвижной популяции. После химиотерапии при возобновлении роста опухоли и приближении клеток к ее границе приток глюкозы к ним, наоборот, значительно увеличивается, что стимулирует увеличение доли быстропролифе-

рирующей популяции. Однако достаточно сильная химиотерапия сама по себе имеет антиангиогенный эффект, и при ней движение клеток к границе опухоли в условиях уменьшенного притока глюкозы занимает гораздо большее время, что, наоборот, стимулирует увеличение доли более подвижной популяции. Стоит отметить, что было проверено, что воздействия на систему другого характера (не обязательно имеющие под собой биологическую основу), изменяющие приток глюкозы к опухоли, также влияют на долгосрочный исход популяционной борьбы. Например, резкое увеличение скорости ангиогенеза и проницаемости ангиогенных капилляров в 1,5 раза при свободном росте опухоли, рассмотренном на рис. 2а–в и 3а, на 150-е сутки роста (когда число клеток примерно одинаково), приводит к примерно 150-суточной задержке момента, когда более подвижная популяция начинает доминировать. Более того, в дальнейшем быстропролиферирующая популяция возвращает себе лидерство в композиционном составе опухоли, и далее количество клеток более подвижной популяции уменьшается вплоть до достижения физиологически незначимых значений – таким образом, доминирующая в долгосрочной перспективе популяция сменяется. Однако при изменении тех же параметров модели подобным образом с самого начала роста опухоли результат борьбы популяций и ее динамика качественно не меняются по сравнению со случаем, рассмотренным в данной работе. Это указывает на то, что результат влияния внешнего воздействия на рассматриваемую систему зависит не только от его характера, но и от времени воздействия.

К сожалению, насколько нам известно, на данный момент не существует экспериментальных исследований, которые позволили бы подтвердить или опровергнуть полученные результаты. Из клинических данных известно, что при проведении химиотерапии пролиферативный индекс клеток, составляющих опухоль, может изменяться как в ту, так и в другую сторону [24], но для определения того, в чем именно состоит влияние химиотерапии при этом явлении, необходимо сравнение аналогичных результатов с результатами, полученными в контрольной группе, что, как минимум, крайне неэтично и не может быть реализовано (как и проведение заведомо слабой химиотерапии). Потенциально интересные с точки зрения данной работы доклинические эксперименты на мышинных моделях опухолей также не проводились, тем не менее, принципиальная возможность их осуществления есть. Более того, известны эксперименты с мышинными моделями

ПРИЛОЖЕНИЕ

биклональных опухолей с известными характеристиками составляющих их популяций (см., например, работу [25]). Однако стоит отметить, что в клинической практике известен эффект индуцирования химиотерапией эпителиально-мезенхимного перехода опухолевых клеток, в результате которого собственная подвижность клеток вырастает. Механизмы этого эффекта не ясны и широко обсуждаются в литературе [26]. Данная работа позволяет сформулировать гипотезу о том, что такой переход может происходить как результат отбора более подвижных опухолевых популяций за счет долгого эффективного уменьшения притока питательных веществ к клеткам опухоли на протяжении начального периода возобновления опухолевого роста.

Следует отметить, что исследование прогрессии злокачественной опухоли при ее свободном росте само по себе представляет как теоретический, так и практический интерес. В одной из наших предыдущих работ [27] было показано, что в аналогичной биклональной опухоли медленно пролиферирующая и более подвижная популяция способна вытеснить другую популяцию при достаточно высоком коэффициенте миграции, что было подтверждено и в данной работе. Этот вывод имеет качественный характер, т.е. не сообщает, чему должен быть равен этот коэффициент миграции, и в дальнейшем мы собираемся исследовать это явление количественно. Любопытно, что смена доминирующей популяции опухоли на более подвижную может приводить к уменьшению скорости роста опухоли, как было показано в данной работе, что может иметь практическое значение. В наших дальнейших планах есть также разработка модели, которая позволит описывать опухолевую прогрессию, учитывая изменения в характеристиках клеток, возникающие при случайных мутациях в процессе их деления, и, таким образом, рассматривать поликлональную опухоль с целым спектром значений параметров, соответствующих определенным характеристикам ее клеток. Такая модель будет гораздо более численно затратной, но более приближенной к реальным процессам, сопровождающим опухолевый рост и прогрессию.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (гранты №№ 16-01-00709 и 17-01-00070).

Параметры модели. Используемый в данной работе набор параметров приведен в таблице, где для получения их модельных значений используются следующие параметры нормализации: $t_n = 1$ ч для времени, $L_n = 10^{-2}$ см для длины, $S_n = 1$ мМ для концентрации глюкозы, $V_n = 10^{-11}$ моль/мл для VEGF. Максимальная плотность опухолевых клеток равна $3 \cdot 10^8$ кл./мл и взята из работы [28], данные из которой также используются для оценки скорости пролиферации клеток и скорости потребления ими глюкозы. Нормальная плотность капиллярной поверхности принимается равной $PC = 100$ см²/см³, что равно ее усредненному значению для человеческой мышцы [19].

В оценках скорости пролиферации злокачественных клеток и уровня потребления глюкозы пролиферирующими клетками мы полагаемся на соответствующие значения, полученные экспериментально на начальном этапе роста многоклеточных опухолевых сфероидов EMT6/Ro в суспензии, но мы предполагаем, что эти значения должны пропорционально уменьшиться при росте соответствующей опухоли в ткани из-за таких факторов, как механическое давление, повышенная кислотность и высокая концентрация лактата, выделяемого опухолевыми клетками [40]. Максимальная скорость перехода клеток опухоли в состояние покоя оценена как соответствующий параметр из экспериментальной работы [29], умноженный на отношение скоростей деления опухолевых клеток в этой работе и в данной модели. Оценка скорости потребления глюкозы покоящимися опухолевыми клетками основывается на наблюдении, сделанном в [29], что она должна быть как минимум в 40 раз ниже, чем уровень потребления глюкозы пролиферирующими клетками. Значения скорости потребления глюкозы нормальными клетками основаны на соответствующих значениях для покоящейся человеческой мышцы. Значения скоростей гибели нормальных и опухолевых клеток оцениваются на экспериментальных данных о поведении клеток при экстремальной нехватке питательных веществ, при этом нормальные клетки являются более чувствительными к гипогликемии. Однако использование в модели глюкозы как единственного питательного вещества диктует некоторое занижение значений этих параметров, так как в реальности опухолевые клетки могут выживать за счет окисления других питательных веществ (глутамин, лактат и т.д.). Коэффициент миграции опухолевых клеток популяции a соответствует неинвазивной, компактной опухоли.

Набор параметров, использованных в работе

Параметр	Описание	Значение	Значение в модели	Источник
Опухолевая популяция <i>a</i>				
B_a	Скорость пролиферации	0,02 ч ⁻¹	0,02	[28] + см. текст
k_{1a}	Максимальная скорость перехода в состояние покоя	0,4 ч ⁻¹	0,4	[29] + см. текст
k_{3a}	Максимальная скорость перехода в пролиферативное состояние	0,2 ч ⁻¹	0,2	См. текст
k_{Ta}	Чувствительность к цисплатину	Варьируется		
D_a	Коэффициент миграции	$1,4 \cdot 10^{-10}$ см ² /с	0,005	См. текст
Опухолевая популяция <i>b</i>				
B_b	Скорость пролиферации	Варьируется		
D_b	Коэффициент миграции	Варьируется		
Общие параметры популяций				
k_2	Чувствительность к переходу в состояние покоя к глюкозе	$19,8$ (мг/мл) ⁻¹	3,6	[29]
ε_{tr}	Чувствительность к переходу в пролиферативное состояние к глюкозе	2	2	См. текст
S_{tr}	Пороговая концентрация глюкозы для перехода в пролиферативное состояние	1 мМ	1	См. текст
d_t^{\max}	Максимальная скорость гибели	0,001 ч ⁻¹	0,001	[30]
ε_d	Чувствительность скорости гибели к глюкозе	5	5	См. текст
S_d	Пороговая концентрация глюкозы для гибели	0,1 мМ	0,1	См. текст
Нормальные клетки				
d_h^{\max}	Максимальная скорость гибели	0,005 ч ⁻¹	0,005	[30]
VEGF				
p	Скорость производства	2 фг/(ч.кл.)	1	[31]
ω	Скорость интернализации	$2,8 \cdot 10^{-4}$ с ⁻¹	1	[32]
d_V	Скорость деградации	0,01 ч ⁻¹	0,01	[33]
D_V	Коэффициент диффузии	$5,9 \cdot 10^{-7}$ см ² /с	21,2	[33]
Микроциркуляторная сеть				
l	Скорость разрушения	$1,7 \cdot 10^{-10}$ (кл/мл) ⁻¹ с ⁻¹	0,05	См. текст
v_{nor}	Скорость нормализации структуры капилляров	0,2 ч ⁻¹	0,2	См. текст
V^*	Константа Михаэлиса для ангиогенеза и денормализации	10^{-14} моль/мл	0,001	См. текст
v_{den}	Скорость денормализации структуры капилляров	0,05 ч ⁻¹	0,05	См. текст
μ	Скорость нормализации плотности	$2 \cdot 10^{-4}$ (см ² /см ³) ⁻¹ с ⁻¹	0,02	См. текст
γ	Эластичность сети	0,5	0,5	См. текст
R	Максимальная скорость ангиогенеза	0,005 ч ⁻¹	0,005	См. текст
C_{\max}	Максимальная плотность поверхности	300 см ² /см ³	3	См. текст
k_T^A	Чувствительность ангиогенеза к цисплатину	$0,35 \cdot 10^{-8}$ моль/мл	10	См. текст
Глюкоза				
$P_{NG,G}$	Проницаемость нормальных капилляров	$1,1 \cdot 10^{-5}$ см/с	4	См. текст
$P_{AC,G}$	Проницаемость ангиогенных капилляров	$2,8 \cdot 10^{-5}$ см/с	10	См. текст

Параметр	Описание	Значение	Значение в модели	Источник
G_{bl}	Уровень в крови	5,5 ммоль/л	5,5	[34]
q_{a1}	Скорость потребления пролиферирующими клетками популяции а	$6,5 \cdot 10^{-17}$ моль/(кл.·с)	70	[28] + см. текст
q_{a2}	Скорость потребления покоящимися клетками опухоли	$2,3 \cdot 10^{-18}$ моль/(кл.·с)	2	См. текст
q_h	Скорость потребления нормальными клетками	0,49 мг/(мин·100 мл)	1,5	[35]
G^*	Константа Михаэлиса для потребления	0,04 mM	0,04	[36]
D_G	Коэффициент диффузии	$2,6 \cdot 10^{-6}$ см ² /с	94	[37]
Свободный цисплатин				
$P_{NC,Tf}$	Проницаемость нормальных капилляров	$8 \cdot 10^{-6}$ см/с	3	См. текст
$P_{AC,Tf}$	Проницаемость ангиогенных капилляров	$2,2 \cdot 10^{-5}$ см/с	7,9	См. текст
k_{on}	Скорость связывания с белками	0,46 ч ⁻¹	0,46	[38]
k_{off}	Скорость распада комплекса с белками	0,04 ч ⁻¹	0,04	[38]
d_T	Скорость неспецифического связывания с тканевыми элементами	0,5 ч ⁻¹	0,5	См. текст
D_T	Коэффициент диффузии	$2,1 \cdot 10^{-6}$ см ² /с	77,2	См. текст
$d_{T,bl}$	Скорость выведения из крови	0,13 ч ⁻¹	0,13	[39]
Связанная форма цисплатина				
$P_{NC,Tb}$	Проницаемость нормальных капилляров	$2,8 \cdot 10^{-8}$ см/с	0,01	См. текст
$P_{AC,Tb}$	Проницаемость ангиогенных капилляров	$4,5 \cdot 10^{-7}$ см/с	0,16	См. текст
D_{Tb}	Коэффициент диффузии	$5,8 \cdot 10^{-7}$ см ² /с	20,9	См. текст

Способ оценки проницаемостей для всех веществ аналогичен приведенному в [41]. Коэффициенты диффузии для бевацизумаба и двух форм цисплатина оцениваются на основе экспериментально измеренных для глюкозы и VEGF коэффициентов диффузии в ткани и радиусов молекул всех веществ, при этом для связанного с белками цисплатина используется радиус альбумина. Параметр неспецифического связывания цисплатина с тканевыми элементами является пациент-специфичным параметром, понижение которого должно приводить к повышению эффективности терапии, но так как аналогичный эффект проявляется при вариации чувствительности опухолевых клеток к цисплатину, то вариация этого параметра не осуществляется в данной работе.

Метод описания микроциркуляторной сети посредством пространственно распределенных переменных накладывает определенные трудности на оценку значений параметров динамики капилляров, которые, однако, на практике сильно зависят от колоссального количества факторов и будут значительно различаться для

разных линий опухолевых клеток, тканей, в которых они растут, состояния здоровья организма и, что более важно, будут отличаться от организма к организму. Поэтому мы ограничиваемся грубыми оценками с той целью, чтобы поведение модельной микроциркуляторной сети адекватно аппроксимировало общие особенности структуры и динамики функциональной опухолевой микроциркуляторной сети. Плотность капилляров в различных мышечных моделях опухоли увеличивается в два–пять раз в течение нескольких дней [42], что определяет порядок величины максимальной скорости ангиогенеза и позволяет оценить максимальную плотность поверхности капилляров. Экспериментальная работа над изображениями с высоким разрешением, демонстрирующая реконструкцию опухолевой микроциркуляторной сети объемом 280 мм³ [43], показывает, что в ядре опухоли присутствует малое количество капилляров с незначительной перфузией. Наряду с наблюдением, что капилляры внутри опухоли деградируют через несколько дней, это позволяет оценить скорость деградации микрососудов [42]. Скорость денормализации оцени-

вается так, чтобы капиллярная сеть была почти полностью аномальна внутри опухоли, тогда как выбранная скорость нормализации структуры капилляров обеспечивает их возвращение в нормальное состояние через несколько дней, оба наблюдения основаны на данных работы [44]. Константа Михаэлиса для ангиогенеза и скорости денормализации является техническим параметром, необходимым для точного моделирования начала и окончания этих процессов. При уровнях VEGF, равных этой константе, скорости процессов полумаксимальны. Скорость нормализации плотности капиллярной сети подобрана таким образом, чтобы во время антиангиогенной терапии она нормализовалась в опухолевом микроокружении в течение нескольких дней.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. D. Hanahan and R. A. Weinberg, *Cell* **144** (5), 646 (2011).
2. J. H. Bielas, K. R. Loeb, B. P. Rubin, et al., *P. Natl. Acad. Sci. USA* **103** (48), 18238 (2006).
3. D. N. Louis, H. Ohgaki, O. D. Wiestler, et al., *Acta Neuropathol.* **114** (2), 97 (2007).
4. A. Kathagen-Buhmann, A. Schulte, J. Weller, et al., *Neurooncology* **18** (9), 1219 (2016).
5. J. F. de Groot, G. Fuller, A. J. Kumar, et al., *Neurooncology* **12** (3), 233 (2010).
6. М. Б. Кузнецов и А. В. Колобов, *Компьютерные исследования и моделирование* **9** (3), 487 (2017).
7. A. W. El-Kareh and T. W. Secomb, *Neoplasia* **6** (2), 117 (2004).
8. Y. Miyagi, K. Fujiwara, J. Kigawa, et al., *Gynecol. Oncol.* **99** (3), 591 (2005).
9. M. Andersen, Z. Sajid, R. K. Pedersen, et al., *PloS One* **12** (8), e0183620 (2017).
10. A. Bouchnita, F.-E. Belmaati, R. Aboulaich, et al., *Computation* **5** (1), 16 (2017).
11. J. C. Panetta, *Math. Biosci.* **147** (1), 41 (1998).
12. Y. Iwasa, M. A. Nowak, and F. Michor, *Genetics* **172** (4), 2557 (2006).
13. M. M. Hadjiandreou and G. D. Mitsis, *IEEE T. Bio-Med. Eng.* **61** (2), 415 (2014).
14. T. Stiehl, N. Baran, A. D. Ho, and A. Marciniak-Czochra, *J. R. Soc. Interface* **11** (94), 20140079 (2014).
15. A. Giese, R. Bjerkvig, M. Berens, and M. Westphal, *J. Clin. Oncol.* **21** (8), 162436 (2003).
16. M. G. Vander Heiden, L. C. Cantley, and C. B. Thompson, *Science* **324** (5930), 1029 (2009).
17. A. V. Kolobov, V. V. Gubernov, and M. B. Kuznetsov, *Russ. J. Numer. Anal. M.* **30** (5), 289 (2015).
18. D. Shweiki, M. Neeman, A. Itin, and E. Keshet, *Proc. Nat. Acad. Sci.* **92** (3), 768 (1995).
19. J. R. Levick, *An introduction to cardiovascular physiology* (Butterworth-Heinemann, 2013).
20. M. J. Eymontt, G. Gwinup, F. A. Kruger, et al., *J. Clin. Endocr. Met.* **25** (1), 46 (1965).
21. И. Б. Петров и А. И. Лобанов, *Лекции по вычислительной математике* (Интернет-Ун-т Информ. Технологий, 2006).
22. J. P. Boris and D. L. Book, *J. Comput. Phys.* **11** (1), 38 (1973).
23. M. Kuznetsov and A. Kolobov, in *Trends in Biomathematics: Modeling, Optimization and Computational Problems*, Ed. By R. P. Mondaini (Springer, 2018), pp. 347–363.
24. R. Burcombe, G. D. Wilson, M. Dowsett, et al., *Breast Cancer Res.* **8** (3), R31 (2006).
25. J. T. Leith, S. Michelson, L. E. Faulkner, and S. F. Bliven, *Cancer Res.* **47** (4), 1045 (1987).
26. L. Sun, Y. Yao, B. Liu, et al., *Oncogene* **31** (4), 432 (2012).
27. A. Kolobov, A. Polezhaev, and G. Solyanik, *Comput. Math. Method M.* **3** (1), 637 (2000).
28. J. Freyer and R. Sutherland, *J. Cell. Physiol.* **124** (3), 516 (1985).
29. O. Pyaskovskaya, D. Kolesnik, A. Kolobov, et al., *Exp. Oncol.* **30** (4), 269 (2008).
30. K. Izuishi, K. Kato, T. Ogura, et al., *Cancer Res.* **60** (21), 6201 (2000).
31. J. M. Kelm, C. D. Sanchez-Bustamante, E. Ehler, et al., *J. Biotechnol.* **118** (2), 2139 (2005).
32. F. Mac Gabhann and A. S. Popel, *Am. J. Physiol. – Heart C.* **292** (1), H459 (2007).
33. A. Kohn-Luque, W. De Back, Y. Yamaguchi, et al., *Phys. Biol.* **10** (6), 066007 (2013).
34. American Diabetes Association, *Diabetes Care* **27** (Suppl. 1), s11 (2004).
35. P. G. Baker and R. Mottram, *Clin. Sci.* **44** (5), 479 (1973).
36. J. Casciari, S. Sotirchos, and R. Sutherland, *Cell Proliferat.* **25** (1), 1 (1992).
37. V. Tuchin, A. Bashkatov, E. Genina, et al., *Tech. Phys. Lett.* **27** (6), 489 (2001).
38. D. Zemlickis, J. Klein, G. Moselhy, and G. Koren, *Pediatr. Blood Cancer* **23** (6), 476 (1994).
39. P. Van de Vaart, N. Van der Vange, F. Zoetmulder, et al., *Eur. J. Cancer* **34** (1), 148 (1998).
40. E. Marx, W. Mueller-Klieser, and P. Vaupel, *Int. J. Radiat. Oncol.* **14** (5), 947 (1988).
41. M. B. Kuznetsov and A. V. Kolobov, *J. Theor. Biol.* **451**, 86 (2018).
42. P. V. Dickson, J. B. Hamner, T. L. Sims, et al., *Clin. Cancer Res.* **13** (13), 3942 (2007).
43. S. K. Stamatelos, E. Kim, A. P. Pathak, and A. S. Popel, *Microvasc. Res.* **91**, 8 (2014).
44. R. P. Dings, M. Loren, H. Heun, et al., *Clin. Cancer Res.* **13** (11), 3395 (2007).

Influence of Chemotherapy on Progression of Biclonal Tumor – Analysis by Means of Mathematical Modeling

M.B. Kuznetsov* and A.V. Kolobov* **

**Lebedev Physical Institute, Russian Academy of Sciences, Leninskii prosp. 53, Moscow, 119991 Russia*

***Institute of Numerical Mathematics, Russian Academy of Sciences; ul. Gubkina 8, Moscow, 119333 Russia*

The effect of chemotherapy on the composition of a solid biclonal tumor is studied using mathematical modeling. In the solid biclonal tumor, cells of one population receive a signal to increase cell proliferation rate and cells of other population have the higher level of intrinsic motility. It has been shown that at low sensitivity of cells to a chemotherapeutic drug, chemotherapy increases the area in the space of populations parameters where rapidly proliferating cells dominates. During high-dose chemotherapy, this effect turns out to be weaker, while in the other part of the parametric space there is a reverse shift of the dominant population from the rapidly proliferating one to the more motile one.

Keywords: mathematical modeling, tumor progression, cellular heterogeneity, chemotherapy