

УДК: 519.8

Исследование влияния антиангиогенной монотерапии на прогрессию гетерогенной опухоли с помощью методов математического моделирования

М. Б. Кузнецов^{1,a}, А. В. Колобов^{1,2,b}

¹Физический институт им. П. Н. Лебедева Российской академии наук,
119991, г. Москва, Ленинский проспект, д. 53

²Институт вычислительной математики Российской академии наук,
119333, г. Москва, ул. Губкина, д. 8

E-mail: ^a kuznetsovmb@mail.ru, ^b kolobov@ipi.ru

Получено 23.12.2016, после доработки — 20.04.2017.

Принято к публикации 31.05.2017.

В последнее десятилетие в онкологии наряду с классическими цитотоксическими агентами при химиотерапии стали активно использоваться антиангиогенные препараты. Они направлены не на убийство злокачественных клеток, а на блокирование процесса ангиогенеза — роста новых сосудов в опухолевом микроокружении. Вещества, стимулирующие ангиогенез, в частности фактор роста эндотелия сосудов, активно вырабатываются опухолевыми клетками, находящимися в состоянии метаболического стресса. Считается, что блокирование опухолевой неоваскуляризации должно привести к нехватке питательных веществ в опухоли, а значит, и к остановке или по крайней мере к существенному замедлению ее роста. Клиническая практика применения первого антиангиогенного препарата, бевацизумаба, показала, что в ряде случаев такая терапия не влияет на скорость роста опухоли, тогда как для других типов опухолей антиангиогенная терапия обладает высоким противоопухолевым действием. Однако было показано, что при успешном замедлении роста опухоли терапия бевацизумабом может вызывать направленную прогрессию опухоли к более инвазивному, а значит, более летальному типу. Эти данные требуют теоретического анализа и определения ключевых факторов, приводящих к такой опухолевой прогрессии, которая в литературе ассоциируется с эпителиально-мезенхимальным переходом. Для решения этой задачи была разработана пространственно-распределенная математическая модель роста и антиангиогенной терапии гетерогенной опухоли, состоящей из двух субпопуляций злокачественных клеток. Одна из субпопуляций обладает свойствами, присущими эпителиальному фенотипу, — малой подвижностью и высокой скоростью пролиферации, другая соответствует мезенхимальному фенотипу и обладает высокой подвижностью и медленной скоростью деления. Проведено исследование конкурентной борьбы между этими субпопуляциями в гетерогенной опухоли как в случае роста опухоли без терапии, так и в случае монотерапии бевацизумабом. Показано, что постоянное использование антиангиогенного препарата приводит к увеличению области в пространстве параметров, где происходит доминирование мезенхимального фенотипа: в определенном диапазоне параметров в отсутствие терапии доминирует эпителиальный фенотип, а при терапии бевацизумабом начинает доминировать мезенхимальный фенотип. Данный результат является теоретическим обоснованием наблюдаемой в клинической практике направленной прогрессии опухоли к более инвазивному типу при проведении антиангиогенной терапии.

Ключевые слова: математическое моделирование, прогрессия опухоли, антиангиогенная терапия, бевацизумаб

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 16-01-00709.

UDC: 519.8

Mathematical investigation of antiangiogenic monotherapy effect on heterogeneous tumor progression

M. B. Kuznetsov^{1,a}, A. V. Kolobov^{1,2,b}

¹P.N. Lebedev Physical Institute of the Russian Academy of Sciences,
Leninskiy Prospekt, 53, Moscow, 119991, Russia

²Institute of Numerical Mathematics of the Russian Academy of Sciences,
Gubkin str., 8, Moscow, 119333, Russia

E-mail: ^a kuznetsovmb@mail.ru, ^b kolobov@lpi.ru

*Received 23.12.2016, after completion – 20.04.2017.
Accepted for publication 31.05.2017.*

In the last decade along with classical cytotoxic agents, antiangiogenic drugs have been actively used in cancer chemotherapy. They are not aimed at killing malignant cells, but at blocking the process of angiogenesis, i.e., the growth of new vessels in the tumor and its surrounding tissues. Agents that stimulate angiogenesis, in particular, vascular endothelial growth factor, are actively produced by tumor cells in the state of metabolic stress. It is believed that blocking of tumor neovascularization should lead to a shortage of nutrients flow to the tumor, and thus can stop, or at least significantly slow down its growth. Clinical practice on the use of first antiangiogenic drug bevacizumab has shown that in some cases such therapy does not influence the growth rate of the tumor, whereas for other types of malignant neoplasms antiangiogenic therapy has a high antitumor effect. However, it has been shown that along with successful slowing of tumor growth, therapy with bevacizumab can induce directed tumor progression to a more invasive, and therefore more lethal, type. These data require theoretical analysis and rationale for the evolutionary factors that lead to the observation of epithelial-mesenchymal transition. For this purpose we have developed a spatially distributed mathematical model of growth and antiangiogenic therapy of heterogeneous tumor consisting of two subpopulations of malignant cells. One of subpopulations possesses inherent characteristics of epithelial phenotype, i.e., low motility and high proliferation rate, the other one corresponds to mesenchymal phenotype having high motility and low proliferation rate. We have performed the investigation of competition between these subpopulations of heterogeneous tumor in the cases of tumor growth without therapy and under bevacizumab monotherapy. It is shown that constant use of antiangiogenic drug leads to an increase of the region in parameter space, where the dominance of mesenchymal phenotype takes place, i.e., within a certain range of parameters in the absence of therapy epithelial phenotype is dominant but during bevacizumab administration mesenchymal phenotype begins to dominate. This result provides a theoretical basis of the clinically observed directed tumor progression to more invasive type under antiangiogenic therapy.

Keywords: mathematical modeling, tumor progression, antiangiogenic therapy, bevacizumab

Citation: *Computer Research and Modeling*, 2017, vol. 9, no. 3, pp. 487–501 (Russian).

This work was supported by RFBR grant no. 16-01-00709.

Введение

В последние годы в клинической онкологии началось активное использование нового класса противоопухолевых агентов — антиангиогенных препаратов, в частности бевацизумаба. Действие таких препаратов направлено не на убийство активно пролиферирующих опухолевых клеток, а на блокирование роста новых кровеносных сосудов, что в теории должно ограничить приток питательных веществ к опухоли, а значит, замедлить деление злокачественных клеток [Folkman, 1971]. Однако, несмотря на клинически подтвержденную эффективность бевацизумаба и других антиангиогенных препаратов при лечении широкого спектра злокачественных новообразований, возникает множество вопросов относительно эффективности антиангиогенной терапии [Narayanan, 2009] и ее побочных эффектов [Mountzios, 2014]. При этом если изначально в качестве основных побочных эффектов врачи выделяли гипертонию [Corr, 2016] и возникновение фистул [Galanopoulos, 2016], то сейчас все большее внимание уделяется возможному влиянию антиангиогенной терапии на характер опухолевой прогрессии [Keunen, 2011]. Большое количество исследований различных опухолевых клеточных линий указывает на то, что антиангиогенная терапия стимулирует мезенхимальный переход злокачественных клеток, приводящий к более инвазивному характеру опухоли и повышению ее метастатической активности [de Groot, 2010; Kerbel, 2013; Pàez-Ribes, 2009], в результате чего опухоль приобретает резистентность к данному типу терапии [Piao, 2013]. Этот эффект сильно ухудшает прогноз выживаемости для пациентов, постоянно использующих антиангиогенные препараты, в частности бевацизумаб, и уменьшает возможность их излечения в случае рецидива новообразования [Ebos, 2011]. Таким образом, исследование влияния антиангиогенной терапии на прогрессию опухоли методами математического моделирования имеет не только теоретическое, но и важное практическое значение.

Математическое моделирование ангиогенеза — это достаточно новое направление, оно возникло в связи с двумя чрезвычайно важными практическими задачами. Первая из них — проблема неприживаемости ткани при ее трансплантации, которая обусловлена не иммунным ответом реципиента, а недостаточным притоком питательных веществ к пересаженной ткани. С помощью математического моделирования можно, к примеру, оценить размер жизнеспособного трансплантата в зависимости от его свойств (проницаемости, количества клеток и др.) и скорости неоваскуляризации [Lemon, 2009]. Вторая практическая задача, вызвавшая интерес к моделированию ангиогенеза, связана с противоопухолевой антиангиогенной терапией. Для того чтобы оценить эффективность антиангиогенных препаратов, важно оценить влияние неоваскуляризации на скорость роста опухоли, что вызвало появление работ, посвященных моделированию опухолевого ангиогенеза [Anderson, 1998; Mantzaris, 2004]. Основная проблема математического моделирования роста опухоли с учетом ангиогенеза заключается в многомасштабности этого процесса. Диаметр капилляра составляет 6–10 микрон, его длина — порядка 1 мм, в одном кубическом сантиметре нормальной ткани находится несколько сотен тысяч капилляров. Размер опухоли может достигать десятков сантиметров, то есть разница масштабов объектов моделирования составляет 4–5 порядков. В связи с этим кажется разумным использовать пространственно распределенные модели, в частности работать с некоторой общей переменной, описывающей микроциркуляторную сеть. Такой подход используется в большинстве работ, посвященных моделированию роста и терапии васкуляризированных опухолей [Kolobov, 2013; Hawkins-Daarud, 2013; Lignet, 2013]. Однако практически все такие работы рассматривают моноклональную опухоль, то есть в них предполагается, что поведение всех злокачественных клеток в каждом из состояний описывается одними и теми же уравнениями с одинаковыми параметрами, что не позволяет моделировать прогрессию опухоли, то есть эволюцию ее свойств по мере роста. Существует всего несколько моделей, в которых исследуется прогрессия опухоли под влиянием ангиогенеза и противоопухолевой терапии [Ait-Oudhia, 2016; Saut, 2014], однако в основном в таких работах под прогрессией

понимают только изменение общих характеристик, например размера опухоли или доли ее делящихся клеток. Таким образом, существует необходимость в создании математической модели опухолевого роста, которая рассматривала бы вариацию параметров злокачественных клеток, то есть учитывала гетерогенность опухоли по клональному составу.

В представленной работе рассмотрена математическая модель гетерогенной солидной опухоли с учетом ангиогенеза и монотерапии бевацизумабом. В модели учитывается дихотомия миграции и пролиферации, согласно которой опухолевая клетка не может активно двигаться и делиться одновременно. Это явление объясняется тем, что для образования ламеллоподий, обеспечивающих движение клетки, и формирования нитей веретена деления во время митоза используются одни и те же структуры цитоскелета [Rejniak, 2016]. В данной работе рассматривается опухоль, состоящая из двух субпопуляций, клетки одной из которых делятся медленнее, чем клетки другой, но обладают более высокой собственной подвижностью. Аналогичный подход был использован в нашей работе [Kolobov, 2000]. Две субпопуляции злокачественных клеток описываются одной и той же математической моделью [Kolobov, 2015], отличие между ними состоит только в значениях параметров. Направление опухолевой прогрессии определяется результатом конкурентной борьбы субпопуляций за общее питательное вещество, в качестве которого выбрана глюкоза, так как она является не только ключевым энергетическим метаболитом опухолевой клетки, но и ее основным пластическим субстратом. Использование единственного метаболита значительно облегчает расчеты, но приводит к переоценке объема некротизированной части опухоли вследствие пренебрежения более критичными для выживания опухолевых клеток факторами, главным из которых является кислород, проникающий значительно глубже, чем глюкоза, внутрь опухоли. Однако это не искажает качественные результаты работы, так как борьба субпопуляций происходит на границе опухоли с нормальной тканью, где критически важным метаболитом является именно глюкоза.

Модель

Блок-схема, демонстрирующая основные взаимосвязи между переменными модели, представлена на рис. 1. Мы рассматриваем гетерогенную опухоль, растущую в нормальной ткани организма и состоящую из двух моноклональных колоний клеток, доли которых в ткани — $a(r, t)$ и $b(r, t)$, где r — пространственная координата, t — время. Нормальная ткань состоит из клеток, доля которых обозначается как $h(r, t)$, и микроциркуляторной, т. е. капиллярной, сети, объемная плотность поверхности ее капилляров — $EC(r, t)$. Мы опираемся на общепризнанную концепцию дихотомии пролиферации и миграции опухолевых клеток [Giese, 2003] и считаем, что клетки каждой из опухолевых колоний в каждый момент времени находятся в одном из двух состояний: пролиферации либо миграции. Известно, что состояние опухолевой клетки зависит от концентрации доступных метаболитов, поэтому в модели скорости переходов между состояниями зависят от концентрации глюкозы $S(r, t)$, выбранной в качестве эффективного питательного вещества в модели. Глюкоза поступает в ткань из капиллярной сети. При достаточном количестве доступной глюкозы клетки находятся в состоянии пролиферации $n_1(r, t)$, где $n = a, b$, и активно делятся, при ее нехватке они переходят в состояние миграции $n_2(r, t)$, в котором гибнут с определенной скоростью, переходя в некроз, доля которого — $m(r, t)$. Делящиеся клетки вследствие особенностей своего метаболизма потребляют значительно больше глюкозы [Vander, 2009]. Мигрирующие клетки, находящиеся в состоянии метаболического стресса, выделяют фактор роста эндотелия сосудов VEGF, его концентрация — $V(r, t)$. Мы пренебрегаем его секрецией пролиферирующими клетками. VEGF стимулирует ангиогенез — образование новых капилляров [Ferrara, 2003]. Объемная плотность поверхности ангиогенной микроциркуляторной сети — $FC(r, t)$. Эта переменная выделена отдельно для учета того факта, что проницаемость ангиогенных опухолевых капилляров значительно выше, чем у нормальных капилляров организма, за счет наличия

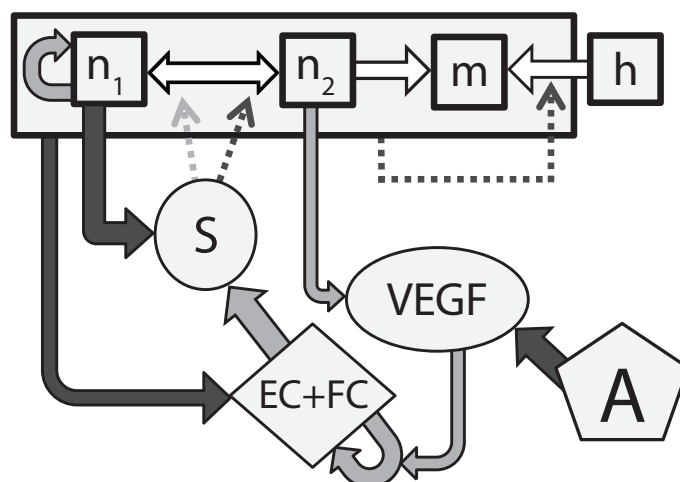


Рис. 1. Блок-схема модели прогрессии и антиангиогенной терапии биклональной опухоли. n_1 и n_2 , где $n = a, b$, — пролиферирующие и мигрирующие клетки опухолевых колоний, h — нормальные клетки организма, m — некроз, S — глюкоза, VEGF — фактор роста эндотелия сосудов, EC и FC — предсуществующая и ангиогенная микроциркуляторные сети, A — бевацизумаб. Серыми стрелками обозначены стимулирующие воздействия, черными стрелками — ингибирующие воздействия, белыми стрелками — клеточные переходы

в их стенках крупных пор [Levick, 2013]. Для моделирования антиангиогенной терапии в модель введена переменная концентрации препарата бевацизумаба $A(r, t)$. Бевацизумаб является моноклональным антителом к VEGF, его необратимое связывание с ним приводит к остановке ангиогенеза. В результате опухолевой прогрессии нормальные клетки организма и уже существующие капилляры разрушаются в опухолевом микроокружении под действием целого ряда механических и химических факторов, учтенных феноменологически.

Уравнения, описывающие распределения клеточных популяций и некроза, имеют следующий вид:

$$\begin{cases} \frac{\partial n_1}{\partial t} = B_n n_1 - P_{1n}(S)n_1 + P_{2n}(S)n_2 - \nabla(I n_1), \\ \frac{\partial n_2}{\partial t} = D_n \Delta n_2 + P_{1n}(S)n_1 - P_{2n}(S)n_2 - d n_2 - \nabla(I n_2), \end{cases} \quad n = a, b,$$

где $P_{1n}(S) = k_{1n} \exp(-k_2 S)$, $P_{2n}(S) = \frac{1}{2} k_{3n} (1 - \tanh[\epsilon_{trans}(S_{trans} - S)])$,

$$B_b = \frac{B_a}{r}, \quad k_{1b} = \frac{k_{1a}}{r}, \quad k_{3b} = \frac{k_{3a}}{r},$$

$$\frac{\partial m}{\partial t} = d(a_2 + b_2) + H(a + b + f m)h - v_{dr} h m - \nabla(I m),$$

$$\frac{\partial h}{\partial t} = -H(a + b + f m)h - \nabla(I h),$$

$$a = a_1 + a_2, \quad b = b_1 + b_2, \quad a + b + m + h = 1,$$

$$\nabla I = B_a a_1 + B_b b_1 - v_{dr} h m + D_a \Delta a_2 + D_b \Delta b_2.$$

В модели рассматриваются две клеточные колонии одной опухоли с разными фенотипами. Они отличаются друг от друга подвижностью D_n и скоростью пролиферации B_n , с которой также связаны скорости клеточных переходов, что выражается с помощью параметра r ,

имеющего феноменологический смысл отношения скоростей клеточного цикла. Вид функций перехода клеток получен фитированием экспериментальных данных [Pyaskovskaya, 2008] и подробно описан в [Kolobov, 2015]. d — скорость гибели клеток, H — параметр, описывающий разрушение нормальных клеток организма под действием факторов опухолевого микроокружения. v_{dr} — параметр оттока некроза через лимфатическую систему. Мы пренебрегаем лимфангиогенезом и полагаем, что скорость оттока пропорциональна доле нормальной ткани, в которой находятся лимфатические сосуды.

Мы рассматриваем плотную несжимаемую ткань, в которой на пространственное распределение клеток влияют конвективные потоки, возникающие вследствие локальных изменений плотности, вызванных делением и миграцией опухолевых клеток, а также оттоком межклеточной жидкости (изменением объема капиллярной сети мы пренебрегаем). Вывод уравнения для поля конвективного потока $I(r, t)$ представлен в приложении к этой работе.

Как было указано выше, капиллярная сеть в модели описывается двумя переменными объемной плотности площади поверхности нормальных и ангиогенных капилляров EC и FC . Их динамика подчиняется следующим уравнениям:

$$\begin{aligned} \frac{\partial EC}{\partial t} &= -l(a + b + m)EC - \nabla(\text{elast} \cdot I \cdot EC), \\ \frac{\partial FC}{\partial t} &= R \frac{V}{V + V^*} (EC + FC) \left(1 - \frac{EC + FC}{EFC_{\max}} \right) - l(a + b + m)FC - \nabla(\text{elast} \cdot I \cdot FC). \end{aligned} \quad (2)$$

Здесь R — максимальная скорость ангиогенеза, которая достигается при малой плотности микроциркуляторной сети и больших концентрациях VEGF. Капиллярная сеть может уплотняться до физиологически обоснованного значения EFC_{\max} , l — параметр деградации капилляров под воздействием факторов опухолевого микроокружения. Микроциркуляторная сеть, как и клетки, сдвигается из-за конвекции в ткани, но ее скорость сдвига меньше, чем у клеток, вследствие связанности сети, что описывается параметром elast .

Изменение концентрации глюкозы определяется уравнением

$$\begin{aligned} \frac{\partial S}{\partial t} &= D_S \Delta S + (P_{S,EC} EC + P_{S,FC} FC)(S_{\text{blood}} - S) - \\ &\quad - (q_{a1} a_1 + q_{b1} b_1 + q_2(a_2 + b_2) + q_h h) \frac{S}{S + S^*}, \quad \text{где } q_{b1} = \frac{q_{a1}}{r}. \end{aligned} \quad (3)$$

Здесь D_S — коэффициент диффузии глюкозы в ткани; приток глюкозы из капилляров обоих типов характеризуется параметрами $P_{S,EC}$ и $P_{S,FC}$, S_{blood} — уровень глюкозы в крови, считающийся постоянным; скорости потребления глюкозы различными клетками обозначены буквой q с соответствующими индексами. Так как глюкоза является основным пластическим субстратом, то скорости ее потребления пролиферирующими клетками двух колоний пропорциональны скоростям их деления.

Уравнения, описывающие концентрации VEGF и бевацизумаба, имеют следующий вид:

$$\begin{aligned} \frac{\partial V}{\partial t} &= D_V \Delta V + p_V(a_2 + b_2) - \omega_V V(EC + FC) - d_V V - (k_A A_n) AV, \\ \frac{\partial A}{\partial t} &= D_A \Delta A + (P_{A,EC} EC + P_{A,FC} FC)(A_{\text{blood}} - A) - (k_A V_n) AV, \\ \frac{\partial A_{\text{blood}}}{\partial t} &= F_{A,iv} - d_A A_{\text{blood}}. \end{aligned} \quad (4)$$

Здесь D_V и D_A — коэффициенты диффузии веществ в ткани, p_V — скорость производства VEGF мигрирующими клеткам опухоли, которые находятся в состоянии метаболического стресса, ω_V —

скорость утилизации VEGF эндотелиальными клетками, d_V — скорость его неспецифического распада. Связывание бевацизумаба с VEGF характеризуется константой k_A . Приток бевацизумаба из капилляров обоих типов характеризуется параметрами $P_{A,EC}$ и $P_{A,FC}$. A_{blood} — уровень препарата в крови, его схема введения описывается функцией $F_{A,iv}$. d_A — скорость выведения бевацизумаба из крови.

Результаты

Система уравнений (1)–(4) решалась в одномерной области размером $L = 4$ см. Мы рассматриваем сферически-симметричную опухоль, у которой при росте в центре формируется некротическое ядро, что соответствует клиническим наблюдениям для совершенно разных типов опухолей. Решения задачи в сферически-симметричном и линейном случае существенно отличаются только в области малых радиусов, при этом в данной задаче ввиду наличия некроза разница в решениях и в этой области становится абсолютно несущественной. Для сокращения вычислительных затрат мы рассчитываем модель в одномерном линейном случае, что не искажает результат. Все параметры модели были обезразмерены, в качестве нормировочных были выбраны следующие значения: время — $t_n = 1$ ч, длина — $L_n = 10^{-2}$ см, концентрация глюкозы — $S_n = 1$ мг/мл, концентрация VEGF — $V_n = 10^{-11}$ моль/мл, концентрация бевацизумаба — $A_n = 10^{-9}$ моль/мл. Максимальная допустимая плотность клеток — $n_{max} = 10^9$ клеток/мл. За нормальную плотность поверхности капилляров взято значение $EC_n = 50$ см $^{-1}$. Для всех переменных на левой границе, где находится центр опухоли, было задано граничное условие нулевого потока, чтобы избежать искусственных притоков/оттоков компонент модели в расчетную область. На правой границе для переменных плотностей клеток, некроза и капиллярной сети были заданы фиксированные значения, соответствующие нормальной ткани, для остальных — условие нулевого потока. Микроциркуляторная сеть изначально состоит только из нормальных капилляров организма: $EC(x, 0) = 1$. Начальное распределение глюкозы $S(x, 0)$ зависит от параметров системы и рассчитывается как стационарная концентрация глюкозы в нормальной ткани без опухоли, $a_1(x, 0) = b_1(x, 0) = \max(0, 0.25(100 - x^2))$, что задает гетерогенную популяцию делящихся клеток опухоли шириной 1 мм возле левой границы. Остальные переменные в начальный момент равны нулю.

При численном решении уравнения для VEGF, кислорода и глюкозы решались методом прогонки в квазистационарном приближении ввиду большой скорости их реакций. Для остальных переменных был использован метод расщепления по физическим процессам. Кинетические уравнения решались методом Рунге–Кутты четвертого порядка, для уравнения диффузии была использована схема Кранка–Николсон. Эти стандартные методы описаны, например, в [Петров, 2006]. Конвективные уравнения решались методом коррекции потоков Борнса–Бука [Boris, 1973] с применением явной антидиффузионной схемы.

В качестве базового был выбран следующий набор параметров:

$$\begin{array}{ll}
 B_a = 0.005, & D_a = 0.0036, \\
 k_{1a} = 0.8, & k_2 = 19.8 \text{ [Pyaskovskaya, 2008]}, \\
 k_{3a} = 0.04, & \epsilon_{trans} = 10 \text{ [Pyaskovskaya, 2008]}, \\
 S_{trans} = 0.3 \text{ [Pyaskovskaya, 2008]}, & d_n = 0.07, \\
 H = 0.001, & v_{dr} = 0.001, \\
 f = 0.5, & l = 0.07, \\
 elast = 0.5, & R = 0.0075, \\
 V^* = 0.1, & EFC_{max} = 3,
 \end{array}$$

$$\begin{aligned}
 D_S &= 180 \text{ [Ghosn, 2006]}, & P_{S,EC} &= 2 \text{ [Kolobov, 2015]}, \\
 P_{S,FC} &= 4.8 \text{ [Kolobov, 2015]}, & S_{blood} &= 1, \\
 q_{a1} &= 160, & q_2 &= 2, \\
 q_h &= 2, & S^* &= 0.02 \text{ [Pyaskovskaya, 2008]}, \\
 D_V &= 21.6 \text{ [Milde, 2008]}, & p_V &= 200 \text{ [Kelm, 2005; Kim, 1993]}, \\
 \omega_V &= 0.23, & d_V &= 0.46 \text{ [Kleinheinz, 2010]}, \\
 k_A &= 1.9 \cdot 10^{12} \text{ [Papadopoulos, 2012]}, & D_A &= 7.2 \text{ [Genentech, 2015]}, \\
 P_{A,EC} &= 0.002 \text{ [Kolobov, 2015]}, & P_{A,FC} &= 1.23 \text{ [Kolobov, 2015]}, \\
 d_A &= 0.0014 \text{ [Genentech, 2015]}.
 \end{aligned}$$

Все параметры, характеризующие популяцию a , входят в стандартный набор и соответствуют малоинвазивной опухоли эпителиального фенотипа. Подвижность клеток D_b популяции b и отношение скоростей деления пролиферирующих клеток $r = B_a/B_b$ варьировались, при этом $D_b > D_a$, $B_b < B_a$, таким образом, моделировалась популяция клеток мезенхимального фенотипа. С каждым набором параметров было проведено два расчета: в одном монотерапия бевацизумабом отсутствовала, а во втором начиналась при радиусе опухоли 1.5 см. Радиус опухоли детектировался как максимальная координата, в которой суммарная доля живых опухолевых клеток в ткани $a + b$ превышает 1%. Расчеты продолжались до достижения опухолью радиуса 3 см.

В отличие от классической химиотерапии, при которой циклы лечения могут быть разделены большими, зачастую многолетними, перерывами, антиангиогенные препараты обычно вводятся в течение очень длительного периода. В данной работе инъекции препарата моделировались увеличением его концентрации в крови A_{blood} на единицу раз в три недели расчетного времени, что и описывается функцией $F_{A,iv}$.

На рис. 2, a продемонстрировано распределение основных переменных модели при $D_b = 0.11$, $r = 4$ за день до начала проведения терапии бевацизумабом. Внутри опухоли капилляры практически отсутствуют, а с внешней ее стороны микроциркуляторная сеть сильно уплотнена за счет капилляров, образовавшихся в процессе ангиогенеза. Как следствие этого, а также того, что проницаемость ангиогенных капилляров выше, чем у нормальных, в этом месте существенно увеличен приток глюкозы в ткань, что подтверждается пиком профиля ее концентрации. Живые клетки опухоли сконцентрированы на ее границе с нормальной тканью. Стоит отметить, что в этих расчетах доля некроза переоценена: для многих развитых опухолей характерные значения объемной доли некроза не превышают 50%, при этом доля некроза может значительно увеличиться при терапевтическом вмешательстве [Im, 2012]. Это связано с тем, что в модели не учитываются другие метаболиты, кроме глюкозы, а также ауто- и гетерофагия. Более точным приближением является учет в модели кислорода, который значительно глубже, чем глюкоза, проникает внутрь опухоли и является более критичным для выживания опухолевой клетки. Однако, так как его включение в модель, как и учет других аспектов опухолевого метаболизма, не влияет на конечный качественный результат, мы умышленно пренебрегаем им для облегчения вычислений. Около 95% живых клеток принадлежат популяции a , то есть имеют эпителиальный фенотип, что определяет конвективный тип роста опухоли, то есть рост за счет расталкивания окружающей ткани без видимой инвазии в нее. При этом скорость такого роста напрямую зависит от количества пролиферирующих клеток, которые в данном случае составляют большую часть живых клеток опухоли. Как показано на врезке в рисунок, клетки популяции b , имеющие мезенхимальный фенотип, обеспечивают микроинвазию опухоли в окружающую ткань, однако скорость диффузионного прорастания недостаточно высока, чтобы часть клеток популяции b смогла отдалиться на значительное расстояние от общей массы опухоли. Более того, скорость

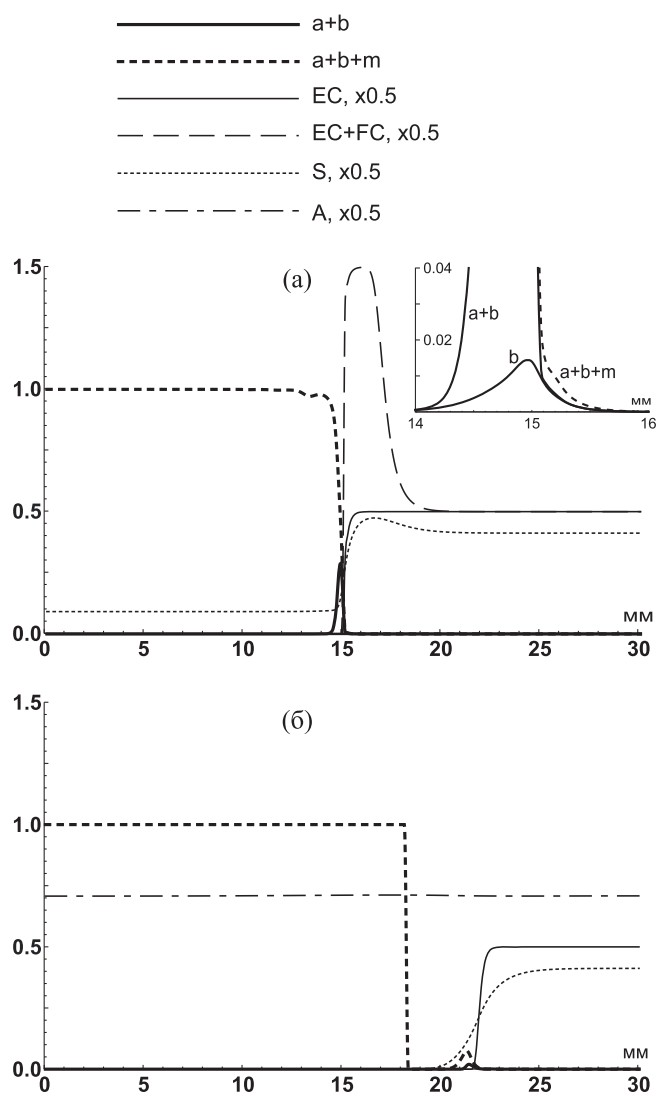


Рис. 2. Профили плотностей опухолевых клеток обеих популяций $a + b$, опухоли вместе с некрозом $a + b + m$, поверхности нормальной капиллярной сети EC , суммарной капиллярной сети $EC + FC$, концентраций глюкозы S и антиангиогенного препарата бевацизумаба A при подвижности клеток мезенхимального фенотипа $D_b = 0.11$ и отношении скоростей деления клеток двух популяций $r = 4$: а) за день до начала антиангиогенной терапии, на врезке отмечено распределение популяции мезенхимального фенотипа b ; б) при проведении антиангиогенной терапии бевацизумабом

инвазии частично сдерживается благодаря оттоку некроза, который происходит в основном в перитуморальной области — на границе нормальной ткани с опухолью, так как скорость оттока пропорциональна доле нормальной ткани, а некроз активно образуется в местах скопления опухолевых клеток — за счет как их гибели, так и гибели нормальных клеток в результате контакта с ними. В отсутствие антиангиогенной терапии режим роста опухоли и распределение переменных на ее границе с нормальной тканью качественно не изменяются, при этом изменение профиля плотности микроциркуляторной сети обуславливается ее перестройкой в результате ангиогенеза и контактного разрушения капилляров опухолью. С началом проведения терапии бевацизумабом капилляры все так же уничтожаются растущей опухолью, но их замещения не происходит из-за блокирования процесса ангиогенеза. Как следствие, приток глюкозы к опухоли ослабевает, что приводит к активному выходу клеток популяции a из пролиферирующего состо-

яния. В результате этого падает конвективная скорость роста опухоли (настолько, что опухоль начинает поджиматься) и уменьшается общее количество клеток популяции a , при этом число клеток популяции b , наоборот, немного увеличивается. Благодаря изменению своей структуры гетерогенная популяция опухолевых клеток отделяется от поджимающейся некротической зоны, и конвективный рост опухоли сменяется на более медленное диффузионное прорастание, что изображено на рис. 2, б. В процессе прорастания доля субпопуляции a резко снижается, так что под конец расчета число ее клеток оказывается меньше числа клеток субпопуляции b на несколько порядков.

При большей подвижности клеток мезенхимального фенотипа D_b и большей скорости их деления, то есть меньшем r , к концу расчета его доминирование в опухолевой структуре наблюдается и в отсутствие антиангиогенной терапии. Наоборот, при меньшей подвижности и меньшей скорости деления клеток мезенхимального фенотипа к концу расчета и в отсутствие терапии, и при ее проведении доминирует эпителиальный фенотип. Это отображено на рис. 3, на котором области доминирования эпителиального и мезенхимального фенотипов в плоскости варьируемых параметров отмечены буквами А и В и окрашены соответственно белым и темно-серым цветом. Светло-серым цветом окрашена переходная область, в которой, как и в рассмотренном выше случае, антиангиогенная монотерапия бевацизумабом приводит к смене доминирующего к концу расчета фенотипа с эпителиального на мезенхимальный. График получен как аппроксимация 78 пар расчетов (с терапией и без), большинство из которых были проведены в переходной области и вблизи нее. Стоит отметить, что доминирование мезенхимального фенотипа само по себе еще не означает диффузионное прорастание опухоли: при достаточном притоке глюкозы опухоль, состоящая в основном из субпопуляции b , растет конвективно, что и наблюдается в значительной области параметров в отсутствие терапии, так как скорость ангиогенеза R выбрана весьма большой. Инвазия опухоли в окружающую ткань проявляется только при падении притока глюкозы ниже определенного уровня, определяемого конкретными

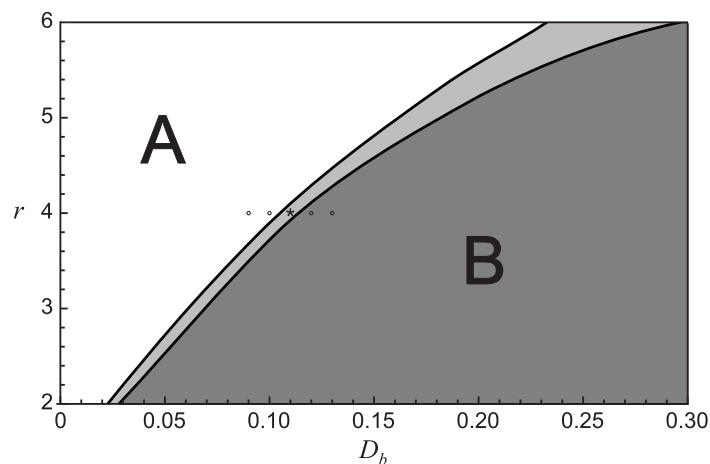


Рис. 3. Результат эволюции модельной гетерогенной опухоли в зависимости от параметров подвижности клеток мезенхимального фенотипа D_b и отношения скоростей деления клеток двух популяций r в двух случаях: в отсутствие антиангиогенной монотерапии бевацизумабом и при ее проведении, начиная с радиуса опухоли 1.5 см. При радиусе опухоли 3 см большинство клеток опухоли в белой области в обоих случаях принадлежат популяции a и имеют эпителиальный фенотип, в темно-серой области в обоих случаях принадлежат популяции b и имеют мезенхимальный фенотип, в светло-серой области в отсутствие терапии имеют эпителиальный фенотип, при проведении терапии — мезенхимальный. Для отмеченных наборов параметров динамика клеточного состава опухоли представлена на рис. 4. Для набора параметров, отмеченного звездочкой, распределения переменных до терапии и при ее проведении изображены на рис. 2

ми значениями параметров, а в результате антиангиогенной терапии этот уровень опускается до минимального.

На рис. 4 показана динамика изменения доли числа клеток эпителиального фенотипа в опухоли в зависимости от радиуса опухоли для значений параметров, отмеченных на рис. 3, в отсутствие терапии и при ее проведении. Графики на рис. 3, *a–d* демонстрируют, как изменяется эволюция структуры опухоли при повышении подвижности мезенхимального фенотипа. График на рис. 3, *e* соответствует подробно рассмотренному выше случаю. На нем отражено частичное поджатие опухоли при проведении терапии, происходящее при изменении типа роста опухоли: до достижения локального минимума радиус опухоли определяется по границе основной опухолевой массы, состоящей в основном из некроза, после этого — по границе инвазивной структуры.

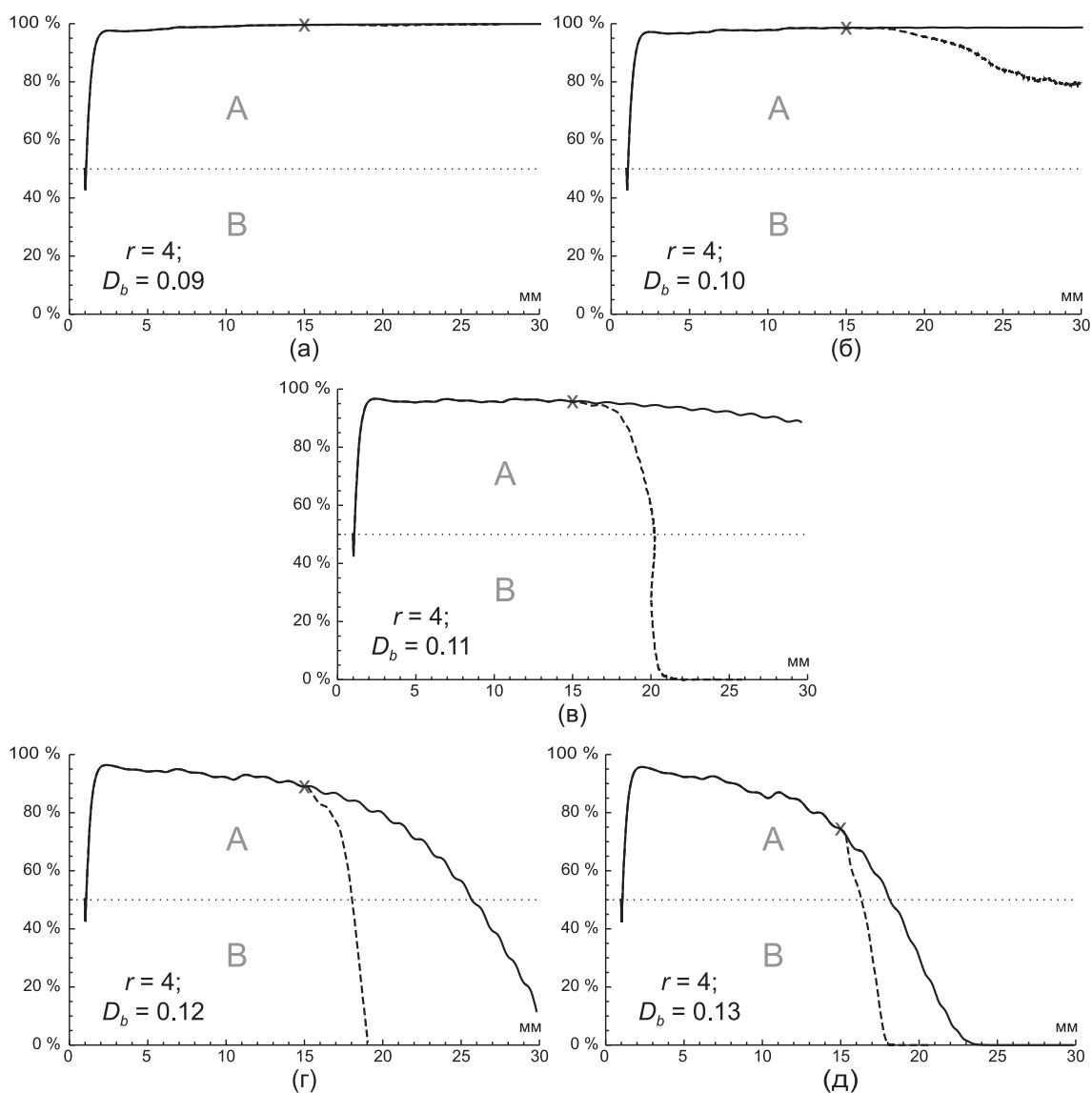


Рис. 4. Динамика доли числа клеток модельной опухоли, принадлежащих популяции *a* и имеющих эпителиальный фенотип, в зависимости от радиуса опухоли для различных наборов параметров. Сплошная линия — терапия не проводится, пунктирная линия — проводится антиангиогенная монотерапия бевацизумабом. Точки начала терапии отмечены крестиками. Буквами А и В обозначены зоны доминирования популяции эпителиального и мезенхимального фенотипа соответственно. Для случая *e* на рис. 2 изображены распределения переменных за день до начала терапии и при ее проведении

Заключение

В представленной работе исследовано влияние антиангиогенной терапии бевацизумабом на результат конкурентной борьбы клеточных популяций эпителиального и мезенхимального фенотипов в гетерогенной биклональной опухоли. Было показано, что при антиангиогенной терапии увеличивается область параметров, при которых в процессе роста модельной опухоли происходит доминирование мезенхимального фенотипа, который ассоциируется с более злокачественным инвазивным типом опухоли. Конечно, при росте реальной опухоли изменение параметров ее клеток за счет биологической изменчивости происходит не скачком, а плавно. Тем не менее рассмотренный в данной работе модельный случай указывает на то, что антиангиогенная терапия является фактором, который способствует доминированию более подвижных популяций, а значит, повышению инвазивности опухоли. Полученный результат подтверждается клиническими данными по использованию бевацизумаба при противоопухолевой терапии. При этом следует отметить, что в модели не рассматриваются антагонистические взаимодействия между клетками разных фенотипов, а единственный механизм отбора — это конкуренция за питательное вещество, что, как правило, в экспериментальной практике считается ключевым механизмом [Ebos, 2011].

Представленная модель содержит большое число параметров, при этом в работе варьируются только два из них — отношение скоростей деления клеток субпопуляций и подвижность клеток мезенхимального фенотипа. Мы планируем провести варьирование и других параметров модели с целью выяснения ключевых факторов, влияющих на результат конкурентной борьбы в такой биклональной опухоли. Тем не менее, по нашему мнению, полученный результат является достаточно общим, и характер влияния антиангиогенной терапии на опухолевую прогрессию не изменится.

Еще один важный момент, который мы планируем исследовать в ближайшее время, — прогрессия гетерогенной по клеточному составу опухоли в случае комбинированной терапии, состоящей из цитотоксической химиотерапии или лучевой терапии и антиангиогенной терапии. При такой постановке задачи возникают два важных вопроса: останется ли тренд на прогрессию опухоли к инвазивному фенотипу неизменным и как изменится область параметров эпителиально-мезенхимального перехода, вызванного такой терапией? Однако при моделировании комбинированной терапии чрезвычайно важно аккуратно учесть в модели динамику интерстициальной жидкости в некротической и перитуморальной областях, которая существенно влияет на скорость и характер роста опухоли.

Приложение

Эволюция солидных опухолей, клетки которых плотно упакованы в пространстве, не может быть описана стандартными уравнениями типа «реакция–диффузия». Такие модели учитывают локальную кинетику и собственную подвижность клеток, но не принимают во внимание эффект тесноты, ограничивающий суммарную плотность клеток сверху. Локальная кинетика опухолевых клеток влияет на их пространственное распределение (например, делящиеся клетки расталкивают окружающие ткани, обеспечивая увеличение размера опухоли). Следовательно, стандартный реакционно-диффузионный подход требует значительной модификации [Гусев, 1997].

Рассмотрим систему уравнений для субпопуляций клеток n_i , которые могут делиться, погибать, переходить друг в друга, а также обладают собственной подвижностью, при этом суммарная плотность клеток постоянна и равна N . Для простоты будем считать объемы всех клеток

равными. Эволюция системы описывается следующими уравнениями:

$$\frac{\partial n_i}{\partial t} = f_i(\mathbf{n}, \cdot) + D_i \Delta n_i - \nabla(n_i \mathbf{V}). \quad (\text{A1})$$

Здесь $f_i(\mathbf{n}, \cdot)$ — функции, описывающие локальную кинетику клеточных популяций, зависящие от плотностей самих клеток и от внешних условий; D_i — собственная подвижность клеток i -й популяции, \mathbf{V} — скорость конвективного движения, градиент которой можно выразить, сложив левые и правые части уравнений:

$$\nabla \mathbf{V} = \frac{1}{N} \sum_i [f_i(\mathbf{n}, \cdot) + D_i \Delta n_i], \quad (\text{A2})$$

при этом члены клеточных переходов взаимно сокращаются. В одномерном линейном случае при условии нулевой скорости на левой границе легко получить уравнение для поля скоростей конвективного движения:

$$\mathbf{V}(x) = \frac{1}{N} \left[\int_0^x \sum_i f_i(\mathbf{n}, \cdot, r) dr + \sum_i D_i \nabla n_i \right]. \quad (\text{A3})$$

Список литературы (References)

- Гусев А. В., Полежаев А. А.* Моделирование эволюции клеточной популяции при наличии максимально допустимой суммарной плотности клеток // Краткие сообщения по физике ФИАН. — 1997. — Т. 11–12. — С. 85.
- Gusev A. V., Polezhaev A. A.* Modelirovanie ehvolyucii kletочноj populyacii pri nalichii maksimal'no dopustimoj summarnoj plotnosti kletok [Modeling of cell population evolution in presence of maximum permissible total cell density] // Teoreticheskaya i matematicheskaya fizika. — 1997. — Vol. 11–12. — P. 85 (in Russian).
- Петров И. Б., Лобанов А. А.* Лекции по вычислительной математике. — Интернет-ун-т информ. технологий, 2006.
- Petrov I. B., Lobanov A. A.* Lekcii po vychislitel'noj matematike [Lectures on Computational Mathematics]. — Internet-un-t inform. tekhnologij, 2006 (in Russian).
- Ait-Oudhia S., Mager D. E., Pokuri V.* Bridging Sunitinib Exposure to Time-to-Tumor Progression in Hepatocellular Carcinoma Patients With Mathematical Modeling of an Angiogenic Biomarker // CPT: Pharmacometrics & Systems Pharmacology. — 2016. — Vol. 5. — P. 297–304.
- Anderson A. R. A., Chaplain M. A. J.* Continuous and discrete mathematical models of tumor-induced angiogenesis // Bulletin of mathematical biology. — 1998. — Vol. 60, no. 5. — P. 857–899.
- Boris J. P., Book D. L.* Flux-corrected transport. I. SHASTA, a fluid transport algorithm that works // Journal of computational physics. — 1973. — Vol. 11, no. 1. — P. 38–69.
- Corr B. R., Breed C., Sheeder J. et al.* Bevacizumab induced hypertension in gynecologic cancer: Does it resolve after completion of therapy? // Gynecologic Oncology Reports. — 2016. — Vol. 17. — P. 65–68.
- de Groot J. F., Fuller G., Kumar A. J. et al.* Tumor invasion after treatment of glioblastoma with bevacizumab: radiographic and pathologic correlation in humans and mice // Neuro-oncology. — 2010. — Vol. 12, no. 3. — P. 233–242.
- Ebos J. M. L., Kerbel R. S.* Antiangiogenic therapy: impact on invasion, disease progression, and metastasis // Nature reviews Clinical oncology. — 2011. — Vol. 8, no. 4. — P. 210–221.
- Ferrara N., Gerber H.-P., LeCouter J.* The biology of VEGF and its receptors // Nature medicine. — 2003. — Vol. 9, no. 6. — P. 669–676.

- Folkman J.* Tumor angiogenesis: therapeutic implications // *New england journal of medicine.* — 1971. — Vol. 285, no. 21. — P. 1182–1186.
- Galanopoulos M., Ladias S., Tzannetakou X. et al.* A rectovaginal fistula after treatment with bevacizumab. A dangerous side effect needing emergency treatment // *Clinical case reports.* — 2016. — Vol. 4, no. 4. — P. 449–450.
- Genentech Inc.* Avastin full Prescribing Information // <http://www.gene.com/download/pdf/avastinprescribing.pdf> (2015-09-30).
- Ghosn M. G., Tuchin V. V., Larin K. V.* Depth-resolved monitoring of glucose diffusion in tissues by using optical coherence tomography // *Optics letters.* — 2006. — Vol. 31, no. 15. — P. 2314–2316.
- Giese A., Bjerkvig R., Berens M. E., Westphal M.* Cost of migration: invasion of malignant gliomas and implications for treatment // *Journal of clinical oncology.* — 2003. — Vol. 21, no. 8. — P. 1624–1636.
- Hawkins-Daarud A., Rockne R. C., Anderson A. R. A. et al.* Modeling tumor-associated edema in gliomas during anti-angiogenic therapy and its impact on imageable tumor // *Frontiers in oncology.* — 2013. — Vol. 3. — P. 66.
- Im, H. J., Kim T. S., Park S.-Y. et al.* Prediction of tumour necrosis fractions using metabolic and volumetric 18F-FDG PET/CT indices, after one course and at the completion of neoadjuvant chemotherapy, in children and young adults with osteosarcoma // *European journal of nuclear medicine and molecular imaging.* — 2012. — Vol. 39, no. 1. — P. 39–49.
- Kelm J. M., Sanchez-Bustamante C. D., Ehler E. et al.* VEGF profiling and angiogenesis in human microtissues // *Journal of biotechnology.* — 2005. — Vol. 118, no. 2. — P. 213–229.
- Kerbel R. S., Guerin E., Francia G. et al.* Preclinical recapitulation of antiangiogenic drug clinical efficacies using models of early or late stage breast cancer metastasis // *The Breast.* — 2013. — Vol. 22. — P. S57–S65.
- Keunen O., Johansson M., Oudin A. et al.* Anti-VEGF treatment reduces blood supply and increases tumor cell invasion in glioblastoma // *Proceedings of the National Academy of Sciences.* — 2011. — Vol. 108, no. 9. — P. 3749–3754.
- Kim K. J., Li B., Winer J. et al.* Inhibition of vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis suppresses tumour growth in vivo // *Letters to Nature.* — 1993. — Vol. 362. — P. 841–844.
- Kleinheinz J., Jung S., Wermker K. et al.* Release kinetics of VEGF165 from a collagen matrix and structural matrix changes in a circulation model // *Head & face medicine.* — 2010. — Vol. 6, no. 1. — P. 17.
- Kolobov A. V., Polezhaev A. A., Solyanik G. I.* The role of cell motility in metastatic cell dominance phenomenon: analysis by a mathematical model // *Computational and Mathematical Methods in Medicine.* — 2000. — Vol. 3, no. 1. — P. 63–77.
- Kolobov A. V., Kuznetsov M. B.* The study of angiogenesis effect on the growth rate of an invasive tumor using a mathematical model // *Russian Journal of Numerical Analysis and Mathematical Modelling.* — 2013. — Vol. 28, no. 5. — P. 471–484.
- Kolobov A. V., Gubernov V. V., Kuznetsov M. B.* The study of antitumor efficacy of bevacizumab antiangiogenic therapy using a mathematical model // *Russian Journal of Numerical Analysis and Mathematical Modelling.* — 2015. — Vol. 30, no. 5. — P. 289–297.
- Lemon G., Howard D., Tomlinson M. J. et al.* Mathematical modelling of tissue-engineered angiogenesis // *Mathematical biosciences.* — 2009. — Vol. 221, no. 2. — P. 101–120.
- Levick J. R.* An introduction to cardiovascular physiology. — Butterworth-Heinemann, 2013.

- Lignet F., Benzekry S., Wilson S. et al.* Theoretical investigation of the efficacy of antiangiogenic drugs combined to chemotherapy in xenografted mice // *Journal of theoretical biology.* — 2013. — Vol. 320. — P. 86–99.
- Mantzaris N. V., Webb S., Othmer H. G.* Mathematical modeling of tumor-induced angiogenesis // *Journal of mathematical biology.* — 2004. — Vol. 49, no. 2. — P. 111–187.
- Milde F., Bergdorf M., Koumoutsakos P.* A hybrid model for three-dimensional simulations of sprouting angiogenesis // *Biophysical journal.* — 2008. — Vol. 95, no. 7. — P. 3146–3160.
- Mountzios G., KePentheroudakisly G., Carmeliet P.* Bevacizumab and micrometastases: revisiting the preclinical and clinical rollercoaster // *Pharmacology & therapeutics.* — 2014. — Vol. 141, no. 2. — P. 117–124.
- Narayana A., Kelly P., Golfinos J. et al.* Antiangiogenic therapy using bevacizumab in recurrent high-grade glioma: impact on local control and patient survival: clinical article // *Journal of neurosurgery.* — 2009. — Vol. 110, no. 1. — P. 173–180.
- Pàez-Ribes M., Allen E., Hudock J. et al.* Antiangiogenic therapy elicits malignant progression of tumors to increased local invasion and distant metastasis // *Cancer cell.* — 2009. — Vol. 15, no. 3. — P. 220–231.
- Papadopoulos N., Martin J., Ruan Q. et al.* Binding and neutralization of vascular endothelial growth factor (VEGF) and related ligands by VEGF Trap, ranibizumab and bevacizumab // *Angiogenesis.* — 2012. — Vol. 15, no. 2. — P. 171–185.
- Piao Y., Liang J., Holmes L. et al.* Acquired resistance to anti-VEGF therapy in glioblastoma is associated with a mesenchymal transition // *Clinical Cancer Research.* — 2013. — Vol. 19, no. 16. — P. 4392–4403.
- Pyaskovskaya O. N., Kolesnik D. L., Kolobov A. V. et al.* Analysis of growth kinetics and proliferative heterogeneity of lewis lung carcinoma cells growing as unfed culture // *Exp. Oncol.* — 2008. — Vol. 30, no. 4. — P. 269–275.
- Rejniak K. A.* *Systems Biology of Tumor Microenvironment.* — Springer, 2016.
- Saut O., Lagaert J.-B., Colin T., Fathallah-Shaykh H. M.* A multilayer grow-or-go model for GBM: effects of invasive cells and anti-angiogenesis on growth // *Bulletin of mathematical biology.* — 2014. — Vol. 76, no. 9. — P. 2306–2333.
- Vander H., Matthew G., Cantley L. C., Thompson C. B.* Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation // *Science.* — 2009. — Vol. 324, no. 5930. — P. 1029–1033.