

УДК: 517.958:57

## Математическое моделирование роста карциномы при динамическом изменении фенотипа клеток

И. В. Красняков<sup>1,a</sup>, Д. А. Брацун<sup>1,b</sup>, Л. М. Письмен<sup>2,c</sup>

<sup>1</sup> Пермский национальный исследовательский политехнический университет,  
Россия, 614990, г. Пермь, ул. Комсомольский проспект, д. 29

<sup>2</sup> Израильский технологический институт,  
Израиль, 3200003, г. Хайфа, Технион

E-mail: <sup>a</sup> krasnyakov\_ivan@mail.ru, <sup>b</sup> DABracun@pstu.ru, <sup>c</sup> pismen@technion.ac.il

*Получено 24.07.2017, после доработки — 13.08.2018.  
Принято к публикации 20.08.2018.*

В работе предлагается двумерная хемомеханическая модель роста инвазивной карциномы в ткани эпителия. Каждая клетка ткани представляет собой эластичный многоугольник, изменяющий свою форму и размеры под действием сил давления со стороны ткани. Средние размер и форма клеток были откалиброваны на основе экспериментальных данных. Модель позволяет описывать динамические деформации в ткани эпителия как коллективную эволюцию клеток, взаимодействующих посредством обмена механическими и химическими сигналами. Общее направление роста опухоли задается линейным градиентом концентрации питательного элемента. Рост и деформация ткани осуществляются за счет механизмов деления и интеркаляции клеток. В модели предполагается, что карцинома представляет собой гетерогенное образование, составленное из клеток с разным фенотипом, которые выполняют в опухоли различные функции. Основным параметром, определяющим фенотип клетки, является степень ее адгезии к примыкающей ткани. Выделено три основных фенотипа раковых клеток: эпителиальный (Э) фенотип представлен внутренними клетками опухоли, мезенхимальный (М) фенотип представлен одиночными клетками, промежуточный фенотип представлен фронтальными клетками опухоли. При этом в модели предполагается, что фенотип каждой клетки при определенных условиях может динамически меняться за счет эпителиально-мезенхимального (ЭМ) и обратного к нему (МЭ) переходов. Для здоровых клеток выделен основной Э-фенотип, который представлен обычными клетками с сильной адгезией друг к другу. Предполагается, что здоровые клетки, которые примыкают к опухоли, под воздействием последней испытывают вынужденный ЭМ-переход и образуют М-фенотип здоровых клеток. Численное моделирование показало, что в зависимости от значений управляющих параметров, а также комбинации возможных фенотипов здоровых и раковых клеток эволюция опухоли может приводить к разнообразным структурам, отражающим самоорганизацию клеток опухоли. Проводится сравнение структур, полученных в численном эксперименте, с морфологическими структурами, ранее выявленными в клинических исследованиях карциномы молочной железы: трабекулярной, солидной, тубулярной и альвеолярной структурами, а также дискретными клетками с амебоидным поведением. Обсуждается возможный сценарий морфогенеза и типа инвазивного поведения для каждой структуры. Описан процесс метастазирования, при котором одиночная раковая клетка амебоидного фенотипа, перемещающаяся за счет интеркаляций в ткани здорового эпителия, делится и испытывает МЭ-переход с появлением вторичной опухоли.

Ключевые слова: математическое моделирование, рост карциномы, самоорганизация, опухолевые структуры, эпителиально-мезенхимальный переход, амебоидная миграция

UDC: 517.958:57

## Mathematical modeling of carcinoma growth with a dynamic change in the phenotype of cells

I. V. Krasnyakov<sup>1,a</sup>, D. A. Bratsun<sup>1,b</sup>, L. M. Pismen<sup>2,c</sup>

<sup>1</sup> Perm National Research Polytechnic University,  
29 Komsomolsky prospect, Perm, 614990, Russia

<sup>2</sup> Department of Chemical Engineering, Technion – Israel Institute of Technology,  
Technion City, Haifa, 3200003, Israel

E-mail: <sup>a</sup> krasnyakov\_ivan@mail.ru, <sup>b</sup> DABracun@pstu.ru, <sup>c</sup> pismen@technion.ac.il

*Received 24.07.2017, after completion — 13.08.2018.*

*Accepted for publication 20.08.2018.*

In this paper, we proposed a two-dimensional chemo-mechanical model of the growth of invasive carcinoma in epithelial tissue. Each cell is modeled by an elastic polygon, changing its shape and size under the influence of pressure forces acting from the tissue. The average size and shape of the cells have been calibrated on the basis of experimental data. The model allows to describe the dynamic deformations in epithelial tissue as a collective evolution of cells interacting through the exchange of mechanical and chemical signals. The general direction of tumor growth is controlled by a pre-established linear gradient of nutrient concentration. Growth and deformation of the tissue occurs due to the mechanisms of cell division and intercalation. We assume that carcinoma has a heterogeneous structure made up of cells of different phenotypes that perform various functions in the tumor. The main parameter that determines the phenotype of a cell is the degree of its adhesion to the adjacent cells. Three main phenotypes of cancer cells are distinguished: the epithelial (E) phenotype is represented by internal tumor cells, the mesenchymal (M) phenotype is represented by single cells and the intermediate phenotype is represented by the frontal tumor cells. We assume also that the phenotype of each cell under certain conditions can change dynamically due to epithelial-mesenchymal (EM) and inverse (ME) transitions. As for normal cells, we define the main E-phenotype, which is represented by ordinary cells with strong adhesion to each other. In addition, the normal cells that are adjacent to the tumor undergo a forced EM-transition and form an M-phenotype of healthy cells. Numerical simulations have shown that, depending on the values of the control parameters as well as a combination of possible phenotypes of healthy and cancer cells, the evolution of the tumor can result in a variety of cancer structures reflecting the self-organization of tumor cells of different phenotypes. We compare the structures obtained numerically with the morphological structures revealed in clinical studies of breast carcinoma: trabecular, solid, tubular, alveolar and discrete tumor structures with ameboid migration. The possible scenario of morphogenesis for each structure is discussed. We describe also the metastatic process during which a single cancer cell of ameboid phenotype moves due to intercalation in healthy epithelial tissue, then divides and undergoes a ME transition with the appearance of a secondary tumor.

**Keywords:** mathematical modeling, carcinoma growth, self-organization, cancer structures, epithelial-mesenchymal transition, ameboid migration

*Citation:* Computer Research and Modeling, 2018, vol. 10, no. 6, pp. 879–902 (Russian).

## 1. Введение

Несмотря на то что в масс-медиа все время появляются сообщения о новых чудодейственных средствах и близкой победе над онкологическими заболеваниями, реальная статистика заболеваемости в мире не оставляет места для оптимизма. По последним данным Всемирной организации здравоохранения, в ближайшие 20 лет показатели ежегодной смертности и заболеваемости от рака увеличатся в два раза: число новых случаев заболевания вырастет с 10 млн до 20 млн, а летальность — с 6 млн до 12 млн. Таким образом, рак является серьезным и опасным заболеванием, рост которого связан с изменением образа жизни, ухудшением экологии планеты, а также с увеличением влияния социальных и техногенных неблагоприятных факторов. Борьба с этим заболеванием требует все больше материальных и интеллектуальных ресурсов. Вот почему моделирование процессов возникновения и роста злокачественных опухолей, несомненно, является одним из магистральных направлений математического моделирования в биологии. На данный момент существует обширная литература по этому вопросу, систематизация которой время от времени появляется в обзорах и монографиях. Подробный общий обзор современных подходов к моделированию дан авторами в работах [Брацун и др., 2014; Bratsun et al., 2016a]. Здесь остановимся лишь на некоторых моментах, важных для тематики данной работы.

Одной из главных проблем математического моделирования развития рака (как, впрочем, и вообще биологических систем) является тот факт, что разворачивающиеся при этом процессы являются разномасштабными [Weber, 2007]. С одной стороны, они включают процессы генной регуляции, протекающие в ядрах клеток. Именно с этого уровня может прийти сигнал, который заставляет перерождаться здоровую клетку, в результате чего она может перейти к неупорядоченному делению. С другой стороны, процессы межклеточного взаимодействия также являются важными для понимания момента зарождения опухоли. Если иммунная система организма действует правильно, раковые клетки могут распознаваться и уничтожаться. Если происходит сбой, то повышается риск возникновения опухолевых образований. Все эти процессы регулируются в том числе через обмен межклеточными сигналами. Здесь важны механизмы исключения раковых клеток из процесса обмена, а также формирования первичной структуры опухоли. Наконец, сама по себе злокачественная опухоль является макроскопическим объектом, который включает в себя огромное количество клеток. На этом уровне опухоль может рассматриваться как сплошная среда, развивающаяся по своим законам. Роль отдельных клеток на этом уровне не столь велика, зато важную роль играет их коллективное поведение. Хотя триада «ядро клетки – клетка – ансамбль клеток» выглядит минимально оправданным набором [Захаров, Брацун, 2013], можно встретить работы, которые еще более детализируют характерные масштабы: например, в работе [Lesne et al., 2015] на субклеточном уровне предложено выделить еще как минимум три характерных пространственных масштаба самоорганизации последовательности ДНК. Здесь надо помнить, что природа любого биологического объекта едина и любое дискретное разбиение по характерным масштабам условно и имеет отношение скорее к построению математической модели этого объекта.

Таким образом, можно заключить, что любое не феноменологическое моделирование живой ткани организма подразумевает разработку динамической модели взаимодействия большого числа клеток. Эта модель должна, кроме прочего, учитывать физические свойства отдельных клеток в ансамбле клеток: иметь определенный объем и поверхность, быть эластичной по отношению к внешнему механическому воздействию, иметь способность к перемещению (интеркаляции), делению и т. д. Все эти процессы должны управляться посредством обмена между клетками механическими и различными химическими сигналами. Следовательно, модель должна быть комбинацией дискретной системы клеток с индивидуальной динамикой и сплошной среды химических полей, общих для всего ансамбля. Разработка таких моделей является нетривиальной задачей. Развитие этого направления за последние годы, а также эволюция в развитии компьютерной техники в настоящий момент подвели исследователей к возможности

реалистичного моделирования процесса функционирования живой ткани. Этому направлению посвящены специальные обзорные монографии [Cristini, Lowengrub, 2010; Deisboeck, Stamatikos, 2011], а также отдельные работы зарубежных и российских авторов [Alarcon et al., 2003; Fasano et al., 2006; Kim et al., 2007; Калиничева и др., 2008; Кучумов, 2010; Deisboeck et al., 2011; Брацун и др., 2014; Bratsun et al., 2016a; Bratsun et al., 2017], которые проводят исследования процессов на различных масштабных уровнях.

Одна из первых попыток многоуровневого моделирования реализована в работе [Alarcon et al., 2003]. Данная модель представляет собой гибридный подход, который включает расчет клеточных автоматов, состояние которых определяется непрерывным распределением кислорода вокруг кровяного сосуда вблизи возникновения опухоли. В работе [Fasano et al., 2006] одноуровневые подходы к описанию инвазии и ангиогенеза были объединены с рассмотрением клеточных и субклеточных процессов. Одной из первых действительно масштабных моделей многоуровневых процессов в опухоли была модель, предложенная в [Kim et al., 2007]. В работе была рассмотрена сферически изотропно растущая опухоль, которая включает в себя латтис-модель дискретных клеток. В модели для каждой клетки производился расчет системы обыкновенных дифференциальных уравнений, описывающих процессы генной регуляции на субклеточном уровне. Клетки могли механически воздействовать между собой в рамках решеточного газа. Из-за большого числа клеток модель страдала от структурной неустойчивости. В работах [Калиничева и др., 2008; Кучумов, 2010] было выделено только два уровня: микро- и макроскопический. Такой выбор обусловлен тем, что авторы выбросили из рассмотрения межклеточное взаимодействие.

Несмотря на указанный мейнстрим, сложившийся в моделировании за последние годы, продолжают появляться работы, выполненные в рамках одного структурного уровня. Это имеет определенный смысл, если исследуется какой-то конкретный эффект, проявляющий себя на определенном уровне организации живой материи. К таким моделям относятся модели сплошной среды со всеми плюсами и минусами, которые им присущи. Например, в работе [Колобов, Полежаев, 2009] была предложена модель реакции–диффузии–конвекции роста и инвазии опухоли, которая учитывает случайную подвижность клеток и конвективные потоки внутри плотной ткани. Был показан возможный рост опухоли в направлении источников питательных веществ в отсутствие хемотаксиса. Недавняя работа [Кузнецов, Колобов, 2017] продолжает развивать этот подход. В работе [Sciumè et al., 2013] опухоль была представлена многофазной средой, эволюция которой изучалась численно методом конечных элементов. Дискретное моделирование, которое включает рассмотрение динамики отдельных клеток, эволюционирующих в условиях градиента химических полей, также остается популярным подходом. Например, в [Monteagudo, Santos, 2012] был исследован рост опухоли в здоровой ткани при различных скоростях мутаций здоровых клеток в раковые. Можно отметить также недавнюю работу [Ruben et al., 2017], где также были использованы клеточные автоматы.

В данной работе используется разработанная авторами ранее многоуровневая модель возникновения и роста опухоли в ткани эпителия. С одной стороны, двумерный характер среды позволяет упростить рассмотрение задачи, а с другой — такие ткани являются весьма распространенными в организме. Кроме того, карцинома (рак эпителия) относится к одному из самых агрессивных типов. Основные принципы построения модели были заложены в работах [Viktorinova et al., 2011; Salm, Pismen, 2012] по заживлению ран в здоровой эпителиальной ткани. В работах [Брацун и др., 2014; Bratsun et al., 2016] рассмотрено развитие изотропной опухоли карциномы, которая появляется в результате локального сбоя в синхронизации циркадианных ритмов в клетках, описаны инвазивная и неинвазивная формы опухоли. В недавней работе [Bratsun et al., 2017] модель расширена на случай гетерогенной опухоли. В целом модель соответствует перечисленным выше критериям: она включает клеточный уровень (обмен химическими сигналами, механизмы пролиферации и интеркаляции, изменение формы и периметра), субклеточный уровень (процессы транскрипции–трансляции), а также уровень ансамбля клеток (коллективное поведение). Количество клеток, участвующих в эволюции, ограничено лишь оперативной памятью компьютера. Модель является структурно устойчивой.



## 2. Опухоль как гетерогенное образование и ЭМ-переход

Исследования последних лет говорят о том, что опухоль не является однородным скоплением перерожденных деградировавших клеток, которое расширяется за счет быстрой пролиферации и оказываемого давления на сопредельные ткани. Скорее опухоль представляет собой своеобразный орган (или даже организм), который живет по собственным законам. Программой в этом смысле является обзорная статья [Tabassum, Polyak, 2015], в которой подчеркивается гетерогенный характер опухоли. Внутри опухоли происходит дифференциация клеток по группам, которые выполняют определенные специфические функции. Более того, даже клетки одного типа могут образовывать структуры (пространственные конфигурации), которые помогают опухоли коллективно защищаться от различного рода терапий, а также повышают потенциал к метастазированию. Таким образом, при разработке лекарственных препаратов необходимо учитывать, что рак представляет собой сложную самоорганизующуюся систему, которая может адаптироваться к изменению внешних условий и менять свою линию поведения.

В эту новую парадигму хорошо вписывается серия работ сотрудников Томского института онкологии [Denisov et al., 2014; Крахмаль и др., 2015; Denisov et al., 2017], которые посвящены изучению инвазивной карциномы молочной железы. Как известно, каждая млечная железа представляет собой ветвящиеся трубочки, заканчивающиеся слепым уширением в форме пузырька, который называется альвеолой. Этот пузырек заполнен секретом, а стенки его выложены однослойным эпителием. Клетки этого эпителия могут перерождаться в раковое состояние. В указанных выше работах были выделены пять основных типов морфологических структур, в которые могут объединяться клетки карциномы: *альвеолярные, трабекулярные, тубулярные, солидные* структуры и *дискретные* группы клеток (рис. 1). Согласно классификации, данной в работе [Крахмаль и др., 2015], структуры существенно отличаются по своим функциям в опухоли и демонстрируют разный уровень резистентности по отношению к лечению.

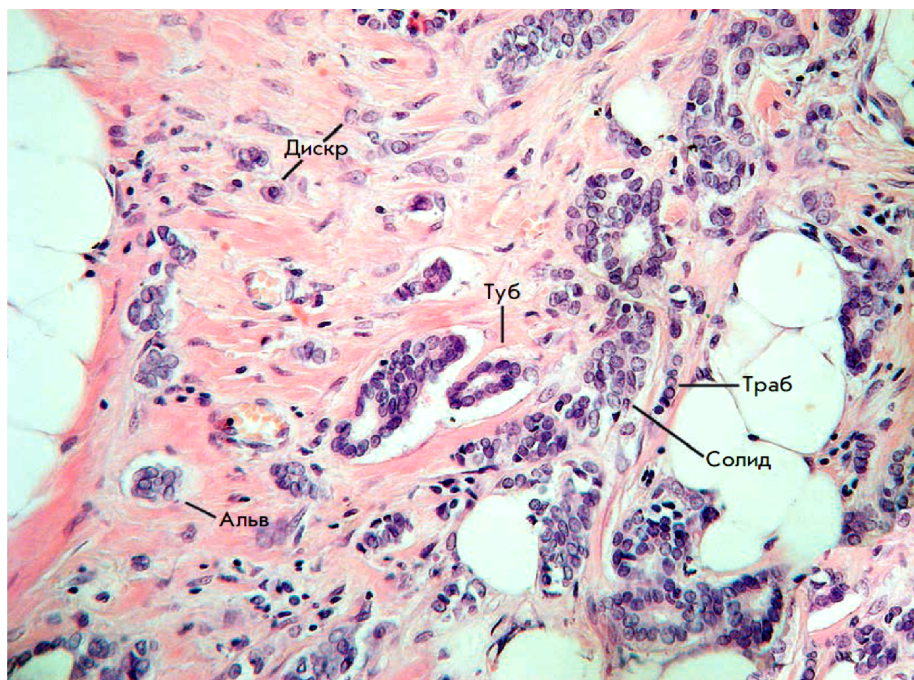


Рис. 1. Гистологический срез, демонстрирующий внутриопухолевую морфологическую гетерогенность инвазивного рака молочной железы по данным работы [Крахмаль и др., 2015]. Выделено пять основных типов морфологических структур, которые отмечены на срезе: альвеолярные (Альв), трабекулярные (Траб), тубулярные (Туб), солидные (Солид) структуры и дискретные (Дискр) группы опухолевых клеток. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение в 200 раз. Цветная версия рисунка доступна в электронной версии статьи на сайте журнала

Альвеолярные структуры представляют собой скопления опухолевых клеток округлой либо немного неправильной формы. Как правило, морфология клеток альвеол весьма разнообразна и варьирует от мелких клеток с округлыми ядрами до крупных с гиперхромными ядрами неправильной формы. Фактически альвеолярная структура представляет собой рост опухоли внутрь пузырька альвеолы вплоть до полного заполнения сосуда тканью опухоли (см. рис. 1). Другим образованием являются трабекулы. Это, как правило, линейные объединения, образованные одним или двумя рядами мелких или средних одинаковых клеток с округлыми гиперхромными ядрами, растущие от эпителия альвеолярного пузырька (рис. 1). Тубулярные структуры представляют собой закольцованные образования с шириной кольца в один или два ряда достаточно мономорфных клеток с нормохромными округлыми ядрами. Зрелая структура этого типа представлена замкнутым кольцом клеток, хотя промежуточный вариант может выглядеть как разомкнутое кольцо (рис. 1). Солидные структуры представляют собой компактные образования различного размера и формы, состоящие либо из мелких клеток с мономорфными ядрами, либо из крупных клеток с полиморфными ядрами. Дискретные группы клеток встречаются в виде скоплений из одной-двух, реже трех-четырех клеток, которые весьма отличаются по своей морфологии (рис. 1). В [Denisov et al., 2017] авторы предполагают, что все перечисленные структуры являются промежуточными фазами одного процесса. Предполагается, что указанные морфологические структуры соответствуют определенным вариантам инвазии опухоли молочной железы. Подчеркивается, что важную роль в переключении карциномы на различные типы инвазии играет эпителиально-мезенхимальный переход.

Сам по себе ЭМ-переход является стандартным процессом, который происходит каждый раз, когда клеточной ткани требуется какое-то интенсивное движение. Например, переход наблюдается при заживлении ран или морфогенезе органов [Viktorinova et al., 2011; Salm, Pismen, 2012]. В этом случае клетки эпителиальной ткани должны сменить фенотип с эпителиального на мезенхимальный, т. е. фенотип еще не дифференцировавшей клетки, не встроенной в определенную ткань. Такой переход позволяет эпителию приобрести необходимую подвижность и гибкость в решении поставленной перед ним организмом задачи (заживление раны). После окончания процесса клетки совершают обратный МЭ-переход, и ткань восстанавливает свое равновесное состояние.

В данный момент точно неизвестно, каким образом процесс ЭМ-перехода в здоровой ткани способствует возникновению новообразований. Зато известно, что переход, как правило, сопровождает развитие опухоли, так как позволяет ей быстро расти [Brakebusch, Fässler, 2005; Lamouille et al., 2014]. В процессе ЭМ-перехода у злокачественных клеток, которые располагаются на инвазивном фронте опухоли, происходит разрушение десмосомы (десмосомы обеспечивают прочное соединение клеток). В результате клетки становятся способными к перемещению, что приводит к последующему метастазированию.

В работе [Крахмаль и др., 2015] отмечается, что альвеолярные, трабекулярные и солидные структуры, которые характеризуются наличием межклеточных контактов, можно отнести к морфологическим проявлениям коллективной миграции клеток опухоли. Дискретные группы клеток представляют собой пример индивидуальной миграции. Это предположение подтверждается данными генетического анализа [Denisov et al., 2015], который показал значительное уменьшение активности генов кадгеринов, ответственных за межклеточные связи, и генов интегринов, участвующих в адгезии опухолевых клеток к внеклеточному матриксу, для опухолевых структур в следующем порядке: солидные (максимальная экспрессия генов кадгеринов и интегринов) – альвеолярные – трабекулярные структуры – дискретные группы клеток (минимальная экспрессия генов кадгеринов и интегринов). Фактически уровень кадгерина или интегрина может служить индикатором этапа ЭМ-перехода и дальнейшего перехода дискретных клеток к амебоидному поведению. Последний тип поведения принято отделять от мезенхимального, что приводит к необходимости введения понятия мезенхимально-амебоидного (МА) перехода [van Zijl et al., 2011]. В соответствии с этапом ЭМ-перехода можно говорить о различных фенотипах эпителиальных клеток, участвующих в эволюции. Далее будем выделять клетки Э-фенотипа, которые характеризуются плотной связью друг с другом и с внеклеточным мат-

риксом. Противоположную группу образуют клетки М-фенотипа. Они не связаны с матриксом и другими клетками, у них есть другое расположение цитоскелета и распределение органелл внутри них. Это позволяет М-клеткам легко перемещаться внутри эпителиальной ткани. Так как между двумя указанными полюсами индекс ЭМ-перехода может принимать промежуточные значения, то уместно ввести в рассмотрение клетки смешанного ЭМ-фенотипа. Кроме того, уместно выделить М-клетки с амебоидным поведением в отдельный класс А-клеток. Разница между А- и М-клетками заключается в способе перемещения по среде: если М-клетки двигаются скорее пассивно за счет интеркаляций, то А-клетки активно продвигаются за счет дополнительных движений цитоскелета, схожих с поведением бактерий.

Данная работа посвящена построению математической модели гетерогенной инвазивной карциномы, которая состоит из клеток разного фенотипа. Предполагается, что фенотип любой клетки при определенных условиях может динамически изменяться под воздействием ЭМ-, МА-переходов и обратных к ним. Целью работы является исследование возможных морфологических структур, которые возникают в ходе коллективной инвазии клеток опухоли, и сравнение этих структур с данными клинических исследований.

### 3. Базовая модель эпителия

Эпителиальная ткань — это слой клеток, выстилающий поверхность и полости тела, а также слизистые оболочки внутренних органов, пищеварительного тракта, дыхательной системы, мочеполовые пути. Кроме того, большинство желёз организма также покрыты эпителием. Всем видам эпителиальных тканей присущ следующий ряд общих признаков: клетки эпителия располагаются на базальной мембране, соединены друг с другом десмосомой и образуют сплошной пласт; питание клеток осуществляется через базальную мембрану; эпителиальная ткань имеет высокую регенераторную способность.

Используемая в работе модель эпителия является квазидвумерной в том смысле, что может быть легко обобщена на случай, когда базальный матрикс не плоский, а имеет сложную деформированную топологию [Zakharov, Pismen, 2015], как это и происходит во внутренних органах, которые покрыты эпителиальной тканью. Плоский однослойный эпителий является наиболее подходящим прототипом развиваемой в данной работе модели эпителия.

Опишем кратко основные особенности модели [Viktorinova et al., 2011; Salm, Pismen, 2012; Bratsun et al., 2016a]. Она включает расчет динамики отдельных клеток, представленных в виде многоугольников с разным числом вершин. Система настроена таким образом, что наиболее вероятной формой клетки является гексагональная форма ячейки, но появление других видов многоугольников не исключено. Клетки плотно примыкают друг к другу, образуя сплошную поверхность без просветов (рис. 2). Перечислим набор свойств, которыми обладает модель:

- динамическое изменение размера и формы клетки в процессе эволюции ткани под действием изменений локальных механических свойств среды;
- рост общего числа ансамбля клеток в системе посредством их деления в определенных условиях эволюции, которые обсуждаются ниже;
- перемещения клеток в общей массе эпителия посредством механизма интеркаляции;
- обмен химическими сигналами, осуществляемый между соседними клетками эпителия через общую границу (рис. 2).

В предыдущих работах [Брацун и др., 2014; Bratsun et al., 2016a; Bratsun et al., 2016b] эпителиальная среда, в которой развивается опухоль, предполагалась изотропной. В данной работе будем предполагать, что в системе задан градиент некоторого питательного вещества, необходимого для жизнедеятельности опухоли (например, кислорода). Тогда обмен веществом между клетками осуществляется за счет межклеточной диффузии, задаваемой следующим уравнением:

$$\frac{dC}{dt} = \sum_{adj} J - \beta_C C, \quad (1)$$

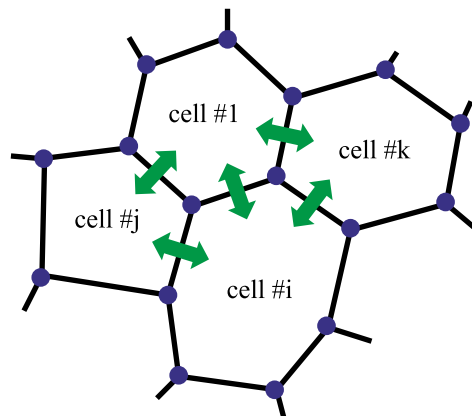


Рис. 2. Схематическое изображение модели эпителиальной ткани, клетки которой обмениваются химическими сигналами. Цветная версия рисунка доступна в электронной версии статьи на сайте журнала

где  $C$  — концентрация вещества,  $\beta_c$  — коэффициент деградации вещества, который можно также интерпретировать как скорость потребления питательного вещества клетками эпителия. Поле концентраций  $C$  не является непрерывным, так как каждая клетка является пикселем поля. Таким образом, суммирование в (1) ведется по соседям к рассматриваемой клетке. Учитывая дискретность поля концентрации, суммарный диффузионный поток вещества для каждой клетки складывается из потоков вещества из соседних клеток и может быть записан как

$$J_{ij} = \alpha L_{ij} (C_i - C_j). \quad (2)$$

Здесь  $J_{ij}$  — поток вещества  $C$  из клетки  $i$  в клетку  $j$ ,  $\alpha$  — коэффициент диффузии,  $L_{ij}$  — длина общей границы между  $i$ - и  $j$ -клетками (рис. 2).

Опишем механику самих клеток. Эластичная потенциальная энергия всей эпителиальной ткани может быть записана следующим образом:

$$E = \frac{1}{2} \sum_{cells} (\mu L^2 + \eta (A - A_0)^2), \quad (3)$$

где  $L$  — периметр,  $A$  — площадь клетки, а суммирование ведется по всем клеткам рассматриваемой системы. Первое слагаемое в выражении (3) описывает действие сил, стремящихся сократить периметр каждой клетки до минимального, а второе представляет собой сопротивление клетки действию сил растяжения и сжатия со стороны среды и стремление клетки сохранить свою среднюю площадь  $A_0$ . Коэффициенты эластичности среды  $\mu$  и  $\eta$  являются важными параметрами задачи, определяющими свойства деформации среды.

Эпителиальная ткань в модели эволюционирует посредством перемещения узлов клеточно-многоугольников. Вектор механической силы, действующей на  $j$ -й узел, определяется как градиент потенциальной энергии (3):

$$\mathbf{F}_j^{mech} = - \frac{\partial E}{\partial \mathbf{R}_j}, \quad (4)$$

где  $\mathbf{R}_j$  — радиус-вектор  $j$ -го узла. Тогда уравнение для смещения узлов клетки имеет следующий вид:

$$\mathbf{V}_i = \frac{d\mathbf{R}_i}{dt} = K \mathbf{F}_i^{mech} H(|\mathbf{F}_i^{mech}| - F_0), \quad (5)$$

где  $H$  — функция Хэвисайда,  $K$  — коэффициент мобильности,  $F_0$  — параметр, определяющий критическую силу, ниже которой узел остается неподвижным. Последний параметр придает среде важное свойство: любое локальное движение в среде начинается, если внешняя сила превысила некоторый порог. Для таких систем с сильной внутренней диссипацией характерно ис-

пользование механики Аристотеля [Salm, Pismen, 2012], что и реализовано в выражении (5). Здесь силы напрямую определяют скорость движения объекта. Примером такого поведения в механике жидкости является закон Дарси для течений жидкости в пористой среде.

Для здоровых клеток эпителия в модели предполагается, что вероятность  $p$  деления клетки зависит от количества ее узлов:

$$p = p_0 q^{n-6}, \quad (6)$$

где  $p_0$  и  $q$  — параметры задачи. В случае  $q > 1$  деление клеток с большим числом узлов предпочтительно, хотя наиболее выгодной формой клетки остается многоугольник в виде гексагональной ячейки. Сам процесс деления происходит так, как это показано справа на рис. 3: в многоугольнике строится отрезок, соединяющий середины противоположных сторон. Новая клетка заносится в реестр и начинает свою индивидуальную эволюцию в ткани эпителия. При этом она наследует от материнской клетки мгновенные значения химических и механических полей в момент деления.

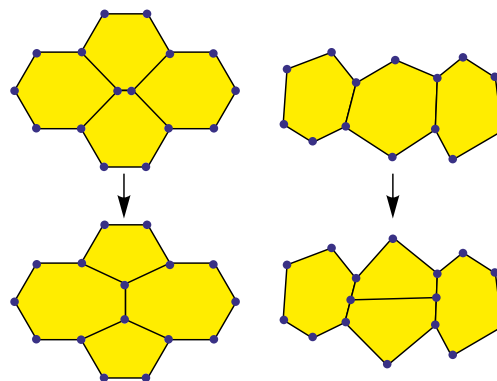


Рис. 3. Процессы интеркаляции (слева) и деления (справа) клеток

Следующее важное свойство реального эпителия — это процесс интеркаляции. В неподвижной эпителиальной ткани, клетки которой связаны между собой с помощью десмосом, это явление происходит не часто. Процесс интеркаляции необходим для ослабления давления, оказываемого на клетку в ткани, а также для всей ткани в случае ее существенной структурной перестройки [Honda, Nagai, Tanemura, 2008]. Для здоровых клеток устанавливается правило интеркаляции, которая происходит, если перемычка между клетками становится меньше критического значения  $l_0$  (рис. 3). Модель отрегулирована так, что интеркаляции нормальных клеток происходят редко. Для опухолевых клеток механизм интеркаляции является основным для их инвазивного перемещения в эпителиальной ткани. Это означает задание особого механизма интеркаляции, который обсуждается ниже.

В целом механизмы пролиферации и интеркаляции (рис. 3) позволяют клеткам модели, задаваемым многоугольниками, динамически менять форму и размер за счет изменения количества вершин многоугольника и их взаимного перемещения под действием внешних сил. Таким образом, каждая клетка в модели испытывает ряд хемомеханических воздействий, под влиянием которых она эволюционирует со всей системой. Разработанную модель можно классифицировать как сложную дискретную систему, которая включает индивидуальную динамику отдельных элементов, а также групповые эффекты коллективного поведения.

#### 4. Социум клеток опухоли

Для задания клеток опухоли мы вводим дискретную функцию состояния  $Z$ , которая принимает только два значения:  $Z = 0$  в случае здоровой клетки и  $Z = 1$  в случае раковой клетки. Это позволяет маркировать клетки и задавать в модели два набора значений управляющих па-

раметров, которые определяют совокупность хемомеханических свойств здоровой и опухолевой ткани. Подобный подход позволяет производить расчет напряжений в общей ткани эпителия, но при этом иметь отдельный доступ к каждому сообществу клеток.

Важным элементом предлагаемой модели является представление карциномы как гетерогенного сообщества разных клеток. Принципиальным инструментом идентификации фенотипа каждой клетки в опухоли является этап ЭМ-перехода, на котором находится данная клетка. В клинических условиях фенотип клетки может быть определен с помощью измерения уровня экспрессии генов кадгерина или интегрина [Brakebusch, Fässler, 2005; Lamouille et al., 2014], которые позволяют вычислить индекс ЭМ-перехода. В реальной клетке переход определяется совокупностью процессов транскрипции/трансляции, протекающих под действием внешних факторов. Клетка сначала перерождается, меняя свой фенотип, а затем начинает соответствующе вести себя в ткани эпителия. В нашей модели этот процесс определяется положением клетки в опухоли и зависит от ее окружения.

Обозначим индекс ЭМ-перехода для  $i$ -й клетки как  $S_i$  и отнормируем его значение таким образом, чтобы значение  $S = 0$  отвечало эпителиальному фенотипу, а значение  $S = 1$  — мезенхимальному фенотипу. При этом промежуточные значения соответствуют смешанному ЭМ-фенотипу. Будем считать, что фенотип определяется так, как это показано на рис. 4. Формально математически вычисление индекса можно определить через функцию состояния клетки:

$$S_i = \frac{1}{N_0} \left( N_0 - \sum_{j \in \text{adj}(i)} Z_j \right), \quad (7)$$

где  $N_0$  — общее число клеток вокруг раковой клетки (это значение совпадает с количеством сторон у данного многоугольника). Суммирование в (7) ведется по соседним клеткам. Выражение в скобках в (7) определяет число здоровых клеток среди соседей  $i$ -й раковой клетки. Таким образом, значение переменной  $S$  определяет фенотип раковой клетки. Переменная  $S$  принимает дискретные значения, так как количество соседей у любой клетки хоть и меняется в ходе эволюции, но всегда остается конечным.

Хотя в общем случае многостороннего многоугольника с большим числом соседних клеток переменная  $S$  может принимать много значений, условно можно выделить три основных фенотипа. Клетки Э-фенотипа, у которых значение индекса (7) близко к нулю, составляют, очевидно, основу внутреннего пространства карциномы. Они находятся далеко от границы опухоли, их доступ к питательным веществам затруднен, поэтому способность к пролиферации снижена. Очевидно, что Э-клетки должны быть крепко связаны друг с другом, а процесс интеркаляции для них должен быть достаточно редким событием. Пролиферация таких клеток также затруднена, так как у клеток нет достаточного ресурса для деления.

При значении индекса ЭМ-перехода близком к 0.5, когда примерно половина соседей опухолевой клетки являются здоровыми, мы имеем дело с промежуточным ЭМ-фенотипом (рис. 4). Такие клетки будем называть фронтальными. Такие клетки уже не являются чисто эпителиальными, но мигрировать могут только в составе группы. Они выполняют в опухоли важную функцию, формируя подвижный край для коллективной инвазии и определяя ее морфологические типы. Такие клетки должны иметь повышенную способность к интеркаляции и максимально возможную способность к пролиферации. Именно благодаря фронту, который получает достаточно питания из среды, растет опухоль.

Наконец, клетки со значением индекса близким к единице относятся к М-фенотипу (рис. 4). По определению, это одиночные раковые клетки, которые находятся в толще здоровой ткани. Такие клетки формируют индивидуальный тип инвазии карциномы. В самой развитой форме такая инвазия проявляется в амебоидном типе продвижения клетки в эпителии. М-клетка обладает максимальной способностью к интеркаляции, но практически не способна к пролиферации. Для того чтобы метастазирование произошло, клетка М-фенотипа должна уйти как можно дальше от материнской опухоли и произвести обратный МЭ-переход для начала пролиферации. В литературе отмечается повышенная резистентность М-клеток по отношению к лекарственным препаратам.



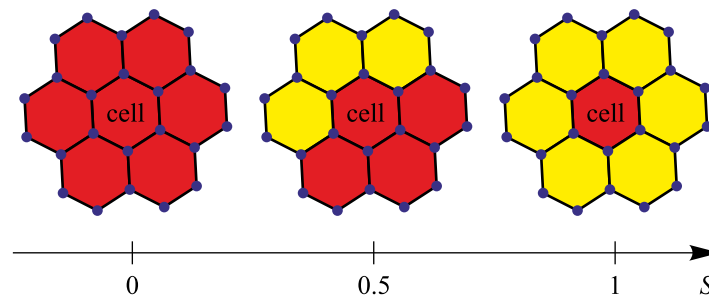


Рис. 4. Диаграмма классификации раковых клеток в процессе ЭМ-перехода. Фенотип клетки непрерывно меняется слева направо в зависимости от значения индекса  $S$  ЭМ-перехода. Эпителиальный фенотип реализуется, когда все соседние клетки, примыкающие к рассматриваемой клетке, являются раковыми ( $S = 0$ ). Мезенхимальный фенотип реализуется при  $S = 1$ : все ближайшие соседи — здоровые клетки. Раковые и нормальные клетки отмечены красным и жёлтым цветом соответственно. Цветная версия рисунка доступна в электронной версии статьи на сайте журнала

Указанные типы поведения задавались в модели с помощью феноменологических выражений, сконструированных с помощью функций Хилла. Распределение вероятностей для пролиферации каждой клетки определяется ее фенотипом и доступом к пище:

$$P_{\text{div}}^i = P_0 + P_1 \text{H} \left( \frac{C_i}{C_0} - 1 \right) \frac{(1 - S_i)^m}{(1 + (1 - S_i)^m)} \frac{S_i^n}{(1 + S_i^n)}. \quad (8)$$

Здесь  $P_0$  — это базовая вероятность деления, задаваемая для клеток любых типов,  $P_1$  — калибровочный коэффициент,  $C_0$  — пороговое значение питательного вещества.

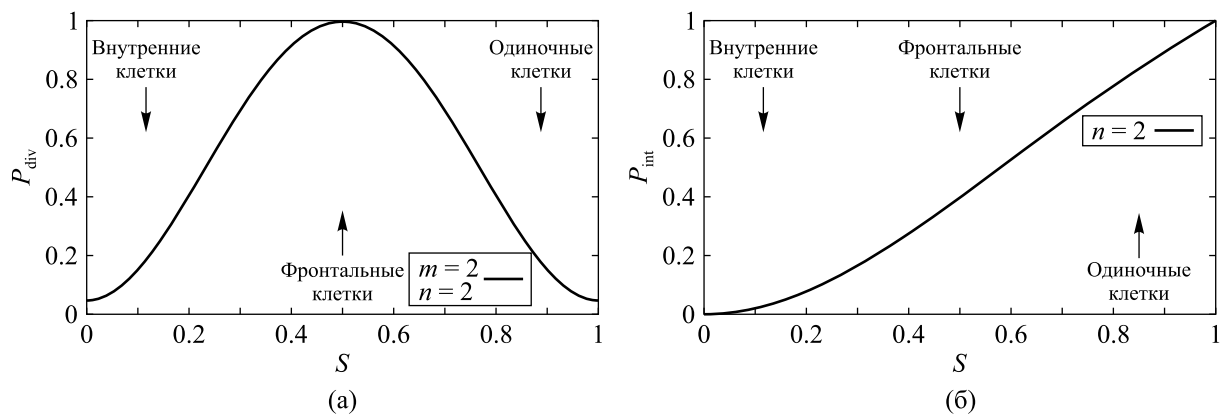


Рис. 5. Распределения вероятности для опухолевых клеток: (а) деление; (б) интеркаляция

Выражение для определения подвижности раковых клеток от их положения в социуме также представлено в форме распределения вероятностей:

$$P_{\text{int}}^i = \text{H} \left( \frac{C_i}{C_0} - 1 \right) P_2 \frac{S_i^n}{(1 + S_i^n)}, \quad (9)$$

где  $P_2$  — калибровочный коэффициент.

В некоторых численных экспериментах, о которых пойдет речь ниже, для здоровых клеток также вводились различные фенотипы. Дело в том, что опухоль для успешной инвазии подавляет экспрессию генов, кодирующих синтез кадгеринов и интегринов [Denisov et al., 2017]. Таким образом, в узком пограничном слое сцепление здоровых клеток друг с другом резко сни-



жается. По факту карцинома инициирует в пограничном приопухолевом слое здоровых клеток ЭМ-переход и «разжижает» его для облегчения последующей инвазии. Чтобы задать такое поведение, можно поступить по-разному: например, прописать явным образом молекулярный механизм, блокирующий синтез кадгеринов и интегринов, резкое изменение которых приведет к качественной смене хемомеханики клеточной ткани. В данной работе, однако, мы поступили по-другому: в пограничном слое толщиной в две-три клетки стимулировался принудительный переход здоровых клеток от Э-фенотипа к М-фенотипу. На практике это означает, что для здоровых М-клеток задавалось высокое значение для параметра интеркаляции  $l_0$ , что приводило к перманентной локальной интеркаляции здоровых клеток в пограничном к опухоли слое.

#### 4. Результаты численного моделирования

Система обыкновенных дифференциальных уравнений (1)–(9), описывающая динамику гетерогенной карциномы с дифференцировавшимися клетками во внешнем поле питательного вещества, решалась численно с помощью явного метода Эйлера. Шаг по времени выбирался малым настолько, чтобы гарантировать устойчивость схемы расчета. В большинстве расчетов вполне достаточным был шаг  $\Delta t = 0.005$ . Расчет динамики молекулярного поля (1) был синхронизирован с расчетом механического движения клеток ткани эпителия. Начальной пространственной конфигурацией для клеточной ткани всегда было однородное поле из 1560 здоровых клеток гексагональной формы вокруг пазуха альвеолярного канала грудной железы. В большинстве расчетов предполагалось, что альвеола заполнена жидкостью, обеспечивающей среднее давление в ткани на клетки эпителия со стороны канала. В случае пустой альвеолы карцинома могла расти внутрь альвеолярного канала, постепенно заполняя его. Параметры модели, используемые практически во всех численных расчетах динамики здоровых клеток, представлены в таблице 1.

Таблица 1. Параметры хемомеханической модели для расчета динамики здоровых клеток

Механические свойства клеток

$\mu$	$\eta$	$K$	$F_0$	$A_0$
1.0	4.5	2.1	0.1	$3\sqrt{3}/2$

Поток питательных веществ

$\beta_C$	$\alpha$
0.038	0.005

Деление и интеркаляция

$p_0$	$q$	$l_0$	$P_0$
0.0002	1.4	0.1	0.001

Во всех численных экспериментах поток питательного вещества направлен от левого края расчетной области к правой, т. е. градиент  $C$  направлен справа налево. Предполагалось, что раковые клетки потребляют питательные вещества со скоростью  $5\beta_C$  (значение  $\beta_C$  указано в таблице 1). Площадь сечения альвеолярного канала задавалась равной  $8A_0$ . Для уплотнения ткани эпителия вокруг альвеолы первому ряду клеток задавалось пониженное значение параметра интеркаляции  $l_0 = 0.025$ , что сводило к минимуму неупорядоченные случайные смещения клеток. Данное значение параметра  $l_0$  выбрано с целью уменьшения подвижности клеток, что соответствует эпителиальным клеткам. В то же время полное отключение механизма интеркаляции с точки зрения эластичности ткани нежелательно, так как это препятствовало бы развитию эволюции ткани в ответ на изменение баланса внутренних напряжений за счет роста опухоли.

В ходе численных экспериментов было обнаружено, что при разных наборах значений параметров хемомеханической модели могут воспроизводиться различные типы инвазии карциномы, некоторые из которых можно заметить в наблюдениях *in vivo*.

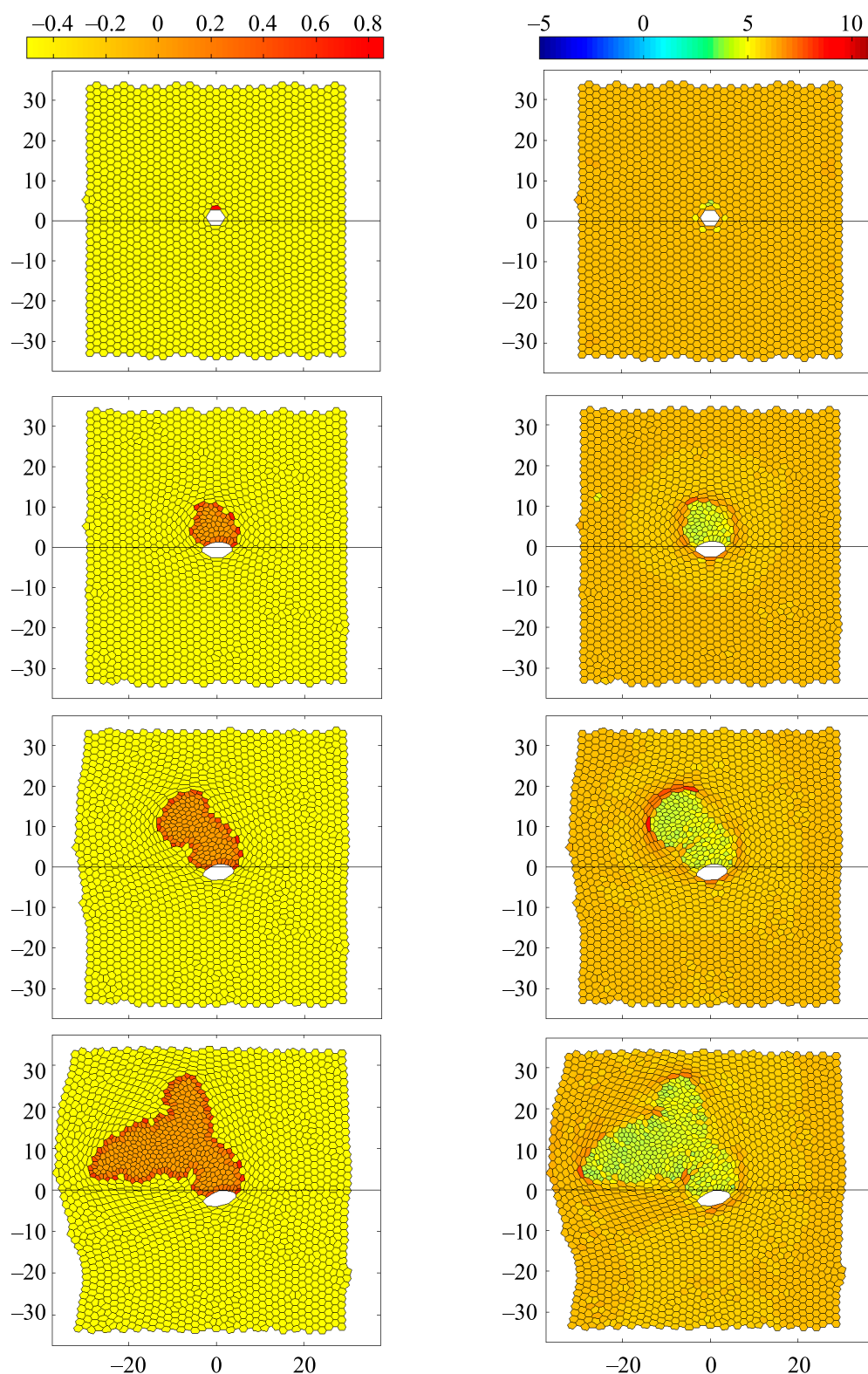


Рис. 6. Эволюция солидной структуры. Сверху вниз последовательно представлены моменты времени  $t = 10, 97, 184, 271$ . Поля индексов ЭМ-перехода ( $S_i$ ) приведены слева, поля периметров клеток ( $L_i$ ) — справа. Начальная конфигурация системы представляет собой однородное поле гексагональных клеток с альвеолярным каналом в центре. Параметры расчета для раковых клеток:  $A_0 = 6\sqrt{3}/5$ ,  $l_0 = 0.3$ . Цветная версия рисунка доступна в электронной версии статьи на сайте журнала

#### 4.1. Солидный тип инвазии опухоли

На рис. 6 представлены несколько кадров эволюции структуры, которую можно классифицировать согласно приведенным выше признакам как солидную. Были использованы следующие параметры эластичности для расчета раковых клеток:  $A_0 = 6\sqrt{3}/5$ ,  $\eta = 1.0$ ,  $\mu = 1.0$ ,  $l_0 = 0.3$ . Параметры для вероятности деления:  $m = 9$ ,  $n = 9$ ,  $P_1 = 263\,000$ . Для контрастности здоровым клеткам на рисунке формально было присвоено значение индекса ЭМ-перехода, равное  $S_i = -0.5$ . В начальный момент времени рядом с альвеолярным каналом в первом слое задавалась одиночная раковая клетка, которая в дальнейшем эволюционировала в соответствии с заданными условиями (рис. 6,  $t = 10$ ). Так как первая клетка относится к смешанному ЭМ-фенотипу (см. рис. 4), то происходит быстрое наращивание клеточной массы благодаря делению. Часть появляющихся раковых клеток дифференцируются как фронтальные, а другая часть — как внутренние. На первом этапе эволюции градиент  $C$  еще не оказывает существенного влияния на структурообразование. Растущая масса раковых клеток оказывает давление на окружающую здоровую ткань. Так как скорость деления здоровых клеток существенно ниже, то их число за время расчета существенно не меняется (хотя отдельные акты деления в клеточном поле заметить можно; например, на рис. 6,  $t = 97$ , справа). Поэтому примыкающие к опухоли здоровые клетки вынуждены растягиваться, увеличивая свой периметр примерно в 1.2–1.5 раза по сравнению с невозмущенным состоянием здоровых клеток (периметром гексагональной ячейки заданной площади) и в 2 раза по сравнению со средним периметром раковых клеток.

Так как в этом расчете трансформация нормальных клеток от Э- к М-фенотипу изначально была запрещена, то здоровая ткань за счет сцепления и эластичности составляющих ее клеток сдерживает инвазию опухоли. В результате формируется ядро будущей опухоли, которая вначале имеет округлую, близкую к симметричной, форму (рис. 6,  $t = 97$ ). Характерный размер раковых клеток в опухоли существенно меньше их заданного размера  $A_0 = 6\sqrt{3}/5$ , что приводит к увеличению потенциальной энергии ткани (3) и обещает в дальнейшем интенсивное движение клеток. Можно заметить, что внутри опухоли клетки по размерам распределены также неравномерно: в направлении градиента питательного компонента  $C$  располагаются более мелкие клетки. Именно здесь происходит наиболее интенсивный рост опухоли и сосредоточен максимальный запас потенциальной энергии (рис. 6,  $t = 97$ , справа).

Дальнейший рост опухоли связан со спонтанным нарушением симметрии опухоли из-за наложенного градиента  $C$ . Уже на фрагменте (рис. 6,  $t = 97$ , справа), когда опухоль еще имеет почти симметричную форму, видно, что одна из примыкающих здоровых клеток имеет максимальное значение периметра, т. е. растянута больше других клеток. Это определяет направление дальнейшей экспансии опухоли, так как при растяжении перемычка между соседними здоровыми клетками уменьшается до критического значения  $l_0 = 0.1$ , после которого запускается механизм интеркаляции (рис. 3). Раковая клетка вгрызается в зазор между здоровыми, позволяя им уменьшить свой периметр, и накопленная потенциальная энергия опухоли разряжается в кинетическое смещение клеток карциномы в этом направлении. На следующем фрагменте (рис. 6,  $t = 184$ ) можно заметить инвазивное проникновение опухоли и образование вторичного кластера раковых клеток. Таким образом, опухоль растет не строго по градиенту питательного компонента, так как на направление роста оказывают влияние первоначальная конфигурация клеточного поля и его дальнейшая эволюция, а также механизм интеркаляции. На фрагменте (рис. 6,  $t = 184$ , справа) хорошо видно, что формируется новое направление инвазии, обусловленное усиленным растяжением одной из здоровых клеток слева от опухоли. На последнем фрагменте (рис. 6,  $t = 271$ ) можно заметить энергичную экспансию опухоли в новом направлении. Тем не менее на всех этапах эволюции опухоль сохраняет признаки *солидной* структуры, описанной как компактное образование различного размера и формы, состоящее преимущественно из мелких клеток [Крахмаль и др., 2015].

Рис. 7 представляет диаграмму изменения количества раковых клеток различного фенотипа во времени. Здесь условно выделено два фенотипа: фронтальные ( $S = 0.5$ ) и внутренние

( $S = 0$ ) клетки. Можно видеть, что с течением времени количество внутренних клеток Э-фенотипа растет по отношению к фронтальным клеткам промежуточного ЭМ-фенотипа. Так как солидная опухоль имеет компактную сплошную структуру, то количество внутренних клеток растет как  $R^2$  (пропорционально объему опухоли), а фронтальных — пропорционально  $R$ , где  $R$  — характерный размер карциномы. На ранних стадиях эволюции, пока ядро опухоли еще не сформировалось, она состоит в основном из фронтальных клеток смешанного ЭМ-фенотипа. Но со временем внутренних клеток Э-фенотипа становится больше. На рис. 7 это происходит примерно при  $t = 80$ . При этом не надо забывать, что основной рост опухоли происходит на границе, где уровень концентрации компоненты  $C$  максимален. По сути, работает непрерывный конвейер, в котором клетка сначала рождается на подвижном фронте опухоли и имеет ЭМ-фенотип, а затем меняет свой фенотип и становится внутренней и малоподвижной.

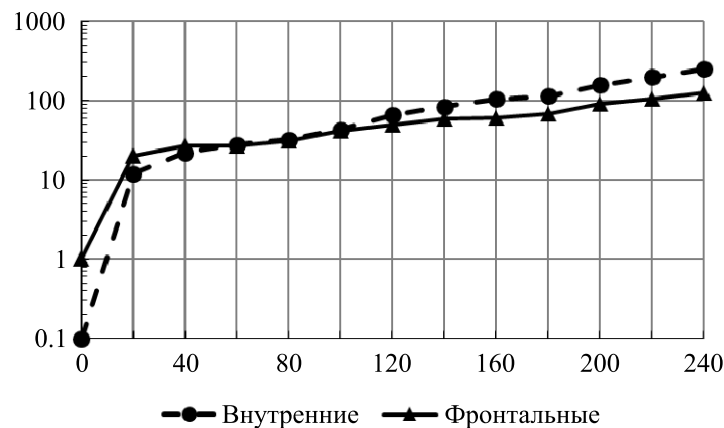


Рис. 7. График изменения количества раковых клеток во времени для клеток разного фенотипа. По оси абсцисс отложено время, по оси ординат — количество клеток

#### 4.2. Трабекулярный тип инвазии опухоли

Обсудим теперь другой тип структурообразования, который определяется как *трабекуляр* [Крахмаль и др., 2015]. Под трабекулярными структурами понимаются линейные объединения клеток, образованные одним или двумя рядами мелких или средних одинаковых клеток, растущих от эпителия альвеолярного пузырька.

Для начала рассмотрим расчет эволюции опухоли, выполненный при следующих параметрах для раковых клеток:  $A_0 = 6\sqrt{3}/5$ ,  $\eta = 1.0$ ,  $\mu = 1.0$ ,  $l_0 = 2.0$ ; параметры распределения вероятности, отвечающей за деление:  $m = 9$ ,  $n = 25$ ,  $P_1 = 3.42 \times 10^8$ , который представлен на рис. 8. Важной особенностью этого численного эксперимента было добавление эффекта размягчения здоровой ткани, прилегающей к раковой опухоли за счет ЭМ-перехода составляющих его клеток. Математически ослабить сцепление здоровых клеток друг с другом в клеточном слое, непосредственно примыкающем к опухоли, можно следующим образом:

$$l_0 = \begin{cases} 0.1, & \text{если } \sum_{j \in \text{adj}(i)} Z_j < 1, \\ 1.0, & \text{если } \sum_{j \in \text{adj}(i)} Z_j \geq 1, \end{cases} \quad (10)$$

где сумма функций состояния  $Z$  идет по всем соседям. Проще говоря, если среди соседей какой-то клетки есть хотя бы одна раковая клетка ( $Z = 1$ ), то параметр интеркаляции для нее автоматически возрастает на порядок. Параметр  $l_0$  отрегулирован таким образом, чтобы клетка находилась в непрерывном стохастическом процессе интеркаляции с соседями. Аналогичным образом можно задать размягчение следующего слоя, только среди соседей клетки будут

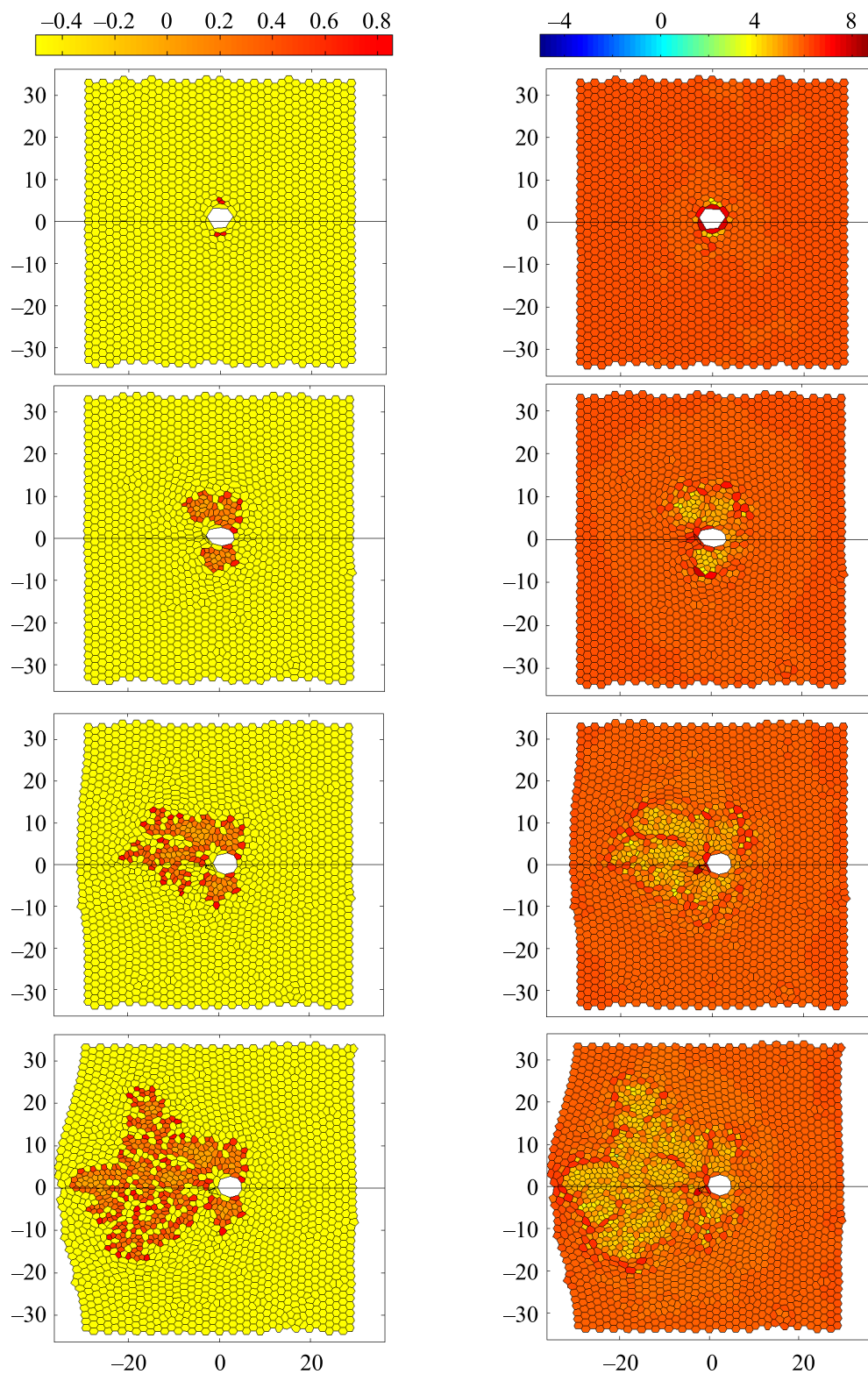


Рис. 8. Эволюция опухоли, стимулирующей ЭМ-переход прилегающей к опухоли здоровой ткани. Сверху вниз последовательно представлены моменты времени  $t = 4, 49, 94, 139$ . Поля индексов ЭМ-перехода ( $S_i$ ) приведены слева, поля периметров клеток ( $L_i$ ) приведены справа. Начальная конфигурация системы представляет собой однородное поле гексагональных клеток с альвеолярным каналом в центре. Параметры расчета для раковых клеток:  $A_0 = 6\sqrt{3}/5$ ,  $l_0 = 2.0$ . Цветная версия рисунка доступна в электронной версии статьи на сайте журнала

разыскиваться не раковые клетки, а клетки, соседствующие с раковыми. Такую процедуру последовательно можно провести для нескольких слоев здоровых клеток, примыкающих к опухоли. На рис. 8 представлен расчет, когда размягчению подверглись три слоя клеток.

В начальный момент времени на противоположных краях альвеолы были расположены две раковые клетки ЭМ-фенотипа (рис. 8,  $t = 4$ ). С самого начала эволюция протекает в другом режиме, как это было для солидной инвазии. В данном случае здоровые клетки, примыкающие к опухоли, не испытывают значительных растяжений, а сама опухоль не накапливает потенциальную энергию. Яркими индикаторами отсутствия внутренних напряжений в ткани являются практически неизменное положение альвеолярного канала и его минимальная деформация по сравнению с первоначальной формой, а также округлая форма большинства здоровых клеток в приграничном к опухоли слое ткани (рис. 8). Легко убедиться, что в случае солидной инвазии это было не так (рис. 6). Тем не менее опухоль в рассматриваемом случае растет гораздо быстрее и интенсивнее. Это происходит за счет вклинивания клеток карциномы в эпителиальную размягченную ткань сразу во многих местах благодаря непрерывно интеркалирующим там здоровым клеткам. При дальнейшей инвазии от вклинившихся раковых клеток вырастают трабекулярноподобные отростки длиной в 2-3 клетки, которые тянутся к источнику питательного вещества и осуществляют рост всего злокачественного образования (рис. 8,  $t = 94$ ). Развитая структура карциномы более всего по форме напоминает фрактальный кластер (рис. 8,  $t = 139$ ), который состоит из длинных неупорядоченных по пространству нитей переменной толщины.

Опухоль не вытесняет здоровую ткань, а скорее прорастает сквозь нее, включая в себя отдельные здоровые клетки или их небольшие группы. Стоит отметить, что такие включения часто наблюдаются при исследовании гистологических срезов [Крахмаль и др., 2015].

Интересно отметить, что не все первоначальные вклинивания карциномы являются в итоге успешными. Например, в расчете, представленном на рис. 8, специально было задано вначале две раковые клетки. Конкуренция опухолей привела к тому, что верхняя структура развилась быстрее и вышла в зону ответственности нижней (рис. 8,  $t = 94$ , слева), перекрывая ее доступ к потоку питательного вещества. В результате эволюция нижней опухоли закончилась стагнацией и фактически гибелью в перспективе из-за отсутствия пищи.

Интересен состав гетерогенной опухоли, приведенной на рис. 8. График изменения количества клеток разного фенотипа со временем приведен на рис. 9. С самого начала большую часть опухоли составляют энергичные фронтальные клетки ЭМ-фенотипа. Однако в диапазоне от 10 до 20 единиц времени начинается резкий рост количества внутренних клеток, что свидетельствует о солидной форме развития опухоли (см. рис. 7). Однако рост опухоли и размягчение прилегающей здоровой ткани меняют тип инвазии примерно с  $t = 20$ , когда начинается активный рост трабекул. В целом инвазия в форме тонких нитеобразных выростов не способствует формированию внутреннего ядра опухоли, составленного из малоподвижных раковых клеток Э-фенотипа, как это было в случае солидной инвазии.

Из графика на рис. 9 видно, что после того, как развитие опухоли входит в квазистационарный режим эволюции, число фронтальных клеток в любой момент времени примерно на порядок больше числа внутренних клеток, что говорит о гораздо большей площади соприкосновения опухоли со здоровой тканью, нежели это было в случае солидной инвазии. Описанный сценарий трабекулярной инвазии демонстрирует гораздо больший потенциал злокачественности опухоли. Во-первых, трабекулярный тип опухоли состоит из более энергичных и проникающих, а значит, и более опасных фронтальных клеток смешанного ЭМ-фенотипа. Во-вторых, сам тип трабекулярной инвазии не предполагает на первых стадиях существенного давления на здоровые ткани, так как опухоль безболезненно врастает в здоровую ткань. Это означает более позднюю реакцию организма болевыми сигналами на рост опухоли. В частности, альвеолярный канал деформируется и не способен выполнять свои функции по доставке секреторной жидкости уже на ранних стадиях развития солидной опухоли (рис. 6). А в случае трабекулярного роста опухоли альвеолярный канал практически не испытывает деформаций (рис. 8). В-третьих, рост опухоли в случае трабекул происходит гораздо быстрее из-за большей (в определенном

смысле — фрактальной) поверхности соприкосновения опухоли со здоровой тканью, что приводит к скоротечности болезни.

В заключение этого раздела приведем расчет, в котором была получена трабекулярная структура в узком смысле (т. е. линейная последовательность нескольких раковых клеток; см. рис. 1). На рис. 10 представлены несколько кадров эволюции опухоли, полученной при следующих параметрах:  $A_0 = 6\sqrt{3}/5$ ,  $\eta = 1.0$ ,  $\mu = 1.0$ ,  $l_0 = 2.0$ ,  $m = 9$ ,  $n = 25$ ,  $P_1 = 3.42 \times 10^8$ , а также с учетом эффекта размягчения здоровой ткани, примыкающей к опухоли. Главным отличием от эволюции, представленной на рис. 8, является изменение коэффициента потребления пищи  $\beta_C$ . Вместо значения, приведенного в таблице 1, скорость потребления питания была уменьшена до  $\beta_C = 0.036$ . Это приводит к увеличению потока питательных веществ по ткани. Расчет интересен тем, что структура развивается несколько иначе, чем это было на рис. 8. А именно, вместо множественного проникновения в здоровую ткань у нижней опухоли на рис. 10 можно видеть одно магистральное направление инвазии под углом 30 градусов к горизонтали.

Очевидно, что развитие трабекулы определяется здесь начальной конфигурацией клеточной ткани в виде поля правильных гексагональных ячеек: наиболее слабым в механическом смысле является стык между рядами гексагонов под углами  $\pm 30^\circ$ . Нить трабекулы растет за счет быстрого деления фронтальных клеток на острие структуры, а само продвижение происходит между двумя рядами гексагонов (рис. 8,  $t = 25$ ). Любопытно, что такое продвижение происходит не всегда. Например, верхняя опухоль, которая развивалась с самого начала в большей степени как солидная структура, деформировала поле здоровых клеток настолько, что чисто трабекулярная инвазия стала невозможна, что приводит к смешанному типу развития. Таким образом, развитие структуры сильно зависит как от начальных условий (структура здоровой ткани, в которой происходит инвазия), так и от хода самой эволюции. Например, тубулярная структура может наблюдаться в ткани, которая имеет особенности строения, способствующие закруглению трабекулярных структур. Это одно из самых естественных объяснений существования тубуляров на гистологических срезах (рис. 1).

Что касается большой трабекулы у нижней опухоли на рис. 10, то можно заметить, что от нее могут отпочковываться структуры в виде вторичных линейных отростков. Так как раковые клетки и примыкающие к ним здоровые клетки все время участвуют в процессе интеркаляции, то вполне возможны обрыв трабекулы и ее дальнейшая самостоятельная инвазия. Это также хорошо согласуется с наблюдениями гистологических срезов карциномы [Крахмаля и др., 2015], что иллюстрирует рис. 1. Коллективно мигрирующие раковые клетки в виде трабекул привлекают внимание исследователей из-за своей злокачественности. Такая форма коллективной миграции имеет преимущество перед солидной структурой из-за своей большей мобильности. С другой стороны, по сравнению с одиночными раковыми клетками М-фенотипа трабекулы также имеют преимущество, так как не утрачивают способности к делению в ходе инвазии.

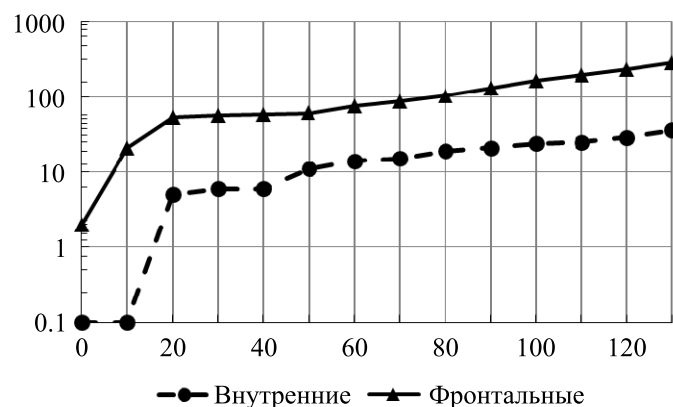


Рис. 9. График изменения количества раковых клеток во времени для клеток разного фенотипа. По оси абсцисс отложено время, по оси ординат — количество клеток



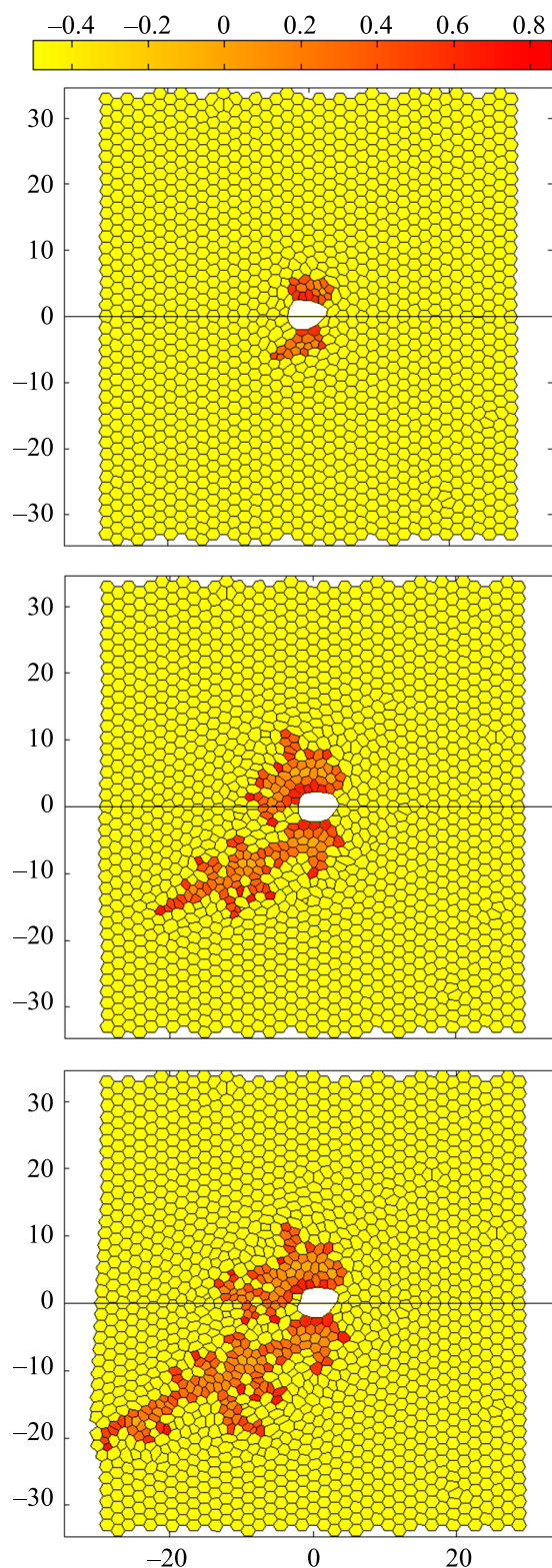


Рис. 10. Эволюция трабекулярной структуры. Сверху вниз последовательно представлены моменты времени  $t = 10, 25, 35$ . На рисунке приведено поле индексов ЭМ-перехода ( $S_i$ ). Начальная конфигурация системы представляет собой однородное поле гексагональных клеток с альвеолярным каналом в центре. Параметры расчета для раковых клеток:  $A_0 = 6\sqrt{3}/5$ ,  $l_0 = 2.0$ . Цветная версия рисунка доступна в электронной версии статьи на сайте журнала

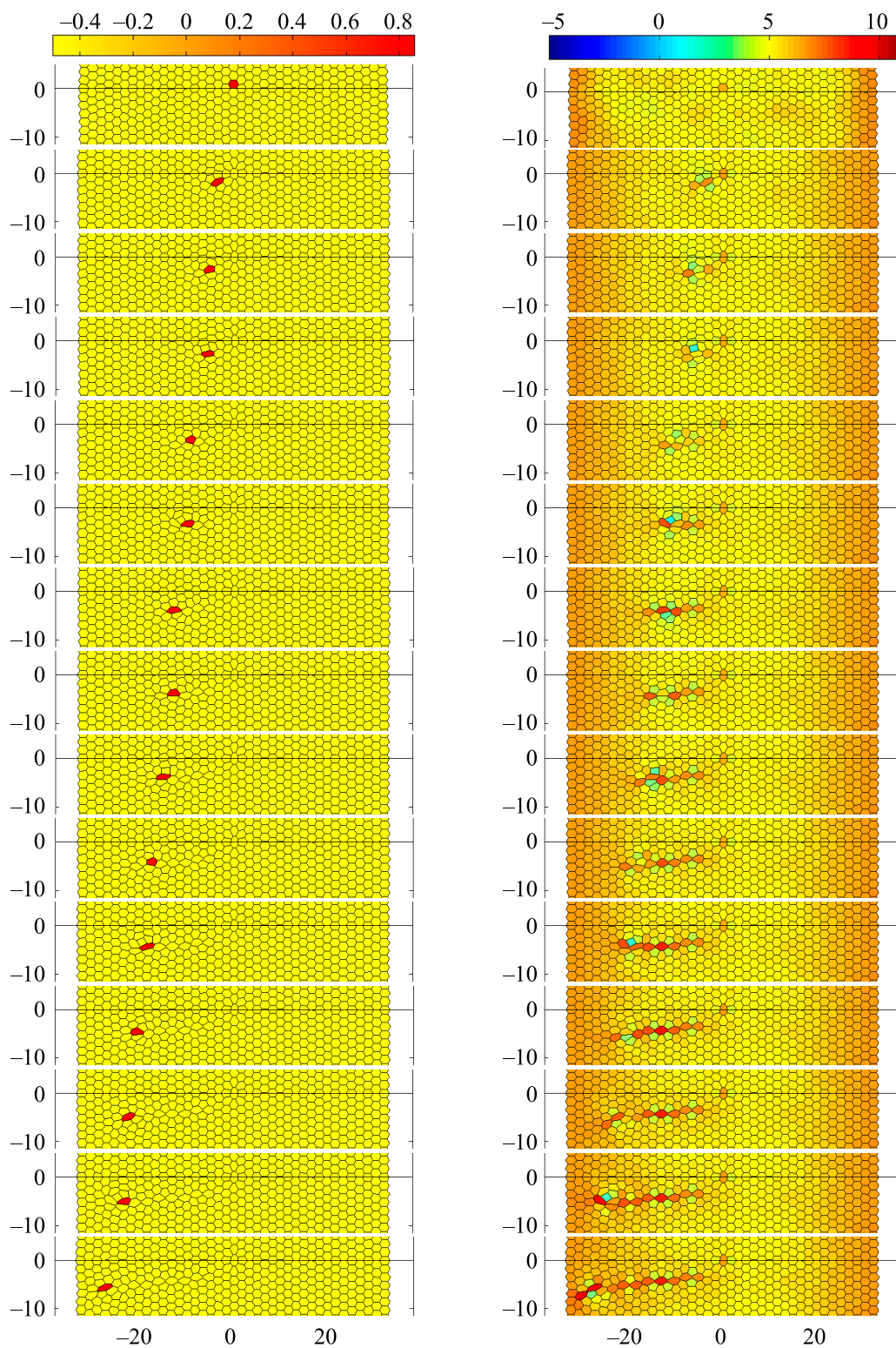


Рис. 11. Инвазия раковой клетки с амёбидным поведением. Сверху вниз последовательно представлены моменты времени через равные промежутки ( $\Delta t = 2$ ). Поля индексов ЭМ-перехода ( $S_i$ ) приведены слева, поля периметров клеток ( $L_i$ ) приведены справа. Параметры расчета для раковой клетки:  $A_0 = 6\sqrt{3}/5$ ,  $\eta = 1.0$ ,  $\mu = 1.0$ . Цветная версия рисунка доступна в электронной версии статьи на сайте журнала

### 4.3. Амебоидный тип инвазии

В некоторых численных экспериментах было зафиксировано отсоединение отдельных раковых клеток в ходе процесса случайных интеркаляций между здоровыми и раковыми клетками в приграничной для карциномы области. Как правило, это происходит при трабекулярном типе инвазии. В этом случае можно говорить о полном переходе отсоединившейся клетки к М-фенотипу (см. рис. 4). Такая клетка практически не делится и совершает в ткани эпителия мезенхимальную миграцию. На самом деле *in vivo* у дискретных раковых клеток часто наблюдают способность к амебоидному поведению. Так как движение клетки с амебоидным типом движения качественно отличается от движения клетки М-фенотипа, то в литературе было введено понятие мезенхимально-амебоидного (МА) перехода, а сами клетки, претерпевшие такой переход, относят к А-фенотипу [van Zijl et al., 2011]. Разница между А- и М-клетками заключается в способе перемещения по среде: если М-клетки двигаются пассивно за счет серии стохастических интеркаляций в размягченном клеточном слое, то А-клетки активно продвигаются за счет дополнительных движений цитоскелета, схожих с поведением бактерий. В работе амебоидный тип движения клетки *in silico* был реализован следующим образом.

Если клетка в ходе эволюции приобретала значение индекса  $S = 1.0$ , то для нее включался специальный механизм самодвижения, который состоял из двух периодически повторяющихся тактов. Сначала клетка совершала принудительную интеркаляцию через вершину, которая направлена в сторону градиента питательного вещества по наименьшей длине перемычки. А на следующем шаге по времени движение завершается принудительным интеркалированием с противоположной стороны клетки для подтягивания ее растянувшегося хвоста. Такой расчет имитирует работу клеточного цитоскелета. Принцип движения А-клетки действительно напоминает перемещение в пространстве бактерии.

На рис. 11 представлен расчет амебоидного движения одиночной раковой клетки, которая осуществляет мезенхимальную миграцию в плотной эпителиальной ткани. Интересно отметить, что движение раковой клетки А-фенотипа происходит не равномерно, а чередой импульсных продвижений (рис. 11, колонка слева). После каждого такого перемещения клетка вынуждена взять паузу для того, чтобы деформированное поле эпителиальной ткани сняло избыточные напряжения за счет интеркаляций между здоровыми клетками. Следует обратить внимание на поле значений периметров клеток (рис. 11, колонка справа). По виду этого поля можно судить о перестройке правильной гексагональной структуры клеток, которая происходит сразу после прохождения движения раковой клетки. Амебоидное движение оставляет хорошо видимый «след» в ткани эпителия, который фиксирует траекторию движения раковой А-клетки. Этот «след» полностью не разглаживается со временем, так как продвижение А-клетки создает новый устойчивый баланс напряжений в среде.

Последний рис. 12 представляет процесс обратного МЭ-перехода. Для успешного метастазирования дискретная раковая клетка должна найти место с достаточным количеством пищи и осуществить МЭ-переход для начала пролиферации. На первых кадрах видно амебоидное продвижение клетки в ткани эпителия, которое заканчивается внезапным делением клетки. При этом значение индекса  $S$  для клетки уменьшается, и она по необходимости совершает МЭ-переход в ходе дальнейшей пролиферации. Постепенно формируется вторичная опухоль солидного типа.

## 5. Заключение

В работе предложена математическая модель роста гетерогенной опухоли в эпителиальной ткани. На основе экспериментальных наблюдений дано описание клеточного социума, который состоит из различных групп раковых клеток. Дифференциация клеток происходит в зависимости от положения клетки в опухоли. Введен в рассмотрение индекс ЭМ-перехода, индивидуальное значение которого определяет место и функционал каждой клетки в опухоли. В ходе численных экспериментов были воспроизведены основные структуры коллективной и индивидуальной

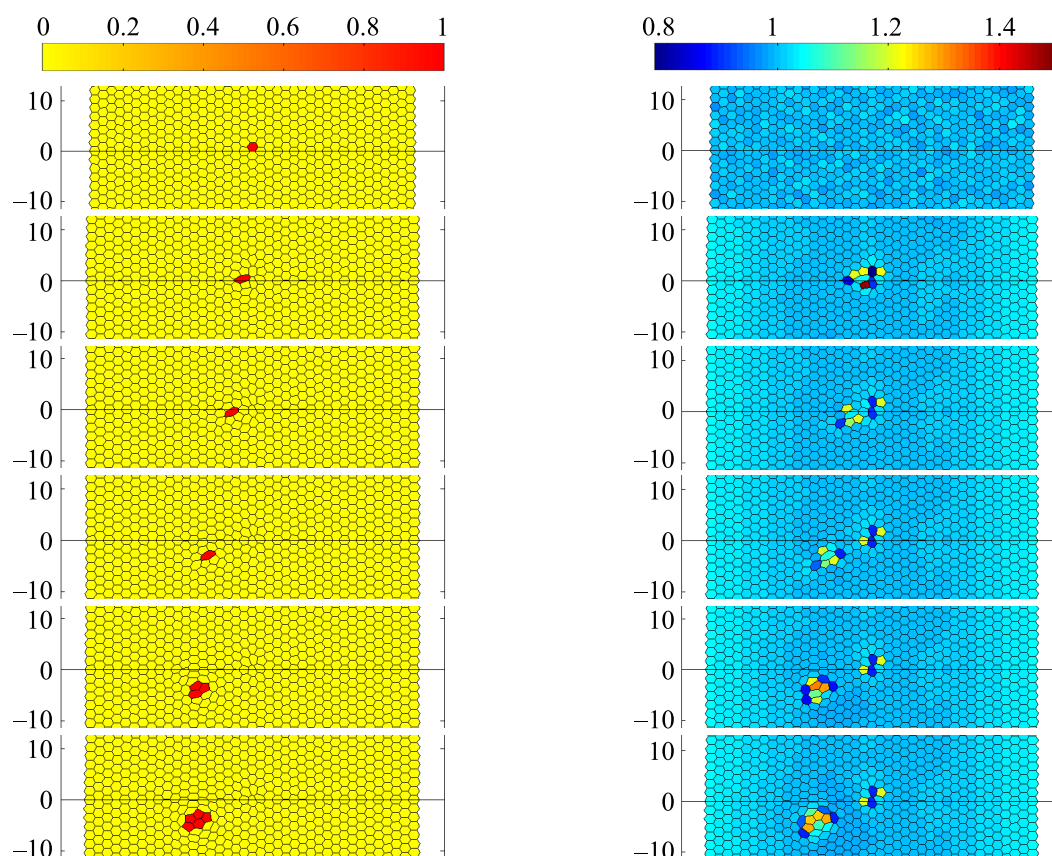


Рис. 12. Обратный МЭ-переход для раковой клетки с амебодным типом движения. Сверху вниз последовательно представлены моменты времени через равные промежутки ( $\Delta t = 2$ ). Поля индексов ЭМ-перехода ( $S_i$ ) приведены слева, поля отклонений площадей клеток ( $A_i$ ) приведены справа. Параметры расчета для раковой клетки:  $A_0 = 6\sqrt{3}/5$ ,  $\eta = 1.0$ ,  $\mu = 1.0$ . Цветная версия рисунка доступна в электронной версии статьи на сайте журнала

инвазии, наблюдаемые при изучении гистологических срезов. В отличие от лабораторных наблюдений образцов, которые показывают лишь результат опухолевой эволюции к моменту взятия образца ткани и изготовления среза, математическое моделирование помогает понять, каким образом происходит динамическая эволюция опухоли во времени, а также какие условия должны быть обеспечены для формирования каждой инвазивной структуры.

## Список литературы (References)

- Брацун Д. А., Захаров А. П., Письмен Л. М. Многоуровневое математическое моделирование возникновения и роста опухоли в ткани эпителия // Компьютерные исследования и моделирование. — 2014. — Т. 6, № 4. — С. 585–604.
- Bratsun D. A., Zakharov A. P., Pismen L. M. Multiscale mathematical modeling occurrence and growth of a tumour in an epithelial tissue // Computer Research and Modeling. — 2014. — Vol. 6, No. 4. — P. 585–604 (in Russian).
- Захаров А. П., Брацун Д. А. Синхронизация циркадианных ритмов в масштабах гена, клетки и всего организма // Компьютерные исследования и моделирование. — 2013. — Т. 5, № 2. — С. 255–270.
- Zakharov A. P., Bratsun D. A. Synchronizatsiya sirkadiannykh ritmov v mashtabah gena, kletki i vsego organizma [Synchronization of circadian rhythms in the scale of a gene, a cell and a whole organism] // Computer Research and Modelling. — 2013. — Vol. 5, No. 2. — P. 255–270 (in Russian).

- Калиничева М. М., Котин В. В., Писаренко Е. М. Моделирование роста опухоли эпителиальных тканей с использованием алгоритмов клеточных автоматов // Альманах клинической медицины. — 2008. — Т. 17, № 1. — С. 179–182.
- Kalinicheva M. M., Kotin V. V., Pisarenko E. M. Modelirovanie rosta opuholi epiteliialnih tkaney s ispolzovaniem algoritmov kletochnih avtomatov [Modeling of tumor growth of epithelial tissues using cellular automata algorithms] // Almanac of clinical medicine. — 2008. — Vol. 17, No. 1. — P. 179–182 (in Russian).
- Колобов А. В., Полежаев А. А. Влияние случайной подвижности злокачественных клеток на устойчивость фронта опухоли // Компьютерные исследования и моделирование. — 2009. — Т. 1, № 2. — С. 225–232.
- Kolobov A. V., Polezhaev A. A. Vliyaniye sluchaynoy podvizhnosti zlokachestvennykh kletok na ustoychivost fronta opuholi [Influence of random malignant cell motility on growing tumor front stability] // Computer Research and Modelling. — 2009. — Vol. 1, No. 2. — P. 225–232 (in Russian).
- Крахмаль Н. В., Завьялова М. В., Денисов Е. В., Вторушин С. В., Перельмутер В. М. Инвазия опухолевых эпителиальных клеток: механизмы и проявления // Acta Naturae. — 2015. — Т. 7, № 2. — С. 18–31.
- Krakhmal N. V., Zavyalova M. V., Denisov E. V., Vtorushin S. V., Perelmuter V. M. Invasiya opuholevix epiteliialnih kletok: mekhanizmi i proyavleniya [Cancer Invasion: Patterns and Mechanisms] // Acta Naturae. — 2015. — Vol. 7, No. 2. — P. 18–31 (in Russian).
- Кузнецов М. Б., Колобов А. В. Исследование влияния антиангиогенной монотерапии на прогрессию гетерогенной опухоли с помощью методов математического моделирования // Компьютерные исследования и моделирование. — 2017. — Т. 9, № 3. — С. 487–501.
- Kuznetsov M. B., Kolobov A. V. Issledovaniye vliyaniya antiangiogennoy monoterapii na progressiyu geterogennoy opuholi s pomoshyu metodov matematicheskogo modelirovaniya [Mathematical investigation of antiangiogenic monotherapy effect on heterogeneous tumor progression] // Computer Research and Modelling. — 2017. — Vol. 9, No. 3. — P. 487–501 (in Russian).
- Кучумов А. Г. Математическое моделирование и биомеханический подход к описанию развития, диагностики и лечения онкологических заболеваний // Российский журнал биомеханики. — 2010. — Т. 14, № 4. — С. 42–69.
- Kuchumov A. G. Matematicheskoe modelirovanie i biomechanicheskiy podhod k opisaniyu razvitiya, diagnostiki i lecheniya onkologicheskix zabolevaniy [Mathematical modelling and biomechanical approach to describe the development, the diagnostics, and the treatment of oncological diseases] // Russian Journal of Biomechanics. — 2010. — Vol. 14, No. 4. — P. 42–69 (in Russian).
- Alarcon T., Byrne H. M., Maini P. K. A cellular automaton model for tumour growth in inhomogeneous environment // J. Theor. Biol. — 2003. — Vol. 225. — P. 257–274.
- Brakebusch C., Fässler R.  $\beta 1$  integrin function in vivo: Adhesion, migration and more // Cancer and Metastasis Reviews. — 2005. — Vol. 24, Issue 3. — P. 403–411.
- Bratsun D. A., Krasnyakov I. V., Pismen L. M. Chemo-elastic modeling of invasive carcinoma development accompanied by oncogenic epithelial-mesenchymal transition // AIP Conference Proceedings. — 2017. — Vol. 1882. — 020008.
- Bratsun D. A., Merkuriev D. V., Zakharov A. P., Pismen L. M. Multiscale modeling of tumor growth induced by circadian rhythm disruption in epithelial tissue // J. Biol. Phys. — 2016a. — Vol. 42, No. 1. — P. 107–132.
- Bratsun D. A., Zakharov A. P., Pismen L. M. Chemo-mechanical modeling of tumor growth in elastic epithelial tissue // AIP Conference Proceedings. — 2016b. — Vol. 1760. — 020007.
- Cristini V., Lowengrub J. Multiscale modeling of cancer: An integrated experimental and mathematical modeling approach. — Cambridge University Press, 2010. — P. 278.
- Deisboeck T. S., Stamatakis G. S. Multiscale cancer modeling. — CRC Press, 2010. — P. 484.
- Deisboeck T. S., Wang Z., Macklin P., Cristini V. Multiscale cancer modeling // Annu. Rev. Biomed. Eng. — 2011. — Vol. 13. — P. 127–155.
- Denisov E. V., Geraschenko T. S., Zavyalova M. V., Litviakov N. V., Tsyganov M. M., Kaigorodova E. V., Slonimskaya E. M., Kzhyshkowska J., Cherdyntseva N. V., Perelmuter V. M. Invasive and drug resistant expression profile of different morphological structures of breast tumors // Neoplasma. — 2015. — Vol. 62, No. 3. — P. 405–411.

- Denisov E. V., Skryabin N. A., Gerashchenko T. S., Tashireva L. A., Wilhelm J., Buldakov M. A., Slep-tcov A. A., Lebedev I. N., Vtorushin S. V., Zavyalova M. V., Cherdyntseva N. V., Perelmuter V. M. Clinically relevant morphological structures in breast cancer represent transcriptionally distinct tumor cell populations with varied degrees of epithelial-mesenchymal transition and CD44<sup>+</sup>CD24<sup>-</sup>stemness // *Oncotarget*. — 2017. — Vol. 8, No. 37. — P. 61163–61180.
- Fasano A., Bertuzzi A., Gendolfi A. Mathematical modelling of tumour growth and treatment // *Complex System in Biomedicine*. — 2006. — Vol. 26. — P. 71–108
- Honda H., Nagai T., Tanemura M. Two different mechanisms of planar cell intercalation leading to tissue elongation // *Developmental Dynamics*. — 2008. — Vol. 237. — P. 1826–1836.
- Kim Y., Stolarska M. A., Othmer H. G. A hybrid model for tumour spheroid growth in vitro I: Theoretical development and early results // *Math. Mod. Meth. Appl. Sci.* — 2007. — Vol. 17. — P. 1773–1798.
- Lamouille S., Xu J., Derynck R. Molecular mechanisms of epithelial-mesenchymal transition // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* — 2014. — Vol. 15, No. 3. — P. 178–196.
- Lesne A., Foray N., Cathala G., Forne T., Wong H., Victor J.-M. Chromatin fiber allostery and the epigenetic code // *J. Phys. Condens. Matter*. — 2015. — Vol. 27. — 064114.
- Monteagudo A., Santos J. A Cellular Automaton Model for Tumor Growth Simulation // 6<sup>th</sup> International Conference on PACBB. AISC. — 2012. — Vol. 154. — P. 147–155.
- Ruben I., Reinaldo R.-R., Fernando V.-R., Ariel R.-T., Riberio C. C., Conci A. Tumor growth modeling by cellular automata // *Mathematics and Mechanics Complex Systems*. — 2017. — Vol. 5, No. 3–4. — P. 239–259.
- Salm M., Pismen L. M. Chemical and mechanical signaling in epithelial spreading // *Phys. Biol.* — 2012. — Vol. 9, No. 2. — P. 026009–026023.
- Sciumè G., Shelton S., Gray W. G., Miller C. T., Hussain F., Ferrari M., Decuzzi P., Schrefler B. A. A multiphase model for three-dimensional tumor growth // *New J. Phys.* — 2013. — Vol. 15. — 015005.
- Tabassum D. P., Polyak K. Tumorigenesis: it takes a village. // *Nat. Rev. Cancer*. — 2015. — Vol. 8. — P. 473–483.
- van Zijl F., Krupitza G., Mikulits W. Initial steps of metastasis: Cell invasion and endothelial transmigration // *Mutat. Res.* — 2011. — Vol. 728. — P. 23–34.
- Viktorinova I., Pismen L. M., Aigouy B., Dahmann C. The role of signal relay in collective cell polarization // *J. R. Soc. Interface*. — 2011. — Vol. 8. — P. 1059–1063.
- Weber G. F. *Molecular Mechanisms of Cancer*. — Springer, 2007. — P. 645.
- Zakharov A. P., Pismen L. M. Reshaping nemato-elastic sheets // *Eur. Phys. J. E Soft Matter*. — 2015. — Vol. 38, No. 7. — P. 75.