

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
НАУКИ ФИЗИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ ИМЕНИ П. Н. ЛЕБЕДЕВА
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

На правах рукописи

Кузнецов Максим Борисович

**Математическое моделирование роста опухоли
под влиянием антиангиогенной терапии
и радиотерапии**

Специальность 03.01.09 —
«Математическая биология, биоинформатика»

Диссертация на соискание учёной степени
кандидата физико-математических наук

Научный руководитель:
к.ф.-м.н.
Колобов Андрей Владимирович

Москва — 2020

Оглавление

	Стр.
Введение	4
1. Обзор литературы	11
1.1 Ангиогенез и антиангиогенная терапия	11
1.1.1 Ключевые признаки злокачественных опухолей	11
1.1.2 Рост солидной опухоли	12
1.1.3 Ангиогенез	15
1.1.4 Антиангиогенная терапия	17
1.1.5 Облегчение внутриопухолевой гипоксии	20
1.2 Математическое моделирование опухолевого роста	22
1.2.1 Цели и сложности	22
1.2.2 Феноменологические кривые роста опухоли	26
1.2.3 Пространственно-распределенные модели	30
1.2.4 Механистические модели	35
1.2.5 Дискретные модели	38
1.2.6 Моделирование ангиогенеза и антиангиогенной терапии	40
2. Исследование зависимости реакции солидной опухоли на антиангиогенную терапию от типа ее роста	47
2.1 Модель	47
2.1.1 Уравнения	47
2.1.2 Параметры	51
2.1.3 Численное решение	52
2.2 Результаты	54
2.2.1 Компактный тип роста	54
2.2.2 Инвазивный тип роста	63
2.2.3 Смешанный тип роста	67
2.3 Обсуждение	70

3. Исследование явления временного облегчения внутриопухолевой гипоксии в первые дни антиангиогенной терапии	72
3.1 Модель	72
3.1.1 Опухоль и нормальная ткань	72
3.1.2 Микроциркуляторная сеть	74
3.1.3 Питательные вещества	76
3.1.4 VEGF и антиангиогенная терапия	82
3.1.5 Параметры	83
3.1.6 Численное решение	88
3.2 Результаты	90
3.2.1 Симуляция при базовом наборе параметров	90
3.2.2 Влияние параметров на динамику кислорода	95
3.3 Обсуждение	103
4. Исследование противоопухолевой эффективности комбинированных фракционированной радиотерапии и антиангиогенной терапии	105
4.1 Модель	105
4.1.1 Описание радиотерапии	108
4.1.2 Параметры	109
4.2 Результаты	111
4.2.1 Симуляция при базовом наборе параметров	111
4.2.2 Вариация по радиочувствительности	120
4.3 Обсуждение	123
Заключение	125
Список сокращений и условных обозначений	127
Список литературы	128

Введение

Актуальность работы. Использование математических методов в настоящее время стало необходимостью в онкологии. Идентификация опухолевых клеток [1], разработка наномедицинских систем [2], подстройка параметров радиотерапии в режиме реального времени [3] — это лишь несколько примеров задач, в решении которых использование компьютерных симуляций уже приносит значительную пользу. Отдельным математическим подходом является моделирование роста и терапии опухоли, при котором она и ее микроокружение рассматриваются как единая сложная система. Основными целями такого математического моделирования являются объяснение и прогнозирование различных явлений, возникающих при росте и терапии опухолей [4; 5]. Одним из значимых прикладных направлений исследования при этом является поиск возможностей оптимизации терапевтических протоколов [6; 7]. Разумеется, математическое моделирование ни в коем случае не может заменить клинические исследования, но с его помощью возможно выявление ключевых особенностей, влияющих на эффективность конкретных типов терапии и их комбинаций. Это может помочь существенно сузить круг потенциально эффективных схем лечения, требующих экспериментальной и клинической проверки.

Ключевой проблемой при построении математических моделей роста и терапии опухоли является потребность объективно охватить все детали, необходимые для воспроизведения рассматриваемых процессов, при этом избегая излишнего усложнения модели. Разработка все более детальных моделей является непродуктивным подходом, так как для них не имеется практической возможности надежно оценить все значения используемых параметров, особенно принимая во внимание гетерогенность биологических объектов, их вариабельность и значительную чувствительность к условиям содержания. Для того, чтобы обеспечить возможность выдвижения с помощью моделирования новых гипотез на качественном уровне, гораздо важнее добиться качественного согласия между моделью и реальным объектом. Для этой цели лучше подходят не перегруженные деталями модели, которые поддаются анализу и способны дать исследователям представление о базовых физических и биологических принципах. Разумеется, недостаточно подробный учет важных особенностей изучаемых систем также не сможет привести к значимым результатам. Таким образом,

существует деликатный баланс между детальностью модели и ее надежностью, при котором модель может иметь прогностическую способность.

Особый интерес при модельных исследованиях представляют недавно введенные в клиническую практику и поэтому сравнительно слабо изученные виды противоопухолевой терапии. Примером является антиангиогенная терапия (ААТ), действие которой направлено на прекращение ангиогенеза, т.е., формирования новых кровеносных сосудов, питающих опухоль [8]. Клинические испытания показывают, что эффективность ААТ в режиме монотерапии существенно падает с увеличением степени злокачественности заболевания [9]. Другая интересная особенность ААТ, обнаруженная экспериментально, заключается в том, что она может приводить к значительному повышению уровня кислорода внутри опухоли в первые несколько дней проведения терапии [10; 11]. Данные явления ранее не были воспроизведены в математических моделях, что говорит о недостаточно подробном учете ключевых особенностей роста опухоли с учетом ангиогенеза в существующих моделях и компрометирует их дальнейшую применимость. При этом при моделировании ангиогенеза наиболее популярным подходом является детальное описание динамики капилляров с использованием дискретных методов [12–16]. Соответствующие модели содержат большое количество параметров, многие из которых невозможно оценить, а их вычислительная сложность не позволяет провести даже симуляцию целого курса терапии опухоли реалистичного размера, что сводит на нет их реальную прогностическую способность. Таким образом, существует необходимость создания физиологически обоснованной математической модели роста опухоли с учетом ангиогенеза и ААТ, оптимальной по сложности и использующей параметры, значения которой поддаются оценке, чему и посвящена данная диссертационная работа.

Математическая модель такого типа, в частности, позволит проводить систематические исследования с целью выявления критериев, которые определяют эффективность комбинированных терапий с использованием ААТ. В частности, значительный интерес в настоящее время проявляется к исследованию комбинации радиотерапии с ААТ [17; 18]. Уровень кислорода, на который, как было отмечено выше, влияет проведение ААТ, определяет эффективность радиотерапии, однако из-за временного характера явления облегчения внутриопухолевой гипоксии его проявление не гарантирует, что добавление ААТ повысит общую

эффективность целого курса фракционированной радиотерапии, длительность которого, как правило, составляет около шести недель.

Целью данной работы являлась разработка физиологически обоснованной математической модели роста и терапии солидной опухоли в ткани и исследование этой модели для выявления ключевых особенностей, определяющих противоопухолевую эффективность антиангиогенной терапии как в режиме монотерапии, так и в комбинации с фракционированной радиотерапией.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие **задачи**:

1. Разработать математическую модель роста солидной опухоли в ткани с учетом ангиогенеза: 1) позволяющую одновременно рассматривать два типа роста опухоли – диффузный, обусловленный собственной подвижностью клеток опухоли, и компактный, происходящий за счет конвективных потоков, возникающих вследствие деления клеток в плотной несжимаемой ткани; 2) учитывающую в явном виде процесс ограниченной диффузии веществ через поры капилляров, определяющий их приток в ткань, и влияние антиангиогенной терапии на него.
2. С помощью разработанной математической модели воспроизвести на качественном уровне зависимость реакции опухоли на антиангиогенную терапию от типа ее роста.
3. С помощью разработанной математической модели воспроизвести явление временного облегчения внутриопухолевой гипоксии, зачастую проявляющееся на практике в первые дни проведения антиангиогенной терапии, и выявить ключевые факторы, влияющие на динамику кислорода внутри опухоли.
4. Разработать математическую модель роста солидной опухоли в ткани с учетом комбинированной антиангиогенной терапии и фракционированной радиотерапии. Путем исследования разработанной модели выявить ключевые факторы, влияющие на эффективность комбинированной антиангиогенной терапии и фракционированной радиотерапии.

Объект и предмет исследования. Объектом исследования является рост опухоли. Предметом исследования является его изменение под влиянием антиангиогенной терапии и радиотерапии.

Научная новизна. Разработанная физиологически обоснованная пространственно-распределенная непрерывная математическая модель роста солидной опухоли в ткани с учетом ангиогенеза и антиангиогенной терапии обладает рядом новых свойств. В частности, 1) предложенная модель учитывает два типа роста опухоли за счет включения гиперболических и параболических членов в дифференциальные уравнения, описывающие динамику опухолевых клеток – диффузный, обусловленный собственной подвижностью клеток опухоли, и компактный, происходящий за счет конвективных потоков, возникающих вследствие деления клеток в плотной несжимаемой ткани; 2) в модели в явном виде учитываются физиологические особенности притока глюкозы и кислорода из капилляров в ткань: приток глюкозы, как низкомолекулярного жиронерастворимого вещества, определяется процессом ограниченной диффузии через поры в стенках капилляров, а приток кислорода, как низкомолекулярного жирорастворимого вещества, переносимого в крови гемоглобином в эритроцитах и диффундирующего напрямую через капиллярную стенку, определяется более сложным математическим выражением, учитывающим уровень кровотока и степень диссоциации оксигемоглобина; 3) в модели в явном виде учитывается влияние антиангиогенной терапии на процесс ограниченной диффузии через поры капилляров с помощью использования уравнения Ренкина, описывающего гидродинамическое сопротивление, испытываемое молекулами с заданным гидродинамическим радиусом при диффузии через поры с заданным размером. Кроме того, в данной работе впервые предложено аналитическое выражение для оценки скорости роста компактной опухоли, эффект ангиогенеза в котором учитывается путем увеличения значения единственного параметра.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Разработана физиологически обоснованная математическая модель роста солидной опухоли в ткани с учетом ангиогенеза и антиангиогенной терапии. Получены аналитические формулы для скоростей роста компактных и диффузных опухолей, эффект ангиогенеза в которых учитывается на качественном уровне путем увеличения значения единственного параметра. Его вариация показывает, что антиангиогенная терапия может обеспечить уменьшение скорости роста компактных опухолей в несколько раз, но уменьшение скорости роста для диффузных опухолей должно быть лишь незначительным, что хорошо согласуется

- с клиническими данными. На основании численного моделирования динамики опухолей со смешанным типом роста, проведенным при вариации значения параметра собственной подвижности опухолевых клеток, выдвинуто предположение о том, что максимально возможный ангиогенный эффект с точки зрения снижения скорости опухоли для высокоинвазивных опухолей должен составлять около 10-15%.
2. На основании численного исследования математической модели роста солидной опухоли и антиангиогенной монотерапии выдвинуто предположение о том, что кратковременное повышение уровня кислорода внутри опухоли, зачастую происходящее в первые дни проведения антиангиогенной терапии, может являться следствием падения скорости потребления кислорода опухолью из-за снижения уровня ее пролиферации, вызванного уменьшением притока питательных веществ. Данный эффект проявляется в модели в широком диапазоне физиологически обоснованных параметров.
 3. На основании результатов численных симуляций математической модели комбинированной антиангиогенной терапии и фракционированной радиотерапии выдвинуто предположение о том, что результат добавления антиангиогенной терапии к фракционированной радиотерапии должен зависеть от радиочувствительности опухоли: использование антиангиогенной терапии может повысить общую эффективность лечения при ее низких значениях; однако может снизить терапевтический эффект при высокой радиочувствительности опухолевых клеток.

Научная и практическая значимость работы. Разработанная математическая модель роста солидной опухоли в ткани использует новый подход в математическом моделировании в онкологии, позволяя рассматривать два типа роста васкуляризованной опухоли в ткани – диффузный и компактный – а также их комбинацию, что, как было показано в данной работе, является критически важным для оценки влияния антиангиогенной терапии на скорость роста опухоли, а также должно быть значимым для оценки эффективности других типов противоопухолевой терапии. В модели предложены новые физиологически обоснованные подходы для определения притока кислорода из капилляров в ткань, и для оценки влияния антиангиогенной терапии на процесс ограниченной диффузии жиронерастворимых веществ через поры капилляров, что

позволило выдвинуть новое предположение о причине явления временного облегчения внутриопухолевой гипоксии, зачастую проявляющееся на практике в первые дни проведения антиангиогенной терапии. В данной работе с помощью математического моделирования выдвинуты два предположения, которые, в случае их экспериментального подтверждения, позволят выявлять на практике группы пациентов, для которых добавление антиангиогенной терапии к фракционированной радиотерапии будет иметь значительный положительный или отрицательный эффект. Дальнейшее развитие рассматриваемой модели может состоять в её использовании для теоретических исследований по оптимизации фракционированной радиотерапии в комбинации с антиангиогенной терапией, целью которых будет являться поиск наиболее оптимального распределения доз облучения в зависимости от опухоли-специфичных и пациент-специфичных параметров с целью повышения эффективности такого комбинированного лечения.

Методология и методы исследования. Работа проведена в рамках методов математического моделирования.

Апробация работы. Основные результаты работы были доложены и обсуждены на следующих конференциях:

1. Mathematical modelling in biomedicine (Москва, Россия, 30 сентября – 4 октября 2019 г.);
2. VI Съезд биофизиков России (Сочи, Россия, 16-21 сентября 2019 г.);
3. Математика, компьютер, образование (Пушино, Россия, 28 января – 2 февраля 2019 г.);
4. 11th European Conference on Mathematical and Theoretical Biology (Лиссабон, Португалия, 23-28 июля 2018 г.);
5. 17th International Symposium on Mathematical and Computational Biology (Москва, Россия, 30 октября – 3 ноября 2017 г.);
6. Математика, компьютер, образование (Пушино, Россия, 23-28 января 2017 г.);
7. 10th European Conference on Mathematical and Theoretical Biology (Ноттингем, Англия, 11-15 июля 2016 г.);
8. Математика, компьютер, образование (Дубна, Россия, 25-30 января 2016 г.);

9. V Съезд биофизиков России (Ростов-на-Дону, Россия, 4-10 октября 2015 г.);
10. Математика, компьютер, образование (Пушино, Россия, 26-31 января 2015 г.);

Личный вклад. Все представленные в диссертации результаты получены лично автором. В постановке задач, обсуждении результатов и подготовке к печати рукописей научных публикаций принимали участие соавторы: научный руководитель А. В. Колобов и – в двух публикациях – В. В. Губернов. Соавторы одной из работ, С. С. Симаков и Н. О. Городнова, занимались разработкой и исследованием отдельной модели стационарного кровотока в микроциркуляторной сети.

Публикации. По материалам работы опубликовано 13 рецензированных статей в журналах, индексируемых в базах данных Web of Science, Scopus и RSCI.

Объем и структура работы. Диссертация состоит из введения, четырех глав и заключения. Полный объем диссертации составляет 156 страниц с 23 рисунками и 3 таблицами. Список литературы содержит 300 наименований.

Глава 1. Обзор литературы

1.1 Ангиогенез и антиангиогенная терапия

1.1.1 Ключевые признаки злокачественных опухолей

Наше понимание природы рака стремительно развивается со временем [19]. На сегодняшний день хорошо известно, что непосредственная причина возникновения злокачественных опухолей – это не изменения в структуре лимфы, как считалось в 17-м веке, не заражение с помощью паразитов, как считалось в 18-м веке, не хроническое раздражение и не травмы, как считалось в 19-м веке. Правильная идея о том, что злокачественные опухоли возникают из-за генетических (и эпигенетических) мутаций, обсуждалась еще с начала 20-го века [20]. Несмотря на это, наши знания о злокачественных новообразованиях все еще очень неполны из-за их невероятной сложности. Современную концепцию рака сформулировали Дуглас Ханахан и Роберт Вайнберг на рубеже 20-го и 21-го веков в статье “Ключевые признаки рака”, оказавшей огромное влияние на развитие онкологии [21]. Согласно современной концепции, злокачественные опухоли, при всем их разнообразии, имеют набор общих отличительных признаков, вызванных изменениями в клеточной физиологии, которые в совокупности определяют злокачественный рост:

1. Поддержание пролиферативного сигналинга;
2. Избегание супрессии клеточного роста;
3. Сопротивление клеточной гибели;
4. Неограниченное деление;
5. Индуцирование ангиогенеза, т.е., образования кровеносных сосудов;
6. Активация инвазии и метастазирования.

Позже, в 2011-м году, Ханахан и Вайнберг выделили еще четыре ключевых признака [22]:

7. Нарушенный энергетический метаболизм;
8. Избегание уничтожения иммунитетом;
9. Нестабильность генома;
10. Воспаление, стимулирующее развитие опухоли.

Такой подход к рассмотрению злокачественных опухолей является общепринятым, несмотря на некоторую критику, в основном связанную с недо-

статком признаков, характеризующих онкологические заболевания на тканевом уровне [23], а также с тем фактом, что все признаки, кроме способности к инвазии и метастазированию в отдаленные органы, в той или иной степени могут быть характерны и для доброкачественных опухолей [24].

Последние два признака в списке являются в определенной степени основополагающими, так как именно благодаря нестабильности генома клетки опухоли приобретают остальные ключевые признаки, и их приобретение ускоряется под действием воспалительного процесса, запускающегося клетками иммунной системы [25]. Известно, что частота мутаций генов в злокачественных клетках по крайней мере на два порядка выше по сравнению с их частотой в соответствующих нормальных клетках [26]. Частые мутации приводят к гетерогенному и постоянно меняющемуся клеточному составу опухоли. Сопоставимую роль во внутриопухолевой гетерогенности играют и эпигенетические модификации, которые приводят к наследуемым изменениям фенотипов клеток без изменения их генотипов [27]. Следовательно, прогрессия онкологического заболевания определяется развитием опухолевых клеток под влиянием селекции, одним из движущих факторов которой является конкуренция за питательные ресурсы [28]. Явление прогрессии опухолей привлекает широкое внимание, поскольку оно приводит к увеличению их злокачественности со временем. Кроме того, большой проблемой для лечения злокачественных опухолей является их способность приобретать резистентность к лекарственным средствам путем распространения этого признака внутри опухолей из-за вызванного лекарствами селективного давления [29].

1.1.2 Рост солидной опухоли

Первые четыре перечисленных признака злокачественных опухолей могут быть объединены в одну концепцию, а именно: злокачественные клетки могут неограниченно делиться при благоприятных для этого условиях, в частности, при достаточном уровне питательных веществ. Эта концепция явно подтверждается экспериментами с культурами опухолевых клеток *in vitro*, в которых на начальной стадии проявляется закон экспоненциального роста числа клеток [30]. Впоследствии, когда питательные вещества истощаются, общая скорость роста клеточной культуры замедляется, так как некоторые клетки перестают размножаться и переходят в состояние покоя, для поддержания которого требуется

значительно меньше питательных веществ [31]. В работах по исследованию роста многоклеточных опухолевых сфероидов (МОС), т.е., трехмерных агрегатов злокачественных клеток, в питательном растворе, было неоднократно показано, что после короткой начальной фазы экспоненциального роста радиус МОС линейно увеличивается со временем, при этом сфероид приобретает характерную структуру, состоящую из центрального некротического ядра и тонкого внешнего слоя живых клеток, толщина которого остается постоянной во времени [32; 33]. Толщина этого слоя определяется диффузией питательных веществ из раствора, окружающего МОС. При этом живой слой сфероида состоит не только из пролиферирующих клеток – значительную его часть составляют покоящиеся клетки, т.е., клетки, недвигающиеся по клеточному циклу. С увеличением концентрации метаболитов в среде увеличивается толщина живого слоя МОС и пропорционально увеличивается скорость его роста.

Структура солидной опухоли, растущей в ткани, может как соответствовать структуре МОС, так и значительно отличаться от нее, что продемонстрировано на Рис. 1.1. При этом солидным опухолям, которые имеют различную структуру, соответствуют различные схемы поступления к ним питательных веществ. Инкапсулированные и минимально инвазивные опухоли растут как компактные объекты, и их структура аналогична структуре МОС [34]. Приток питательных веществ в такие опухоли происходит путем диффузии от капилляров, расположенных в перитуморальной области, которые расталкиваются пролиферирующей опухолевой массой. Такое ограничение в итоге приводит к метаболическому стрессу в ядре опухоли и последующему образованию некроза в нем, что ограничивает скорость роста опухоли.

Опухоли инвазивного типа растут путем инфильтрации окружающих тканей, и в таком случае отсутствует четкая граница между опухолью и нормальной тканью [35]. Этот факт в значительной степени затрудняет лечение, в частности, операционное вмешательство [36; 37]. В общем случае рост реальной опухоли представляет собой комбинацию двух указанных типов, при этом компактный тип роста характерен для доброкачественных и низкостадийных злокачественных опухолей, а инвазивный тип роста играет все большую роль при прогрессии опухоли [38]. Метастазирование с образованием новых очагов в удаленных органах проявляется на высоких стадиях, и именно вторичные очаги являются причиной большинства смертей от онкологических заболеваний [39].

Однако стоит отметить, что доброкачественные опухоли, растущие компактно, могут достигать огромных размеров – а именно, десятков сантиметров в поперечнике при массе в несколько килограммов [40; 41]. Тем не менее, такая картина развития опухолей является исключением – в отсутствие инвазии в окружающие ткани скорость роста опухоли как правило замедляется со временем из-за повышенного давления в ткани, вызванного ее пролиферацией [42] и из-за оттока жидкости из некротической зоны [43].

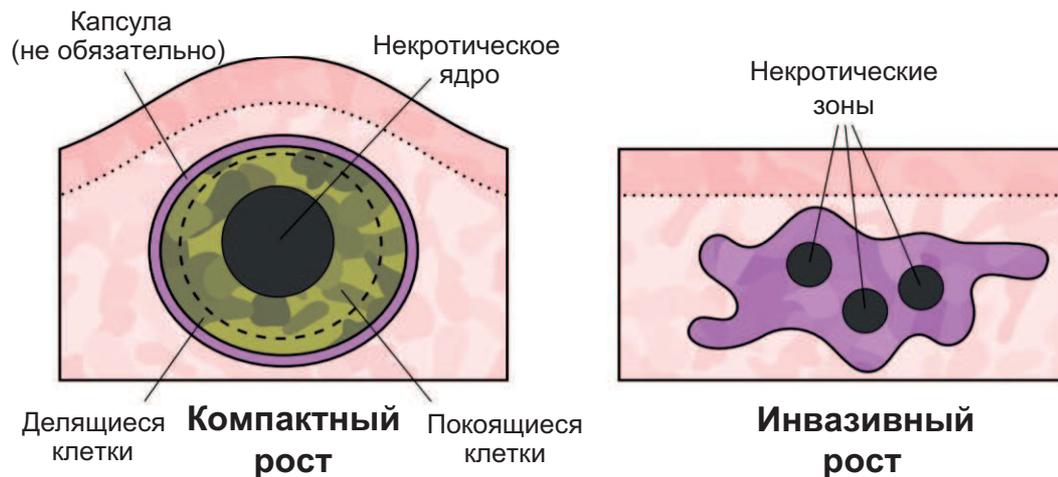


Рисунок 1.1 — Типы роста солидных опухолей.

Структура инвазивных опухолей обеспечивает ее клеткам бóльшую доступность к притоку питательных веществ из капилляров, окружающих опухоль, по сравнению с компактными опухолями. Более того, значительное количество капилляров может находиться внутри таких опухолей [44], хотя как правило со временем происходит их постепенное разрушение из-за давления, вызванного пролиферацией и миграцией опухолевых клеток [45], а также из-за различных химических факторов, включая изменения в экспрессии факторов роста сосудов, называемых ангиопоэтинами [46]. Однако даже при нормальной плотности микроциркуляторной сети рост опухоли в ткани ограничен, поскольку пролиферирующие опухолевые клетки потребляют гораздо больше питательных веществ, чем соответствующие нормальные клетки [47]. Понижение уровня питательных веществ внутри опухоли приводит к тому, что достаточно большая часть опухолевых клеток испытывает недостаток питательных веществ, даже если их приток достаточен для окружающих здоровых тканей. В состоянии метаболического стресса опухолевые клетки вырабатывают сигнальные

молекулы, которые стимулируют процесс образования новых сосудов – ангиогенез [48].

1.1.3 Ангиогенез

В здоровом организме ангиогенез играет ключевую роль в нескольких физиологических процессах, среди которых регенерация поврежденной ткани и образование новой мышечной и жировой тканей [49]. Термином “ангиогенез” обозначается формирование новых кровеносных сосудов на основе уже имеющейся сети. Первые кровеносные сосуды в развивающемся зародыше образуются в процессе васкулогенеза, после чего ангиогенез ответственен за образование большей части, если не всех, оставшихся сосудов [50]. В норме каждая клетка организма находится в пределах нескольких сотен микрометров от капилляров [49; 51], через стенки которых происходит обмен растворенными веществами между кровью и межклеточной жидкостью, при этом плотность капиллярной сети увеличивается в метаболически активных тканях.

Научное исследование ангиогенеза началось с работ Джуды Фолкмана 60-х годов, в которых он отмечал, что для роста опухолей, имплантированных в изолированные перфузированные органы, за пределы нескольких миллиметров в диаметре необходима неоваскуляризация опухолевой ткани [52; 53]. Выделяют два ключевых процесса, посредством которых происходит ангиогенез: прорастание сосудов и их расщепление. Явление прорастания сосудов на сегодняшний день изучено гораздо лучше, и считается, что именно такой процесс происходит при опухолевом ангиогенезе [54]. Расщепление сосудов, впервые обнаруженное в 1986-м году [55], служит для формирования бифуркаций артерий и вен [56], а также играет важную роль в эмбриональном развитии, происходящем в условиях нехватки ресурсов для создания новых эндотелиальных клеток [57].

Ключевые проангиогенные факторы, запускающие процесс ангиогенеза, это представители семейства факторов роста фибробластов, FGF1 и FGF2, а также VEGF-A, который является самым изученным представителем семейства факторов роста эндотелия сосудов и зачастую обозначается просто как VEGF [58]. Связывание этих проангиогенных факторов с соответствующими рецепторами эндотелиальных клеток запускает каскад передачи сигнала, который приводит к активации генов, отвечающих в том числе за пролиферацию и миграцию эндотелиальных клеток [59; 60]. Самым сильным проангиогенным

фактором считается FGF1, и что особенно важно, его воздействие стимулирует также пролиферацию и дифференциацию гладкомышечных клеток, необходимых для формирования стенок артерий [61]. В отличие от FGF1, VEGF в первую очередь стимулирует формирование новых капилляров, стенки которых состоят из монослоя эндотелиальных клеток. Именно VEGF является ключевым проангиогенным фактором, вырабатываемым опухолевыми клетками [62]. Образование новых капилляров под действием VEGF происходит в несколько хорошо выраженных этапов: сначала происходит ферментативная деградация базальной мембраны капилляров; затем из существующего капилляра за счет пролиферации эндотелиальных клеток вырастают отростки, направляемые миграцией ведущих эндотелиальных клеток вдоль градиента концентрации VEGF; при этом происходит формирование трубок из эндотелиальных клеток, чем и являются капилляры; при встрече отростков происходит слияние образованных капилляров и их стабилизация за счет отложения внеклеточного матрикса, появления механических сил, связанных с кровотоком, и укрепления их стенок поддерживающими клетками – перицитами [63]. Важно отметить, что воздействие VEGF на капилляры приводит к их расширению и к увеличению их проницаемости [64]. При этом изначально этот белок был открыт именно как фактор проницаемости сосудов (VPF) в 1983-м году [65], а спустя три года он был независимо открыт уже как фактор роста эндотелия сосудов [66].

В здоровом организме процесс ангиогенеза тонко организован сбалансированным совместным действием про- и антиангиогенных факторов, что приводит к точно настроенной под каждый орган и хорошо функционирующей сосудистой системе, для которой как правило характерна древовидная структура [67]. Однако непрекращающаяся чрезмерная выработка проангиогенных факторов злокачественной опухолью приводит к образованию хаотически организованной микроциркуляторной сети, капилляры которой характеризуются аномальной морфологией эндотелиальных клеток, недостатком поддерживающих перицитов и вытекающими из этого изменениями в их форме и функциональности – опухолевые капилляры расширены, извилисты и гораздо более проницаемы для плазмы крови и растворенных в ней веществ, чем обычные сплошные капилляры, которые являются преобладающим типом микрососудов тела [68; 69]. Из-за увеличенной проницаемости капилляров рост опухоли часто сопровождается отеком, который отчетливо виден с помощью магнитно-резо-

нансной томографии [70]. При этом повышение давления интерстициальной жидкости внутри опухолей как правило ухудшает дальнейший приток плазмы крови в нее, что негативно сказывается на доставке крупномолекулярных лекарств [71].

1.1.4 Антиангиогенная терапия

Идея противоопухолевой антиангиогенной терапии (ААТ) была впервые высказана Джудой Фолкманом в начале 70-х годов [72]. Тогда он писал, что предложенная им терапия потенциально может переводить опухоль в “вечно спящее” состояние, и кроме того, может остановить метастазирование опухолевых клеток ввиду органичения их доступа к кровеносным сосудам. Для воплощения ААТ в жизнь потребовалось более тридцати лет. Стоит отметить, что ангиогенез как терапевтическая мишень интересен не только в контексте онкологических заболеваний – сегодня ААТ используется для лечения возрастной макулярной дегенерации, приводящей к потере зрения [73], кроме того, исследуется возможность применения ААТ при лечении ожирения [74]. С другой стороны, некоторые заболевания, характеризующиеся плохой васкуляризацией, в частности ишемия, могут быть вылечены путем стимуляции ангиогенеза [75].

Первый антиангиогенный препарат, бевацизумаб, был одобрен для медицинского применения в 2004-м году и используется под торговой маркой “Авастин”. Его действие заключается в необратимом связывании с VEGF, который в результате этого становится неактивным [76]. По состоянию на июнь 2020 года для использования в клинической практике одобрены еще тринадцать антиангиогенных препаратов [77], действие по крайней мере двенадцати из которых также направлено на нейтрализацию влияния VEGF на эндотелиальные клетки. Действие девяти из них заключается в ингибировании передачи его сигнала в клетке [78], действие одного – зив-афлиберцепта, известного также как “ловушка для VEGF” – аналогично действию бевацизумаба [79], а один препарат – рамуцирумаб – сам связывается с рецепторами VEGF на эндотелиальных клетках, блокируя тем самым возможность его связывания с ними [80]. Точный механизм антиангиогенного действия еще одного препарата – талидомида – до сих пор не известен [81].

Ингибирование действия VEGF приводит к прекращению образования новых капилляров, а также к нормализации структуры уже образованных опухо-

левых капилляров [82], нормализации плотности микроциркуляторной сети [83] и нормализации опухоль-ассоциированного отека [84]. Однако ААТ сама по себе неспособна полностью уничтожить опухоль. Большинство клинически одобренных схем, которые включают антиангиогенные препараты, сочетают их с различными классическими химиотерапевтическими агентами [85]. Действие цитостатической и цитотоксической химиотерапии (ХТ) направлено на все активно делящиеся клетки организма, но поскольку опухолевые клетки делятся гораздо чаще, чем нормальные, влияние ХТ на них как правило превалирует над ее влиянием на нормальные клетки. Тем не менее, ХТ часто приводит к значительным побочным эффектам, которые ограничивают эффективность проводимого лечения, ухудшают качество жизни больных, а порой и вовсе представляют прямую угрозу их жизни [86]. Рациональное использование ХТ совместно с ААТ может позволить повысить итоговую эффективность лечения без усиления побочных эффектов. Однако два типа терапии, действующих одновременно, взаимодействуют друг с другом различными способами. Одним из ключевых аспектов является то, что ААТ влияет на приток химиотерапевтического препарата в ткань, причем в зависимости как от параметров препарата, так и от многих других факторов ААТ может как усилить приток препарата [87], так и ослабить его [88; 89]. Таким образом, добавление ААТ может даже скомпрометировать действие ХТ, и значительное влияние на итоговую эффективность терапии оказывает расписание введения препаратов [90]. Стоит отметить, что ААТ также не лишена побочных эффектов, связанных с влиянием ингибиторов ангиогенеза на неопухолевые сосуды, и включающими желудочно-кишечные перфорации, нарушение заживления ран, кровотечение, гипертонию и тромбоз [91; 92]. Разумеется, проведение ААТ запрещено для беременных женщин. Одна из крупных медицинских катастроф произошла в конце 1950-х и начале 1960-х годов, когда более десяти тысяч детей родились с серьезными деформациями тела вследствие употребления их матерями талидомида, об антиангиогенных свойствах которого тогда было еще не известно [93].

Ранние эксперименты на мышинных моделях опухолей показали многообещающие результаты в отношении использования антиангиогенных препаратов в монорежимах, поскольку их применение позволило достичь значительных задержек роста опухолей. Однако в большинстве клинических испытаний введение моно-ААТ не привело к сколько-нибудь заметному увеличению выживаемо-

сти [94]. Предполагается, что такое несоответствие связано с одним очевидным качественным различием между доклиническими и клиническими тестами – в то время как первые в основном проводились на локализованных первичных опухолях, последние были сосредоточены на поздних стадиях заболеваний, что в целом характерно для клинических исследований [9]. Только в относительно недавнем времени были начаты клинические испытания локализованных опухолей на ранней стадии. Их предварительные данные свидетельствуют об эффективности моно-ААТ для таких опухолей, по крайней мере, с точки зрения уменьшения массы опухоли [95].

Тот факт, что эффективность терапии должна уменьшаться с озлокачиванием опухоли, неудивителен и является хорошо известным явлением для других типов противоопухолевого лечения, включая ХТ [96]. Для объяснения такого явления для ААТ были предложены как минимум четыре механизма резистентности опухоли [97]. Два из них направлены на минимизацию эффекта терапии: это защита капиллярной системы опухоли от разрушения, например, путем привлечения проангиогенных воспалительных клеток или путем утолщения слоя перицитов; а также производство других проангиогенных факторов, которые могут воздействовать на рецепторы VEGF [98]. Два других родственных механизма должны действовать даже при достижении максимально возможного антиангиогенного эффекта. Это ускорение метастазирования и усиленная инвазивность опухолевых клеток, которая позволяет им перемещаться из областей с недостатком питательных веществ. Существует значительное количество экспериментальных доказательств того, что ААТ зачастую ускоряет прогрессию опухоли в направлении все более инвазивных фенотипов, тем самым сводя на нет изначальный антиметастатический эффект [9; 99]. На основании этих наблюдений было выдвинуто предположение, что опухоли, которые изначально имеют инвазивный фенотип, должны обладать устойчивостью к ААТ, в то время как компактно растущие опухоли должны быть более восприимчивыми к нему [97]. Стоит отметить, что формально прямое экспериментальное доказательство этого утверждения получить вряд ли возможно, поскольку для этого необходимо полностью прекратить процесс мутирования опухолевых клеток, что невозможно.

1.1.5 Облегчение внутриопухолевой гипоксии

Интересная особенность ААТ, обнаруженная в экспериментах на некоторых мышинных моделях опухолей, заключается в том, что она может приводить к временному повышению уровня кислорода внутри опухоли [10; 11]. Интерес к этому явлению связан с тем, что оно создает основу для оптимизации комбинированной радиотерапии (РТ) и ААТ. Действие РТ заключается в повреждении ДНК клеток, которое может быть прямым или косвенным, т.е., нанесенным свободными радикалами, образованными радиолизом воды. В случае наиболее распространенного типа РТ, фотонной терапии, преобладает косвенный ущерб. Он может быть химически восстановлен, при этом кислород является важным ингибитором этого процесса и, следовательно, ключевым радиосенсибилизатором [100]. Эксперименты *in vitro* показывают, что радиочувствительность клеток в воздухе и при гипоксии может различаться в три раза [101]. Этот факт привел к активному поиску методов улучшения оксигенации опухолей при проведении РТ, некоторые из которых оказались успешными, как, например, термордиотерапия, которая в настоящее время используется в клиниках [102].

В соответствующих работах явление временного облегчения внутриопухолевой гипоксии в первые дни ААТ объясняется тем, что нормализация структуры микрососудов, вызванная прекращением воздействия на них VEGF, приводит к улучшению кровотока в опухолях в первые дни антиангиогенного лечения, из-за чего приток кислорода к опухоли временно повышается [103]. При постоянном градиенте давления, на который ААТ не влияет напрямую, кровоток обратно пропорционален сопротивлению капиллярной системы, и, следовательно, улучшение кровотока должно быть прямым следствием падения общего сопротивления микрососудистой сети. Однако нейтрализация VEGF приводит в действие множество физиологических процессов, каждый из которых сам по себе оказывает на него разное влияние. Некоторые из процессов действительно должны приводить к снижению сопротивления капилляров, наиболее важным из которых является, по-видимому, снижение интерстициального давления, которое, как правило, повышено в опухолях не только из-за увеличенной проницаемости сосудов для плазмы крови, но и из-за деградированной лимфатической системы [104]. Однако напротив, уменьшение диаметров капилляров должно приводить к увеличению геометрического сопротивления капилляров, и разру-

шение капилляров в конечном итоге приводит к увеличению общего сопротивления. Сужение капилляров должно также приводить к снижению гематокрита, то есть к уменьшению содержания кровяных клеток в капиллярной крови, что, в свою очередь, должно приводить к снижению вязкого сопротивления, но также и к уменьшению концентрации кислорода в капиллярах, поскольку он переносится эритроцитами.

Именно сложное взаимодействие всех этих факторов определяет изменение итогового сопротивления капиллярной системы опухоли и влияет на приток кислорода в опухоль. Поэтому разумно предположить, что результат этого взаимодействия будет различаться в каждом конкретном случае и будет зависеть от факторов, специфичных для конкретной опухоли, конкретного пациента и конкретного органа. Эта идея подтверждается результатами других экспериментов на мышинных моделях опухолей, которые, в отличие от вышеупомянутых, демонстрируют снижение перфузии опухолей с самого начала ААТ [105; 106]. Более того, недавние клинические испытания показывают, что изменения в перфузии и оксигенации опухолей могут значительно варьироваться даже в пределах одной выборки пациентов, указывая на то, что эти эффекты сильно различаются от случая к случаю [107; 108].

С другой стороны, концентрация кислорода в опухолевой ткани также зависит от скорости потребления кислорода (СПК) опухолевыми клетками, снижение которого также должно приводить к облегчению внутриопухолевой гипоксии. Этот факт не принимается во внимание в большинстве исследований по этой теме, хотя хорошо известно, что ААТ приводит к изменениям опухолевого метаболизма [109]. Особый интерес представляет тот факт, что приток двух основных питательных веществ, кислорода и глюкозы, изменяется по-разному в процессе нормализации микрососудов. Перенос обеих этих малых молекул через стенки капилляров регулируется процессом диффузии, но кислород, как низкомолекулярное жирорастворимое вещество, способен диффундировать непосредственно через стенку капилляра, поэтому его приток остается практически неизменным, а диффузия глюкозы (как и абсолютного большинства других питательных веществ) сильно зависит от количества и размеров пор [67], поэтому ее приток значительно уменьшается вследствие нормализации структуры капилляров, что, в свою очередь, ограничивает пролиферацию опухолевых клеток, поскольку этот процесс зависит от глюкозы как от основного энергетического

питательного вещества и основного субстрата для биосинтеза [110]. Это хорошо иллюстрируется тем фактом, что чрезмерная экспрессия ангиопоэтина-1, приводящего к увеличению зрелости микрососудов без изменений в их плотности, ведет к значительному замедлению роста опухоли [111].

Такие рассуждения приводят к вопросу о том, является ли увеличение кровотока единственной причиной облегчения гипоксии в ходе антиангиогенного лечения. Важно отметить, что два параметра – перфузия опухоли и давление кислорода внутри нее – редко измеряются совместно. Однако в работе [11] описан эксперимент с одновременными менее чем двукратным увеличением перфузии опухоли и почти четырехкратным увеличением давления кислорода в опухоли, что хорошо согласуется с другими экспериментальными работами, где эти величины измеряются по отдельности [10; 112]. Эти данные вызывают сомнения в том, что увеличение опухолевого кровотока является единственной причиной временного облегчения внутриопухолевой гипоксии.

Другим интересным аспектом является то, что из-за временного характера облегчения внутриопухолевой гипоксии проявление этого эффекта не гарантирует, что добавление ААТ повысит общую эффективность лечения. Более того, конечный результат и основная цель ААТ – это уменьшение притока питательных веществ к опухоли, что означает эскалацию гипоксии в долгосрочной перспективе [99]. Поэтому неудивительно, что доклинические и клинические исследования демонстрируют неоднозначные результаты касательно эффективности такого комбинированного лечения [17; 113; 114]. Однако, несмотря на их разнообразие, не проводилось систематического исследования с целью выявления общих критериев, которые помогли бы спрогнозировать результат добавления ААТ к РТ. Более того, найти решение этой проблемы на основе имеющихся экспериментальных исследований вряд ли возможно из-за отсутствия подробных данных. В такой ситуации теоретическое исследование по математическому моделированию может быть очень полезным инструментом.

1.2 Математическое моделирование опухолевого роста

1.2.1 Цели и сложности

С одной стороны, математическое моделирование в онкологии – это достаточно старая область исследований: по-видимому, первая статья, в которой

уравнение для роста солидных опухолей сформулировано на основе общих рассуждений и применено к экспериментальным данным, появилась еще в 1932-м году [115]. С другой стороны, активное развитие этой области началось только в последние десятилетия, не в последнюю очередь благодаря бурному развитию компьютерных технологий. Как показано на Рис. 1.2, в 80-е годы было опубликовано совсем немного статей, затрагивающих тему математического моделирования в онкологии. В последние же годы ежегодное число соответствующих статей, публикуемых только в журналах, индексируемых в Web of Science Core Collection, превышает пять сотен. При этом если в прошлом веке такие статьи публиковались только в специализированных журналах и журналах, фокусирующихся на точных науках, то в этом веке работы по исследованию рака с использованием математических моделей все чаще стали появляться в ведущих биологических и онкологических журналах, таких как Cell [116–118], Cancer Research [119–121], PNAS [122–124] и Scientific Reports [125–127]. Относительное количество таких исследований среди онкологических работ остается скромным, но их значимость все чаще подчеркивается исследователями разного профиля [118; 128–130].

Математическое моделирование в онкологии имеет огромный потенциал. Во-первых, в настоящее время во многих областях экспериментального исследования онкологических заболеваний накоплено колоссальное количество экспериментальных данных, которые требуют систематического анализа [131–134]. Во-вторых, исследование математических моделей роста и терапии злокачественных опухолей помогает обнаружить неочевидные или неинтуитивные аспекты и позволяет выдвигать новые гипотезы [4; 5; 135–137]. В-третьих, исследование таких моделей позволяет предлагать способы оптимизации используемых терапевтических протоколов [6; 7; 117; 138; 139]. Одной из сильных сторон такого моделирования является то, что его результаты могут быть получены в относительно короткое время без огромных затрат на лабораторные эксперименты. Однако стоит признать, что на сегодняшний день, по сравнению с традиционными методами исследования рака, математическое моделирование роста и терапии опухолей, к сожалению, не может похвастаться значительными успехами. Не последнюю роль в этом играет скептицизм, который оно встречает в достаточно консервативном медицинском сообществе [140]. Причин тому много, среди которых недостаточное понимание медицинскими работниками матема-

тических моделей и наоборот, недостаток понимания со стороны математиков сложности биологических процессов и уровня неопределенности, преобладающего в клинических науках. Нахождение общего языка между исследователями из разных областей – трудная, но необходимая задача. Для ее решения в первую очередь необходимо четко осознавать все сложности математического моделирования опухолевого роста и терапии, которые связаны со сложностями, сопряженных с моделированием любых биологических систем [141–143].

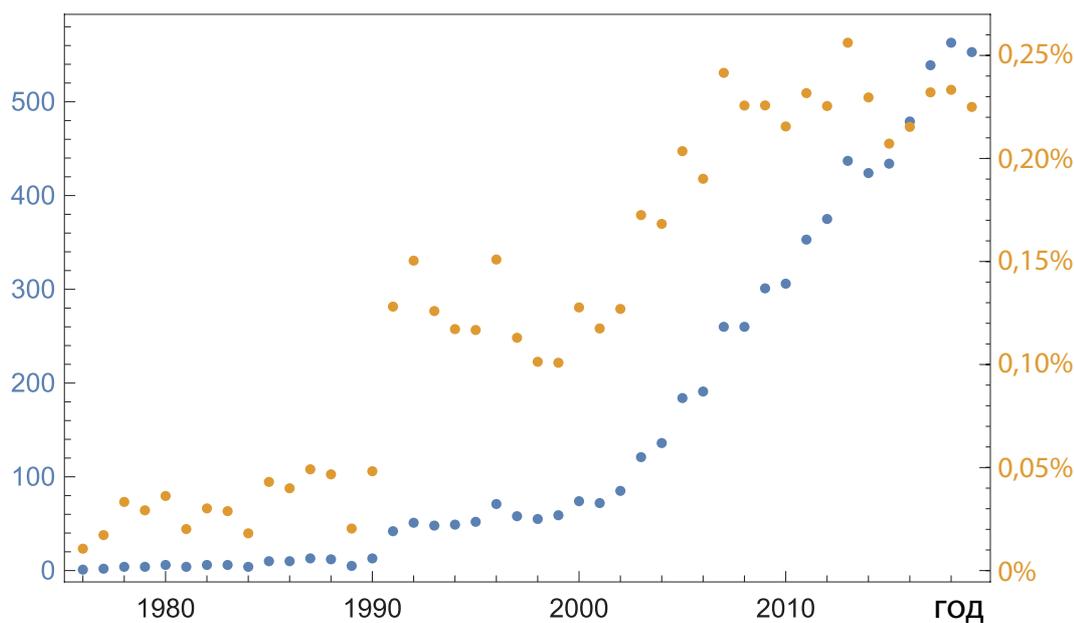


Рисунок 1.2 — Количество статей, затрагивающих тему математического моделирования в онкологии (синие точки) и их доля от общего числа статей по теме онкологических заболеваний (оранжевые точки) в разрезе лет по данным библиографической базы данных Web of Science Core Collection [144]. Поиск статей проводился с использованием терминов cancer и “mathematical model”, tumor и “mathematical modeling”, cancer и “mathematical model”, tumor и “mathematical modeling”. Общее число статей оценено с помощью поиска по термину “cancer”.

Ключевой проблемой при построении математических моделей биологических объектов является необходимость объективно охватить все детали, необходимые для воспроизведения рассматриваемых процессов, при этом избегая излишнего усложнения модели. Несмотря на то, что биологические исследования приносят все больше знаний, разработка все более детальных моделей является непродуктивным подходом. Это связано с тем, что для слишком детальных моделей не имеется возможности надежно оценить все значения используемых параметров, особенно принимая во внимание гетерогенность биологических объ-

ектов, их вариабельность и значительную чувствительность к условиям содержания. В любом случае количественное согласие модельных прогнозов с экспериментами может быть лишь удовлетворительным (по сравнению с, например, физикой), а сами экспериментальные измерения всегда будут демонстрировать широкую вариацию. Пример работы, наглядно иллюстрирующий эти проблемы, рассмотрен в подразделе 1.2.1. Для того, чтобы обеспечить возможность выдвигать с помощью моделирования новые гипотезы на качественном уровне, гораздо важнее добиться качественного согласия между моделью и реальным объектом. Для этой цели лучше подходят не перегруженные деталями модели, которые поддаются анализу и способны дать исследователям представление о базовых физических и биологических принципах. Разумеется, недостаточно подробный учет важных особенностей изучаемых систем также не сможет привести к значимым результатам. Таким образом, существует деликатный баланс между детальностью модели и ее надежностью, которого необходимо придерживаться.

Большой сложностью при моделировании роста и терапии опухолей является необходимость рассмотрения объектов и учета процессов на разных масштабах длины. Характерный размер пор капилляров – примерно 5 нм [145], диаметр капилляра – 5-10 мкм [67], типичный размер клетки – 10-30 мкм [146], расстояние между капиллярами в норме – 100-200 мкм, средняя длина капилляров – 0,5-1 мм [67], а размер опухоли может достигать десятков сантиметров [40; 41]. Таким образом, разница в размерах рассматриваемых объектов может составлять семь и более порядков. Дискретные модели, учитывающие отдельные клетки и процессы на малых масштабах, прекрасно служат для визуализации начальных стадий роста опухоли, но требуют колоссальных вычислительных ресурсов при рассмотрении их дальнейшего роста, и могут быть проанализированы только в вычислительном плане [147–149]. Кроме того, их использование сопряжено с уже упомянутой проблемой – такие модели обычно содержат большое количество параметров, надежность значений которых сомнительна. Непрерывные модели, использующие пространственные усреднения для описания всех переменных, как правило содержат меньше параметров и лучше поддаются анализу и пониманию, однако они всегда сопряжены с вопросами об обоснованности произведенных усреднений [121; 125; 150].

Наконец, существует чрезвычайно важный принцип, подходящий для любого моделирования: результаты модельных исследований всегда верны только в рамках условий и ограничений используемых моделей. Моделирование неспособно заменить собой непосредственные экспериментальные измерения, и должно использоваться в первую очередь в случае невозможности или непрактичности соответствующих измерений, вызванных физическими, экономическими или этическими причинами.

1.2.2 Феноменологические кривые роста опухоли

Целью первых математических моделей роста опухолей было приближенное описание изменения экспериментально измеренных объемов трансплантированных опухолей *in vivo* [115; 151]. Эти модели направлены на макроскопическое, феноменологическое описание самой картины роста, и не учитывают в явном виде ни структуру опухоли, ни основные процессы, которые определяют скорость ее роста. Однако нельзя недооценивать важность исследований такого рода с практической точки зрения – на сегодняшний день исследование кинетики роста опухоли и ее изменений под действием различных агентов является наиболее широко используемым методом исследования в онкологии [152–155]. Тем не менее, такие модели по сути близки к статистической обработке данных, и непригодны для создания обобщающих теорий и выдвижения новых гипотез.

Как было отмечено в подразделе 1.1.2, злокачественные клетки опухоли способны неограниченно делиться при благоприятных для этого условиях, однако увеличение объема МОС в растворе и реальной опухоли в ткани является приближенно экспоненциальным только на раннем этапе. На следующем этапе из-за появления пролиферативной гетерогенности, обусловленной ограничениями диффузионного притока питательных веществ, радиус опухоли с хорошим приближением увеличивается линейно, что исследователи отмечали уже в 30-е годы [115; 156; 157]. Дальнейший рост опухоли в ткани при отсутствии инфильтрации сопровождается процессами, которые могут ограничить ее максимально допустимый объем – повышением давления в ткани и оттоком некротической жидкости [42; 43]. Максимальный объем МОС также как правило ограничен из-за отделения клеток от поверхности многоклеточного сфероиды [158; 159]. Таким образом, типичная для МОС и компактных опухолей кривая роста – это сигмоидальная кривая с тремя фазами: начальная экспоненциальная фаза, фа-

за линейного роста и фаза плато, при которой наступает баланс между скоростями деления и гибели/потери опухолевых клеток [160].

Первая фаза роста описывается простым дифференциальным уравнением

$$V'(t) = B \cdot V(t), \quad (1.1)$$

где $V(t)$ – объем опухоли, зависящий от времени, B – постоянная скорость деления клеток. Его решение:

$$V(t) = V_0 e^{Bt},$$

где V_0 – объем опухоли в момент времени $t = 0$, соответствующий началу измерений. Более общее уравнение в 1963-м году предложил Мортимер Мендельсон [161]:

$$V'(t) = B \cdot V^a(t). \quad (1.2)$$

При $a = 1$ оно совпадает с предыдущим и описывает экспоненциальный рост, но при $a \neq 1$ его решение:

$$V(t) = \{[Bt[1 - a] + V_0^{1-a}]\}^{\frac{1}{1-a}}.$$

В 1968-м году Мендельсон с коллегами, фитируя кривые роста опухолей молочной железы мыши этим уравнением, показали, что многие опухоли растут в соответствии с ним, при этом $a = 2/3$ [162]. Однако это значение было выведено еще в 1932-м году Майенордом [115] из следующего умозрительного рассуждения. Если опухоль имеет сферическую форму с объемом V , ее площадь поверхности пропорциональна $V^{2/3}$. Если рост опухоли ограничен диффузией питательных веществ через ее поверхность, то скорость увеличения объема опухоли должна быть пропорциональна площади ее поверхности. В таком случае на больших временах можно считать, что $V(t) \sim t^3$, а радиус опухоли увеличивается линейно со временем. При этом ширина пролиферирующего слоя клеток сохраняется.

Уравнение Мендельсона описывает ничем не ограниченный рост опухоли. В 1964-м году Анна Кейн Лэйрд использовала для описания роста опухоли другой подход [151], основанный на уравнении, которое предложил Бенджамин Гомперц еще в 1825-м году [163] в качестве метода оценки человеческой смертно-

сти для страховых компаний. Впоследствии оно было использовано для различных биологических задач, связанных с ростом органов [164], организмов [165], популяций организмов [166], и опухолей [167–170]. Основная идея, формализованная уравнением Гомперца, заключается в том, что скорость роста сама по себе экспоненциально падает:

$$\begin{aligned} V'(t) &= B(t) \cdot V(t), \\ B'(t) &= -\gamma \cdot B(t). \end{aligned} \tag{1.3}$$

Решением этой системы является

$$V(t) = V_0 e^{\frac{B}{\gamma}[1-e^{-\gamma t}]}$$

Кривая Гомперца является сигмоидой и стремится к постоянному значению $V_\infty = V_0 e^{B/\gamma}$ при $t \rightarrow \infty$. Однако стоит отметить, что зачастую на практике это значение настолько большое, что носитель опухоли погибает задолго до того, как объем опухоли к нему приблизится. Уравнение Гомперца можно переписать в эквивалентной форме, учитывающей это значение в явном виде:

$$V'(t) = \gamma \cdot V(t) \ln \frac{V_\infty}{V(t)} \tag{1.4}$$

Известным примером функции, обладающей таким же качественным поведением, является логистическая кривая. Она является решением уравнения

$$V'(t) = B \cdot V(t) \left[1 - \frac{V(t)}{K}\right], \tag{1.5}$$

которое предложил Пьер Франсуа Ферхюльст в 1838-м году для описания динамики популяции, объем которой ограничен вместимостью K [171]. Это уравнение также использовалось в огромном количестве биологических исследований [172]. Его решение:

$$V(t) = \frac{K \cdot V_0 e^{Bt}}{V_0 [e^{Bt} - 1] + K}$$

В отличие от уравнения Гомперца, при логистическом уравнении скорость роста падает линейно с объемом. Логистическая кривая симметрична в том смысле, что точка перегиба, т.е., момент времени с максимальной скоростью

роста, наступает по достижении половины от максимального объема. Кривая Гомперца асимметрична и проходит точку перегиба при $V \approx 0,37 \cdot V_\infty$.

Еще одно уравнение, подходящее для описания роста опухоли, но получившее меньше внимания, это уравнение, которое предложил Карл Людвиг фон Берталанфи в качестве модели роста организма в 1949-м году [173]:

$$V'(t) = B \cdot V(t)^{2/3} - M \cdot V(t), \quad (1.6)$$

Аналогично уравнению Мендельсона при $a = 2/3$, уравнение Берталанфи можно вывести в предположении, что скорость роста опухоли пропорциональна площади поверхности, но кроме того, скорость потери объема опухолью вследствие гибели клеток пропорциональна объему опухоли.

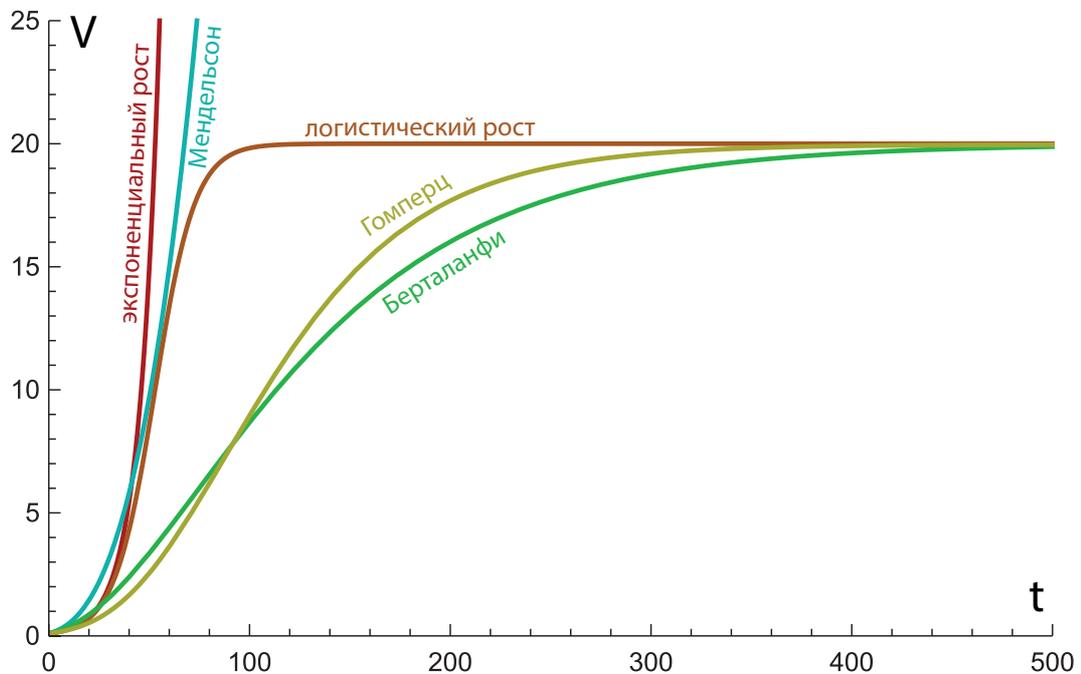


Рисунок 1.3 — Зависимости объема опухоли от времени при скорости деления клеток $B = 0,1$ и начальном объеме $V_0 = 0,1$, задаваемые следующими уравнениями: красная линия — экспоненциальный рост, уравнение (1.1); голубая линия — уравнение Мендельсона (1.2) при $a = 2/3$; оранжевая линия — логистическое уравнение (1.5) при $K = 20$; зеленая линия — уравнение Берталанфи (1.6) при $M = 0,03685$; желтая линия — уравнение Гомперца (1.3) при $\gamma = 0,01888$.

Примеры приведенных кривых роста изображены на Рис. 1.3. Стоит отметить, что каждая из трех сигмоидальных функций содержит лишь по два параметра, варьируемых на практике в поиске наилучшего соответствия экспериментальным данным. Наиболее часто используемой является модель Гом-

перца. При этом в разных работах, где указанные модели сравниваются между собой на определенных выборках, высказываются различные мнения о их качестве фитирования данных и следовательно о том, какая из моделей является наиболее приемлемой в разных случаях [174; 175].

1.2.3 Пространственно-распределенные модели

В начале 70-х годов Роберт Сазерлэнд предложил использовать многоклеточные опухолевые сфероиды (МОС) в качестве экспериментальных объектов для изучения опухолей [176; 177]. Их относительная дешевизна, простота в использовании [178], и сходство с низкостадийными компактными невааскуляризованными опухолями подтолкнуло исследователей к разработке множества математических моделей роста МОС. При всем их разнообразии, все они построены на том фундаментальном принципе, что диффузия и потребление питательных веществ ограничивают рост солидной опухоли [141]. Как уже упоминалось в подразделе 1.2.1, существует два основных подхода для учета пространственно-временных аспектов взаимодействий между популяцией опухолевых клеток и питательными веществами: дискретный, речь о котором пойдет в подразделе 1.2.5, и непрерывный, при котором объекты моделирования описываются пространственно-усредненными переменными, зависящими от переменных времени и пространственных координат. Таким образом, непрерывные модели состоят из уравнений в частных производных. В первых соответствующих моделях, опубликованных в основном в 70-е годы, профили концентрации питательных веществ рассчитываются как функции от изменяющегося со временем радиуса МОС [179—183]. В более поздних моделях роста МОС и опухолей движение опухолевых клеток учитывается в явном виде [184—188]. Довольно общим является предположение радиальной симметрии, при котором игнорируются пространственно-гетерогенные эффекты, кроме радиально-ориентированной пролиферативной гетерогенности. Исключением является большой класс моделей, учитывающих механические свойства опухолевых клеток и других составляющих ткани, который обсуждается в подразделе 1.2.4. В большинстве моделей предполагается, что пролиферация и гибель опухолевых клеток зависит только от одного общего питательного вещества, чаще всего кислорода либо некоторого обобщенного вещества. При этом существует крайне

мало экспериментально подтвержденных моделей, учитывающих динамику и взаимодействия клеточной популяции и питательных веществ.

Выдающимся примером такого рода является работа Сазерлэнда и его коллег [159], в которой учитывается взаимодействие опухолевых клеток с кислородом, глюкозой, диоксидом углерода и пятью ионами. Уравнения динамики восьми химических веществ в этой работе имеют общий вид:

$$\frac{\partial C_i}{\partial t} = P_i - \nabla \cdot \mathbf{N}_i,$$

где C_i – концентрация вещества, \mathbf{N}_i – его поток внутри сфероиды, P_i – сумма членов его локального производства и потребления. Для незаряженных молекул – глюкозы, кислорода и диоксида углерода – поток задается законом Фика:

$$\mathbf{N}_i = -D_i \nabla C_i,$$

где C_i – коэффициент диффузии, что приводит к классическому реакционно-диффузионному уравнению, используемому в огромном количестве соответствующих работ:

$$\frac{\partial C_i}{\partial t} = P_i + D_i \Delta C_i.$$

Член для потока заряженных частиц также учитывает миграцию, вызванную электрическим полем. Для учета реакций с участием рассматриваемых веществ детально моделируются процесс гликолиза и цикл Кребса с учетом влияния pH на них, при этом формы членов потребления кислорода и глюкозы получены фитированием экспериментальных данных по потреблению этих веществ клетками опухоли в монослое при варьируемых концентрациях этих веществ и pH. Скорости деления опухолевых клеток, аналогично, получены фитированием экспериментальных данных по динамике клеток в монослое при разных концентрациях кислорода, глюкозы и pH.

При учете такого количества факторов и такой тщательной параметризации модель позволяет сделать количественные прогнозы, точность которых считается весьма хорошей для биологических моделей, но была бы не более чем удовлетворительной в контексте более точных наук. Например, прогнозируемые уровни потребления кислорода и глюкозы сфероидом с диаметром 1 мм, а также его поверхностная концентрация кислорода превышают соответствующие сред-

ние экспериментальные значения примерно на 27%, 33% и 37% соответственно. Разумеется, модель все равно имеет большое количество допущений и ограничений, дальнейший учет которых может улучшить количественное соответствие. Например, в модели не рассматривается контактное торможение пролиферации клеток, проявляющееся при росте сфероидов в растворе (и тем более опухолей в ткани), но отсутствующее в монослое – так что экспериментально измеренные скорости пролиферации клеток должны быть несколько завышены. В модели также не учитывается формирование некроза и, соответственно, отток некротической жидкости, который должен замедлять рост сфероида, что учитывается феноменологически во многих сравнительно более простых моделях, например, в [180; 183]. Разумеется, это связано не со сложностью соответствующих уравнений, а с самим характером модели Сазерлэнда и его коллег, в которой феноменологический подход сведен к минимуму. Чтобы включить формирование некроза и отток некротической жидкости в их модель, необходимо провести дополнительные эксперименты, в частности, вдобавок к измерению скорости пролиферации клеток в зависимости от концентрации различных веществ также одновременно измерять скорость гибели клеток, так как она также должна зависеть от уровня метаболитов и pH внутри сфероида. Тем не менее, даже при проведении всех дополнительных исследований модель скорее всего будет содержать хотя бы небольшое количество феноменологических параметров, измерение которых затруднено либо невозможно. При этом подбор таких параметров невозможно будет произвести исходя из экспериментальных результатов, так как это будет означать прямую подстройку под желаемый результат. Более того, сам смысл погони за улучшением количественных оценок является спорным вопросом. Во-первых, в измеряемых значениях даже среди выборки сфероидов одной, используемой в описываемой работе [159] опухолевой линии, наблюдается сильная вариация. Во-вторых, для рассмотрения сфероидов, сделанных из другой опухолевой линии, требуется новое проведение всего набора экспериментов. С большой вероятностью, функции, используемые для фитирования данных одной линии клеток, окажутся менее пригодными для другой – выше уже обсуждалась аналогичная ситуация, при которой разные типы кривых роста опухолей более пригодны для разных выборок опухолей [174; 175]. Стоит отметить, что даже в обсуждаемой работе [159] авторам пришлось скорректи-

ровать форму экспериментально полученных функций скоростей потребления при малых концентрациях глюкозы и кислорода.

В работе Сазерленда и коллег был получен также один качественный результат, впоследствии подтвержденный экспериментально, о том, что кислотность в центре опухоли должна быть существенно выше, чем на ее границе. Стоит однако особо отметить, что такой же результат может быть – и был – получен с помощью гораздо более простой модели [189]. Таким образом, данный пример прекрасно иллюстрирует основные сложности моделирования в онкологии, обсуждаемые в подразделе 1.2.1.

Явный учет движения опухолевых клеток характерен для моделирования роста опухоли при рассмотрении аспектов, для которых решающее значение имеют, например, инвазия опухоли в окружающую ткань, или взаимодействие фаз, составляющих ткань, или некоторые механические свойства. Существует три основных вида движения клеток, описываемых в уравнениях членами различного типа: случайное движение вследствие собственной подвижности клеток; хемотактическое/гаптотактическое движение, т.е. активное движение вдоль градиента концентрации какого-либо вещества/напряжения межклеточного матрикса; и пассивное конвективное движение, вызываемое динамикой различных фаз ткани: других клеток, межклеточной жидкости, реже также межклеточного матрикса. Последний тип движения, в частности, приводит к эффекту расталкивания окружающих элементов ткани делящимися опухолевыми клетками. Он неявным образом учитывается в моделях МОС, не описывающих распределение клеток в явном виде, при расчете изменения объема сфероидов.

Если не учитывать хемотаксис и гаптотаксис, то во множестве соответствующих моделей ключевые уравнения на динамику элементов ткани являются частным случаем системы уравнений следующего вида:

$$\frac{\partial n_i}{\partial t} + \nabla \cdot (\mathbf{I}_i n_i) = \nabla \cdot (D_i \nabla n_i) + \lambda_i(\mathbf{n}, \mathbf{C}), \quad (1.7)$$

где \mathbf{n} – вектор фаз ткани n_i , \mathbf{I}_i – конвективная скорость i -й фазы, D_i – ее собственная подвижность, как правило, свойственная лишь опухолевым клеткам, λ_i – локальная сумма членов рождения и уничтожения элементов i -й фазы, зависящая от плотностей других фаз и концентрации других переменных, в том числе питательных веществ \mathbf{C} . Собственная подвижность клеток может

быть как постоянной, так и зависящей от других переменных, в таком случае $D_i = D_i(\mathbf{n}, \mathbf{C})$. Зачастую конвективная скорость всех фаз ткани считается одинаковой, что, в частности, оправданно при учете в качестве фаз ткани только опухолевых и нормальных клеток. Тогда, при дополнительном предположении о плотной несжимаемой ткани, т.е.,

$$\sum_i n_i V_i = 1,$$

где V_i – средние объемы клеток разных фаз, выражение для дивергенции скорости может быть получено в явном виде путем суммирования уравнений (1.7).

Стоит отметить, что конвективное движение опухолевых клеток и их миграция довольно редко рассматриваются одновременно – в подавляющем большинстве случаев один из типов движения игнорируется, и таким образом, рассматривается чисто компактный или чисто инвазивный рост опухоли. Исключением является работа [190], в которой дается теоретическое обоснование явлению доминирования метастатически активной популяции в составе гетерогенной аваскулярной опухоли. Аналогичным образом при помощи схожей модели в работе [191] объясняется с теоретической точки зрения эффект интернализации менее подвижных клеток в составе опухолевого сфероида, т.е., их постепенное передвижение вглубь него.

При игнорировании конвективных членов локальную скорость роста опухолевых клеток, как правило, описывают логистическим уравнением. Таким образом, максимальная локальная плотность опухолевых клеток остается ограниченной сверху, но пролиферация клеток не приводит к расталкиванию окружающих элементов ткани. Такие модели типа “реакция-диффузия” подходят для описания высокоинвазивных опухолей, в частности, глиобластомы, наиболее частого и наиболее агрессивного типа опухоли мозга. Известной исследовательской группой, занимающейся такими вопросами, является группа под руководством Кристин Свэнсон. В частности, такие модели использовались ими для прогнозирования кинетики свободно растущей опухоли на основе пациент-специфических параметров, оцененных с помощью процедур медицинской визуализации [138]; а также для оценки рецидива глиомы после хирургической резекции [192] и моделирования реакции опухолей мозга на традиционные терапевтические методы, такие как химиотерапия [193] и радиотерапия [194]. Кроме

того, модели типа “реакция-диффузия” удобны для рассмотрения задач, в которых определяющую роль играет не оценка скорости роста опухоли и влияния на нее различных внешних воздействий, а рассмотрение различных аспектов взаимодействия опухоли с ее микроокружением [135; 195; 196]. Выдающимся примером такого рода является работа Роберта Гэтенби и Эдварда Гавлински [189], модель в которой состоит из трех уравнений для раковых клеток, нормальных клеток и ионов водорода и предсказывает существование гипоцеллюлярного (т.е., содержащего очень мало клеток) промежутка на границе опухоль-нормальная ткань. Предложенный ими качественный механизм был подтвержден экспериментально, при этом до их работы считалось, что это явление вызывается совокупностью большого количества факторов. Еще одним примером является работа [185], в которой с помощью модели, учитывающей взаимодействия опухолевых клеток и внеклеточного матрикса, был предложен механизм формирования капсул соединительной ткани вокруг аваскулярных опухолей.

Иногда в моделях такого типа, совместно со случайной миграцией опухолевых клеток или без нее, рассматривается также их направленное движение, т.е., хемотаксис и гаптотаксис, выражаемое членами вида:

$$\frac{\partial n_i}{\partial t} = \nabla \cdot (D_i \nabla C_i),$$

где C_i – переменная, вдоль градиента которой движутся опухолевые клетки, например, концентрация некоторого хемоаттрактанта или протеинов межклеточного матрикса, связывающихся с соответствующими рецепторами опухолевых клеток, и таким образом направляющих их движение [186; 197; 198]. Такие модели, в частности, позволяют оценить влияние изменений концентрации направляющей переменной на рост и форму опухоли.

1.2.4 Механистические модели

Модели, игнорирующие собственную миграцию клеток и учитывающие их конвективное движение в явном виде, в основном направлены на исследование того, как механические взаимодействия между клетками опухоли и другими фазами ткани влияют на развитие опухоли. В связи с этим в соответствующих моделях, как правило, вводятся переменные для давления и/или механических сил, присутствующих в ткани. Одной из самых ранних моделей такого рода

является модель Харви Гринспана 1976-го года [182], его подход в 90-х годах развили Хелен Бирн и Марк Чаплэйн [184; 199; 200]. В этом подходе конвективная скорость I выводится из уравнения непрерывности в предположении о несжимаемости клеток:

$$\nabla \cdot \mathbf{I} = S(n,c),$$

где $S(n,c)$ – суммарная локальная скорость пролиферации и гибели опухолевых клеток n , зависящая от концентрации единственного обобщенного питательного вещества c . Также вводится переменная давления внутри ткани p , связанная со скоростью следующим образом:

$$\nabla \cdot \mathbf{I} = -\mu \nabla p, \quad (1.8)$$

где константа μ определяет вязкоподобные свойства опухолевых клеток. Это уравнение можно интерпретировать двумя способами. Первая интерпретация заключается в балансе сил в присутствии вязкого трения, при котором приложенная к опухолевым клеткам сила пропорциональна их скорости, а не ускорению. Вторая интерпретация гласит, что опухолевые клетки рассматриваются как жидкость, протекающая через неподвижный внеклеточный матрикс, и подчиняющаяся закону Дарси о фильтрации жидкостей через пористую среду. В любом случае, это соотношение позволяет вывести уравнение для внутреннего давления сфероида

$$-\mu \Delta p = S(n,c).$$

Для того, чтобы замкнуть систему, необходимо задать уравнение на движение границы опухоли и граничные условия на ней, которые различаются в зависимости от предположений конкретной модели. В работе [182] Гринспан включает в модель эффекты поверхностного натяжения, так что давление на границе опухоли пропорционально средней кривизне ее границы. С помощью этой модели он изучает неустойчивости поверхности опухолевого сфероида к асимметричным возмущениям его границы, что может вызвать распад сфероида. Это явление было обнаружено ранее в экспериментах Сазерлэнда [177]. Модель Гринспана позволяет предположить, что МОС должен становиться менее устойчивым по мере увеличения его размера. Факт того, достигнет ли он

устойчивого стационарного состояния с максимальным допустимым объемом до того, как разрушится, определяется функцией, зависящей от поверхностного натяжения, внешней концентрации питательных веществ, скорости оттока некротического объема, скорости пролиферации клеток и скорости потребления ими питательных веществ.

Существует множество разнообразных методов учета механических свойств в непрерывных моделях. Например, в отличие от вышеуказанных работ, где основополагающим для учета механических свойств системы является закон Дарси, работы [201—203] построены на рассмотрении нелинейной теории упругости, а работы [204—206] – на рассмотрении адгезивных свойств опухолевых клеток.

Моделирование с учетом механических аспектов роста опухоли сопряжено с рядом серьезных проблем. В первую очередь, зачатую неясно, какие именно существенные предпосылки о механике ткани должны быть включены в модель. Например, совершенно разные подходы используются для теоретического обоснования явления уменьшения максимального объема МОС при увеличении жесткости среды [42; 202; 207]. В работах [208; 209] при рассмотрении устойчивости границы опухоли, растущей в ткани, сравниваются два подхода для описания деформаций опухолевой и нормальной ткани: использование уравнения Дарси и использование уравнения потока Стокса, которым описывается медленный вязкий поток ньютоновской жидкости. При предположении об одинаковых свойствах опухолевой и нормальной тканей эти подходы оказываются эквивалентными. Однако когда деформация ткани подчиняется закону Дарси, поверхность опухоли оказывается устойчива, когда вязкость опухолевой ткани больше, чем нормальной, но неустойчива, когда нормальная ткань более вязкая, чем опухолевая. Когда деформация ткани определяется потоком Стокса, поверхность опухоли всегда неустойчива независимо от соотношения коэффициентов вязкости тканей.

Указанная проблема ограничивает потенциальную применимость механистических моделей, так как зачастую неясно, насколько моделируемые уравнения могут соответствовать реальному поведению опухолей, особенно с учетом того, что многие из используемых физических законов пригодны только в линейном приближении. Прогнозируемое моделью поведение вполне может оказаться чисто модельным эффектом, не имеющим прямого отношения к ре-

альности. Кроме того, даже при определенности с выбором соответствующих законов параметризация таких моделей является серьезной проблемой, так как оценка многих из требуемых значений параметров бывает затруднена либо вообще невозможна. Также механистические модели могут неожиданно демонстрировать нефизичное поведение при довольно адекватных физиологически-обоснованных предпосылках, заложенных в модель. Например, в модели, используемой в работе Бирн и Чаплэйна [199] при предположениях об однородности и постоянстве во времени на границе опухоли двух переменных – давления и концентрации питательного вещества – радиально-симметричное стационарное состояние опухоли оказывается неустойчивым к асимметричным возмущениям, причем скорость роста наиболее неустойчивой моды стремится к бесконечности при стремлении длины волны возмущенной моды к нулю. Данная проблема была решена включением в модель довольно спекулятивного предположения о зависимости концентрации питательного вещества на границе опухоли от ее локальной кривизны.

1.2.5 Дискретные модели

Как уже было отмечено, наряду с непрерывным подходом к моделированию роста опухоли существует и другой – дискретный – подход, ставший популярным уже в этом веке. Существуют разные типы дискретных моделей, наиболее популярными из них являются клеточные автоматы [210–213]. При всех дискретных подходах динамика каждой опухолевой клетки (реже – небольших групп клеток) рассматривается отдельно, при этом клетка характеризуется положением в пространстве, иногда скоростью, а также состоянием, зависящим, например, от ее положения в клеточном цикле, от различных химических процессов, происходящих в клетке, от локальной плотности питательных и других веществ и т.д. При этом в случае явного рассмотрения химических веществ их динамика, как правило, моделируется непрерывными уравнениями, что формально делает такие модели гибридными. В клеточных автоматах пространство является дискретным, и в каждой его ячейке может находиться одна или другое определенное число клеток. В моделях Поттса [214; 215] каждая биологическая клетка содержит несколько точек пространственно решетки. В других агентно-ориентированных моделях пространство может быть непрерывным, при этом клеткам задаются положения и размеры, и существует набор ограничений на

их расположение в пространстве [216; 217]. Механические взаимодействия между клетками зависят от их позиций и скоростей. Зачастую они описываются не с помощью явного рассмотрения физических законов, что является вычислительно затратным подходом, а с помощью весьма упрощенных допущений о правилах перемещения клеток. Типичное правило клеточного автомата регулирует, с какой вероятностью клетка поделится, погибнет, подвинется или перейдет в новое состояние в зависимости от занятости соседних ячеек, от концентрации рассматриваемых веществ и от ее внутренних химических процессов. В моделях Поттса движение клеток определяется с помощью функции энергии, значение которой зависит от расположения границ между клетками. Такой подход позволяет учитывать, например, напряжение клеточных мембран и межклеточную адгезию.

Стоит отметить, что многие работы по моделированию роста опухоли с использованием дискретных моделей направлены скорее на апробацию самих методов, т.е., на воспроизведение физиологически обоснованной картины интересующих исследователей процессов, например, воспроизведения роста МОС по сигмоидальному закону изменения объема [212; 218]. Тем не менее этот подход явно имеет огромный потенциал, который должен только расти с накоплением знаний о явлениях, происходящих в масштабе одной клетки и с увеличением доступности больших вычислительных мощностей. Этот потенциал демонстрируется, например, в работах Александра Андерсона. В 2000-м он и его коллеги были первыми, кто рассмотрели дискретную модель инвазии раковых клеток и, в частности, продемонстрировали тот факт, что отдельные клетки могут мигрировать гораздо дальше за пределы видимой границы опухолевой ткани, чем это предсказывают соответствующие непрерывные модели [219]. В другой работе с его участием [213] сформулирована гипотеза о том, что вариации параметров динамики клеток могут нетривиальным образом влиять на рост опухоли. В частности, увеличение пролиферативной активности и снижении подвижности клеток могут в силу пространственных ограничений на макроскопическом уровне замедлить пролиферацию и рост опухоли; а увеличение скорости гибели клеток может привести к ожидаемому уменьшению размера опухоли в краткосрочной перспективе, но в конечном итоге спровоцировать ее ускоренный рост.

Сильными сторонами дискретного подхода является сравнительная простота при рассмотрении случайных процессов [214; 220], а также гетерогенных

опухолевых популяций и, в частности, мутаций опухолевых клеток [216; 221]. Ярким примером является еще одна работа с участием Андерсона [116], в которой продемонстрировано, что ухудшение условий микроокружения для опухоли – например, эскалация гипоксии – стимулируют эволюцию опухоли в сторону более агрессивных и метастатически активных фенотипов, что прекрасно согласуется с обсуждаемым в подразделе 1.1.4 влиянием ААТ на прогрессию злокачественной опухоли [9; 99]

Одна из главных проблем использования дискретных моделей – это вопрос реалистичности описания движения клеток. При этом расчеты динамики клеток являются относительно малозатратными при фиксированной пространственной решетке, в то время как эволюция решетки по мере роста опухоли является, очевидно, более реалистичным подходом. С другой стороны, с точки зрения реалистичности наиболее выгодным является явное рассмотрение законов механики, избегание чего как раз и является целью данного подхода. Другой проблемой является то, что конкретная структура решетки может влиять на глобальное поведение системы, аналогично тому, как возникают погрешности при численном решении уравнений в частных производных. Однако если последний эффект как правило можно количественно оценить с помощью математического анализа, для моделей клеточных автоматов произвести такую количественную оценку чрезвычайно сложно. Кроме того, дискретные модели, как и обсуждаемые выше механистические модели, обычно содержат большое количество параметров, многие из которых трудно либо невозможно оценить.

1.2.6 Моделирование ангиогенеза и антиангиогенной терапии

Существует несколько подходов к моделированию опухолевого роста с учетом ангиогенеза. Первую модель такого рода опубликовал в 1999-м году Филип Ханфельдт вместе с автором идеи об ААТ Джудой Фолкманом [222]. Эта феноменологическая пространственно-нераспределенная модель основана на уравнении Гомперца в форме, явно учитывающей максимально допустимый объем опухоли (1.4). Влияние ангиогенеза и ААТ на рост опухоли в этой модели заключаются в непосредственном увеличении и уменьшении этой величины. В общем виде модель можно представить следующим образом:

$$V'(t) = \gamma V(t) \ln \frac{K}{V(t)},$$

$$K'(t) = A(V, K) - g(t)K,$$

где K – максимально допустимый объем опухоли, $A(V, K)$ – суммарная эффективность собственных про- и антиангиогенных факторов в организме носителя опухоли, $g(t)$ – эффективность ААТ, зависящая от концентрации препарата, изменяющейся со временем в результате его введения в организм и выведения из него. Подобные модели могут быть очень удобны для доклинических и клинических исследований [223–225], но, как и все феноменологические модели, они близки к статистической обработке данных, и непригодны для основных целей математического моделирования.

В непрерывных пространственно-распределенных моделях для учета капиллярной сети используется отдельная переменная, а при учете ангиогенеза вводится еще одна переменная для VEGF, наличие которой приводит к локальному увеличению плотности капиллярной сети [121; 125; 150]. Метод описания сети взаимосвязанных микрососудов с помощью пространственно-распределенной переменной является довольно грубым, но неизбежным упрощением при работе с такими моделями. Одним из недостатков этого подхода является невозможность воспроизведения микроскопических особенностей капиллярной сети, таких как разветвление капилляров, образование петель и прекращение кровотока в капиллярах при разрушении сосуда, находящегося выше по течению крови. Также такой метод сопряжен с вопросами об обоснованности выбора математических выражений, описывающих динамику микроциркуляторной сети, и выбора значений соответствующих параметров. Кроме того, особой проблемой является корректное рассмотрение взаимосвязей между переменной капиллярной сети и скоростью поступления ключевых метаболитов – как было отмечено в подразделе 1.1.5, приток двух основных питательных веществ, кислорода и глюкозы, подчиняется качественно разным законам и изменяется по-разному в процессе нормализации микрососудов. Однако стоит отметить, что существует довольно мало непрерывных пространственно-распределенных моделей, в явном виде учитывающих капиллярную сеть, несмотря на то, что с помощью такого метода можно описать процессы, составляющие ее динамику, на качественном уровне при минимальных вычислительных затратах. При этом в существующих моделях такого рода вышеуказанная проблема корректного

описания притока питательных веществ как правило обходится стороной благодаря отсутствию учета структурных различий в нормальных и опухолевых капиллярах, а также учету одного кислорода в качестве нутриента [125; 150] или вообще отсутствию явного учета питательных веществ [121].

Вопрос нормализации сосудов в результате ААТ исследуется в нескольких статьях по моделированию с участием Ракеша Джайна, биолога, преджившего в начале этого века принцип нормализации сосудов с помощью антиангиогенных препаратов для лечения злокачественных и незлокачественных опухолей [226]. Как отмечено в подразделе 1.1.5, интерстициальное давление в опухолях как правило повышено, в частности, из-за увеличенной проницаемости сосудов для плазмы крови. Благодаря нормализации микрососудов ААТ зачастую приводит к уменьшению интерстициального давления и временному увеличению притока плазмы крови в опухоль. Этот эффект влияет на приток крупномолекулярных веществ в опухоль, что может иметь большое значение, в частности, для химиотерапии. В работе [71] с помощью математической модели единичного капилляра с изменяющимися размерами пор исследована эффективность нормализации микрососудов для доставки нанолечарств разного размера. Предположено, что максимальное увеличение притока должно быть достигнуто для молекул с гидродинамическим радиусом около 12-ти нм. В работе [43] с помощью математической модели исследуется влияние ААТ на динамику интерстициальной жидкости в опухолевой ткани. При достаточно сильном антиангиогенном эффекте модель прогнозирует временное усиление конвекции жидкости внутри опухоли, ослабление просачивания ее из опухоли в окружающую ткань, а также снятие опухоль-ассоциированного отека, что наблюдается экспериментально [84]. Однако в этой работе не рассматривается ни динамика самой опухоли, ни структура ткани, окружающей опухоль. Интересной работой является статья исследовательской группы под руководством Кристин Свэнсон [227], в которой с помощью реакционно-диффузионных уравнений моделируется рост глиомы с учетом ангиогенеза и при этом учитывается влияние ААТ на проницаемость капилляров и, соответственно, на приток плазмы крови в ткань. Результаты моделирования в этой работе сравниваются с экспериментальными данными об изменениях размеров глиомы и опухоль-ассоциированного отека у реальных пациентов, проходящих курс ААТ. Недостатки используемой модели заключаются в том, что она учитывает только диффузионный

перенос жидкости, игнорируя конвективные потоки в ткани, что физиологически некорректно, а плотность капиллярной сети напрямую влияет на состояние опухолевых клеток, поскольку в модели отсутствуют какие-либо метаболиты.

Наиболее популярным подходом для моделирования ангиогенеза и ААТ являются гибридные модели, при которых динамика капилляров описывается дискретными методами, а динамика про- и антиангиогенных факторов – непрерывными уравнениями. Сильные и слабые стороны такого подхода соответствуют уже отмеченным в 1.2.5. Первой работой в данной области стала статья 1998-го года за авторством уже упомянутых выше ученых, Андерсона и Чаплэйна [228], в которой они сформулировали дискретную модель для движения эндотелиальных клеток и роста капилляров при ангиогенезе путем дискретизации ранее разработанной непрерывной модели Чаплэйна [229; 230]. В их модели ведущим эндотелиальным клеткам, расположенным в точках двумерной дискретной пространственной решетки, назначаются вероятности миграции в соседние точки в течение каждого шага по времени. Эти вероятности учитывают процессы хемотаксиса, гаптотаксиса и случайной миграции. Вероятностные правила ветвления капилляров зависят от возраста капиллярных отростков, концентрации VEGF и плотности самих отростков. В 2000-м году Чаплэйн представил трехмерный вариант этой модели [231]. В последующие несколько лет были опубликованы работы с участием Андерсона и Чаплэйна с версиями этой модели, учитывающими кровотоки в капиллярной сети, и использующие при этом методы моделирования потока во взаимосвязанных сетях, взятые из области нефтяного машиностроения [232–235]. Основной целью этих работ является исследование влияния изменения различных физических и биологических параметров модели на архитектуру развивающейся капиллярной сети и на кровотоки в ней. В частности, акцент в описании сделан на оптимизации доставки химиотерапевтических препаратов к опухоли, хотя в этих моделях не рассматривается приток препарата в ткань, а учитывается только его доставка в кровеносную сеть опухоли. Основные выводы данных работ заключаются в том, что перестройка сети в результате ААТ, в частности разрушение сосудов с низким уровнем кровотока, может привести к значительному увеличению количества лекарственного средства, доставляемого в опухоль. Именно в это время противоопухолевая ААТ получила клиническое одобрение и активно проводились клинические исследования различных схем комбинированных химиотера-

пии и ААТ. Стоит отметить, что гидродинамика кровотока в капиллярах сильно отличается от его гидродинамики в крупных сосудах, в частности, средняя скорость кровотока в них примерно на три порядка меньше, а вязкие эффекты доминируют над инерционными [236]. Это связано с тем, что диаметр эритроцитов сопоставим с диаметрами микрососудов, которые сами по себе очень малы. Учет соответствующих особенностей кровотока в капиллярах привел к постепенному усложнению соответствующих моделей.

В указанных выше моделях не рассматривается рост опухоли. Начиная с 2005-го года в научной литературе стали появляться работы с дискретными моделями динамичной опухолевой микроциркуляторной сети, связанными с моделями роста опухоли [12—14]. В частности, такие модели активно развивались исследовательской группой под руководством Хейко Ригера. В их первых работах [15; 16] учитывается расширение сосудов и ангиогенез, происходящие под действием VEGF, вырабатываемого клетками опухоли в состоянии гипоксии, а также регрессия сосудов внутри опухоли и кооптация опухолью имеющихся сосудов (т.е., их встраивание внутрь опухолевой массы). В этих работах показано, что развитие опухоли на ранних стадиях в большой степени определяется плотностью сосудов исходной ткани. Работа 2009-го года [147] посвящена изучению неоднородностей опухолевой микроциркуляторной сети. В ней, в частности, показано, что колебания плотности сосудов внутри опухоли коррелируют с перепадами давления в исходной сосудистой сети. В статье 2013-го года [237] в явном виде моделируется динамика интерстициальной жидкости и растворенных в ней лекарственных препаратов. При этом учитывается как конвективный, так и диффузионный перенос молекул. В этой работе продемонстрированы нетривиальные эффекты, которые может оказывать на приток препарата неоднородная опухолевая микроциркуляторная сеть. В частности, показано, что увеличенная проницаемость капиллярных стенок для плазмы крови совместно с разрушенной лимфатической системой опухоли, вопреки распространенному мнению, далеко не всегда должны приводить к ухудшению притока лекарств в опухоль, несмотря на итоговое повышение давления интерстициальной жидкости внутри опухоли. В работе 2016-го года [238] предположено наличие корреляции между степенью компрессии сосудов в результате активной пролиферации опухолевых клеток и долей оксигемоглобина в опухолевом кровотоке, что может являться показателем эффективности доставки препаратов в опухоль.

Возможность моделирования опухолевых капиллярных сетей на микроуровне и вытекающая отсюда возможность рассмотрения их пространственных неоднородностей являются безусловными достоинствами дискретных моделей. Однако эти же особенности требуют значительных вычислительных затрат, которые только увеличиваются вместе с ростом опухолей. Для их снижения возможно использование различных упрощений – например, в работе [239] капиллярное русло моделируется как однородная среда, в то время как артериолярные и веноулярные деревья моделируются как пространственные графы. Разумеется, то, насколько будут адекватны подобные упрощения, должно определяться особенностями каждой конкретной задачи. Любопытно, что в первых вышеупомянутых моделях группы под руководством Хейко Ригера опухоль также моделируется с помощью дискретного подхода; в работе 2013-го года [237] ткань, содержащая опухоль, рассматривается как непрерывная среда; а в работе 2016-го года [238] опухоль рассматривается просто как растущий сферически-симметричный объект, окруженный концентрической оболочкой фиксированной толщины, в которой происходит процесс ангиогенеза. Видимо, именно ввиду вычислительной сложности гибридные модели такого рода до сих пор не были использованы для моделирования целого курса какой-либо противоопухолевой терапии, не говоря уже об исследовании способов оптимизации комбинированных видов противоопухолевого лечения. Более того, для задач подобного рода наличие пространственных неоднородностей потребует еще более значительного увеличения вычислительных затрат, так как для выдвижения обобщающих гипотез необходимо будет рассматривать довольно значительные по объему выборки виртуальных пациентов с целью минимизации влияния их индивидуальных особенностей на качественный результат исследования.

Важно отметить, что в настоящее время в целом опубликовано очень мало работ по теме математического моделирования комбинированных терапий с использованием ААТ, при этом такие работы ограничиваются рассмотрением исключительно феноменологических зависимостей – как в случае комбинации химиотерапии с ААТ [240–242], так и в случае комбинации радиотерапии с ААТ [243; 244]. Более того, почти все работы этого типа не учитывают пространственную структуру опухоли, а в работах по моделированию комбинированных радиотерапии и ААТ не рассматривается явление временного облегчения внутриопухолевой гипоксии, использование которого повышает эффективность та-

кого лечения в экспериментах [10]. При этом математическое моделирование радиотерапии – это очень развитая область, имеющая применение в клинике [194; 245; 246].

Глава 2. Исследование зависимости реакции солидной опухоли на антиангиогенную терапию от типа ее роста

В данной главе представлена пространственно-распределенная непрерывная модель роста моноклональной васкуляризованной опухоли в ткани, которая учитывает собственную подвижность злокачественных клеток и конвективное движение, возникающее из-за их пролиферации, что позволяет рассматривать два типа роста опухоли – инвазивный и компактный – а также их комбинацию. Получены аналитические оценки скоростей роста компактных и инвазивных опухолей, что позволяет оценить влияние ААТ на них. Представлены результаты численного моделирования, демонстрирующие хорошее соответствие с аналитическими оценками. С помощью компьютерных симуляций, подчеркивающих неаддитивный характер двух типов роста, получены оценки влияния ААТ на опухоли со смешанным типом роста.

2.1 Модель

2.1.1 Уравнения

Рассматриваемая в данной главе модель является более простой версией моделей, рассмотренных в следующих главах. Ряд упрощений сделан с целью возможности проведения аналитического исследования. В данной версии модели четыре переменные, которые являются функциями пространственной и временной координат, x и t , которые далее опущены для упрощения нотации: плотность опухолевых клеток $n(x,t)$, доля некротической ткани $m(x,t)$, концентрация глюкозы $g(x,t)$ и плотность поверхности капилляров $c(x,t)$. Все переменные, а также все используемые параметры должны быть строго неотрицательными ввиду их физического значения. Далее рассматривается одномерный плоский случай, что подходит для моделирования крупной сферически-симметричной опухоли. Блок-схема взаимодействий между переменными показана на Рис. 2.1. Динамикой модельных переменных управляет следующий набор уравнений:

$$\begin{aligned}
\text{клетки опухоли: } \frac{\partial n}{\partial t} &= \overbrace{Bn[1 - \sigma(g)]}^{\text{пролиферация}} \overbrace{-Mn\sigma(g)}^{\text{гибель}} + \overbrace{D_n \frac{\partial^2 n}{\partial x^2}}^{\text{миграция}} \overbrace{-\frac{\partial(In)}{\partial x}}^{\text{конвекция}}; \\
\text{некротическая ткань: } \frac{\partial m}{\partial t} &= \overbrace{Mn\sigma(g)}^{\text{гибель клеток}} \overbrace{-\frac{\partial(Im)}{\partial x}}^{\text{конвекция}}; \\
\text{глюкоза: } \frac{\partial g}{\partial t} &= \overbrace{Pc[1 - g]}^{\text{приток}} \overbrace{-Qn[1 - \sigma(g)]}^{\text{потребление}} + \overbrace{D_g \frac{\partial^2 g}{\partial x^2}}^{\text{диффузия}}; \\
\text{капилляры: } \frac{\partial c}{\partial t} &= \overbrace{-l[n + m]c}^{\text{разрушение}};
\end{aligned} \tag{2.1}$$

$$\begin{aligned}
\text{где } \sigma(g) &= \frac{1}{2}[1 - \tanh(\epsilon\{g - g_{cr}\})]; \\
\frac{\partial I}{\partial x} &= Bn[1 - \sigma(g)] + D_n \frac{\partial^2 n}{\partial x^2}.
\end{aligned}$$

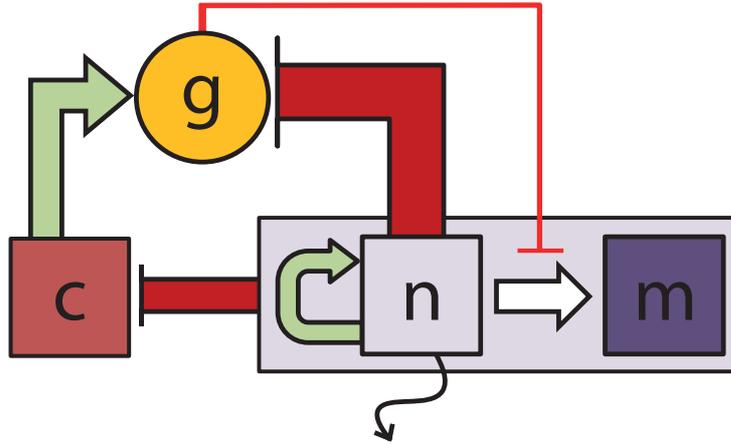


Рисунок 2.1 — Блок-схема модели роста опухоли, определяемой системой уравнений (2.1), где n — опухолевые клетки, m — некротическая ткань, g — глюкоза, c — капилляры. Зеленые стрелки указывают на стимулирующие отношения, красные стрелки указывают на ингибирующие отношения, белая стрелка указывает на переход между переменными, черная стрелка указывает на подвижность опухолевых клеток.

Член пролиферации опухолевых клеток введен в предположении, что этот процесс происходит непрерывно при достаточном уровне глюкозы, которая выбрана в качестве ключевого питательного вещества, поскольку она является основным энергетическим питательным веществом для опухолевых клеток и

основным субстратом для биосинтеза [247]. При падении уровня глюкозы скорость пролиферации клеток замедляется. В данной версии модели считается, что клетки опухоли сразу гибнут в процессе некроза при истощении глюкозы. Дренаж некротической ткани не учитывается. Точные скорости процессов клеточной пролиферации и гибели определяются сигмоидной функцией $\sigma(g)$. Опухолевые клетки способны мигрировать по ткани, что описывается диффузионным членом. Конвективные члены описывают пассивное движение элементов ткани, при этом поле конвективной скорости I определяется динамикой опухолевых клеток. Выражение для него получено в предположении постоянства суммарной плотности опухолевых клеток, некротической ткани и нормальных клеток, которая нормирована на единицу. Нормальные клетки не рассматриваются в модели в явном виде, однако предполагается, что пассивное движение за счет возникающего конвективного потока является единственной составляющей их динамики.

Динамика глюкозы состоит из ее притока из капилляров в ткань, потребления опухолевыми клетками и диффузии по ткани. Приток глюкозы определяется процессом ее пассивной диффузии через стенки капилляров [67]. Соответственно, скорость поступления глюкозы в ткань пропорциональна плотности поверхности капилляров и разности концентраций глюкозы в крови и в ткани. Концентрация глюкозы в крови считается постоянной и нормирована на единицу.

Капиллярная сеть разрушается внутри опухоли. Этот процесс имеет различные причины механического [45] и химического характера [46], детали которых трудно учесть достоверным образом. В связи с этим разрушение капилляров описывается в модели феноменологическим членом. Следует отметить, что объем капилляров считается незначительным по сравнению с объемом клеток, поэтому их динамика не влияет на поле конвективной скорости. Конвективное движение капилляров также не рассматривается в данной версии модели. Нормальная плотность поверхности капилляров нормирована на единицу.

Более или менее прямолинейное рассмотрение ангиогенеза и антиангиогенной терапии (ААТ) в модели требует введения как минимум двух дополнительных переменных для концентраций основного проангиогенного фактора, VEGF, который влияет на динамику капилляров, и антиангиогенного препарата, который нейтрализует его действие. Такой подход будет рассмотрен далее в главе 3.

В данной главе с целью возможности проведения аналитического исследования используется гораздо менее громоздкий метод. Предполагается, что во время свободного роста опухоли (т.е., в отсутствие ААТ) концентрация VEGF является одинаковой во всей рассматриваемой части ткани, или, что равнозначно с точки зрения модели, она настолько высока, что обеспечивает максимально возможный ангиогенный эффект во всей рассматриваемой части ткани (скорость ангиогенеза ограничена количеством рецепторов на эндотелиальных клетках). Как было отмечено в главе 1, существует две составляющих ангиогенного эффекта, вызываемого VEGF, которые влияют на приток глюкозы из капилляров и, следовательно, должны быть учтены в модели. Одним из них является увеличение плотности капилляров за счет образования новых капилляров. Вторым эффектом является увеличение проницаемости сосудов [69], которое обусловлено структурными изменениями в стенках капилляров, вызванными действием VEGF [64]. Ввиду предположения о равномерном распределении VEGF по ткани, учет последнего эффекта сводится к увеличению значения параметра P , так как это соответствует равномерному одинаковому увеличению проницаемости всех капилляров в ткани. Предполагая далее, что локальное увеличение плотности поверхности капилляров, s , пропорционально его собственному локальному значению по всей ткани, можно сделать вывод, что при рассмотрении притока глюкозы в ткани увеличение s эквивалентно аналогичному увеличению значения параметра P . Таким образом, общий эффект ангиогенеза в этой модели можно учесть на качественном уровне путем увеличения значения единственного параметра P . Поскольку ААТ приводит к нормализации структуры капилляров [82] и дальнейшей нормализации их плотности, ее действие отражается в модели уменьшением значения P до значения, которое соответствует нормальной ткани.

Для аналитических оценок скорости роста опухоли рассматривается бесконечная область, при этом подразумевается, что размер органа, в котором она растет, намного больше размера опухоли, тогда как ее собственный размер намного больше, чем характерная длина, на которой распределение переменных меняется существенно. Живая часть опухоли таким образом рассматривается как плоский фронт, который сдвигается к правой границе, представляющей собой нормальную ткань, и оставляет за собой некротическую зону. Это формализуется следующими граничными условиями:

$$\left\{ \begin{array}{l} n = 0, \\ \frac{\partial m}{\partial x} = 0, \\ \frac{\partial g}{\partial x} = 0, \\ c = 0, \\ I = 0 \end{array} \right. \text{ при } x \rightarrow -\infty; \quad \left\{ \begin{array}{l} n = 0, \\ m = 0, \\ g = 1, \\ c = 1, \\ \frac{\partial I}{\partial x} = 0 \end{array} \right. \text{ при } x \rightarrow +\infty. \quad (2.2)$$

2.1.2 Параметры

Параметры модели оценены по данным различных экспериментальных работ. Базовый набор параметров приведен в таблице 1. Безразмерные модельные значения параметров представляют собой их приближенные нормированные значения, полученные с использованием следующих параметров нормализации: $t_n = 1$ час для времени, $x_n = 0,01$ см для длины, $g_n = 1$ мг/мл для концентрации глюкозы, $c_n = 100 \text{ см}^2/\text{см}^3$ для нормальной плотности поверхности капилляров, что близко к среднему значению этой величины для человеческой мышцы [67], и $n_n = 3 \cdot 10^8$ клеток/мл для максимальной плотности опухолевых клеток. Последнее значение взято из экспериментальной работы по исследованию роста многоклеточных опухолевых сфероидов *in vitro* [33]. Значения скорости пролиферации опухолевых клеток и скорости потребления ими глюкозы также оценены в соответствии с данными этой работы, однако предполагается, что эти значения должны быть пропорционально уменьшены во время роста соответствующей опухоли в ткани ввиду контактного торможения пролиферации клеток. Базовый коэффициент подвижности опухолевых клеток соответствует клеткам глиомы, являющейся высокоинвазивной опухолью [248]. Этот параметр устанавливается равным нулю в разделе 2.2.1 для рассмотрения опухолей с компактным типом роста и варьируется в разделе 2.2.3 для рассмотрения опухолей со смешанным типом роста. Значение скорости разрушения капилляров выбрано с целью качественного соответствия экспериментальным наблюдениям, которые показывают, что капилляры с экспериментально детектируемым уровнем кровотока очень скудны внутри ядра опухолей с радиусами в несколько миллиметров [249]. Скорость гибели опухолевых клеток выбрана значительно более высокой, чем скорость их пролиферации. Значения параметров функции $\sigma(g)$ не могут быть оценены напрямую, так как ее форма выбрана по феноменологическим причинам. В связи с этим она просто подбирается достаточно близкой к

ступенчатой функции, при этом гибель опухолевых клеток происходит при падении концентрации глюкозы на порядок по сравнению с ее значением в крови. Важно отметить, что использование данных значений переменных M , g_{cr} и ϵ позволяет сохранять положительные концентрации глюкозы в пределах некротической зоны.

Таблица 1 — Базовый набор параметров модели.

Параметр	Описание	Оцененное значение	Значение в модели	Источник
B	скорость пролиферации клеток опухоли	$0,01 \text{ час}^{-1}$	0,01	[33]
Q	скорость потребления глюкозы клетками опухоли	$6,2 \cdot 10^{-17} \frac{\text{МОЛЬ}}{\text{КЛЕТКИ} \cdot \text{С}}$	12	[33]
D_g	коэффициент диффузии глюкозы	$2,8 \cdot 10^{-6} \text{ см}^2/\text{с}$	100	[250]
P	параметр ангиогенеза	$1,1 \cdot 10^{-5} \text{ см}/\text{с}$	4	[67]
g_{cr}	критический уровень глюкозы	0,56 мМ	0,1	см. текст
D_n	подвижность клеток опухоли	$2,4 \cdot 10^{-4} \text{ см}^2/\text{день}$	0,1	[248]
M	скорость гибели клеток опухоли	$0,05 \text{ час}^{-1}$	0,05	см. текст
l	скорость разрушения капилляров	$1,7 \cdot 10^{-10} \frac{\text{МЛ}}{\text{КЛЕТКИ} \cdot \text{С}}$	0,2	[249]
ϵ	чувствительность клеток опухоли к глюкозе	—	100	см. текст

Для учета влияния ангиогенеза на рост опухоли значение параметра ангиогенеза P варьируется в сторону увеличения вплоть до значения, в десять раз превышающего базовое. Такой предел был выбран в качестве очень приближенного произведения двух оцениваемых величин. Во-первых, эксперименты на различных моделях опухолей мышей показывают, что локальная плотность микрососудов вблизи опухоли может увеличиться в три-шесть раз [251]. Во-вторых, как будет показано далее в подразделе 3.1.5, 2,5-кратное увеличение проницаемости опухолевых капилляров для глюкозы за счет действия VEGF является физиологически обоснованной оценкой.

2.1.3 Численное решение

При численном моделировании система уравнений (2.1) решалась в области размером несколько сантиметров. Точный размер области X подбирался для каждой симуляции таким образом, чтобы быть достаточно небольшим для экономии вычислительного времени, но достаточно большим для отсутствия заметных краевых эффектов. Для всех переменных на обеих границах использовались граничные условия нулевого потока. Скорость конвективного потока была установлена равной нулю на левой границе, где $x = 0$, что привело к следующему уравнению для нее:

$$I(x,t) = \int_0^x Bn(r,t)[1 - \sigma(g(r,t))]dr + D_n \frac{\partial n(x,t)}{\partial x}.$$

Были использованы следующие начальные условия, которые соответствуют нормальной ткани с небольшой колонией опухолевых клеток, 0,01 мм шириной, расположенной вблизи левой границы, где капилляры отсутствуют:

$$\begin{cases} n = 1, \\ m = 0, \\ g = 1, \\ c = 0 \end{cases} \text{ при } x \leq 0.1; \quad \begin{cases} n = 0, \\ m = 0, \\ g = 1, \\ c = 1 \end{cases} \text{ при } x > 0.1. \quad (2.3)$$

Для всех переменных использовался метод расщепления по физическим процессам, т.е., кинетические уравнения, уравнения диффузии и уравнения конвекции решались последовательно для каждого шага по времени. Для уравнения диффузии глюкозы была использована неявная схема Кранка-Николсон. Поскольку член диффузии глюкозы обеспечивает максимальную скорость локального изменения среди всех переменных и, таким образом, требует достаточно небольшого временного шага даже для решения неявным методом, уравнение миграции клеток решалось с помощью более простой явной прямой схемы Эйлера, а все кинетические уравнения – с помощью явного метода Эйлера. Конвективные уравнения решались методом коррекции потоков Бориса-Бука с применением явной антидиффузионной схемы. Последний метод представлен в работе [252], другие классические методы описаны во многих книгах (см., например, [253]). Выбор шагов по времени и пространству обоснован в следующем разделе. В целях оптимизации функция $\sigma(g)$ не пересчитывалась каждый раз, вместо этого она рассчитывалась для примерно десяти тысяч значений g , равномерно распределенных по отрезку $[0,1]$, и только таким образом полученные значения использовались при расчетах в качестве аппроксимации значений $\sigma(g)$.

Скорость роста опухоли $V_{gr}(t)$ рассчитывалась как скорость изменения радиуса опухоли, который оценивался как максимальная пространственная координата, при которой $n \geq 0,1$. Во всех симуляциях после начального переходного периода скорость роста опухоли визуально стремилась к некоторому постоянному значению. Чтобы гарантировать оценку этого значения с подходящей точностью, для каждого модельного прогона часть функции $V(t)$, полученная после

обозначенного вручную начального переходного периода, интерполировалась с помощью метода наименьших квадратов функцией формы

$$V_{gr}(t) = V + \sum_{i=1}^k a_i e^{-b_i t},$$

при этом значение $k = 3$ было выбрано вручную как обеспечивающее достаточно точное приближение. Симуляция останавливалась вручную, если текущая скорость роста опухоли и V , выраженные в мм/неделю, были равны с точностью до трех десятичных знаков. Если этого не происходило до тех пор, пока близость опухоли к правой границе не влияла заметно на скорость ее роста, моделирование проводилось повторно в более крупной области. Далее везде под скоростью роста опухоли понимается это предельное значение V .

Для некоторых симуляций количество опухолевых клеток оценивалось аналогично как

$$N = \lim_{t \rightarrow \infty} \int_0^X n(x) dx,$$

при этом интеграл вычислялся численно методом прямоугольников.

2.2 Результаты

2.2.1 Компактный тип роста

В данном подразделе представлен вывод аналитической оценки скорости роста солидной опухоли с нулевой подвижностью клеток, т.е., $D_n = 0$, которая, таким образом, имеет чисто компактный тип роста. С этой целью рассматриваются решения уравнений (2.1) с граничными условиями (2.2), имеющие форму волны, движущейся с постоянной формой и скоростью V . В таком случае уравнения могут быть сведены к следующей системе обыкновенных дифференциальных уравнений путем введения движущейся системы координат $z = x - Vt$:

$$\begin{aligned}
\text{клетки опухоли: } & Bn[1 - \sigma(g)] - Mn\sigma(g) - \frac{\partial(In)}{\partial z} + V\frac{\partial n}{\partial z} = 0; \\
\text{некротическая ткань: } & Mn\sigma(g) - \frac{\partial(Im)}{\partial z} + V\frac{\partial m}{\partial z} = 0; \\
\text{глюкоза: } & Pc[1 - g] - Qn[1 - \sigma(g)] + D_g\frac{\partial^2 g}{\partial z^2} + V\frac{\partial g}{\partial z} = 0; \\
\text{капилляры: } & -l[n + m]c + V\frac{\partial c}{\partial z} = 0;
\end{aligned} \tag{2.4}$$

$$\begin{aligned}
\text{где } \sigma(g) &= \frac{1}{2}[1 - \tanh(\epsilon\{g - g_{cr}\})]; \\
I(z) &= \int_{-\infty}^z Bn(r)[1 - \sigma(g(r))]dr; \quad V = \lim_{z \rightarrow +\infty} I(z).
\end{aligned}$$

Для аналитической оценки рассматриваются следующие ограничения:

- $\epsilon \rightarrow \infty$, т.е., все опухолевые клетки в данном положении в пространстве в данный момент либо делятся, либо умирают;
- $M \rightarrow \infty$, т.е., клетки опухоли умирают мгновенно;
- $l \rightarrow \infty$, т.е., внутри опухоли нет капилляров.

Последнее условие имеет смысл только в том случае, если опухоль имеет четкую границу, т.е.,

$$\exists x_b : \forall x > x_b, n(x) + m(x) = 0.$$

Эти ограничения приводят к следующей системе:

$$\begin{aligned}
\text{клетки опухоли: } & \begin{cases} n = 0 & \text{если } g \leq g_{cr}, \\ Vn' - (In)' + Bn = 0 & \text{если } g > g_{cr}; \end{cases} \\
\text{некротическая ткань: } & m = \begin{cases} 1 & \text{если } g \leq g_{cr}, \\ 0 & \text{если } g > g_{cr}; \end{cases} \\
\text{глюкоза: } & D_g g'' + Vg' + Pc[1 - g] - Qn = 0; \\
\text{капилляры: } & c = \begin{cases} 1 & \text{если } n + m = 0, \\ 0 & \text{если } n + m > 0; \end{cases}
\end{aligned} \tag{2.5}$$

$$\text{где } I(z) = \int_{-\infty}^z Bn(r)dr; \quad V = \lim_{z \rightarrow +\infty} I(z),$$

где штрихами обозначено дифференцирование по z , со следующими граничными условиями:

$$\left\{ \begin{array}{l} n = 0, \\ m = 1, \\ \frac{\partial g}{\partial z} = 0, \\ c = 0, \\ I = 0 \end{array} \right. \text{ при } z \rightarrow -\infty; \quad \left\{ \begin{array}{l} n = 0, \\ m = 0, \\ g = 1, \\ c = 1, \\ \frac{\partial I}{\partial z} = 0, \end{array} \right. \text{ при } z \rightarrow +\infty. \quad (2.6)$$

Наконец, в качестве формы распределения опухолевых клеток в искомом решении рассматривается предельный случай кусочной функции, которая может быть равна только 0 и 1 – так же, как и функции распределения некротической ткани и капилляров. Таким образом, искомое решение имеет вид, изображенный на рис. 2.2, где начало оси z для удобства расположено на переднем краю опухоли. Это решение можно разделить на три области: 1) некротическое ядро, 2) пролиферирующий слой пока неизвестной ширины L , в котором $n = 1$ и $g > g_{cr}$, и 3) нормальная ткань. Выражение для скорости роста опухоли теперь упрощено до

$$V = I(0) = BL.$$

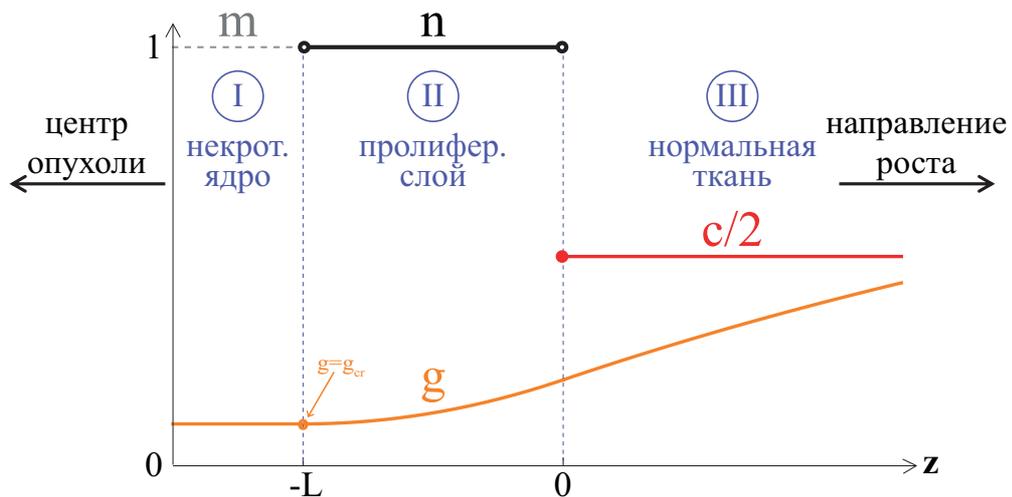


Рисунок 2.2 — Форма решения уравнений (2.5), которое ищется аналитически.

Распределение глюкозы должно быть найдено для оценки скорости роста опухоли. Оно ищется как кусочная функция, которая должна быть непрерывно-дифференцируемой для непрерывности концентрации глюкозы и ее потока:

$$\begin{aligned} g(z) &= g_I(z), \quad z < -L; \\ g(z) &= g_{II}(z), \quad -L < z < 0; \\ g(z) &= g_{III}(z), \quad 0 < z; \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} g(-L) &= g_I(-L) = g_{II}(-L) = g_{cr}, \quad g'_I(-L) = g'_{II}(-L); \\ g(0) &= g_{II}(0) = g_{III}(0), \quad g'_{II}(0) = g'_{III}(0). \end{aligned}$$

В пределах некротического ядра уравнение для глюкозы трансформируется в

$$D_g g''_I + B L g'_I = 0,$$

чьё общее решение:

$$g_I = C_1^I + C_2^I e^{-B L z / D_g},$$

для которого граничные условия допускают только

$$g_I = g_{cr}.$$

В пролиферирующем слое уравнение для глюкозы превращается в

$$-Q + D_g g''_{II} + B L g'_{II} = 0,$$

чьё общее решение:

$$g_{II} = C_1^{II} + C_2^{II} e^{-B L z / D_g} + \frac{Q z}{B L}.$$

Сшивка g_I и g_{II} при $z = -L$ приводит к

$$\begin{aligned} g_I(-L) &= g_{II}(-L) : \quad g_{cr} = C_1^{II} + C_2^{II} e^{B L^2 / D_g} - \frac{Q}{B}; \\ g'_I(-L) &= g'_{II}(-L) : \quad 0 = -\frac{B L}{D_g} C_2^{II} e^{B L^2 / D_g} + \frac{Q}{B L}. \end{aligned}$$

Поэтому

$$C_1^{II} = g_{cr} + \frac{Q}{B} \left[1 - \frac{D_g}{B L^2} \right]; \quad C_2^{II} = \frac{Q D_g}{B^2 L^2} e^{-B L^2 / D_g}.$$

Для нормальной ткани уравнение для глюкозы преобразуется в

$$P[1 - g_{III}] + D_g g''_{III} + B L g'_{III} = 0,$$

чьё общее решение:

$$g_{III} = 1 + C_1^{III} \exp\left(\frac{-BL - \sqrt{B^2L^2 + 4D_gP}}{2D_g}z\right) + C_2^{III} \exp\left(\frac{-BL + \sqrt{B^2L^2 + 4D_gP}}{2D_g}z\right).$$

Так как концентрация глюкозы ограничена при $z \rightarrow +\infty$, то $C_2^{III} = 0$. Сшивка g_{II} и g_{III} при $z = 0$ приводит к

$$\begin{aligned} g_{II}(0) = g_{III}(0) : C_1^{II} + C_2^{II} &= 1 + C_1^{III}; \\ g'_{II}(0) = g'_{III}(0) : -\frac{BL}{D_g}C_2^{II} + \frac{Q}{BL} &= \frac{-BL - \sqrt{B^2L^2 + 4D_gP}}{2D_g}C_1^{III}. \end{aligned}$$

Подстановка значений C_1^{II} и C_2^{II} в эти уравнения позволяет получить следующее неявное выражение для L :

$$1 - \frac{Q}{B} + \frac{QD_g}{B^2L^2}[1 - e^{-BL^2/D_g}][1 - \frac{2}{1 + \sqrt{1 + 4D_gP/(B^2L^2)}}] = g_{cr}, \quad (2.7)$$

Его численное решение приводит к $L \approx 1,325$ при значениях используемых параметров, взятых из базового набора (см. таблицу 1), что приводит к скорости роста опухоли $V \approx 0,223$ мм/неделю. При на порядок большем значении параметра ангиогенеза, т.е., $P = 40$, $L \approx 2,602$ и $V \approx 0,437$ мм/неделю, что означает почти двукратное увеличение скорости роста опухоли. Эти значения находятся в хорошем соответствии со скоростями роста многоклеточных опухолевых сфероидов *in vitro*, экспериментально полученными в работе [33] ($\approx 0,5$ мм/неделю), на основании которой оценены значения некоторых параметров модели.

Оценка V может быть значительно упрощена благодаря наличию малого параметра:

$$\delta = \frac{BL^2}{D_g} = \frac{V}{D_g/L},$$

малость которого связана с тем, что скорость роста опухоли должна быть значительно ниже, чем характерная скорость диффузии глюкозы в пролифе-

рирующем слое. Например, для значений параметров из их базового набора, $\delta \approx 1,7 \cdot 10^{-4}$. Разложение выражения (2.7) в ряд Тейлора до $o(\delta)$ дает

$$\begin{aligned}
 g_{cr} &= 1 - \frac{Q}{B} + \frac{Q}{B\delta} [1 - e^{-\delta}] \left[1 - \frac{2}{1 + \sqrt{1 + 4P/(B\delta)}} \right] \\
 &= 1 - \frac{Q}{B} + \frac{Q}{B\delta} \left[\delta - \frac{\delta^2}{2} + o(\delta^2) \right] \left[1 + \frac{B}{2P} \left\{ \delta - \sqrt{\delta^2 + \frac{4P\delta}{B}} \right\} \right] \\
 &= 1 - \frac{Q}{B} + \frac{Q}{B} \left[1 - \frac{\delta}{2} + o(\delta) \right] \left[1 + \frac{B}{2P} \delta - \sqrt{\frac{B}{P}} \sqrt{\delta} + o(\delta) \right] \\
 &= 1 - \frac{Q}{B} + \frac{Q}{B} \left[1 - \sqrt{\frac{B}{P}} \sqrt{\delta} - \frac{\delta}{2} \left(1 - \frac{B}{P} \right) + o(\delta) \right].
 \end{aligned}$$

Кроме того, удобно пренебречь B/P как небольшим параметром по сравнению с единицей – например, $B/P \approx 2,5 \cdot 10^{-3}$ при базовых значениях параметров модели. Это позволяет получить квадратное уравнение для приближенного значения ширины пролиферирующего слоя, \tilde{L} :

$$g_{cr} = 1 - \frac{Q}{\sqrt{PD_g}} \tilde{L} - \frac{Q}{2D_g} \tilde{L}^2,$$

которое легко решается, при этом только его положительный корень имеет физический смысл. Это приводит к следующей формуле для приблизительной скорости роста опухоли:

$$\tilde{V} = B\tilde{L} = B\sqrt{D_g} \left\{ \sqrt{\frac{1}{P} + 2\frac{1-g_{cr}}{Q}} - \sqrt{\frac{1}{P}} \right\}, \quad (2.8)$$

которая при базовом наборе параметров дает значения, равные с точностью до трех десятичных знаков значениям, полученным численно из уравнения (2.7). Стоит отметить, что это выражение ограничено сверху при $P \rightarrow \infty$:

$$\tilde{V}_{lim} = B\sqrt{\frac{2D_g}{Q}(1-g_{cr})},$$

что равно $\approx 0,651$ мм/неделю при базовом наборе параметров. Таким образом, скорость роста рассматриваемой опухоли не может увеличиться более чем в три раза в результате ангиогенеза. При $P = 40$ она составляет около двух третей от своего предельного значения, при $P = 80$ – около трех четвертей.

Эти оценки позволяют предположить, что для компактно растущих опухолей ААТ может обеспечить снижение скорости их роста в несколько раз. Следует отметить, что в модели не учитывается отток некротической ткани, при этом его включение должно усилить этот результат, более того, в этом случае ААТ может привести к полной остановке роста опухоли, а также к ее поджиганию, что иногда наблюдается в экспериментах [254].

Оценки скорости роста опухоли при конечных значениях параметров ϵ , M и l довольно трудно, если вообще возможно, получить аналитически, и они были выполнены с помощью численного моделирования. Однако сначала было проверено, насколько хорошо результаты, полученные в численном эксперименте, могут соответствовать уже полученным аналитическим оценкам. Для этого были проведены наборы из четырех симуляций с различными временными и пространственными шагами для каждого из шести значений параметра ангиогенеза в рассматриваемом диапазоне $P \in [4; 40]$. В каждой из симуляций шаг по времени τ и шаг по пространству h соотносятся как $\tau = h^2$. Значения l и M были выбраны близкими к максимальным значениям, допускаемым численными расчетами: $l = M = 0,1/\tau$. Значение ϵ было выбрано равным 10^5 , что при численном расчете приводит к функции $\sigma(g)$, неотличимой от ступенчатой, ввиду способа ее реализации в программном коде.

Точками на Рис. 2.3а обозначены значения скорости роста опухоли, полученные в этих численных симуляциях. Аналитически полученные значения обозначены крестиками соответствующих цветов на вертикальной оси. Для каждого используемого значения P построена наилучшая квадратичная интерполяция с целью аппроксимации значения скорости опухоли при $h \rightarrow 0$, $\tau \rightarrow 0$, $M \rightarrow \infty$, $l \rightarrow \infty$. Полученные таким образом значения находятся в хорошем соответствии с аналитическими, будучи лишь немного меньшими, чем они. Расхождение между значениями увеличивается с ростом P , составляя менее 1% при $P = 4$ и менее 5% при $P = 40$. На Рис. 2.3б-д показаны распределения переменных на 20-е сутки моделирования при значениях параметров, обозначенных соответствующими буквами на Рис. 2.3а. Численно полученные профили опухолевых клеток ожидаемо отличаются от ступенчатых функций, однако их передние края становятся более крутыми при более точной дискретизации. Следует отметить, что опухоли, которые получены при более грубой дискретизации, показанной на Рис. 2.3в,д, имеют бóльшие радиусы на 20-й день, чем

соответствующие опухоли, полученные при более точной дискретизации, показанные на Рис. 2.3б,г. Это не коррелирует с отношением между скоростями роста опухолей в этих симуляциях, поскольку эти профили получены в течение переходного периода их роста. Как показано на Рис. 2.3а, скорость роста опухоли изменяется по-разному с повышением дискретизации при различных значениях P .

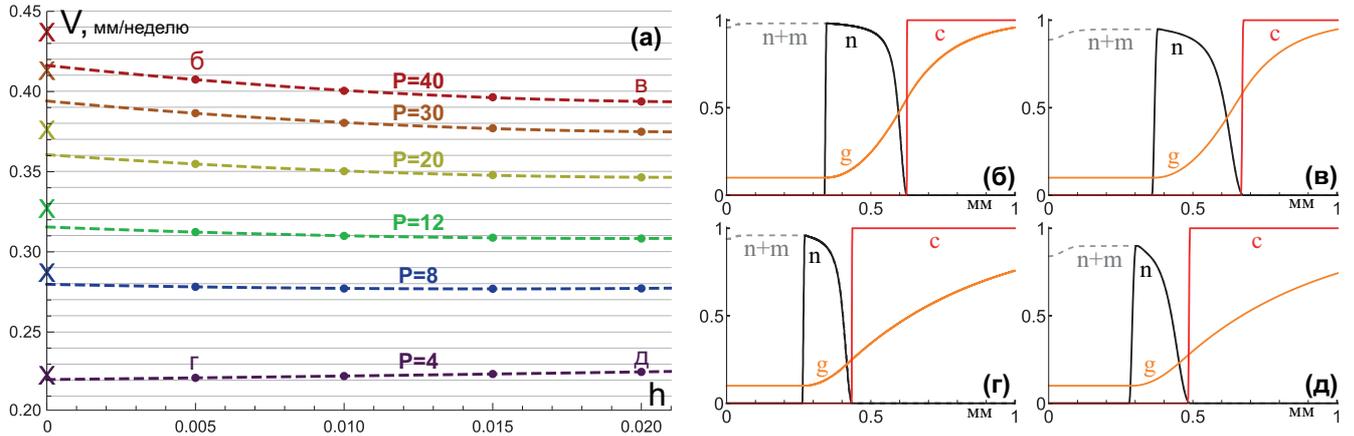


Рисунок 2.3 — (а) Точками обозначены значения скорости роста опухоли V , полученные при численном моделировании уравнений (2.1) при обозначенных значениях параметра ангиогенеза P и шага по пространству h , шагах по времени $\tau = h^2$, $D_n = 0$, $l = M = 0,1/\tau$, $\epsilon = 10^5$ и значениях других параметров, взятых из базового набора. Пунктирные линии представляют собой наилучшие квадратичные интерполяции для каждого значения P . Крестиками на вертикальной оси отмечены аналитически полученные значения скорости роста опухоли для использованных значений P . (б-д) Распределения модельных переменных на 20-е сутки при значениях параметров, обозначенных соответствующими буквами в (а).

Профили концентрации глюкозы отражают тот факт, что ее приток в ткань увеличивается с увеличением P , при этом ширина профилей опухолевых клеток, потребляющих глюкозу, также увеличивается. Численно полученные значения количества опухолевых клеток, аппроксимированные аналогичным образом для $h \rightarrow 0$, $\tau \rightarrow 0$, $M \rightarrow \infty$, $l \rightarrow \infty$ (данные не показаны), также немного меньше соответствующих аналитически полученных значений, равных ширине пролиферирующего слоя L (см. Рис. 2.2). Расхождение между ними составляет $\approx 3,8\%$ при $P = 4$ и $\approx 6,2\%$ при $P = 40$.

Аналогичные результаты, полученные при моделировании со значениями параметров ϵ , l и M , взятыми из базового набора, показаны на Рис. 2.4.

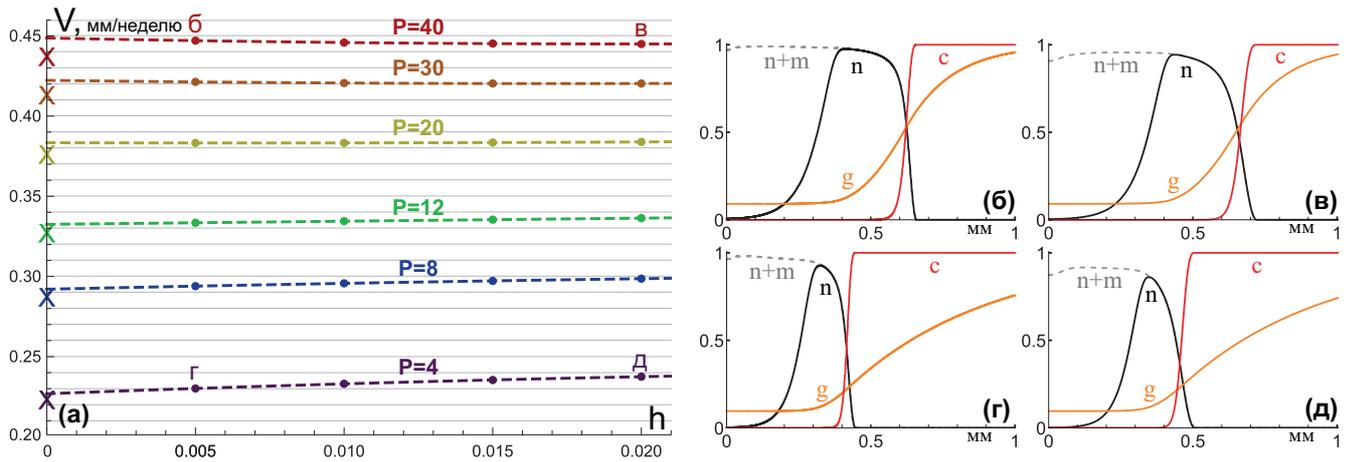


Рисунок 2.4 — (а) Точками обозначены значения скорости роста опухоли V , полученные при численном моделировании уравнений (2.1) при обозначенных значениях параметра ангиогенеза P и шага по пространству h , шагах по времени $\tau = h^2$, $D_n = 0$ и значениях других параметров, взятых из базового набора. Пунктирные линии представляют собой наилучшие квадратичные интерполяции для каждого значения P . Крестиками на вертикальной оси отмечены аналитически полученные значения скорости роста опухоли для использованных значений P . (б-д) Распределения модельных переменных на 20-е сутки при значениях параметров, обозначенных соответствующими буквами в (а).

При использовании базовых значений для этих параметров приближенные численные значения скорости роста опухоли слегка увеличиваются для каждого рассматриваемого значения P , становясь на 1,8 – 2,4% выше, чем соответствующие аналитически оцененные значения. Конечно, дальнейшее уменьшение ϵ или l , а также увеличение либо скорости пролиферации B , либо скорости потребления глюкозы Q , либо коэффициента диффузии глюкозы D_g , приведет к дальнейшему увеличению скорости роста опухоли. Однако слишком большие изменения значений этих параметров приведут к физически бессмысленным результатам, включающими в себя отрицательные концентрации глюкозы и/или взрывной рост опухоли, что указывает на ограничения представленной версии модели. Следует отметить, что само по себе уменьшение M оказывает лишь незначительное влияние на скорость роста опухоли и на профиль концентрации глюкозы, но его изменение в значительной степени влияет на границу между профилями некротической ткани и опухолевых клеток, которые еще считаются живыми.

2.2.2 Инвазивный тип роста

В данном подразделе получена аналитическая оценка скорости роста солидной опухоли с ненулевой подвижностью клеток D_n , в пренебрежении конвективным движением тканевых элементов, выраженном в уравнениях (2.1) гиперболическими членами. Аналогично, решение ищется в форме волны, движущейся с постоянной формой и скоростью V . Таким образом, основные уравнения сводятся к следующей системе обыкновенных дифференциальных уравнений, где также штрихи обозначают дифференцирование по $z = x - Vt$:

$$\begin{aligned}
 \text{клетки опухоли: } & Bn[1 - \sigma(g)] - Mn\sigma(g) + D_n n'' + Vn' = 0; \\
 \text{некротическая ткань: } & Mn\sigma(g) + Vm' = 0; \\
 \text{глюкоза: } & Pc[1 - g] - Qn[1 - \sigma(g)] + D_g g'' + Vg' = 0; \\
 \text{капилляры: } & -l[n + m]c + Vc' = 0;
 \end{aligned} \tag{2.9}$$

$$\text{где } \sigma(g) = \frac{1}{2}[1 - \tanh(\epsilon\{g - g_{cr}\})].$$

Граничные условия модифицируются следующим образом:

$$\left\{ \begin{array}{l} n = 0, \\ m = m^*, \\ g = g^*, \\ c = 0 \end{array} \right. \text{ при } z \rightarrow -\infty; \quad \left\{ \begin{array}{l} n = 0, \\ m = 0, \\ g = 1, \\ c = 1 \end{array} \right. \text{ при } z \rightarrow +\infty, \tag{2.10}$$

где g^* и m^* введены в качестве предельных постоянных значений концентрации глюкозы и доли некротической ткани при $z \rightarrow -\infty$. Для оценки V необходимо рассмотреть асимптотическое поведение решений системы (2.9) при $z \rightarrow \pm\infty$. Линеаризация системы (2.9) при граничных значениях (2.10) приводит к двум системам ОДУ с постоянными коэффициентами:

$$\left\{ \begin{array}{l} D_n n''_- + Vn'_- + Bn_-[1 - \sigma(g^*)] - Mn_- \sigma(g^*) = 0; \\ Vm'_- + Mn_- \sigma(g^*) = 0; \\ D_g g''_- + Vg'_- + Pc_-[1 - g^*] - Qn_-[1 - \sigma(g^*)] = 0; \\ Vc'_- - lm^*c_- = 0. \end{array} \right.$$

и

$$\begin{cases} D_n n''_+ + V n'_+ + B n_+[1 - \sigma(1)] - M n_+ \sigma(1) = 0; \\ V m'_+ + M n_+ \sigma(1) = 0; \\ D_g g''_+ + V g'_+ - P g_+ - Q n_+[1 - \sigma(1)] = 0; \\ V c'_+ - l[n_+ + m_+] = 0, \end{cases}$$

где нижние индексы $-$ и $+$ относятся к линеаризованным задачам при $z \rightarrow -\infty$ и $z \rightarrow +\infty$ соответственно. Решения этих проблем следует искать в виде $(n'_\pm, n_\pm, m_\pm, g'_\pm, g_\pm, c_\pm)^T \sim \mathbf{k}^\pm \exp(\mu^\pm z)$, что сводит эти системы линейных дифференциальных уравнений к задачам на собственные значения.

При $z \rightarrow -\infty$ собственные значения равны:

$$\begin{aligned} \mu_{1,2}^- &= 0, \mu_3^- = l m^- / V, \mu_4^- = -V / D_g, \\ \mu_{5,6}^- &= [-V/2 \pm \sqrt{V^2/4 + D_n \{M\sigma(g^-) - B[1 - \sigma(g^-)]\}}] / D_n, \end{aligned}$$

где μ_3^- положительно, μ_4^- отрицательно, а $\mu_{5,6}^-$ имеют противоположные знаки, так как $M\sigma(g^-) - B[1 - \sigma(g^-)] > 0$, т.е., скорость гибели клеток превышает скорость их пролиферации при достаточно низких значениях z , что следует из физического смысла модели.

При $z \rightarrow +\infty$ собственные значения равны:

$$\begin{aligned} \mu_{1,2}^+ &= 0, \mu_{3,4}^+ = [-V/2 \pm \sqrt{V^2/4 + D_g P}] / D_g, \\ \mu_{5,6}^+ &= [-V/2 \pm \sqrt{V^2/4 - D_n \{B[1 - \sigma(1)] - M\sigma(1)\}}] / D_n, \end{aligned}$$

где $\mu_{3,4}^+$ имеют противоположные знаки и, в зависимости от значения V , $\mu_{5,6}^+$ являются либо комплексными числами с отрицательными вещественными частями, либо действительными числами с противоположными знаками, либо оба равны нулю. Следовательно, при достаточно низких значениях V решение может осциллировать при больших значениях z , приводя к наличию областей с отрицательными значениями n и m , что физически нереально. Таким образом, для физически обоснованных решений достаточным является следующее ограничение скорости роста опухоли:

$$V \geq V_{min} = 2\sqrt{D_n \{B[1 - \sigma(1)] - M\sigma(1)\}} \approx 2\sqrt{B D_n}, \quad (2.11)$$

последние два значения чрезвычайно близки при базовом наборе параметров, и отличаются менее чем на $10^{-13}\%$ даже при уменьшении ϵ до значения 20. Для

базового набора параметров $V_{min} \approx 1,063$ мм/неделю, что хорошо согласуется со скоростями роста высокоинвазивных опухолей [248]. Формула (2.11) хорошо соответствует общеизвестному результату, касающемуся уравнения Фишера, который можно записать в обозначениях, использованных здесь, как

$$\frac{\partial n}{\partial t} = Bn(1 - n) + D_n \frac{\partial^2 n}{\partial x^2}. \quad (2.12)$$

Для этого уравнения диапазон скоростей монотонных волн удовлетворяет

$$V \geq V_{min}^f = 2\sqrt{BD_n},$$

на этот результат не влияет изменение члена пролиферации, при условии что ее скорость стремится к B при $n \rightarrow 0$. Для уравнения Фишера известно, что если его начальные условия имеют компактный носитель, т.е.

$$n(x,0) = n_0(x) \geq 0, \quad n_0(x) = \begin{cases} 1 & \text{если } x \leq x_1, \\ 0 & \text{если } x \geq x_2, \end{cases} \quad (2.13)$$

где $x_1 < x_2$ и $n_0(x)$ непрерывна при $x_1 < x < x_2$, то решение $n(x,t)$ уравнения (2.12) эволюционирует в движущееся волновое решение с минимальной скоростью $V_{min}^f = 2\sqrt{BD_n}$ [255].

Численное моделирование системы (2.9) с начальными условиями (2.3), которые представляют собой функцию с компактным носителем, демонстрируют, что они эволюционируют в волновые фронты, движущиеся со скоростями, очень близкими к $2\sqrt{BD_n}$. Для базового набора параметров численное моделирование дает $V \approx 1,061$ мм/неделю, при этом скорость роста опухоли одинакова с точностью до трех знаков после запятой (как и количество клеток $N \approx 1,383$) при шагах по пространству $h = \{0,2; 0,1; 0,05; 0,025\}$ и шагах по времени $\tau = h^2$. Таким образом, гораздо более грубая дискретизация может дать более точные результаты для рассматриваемой системы без учета конвективных членов. Симуляции, обсуждаемые в следующем подразделе, а также дюжина симуляций при других значениях параметров, выбранных случайным образом из диапазонов $B \in [0,05; 0,3]$ и $D_n \in [0,001; 0,4]$, также дали значения скоростей роста опухоли, которые отличаются от $2\sqrt{BD_n}$ не более, чем на 0,5%.

Так как система (2.9) может рассматриваться как расширение модели Фишера, полученные результаты свидетельствуют о том, что введенные модифика-

ции не должны влиять на скорость движения ее решения, которая развивается из функции с компактным носителем, или при по крайней мере, они должны приводить лишь к очень малой ее коррекции в пределах физиологически обоснованного диапазона параметров. Наиболее важно то, что параметр P не присутствует в формуле (2.11), что подразумевает то, что ангиогенез совершенно не должен влиять на скорость роста рассматриваемой инвазивной опухоли. Численное моделирование говорит в пользу этого результата. Симуляции при шести значениях параметра ангиогенеза в рассматриваемом диапазоне $P \in [4, 40]$ дали значения скоростей роста опухоли, равные с точностью до трех десятичных знаков, что проиллюстрировано на Рис. 2.5а. Симуляции выполнялись с пространственным шагом $h = 0,1$ и временным шагом $\tau = h^2 = 0,01$, что, тем не менее, не позволило сэкономить достаточное количество вычислительного времени по сравнению с симуляциями подраздела 2.2.1, так как в данном случае скорость роста опухоли гораздо медленнее стремится к постоянному значению, что требует более длительных численных прогонов на больших областях.

Следует отметить, что число опухолевых клеток заметно растет с увеличением P , как показано на Рис. 2.5а, и изменяется на $\approx 72\%$ при 10-кратном увеличении базовой величины $P = 4$. Этот эффект хорошо заметен при сравнении профилей опухолевых клеток при $P = 4$ и $P = 40$, которые изображены на Рис. 2.5б,в на 20-е сутки роста опухолей. По сравнению с профилями для компактных опухолей, показанными на Рис. 2.4, они имеют ярко выраженный инвазивный характер с более низкой максимальной концентрацией клеток и гораздо большей шириной проникновения в нормальные ткани, где микроциркуляторная сеть менее разрушена.

Радиусы двух изображенных инвазивных опухолей очень близки друг к другу, несмотря на разницу в количестве их клеток. Формально они немного различаются из-за способа их оценки, но не более, чем на 0,2 мм в течение всего времени симуляций, при этом скорость их роста стремится к значениям, отличающимся не более чем на 0,002%, что лежит в пределах диапазона численной ошибки.

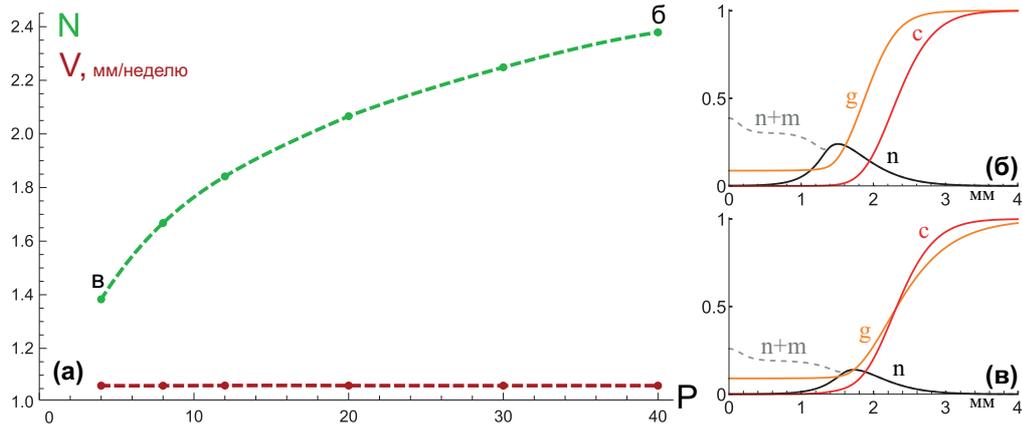


Рисунок 2.5 — (а) Красными точками обозначены значения скорости роста опухоли V , зелеными – значения количества клеток опухоли N , полученные при численном моделировании уравнений (2.1) в пренебрежении гиперболическими членами (т.е., $I = 0$) при обозначенных значениях параметра ангиогенеза P , значениях других параметров, взятых из базового набора, шаге по пространству $h = 0,1$ и шаге по времени $\tau = 0,01$. Пунктирные линии представляют собой интерполяции данных. (б-в) Распределения модельных переменных на 20-е сутки симуляций при $P = 40$ и $P = 4$ соответственно.

2.2.3 Смешанный тип роста

Заключение о безразличии скорости роста инвазивной опухоли к ААТ справедливо при полном игнорировании конвективной составляющей роста опухоли. Однако разумно предположить, что одновременный учет этого фактора должен, тем не менее, приводить к ненулевому влиянию ААТ на скорость роста инвазивной опухоли, поскольку в этом случае число ее клеток должно влиять на конвективный компонент роста опухоли. Для оценки влияния ААТ на опухоли со смешанным типом роста были проведены наборы из шести симуляций при различных значениях параметра ангиогенеза P для восьми значений подвижности опухолевых клеток D_n . В качестве компромисса между вычислительными затратами и точностью были использованы значения шага по пространству $h = 0,01$ и шага по времени $\tau = 10^{-4}$. Полученные скорости роста опухоли обозначены на Рис. 2.6а, где добавлены уже показанные на Рис. 2.4а данные для случая с нулевой подвижностью клеток. Пусть максимальный антиангиогенный эффект определяется как

$$(V|_{P=40} - V|_{P=4})/V|_{P=40},$$

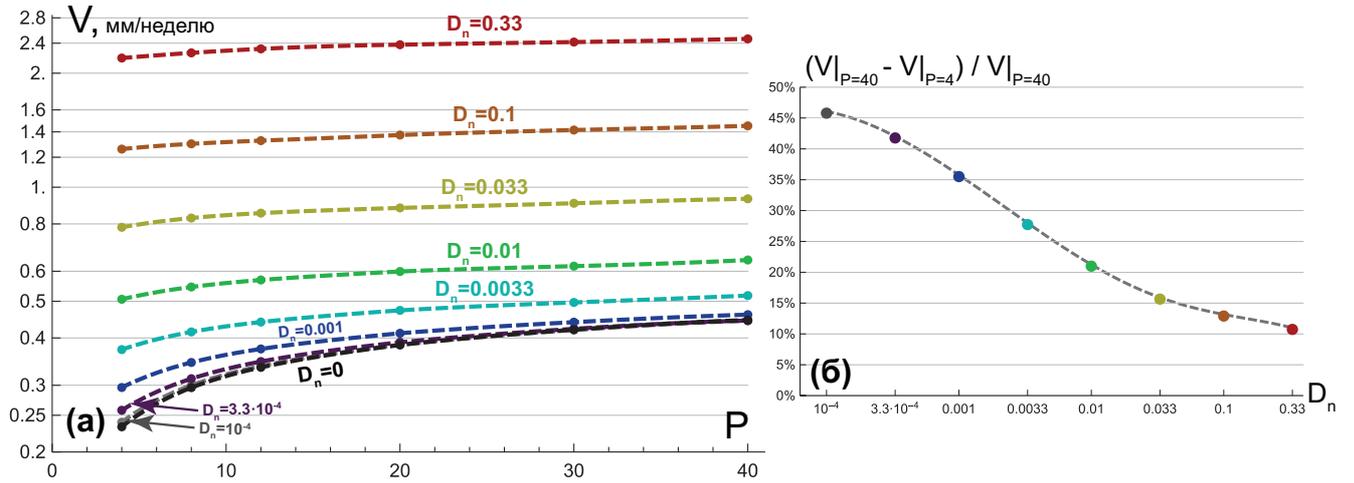


Рисунок 2.6 — (а) Точками обозначены значения скорости роста опухоли V , полученные при численном моделировании уравнений (2.1) при шаге по пространству $h = 0,01$ и шаге по времени $\tau = 10^{-4}$ при указанных значениях параметра ангиогенеза P и значениях других параметров, взятых из базового набора. Пунктирные линии представляют собой интерполяции данных. (б) График максимального ангиогенного эффекта, основанный на данных, показанных в (а), который демонстрирует, как скорость роста опухоли снижается при уменьшении параметра ангиогенеза P с 40 до 4 при указанных значениях D_n .

и таким образом указывает, насколько скорость роста опухоли будет снижаться при уменьшении параметра ангиогенеза P с 40 до 4, где последнее значение соответствует нормальному уровню капилляров в ткани и их нормальной проницаемости. Зависимость этого параметра от подвижности опухолевых клеток показана на Рис. 2.6б, при этом при $D_n = 0$ он равен $\approx 48\%$. Из представленного графика видно, что эффект моно-ААТ должен обратно коррелировать с инвазивностью опухоли, однако он должен быть ненулевым даже для высокоинвазивных опухолей, поскольку максимальный антиангиогенный эффект, полученный при высоких значениях подвижности опухолевых клеток, $D_n = 0,1$ и $D_n = 0,33$, равен $\approx 13\%$ и $\approx 11\%$ соответственно.

Интересным свойством рассматриваемых опухолей со смешанным типом роста является тот факт, что скорость их роста не равна сумме двух скоростей: V_{comp} , которая получается в отсутствие подвижности клеток – т.е. при чисто компактном росте – и $V_{inv} \approx 2\sqrt{BD_n}$, которая получается в отсутствие конвективного потока – т.е., при чисто инвазивном росте. Это свойство проиллюстрировано на Рис. 2.7, где показана зависимость параметра $(V - V_{comp})/V_{inv}$ от P для

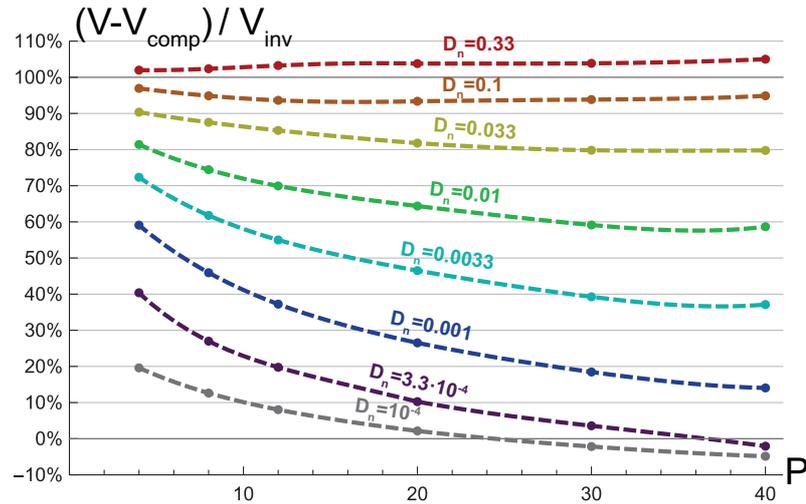


Рисунок 2.7 — Точками обозначены отношения разницы в скорости роста опухоли V и V_{comp} , которая представляет собой скорость роста той же опухоли при нулевой подвижности клеток, к V_{inv} , которая является скоростью роста той же опухоли в отсутствие конвективного потока. Все значения получены численно при моделировании уравнений (2.1) с шагом по пространству $h = 0,01$ и шагом по времени $\tau = 10^{-4}$ при обозначенных значениях параметра ангиогенеза P и подвижности опухолевых клеток D_n и значениях других параметров, взятых из базового набора. Пунктирные линии представляют собой интерполяции данных.

разных D_n . Этот параметр можно рассматривать как отношение увеличения скорости роста опухоли, вызванного мобилизацией изначально неподвижных клеток, к скорости самого чисто инвазивного роста. Причиной неаддитивности скоростей роста является тот факт, что перераспределение опухолевых клеток, вызванное их миграцией, приводит к изменению количества клеток в пролиферирующем состоянии и изменяет конвективное поле скоростей. Этот эффект имеет неоднозначный характер. Во-первых, выпячивание профиля опухолевых клеток в область с нормальной плотностью микроциркуляторного русла приводит к увеличению эффективной скорости разрушения капилляров, что приводит к уменьшению притока глюкозы к опухоли и последующему уменьшению пула пролиферирующих клеток. Во-вторых, это выпячивание само расширяет пул опухолевых клеток, расположенных в области с концентрацией глюкозы, достаточной для их пролиферации. Первый аспект доминирует при малых значениях D_n , что приводит к гораздо меньшему увеличению скорости роста опухоли, чем $2\sqrt{BD_n}$. Этот эффект более выражен при высоких значениях

P , поскольку в этих случаях опухоли имеют больше клеток и, следовательно, бóльшие размеры таких выпячиваний, которые приводят к ускоренному разрушению капилляров. Согласно результатам моделирования, опухоль с подвижными клетками может даже расти медленнее, чем такая же опухоль с иммобилизованными клетками. Второй аспект доминирует при высоких значениях D_n , что приводит к тому, что скорость роста опухоли выше, чем $V_{conv} + V_{dif}$ при $D_n = 0,33$ для всех рассмотренных значений P .

2.3 Обсуждение

В этой главе была представлена пространственно-распределенная непрерывная математическая модель роста васкуляризованной опухоли в ткани, которая учитывает собственную подвижность злокачественных клеток и конвективное движение, возникающее из-за их пролиферации, что позволяет рассматривать два типа роста опухоли – инвазивный и компактный – а также их комбинацию. Модель была использована для исследования влияния антиангиогенной терапии (ААТ) на моноклональные опухоли, которые имеют разные типы роста. Проведенные аналитические оценки позволяют предположить, что ААТ может привести к снижению скорости роста компактной опухоли в несколько раз, но снижение скорости роста для инвазивных опухолей должно быть значительно менее существенным. Этот вывод хорошо согласуется с доклиническими и клиническими данными [9]. Следует отметить, что одним из допущений модели является игнорирование оттока некротической ткани, при этом его учет может привести к существованию модельных случаев с полной остановкой роста компактной опухоли, а также ее поджиманием в результате ААТ.

Интересно, что аналитическое выражение для скорости роста компактной опухоли позволяет получить предел скорости ее роста при бесконечном увеличении числа капилляров и/или их проницаемости, однако оценки с физиологически обоснованными значениями параметров позволяют предположить, что достижение более чем $\approx 80\%$ от предельного значения скорости маловероятно для реальных опухолей. Аналитическое выражение для скорости роста инвазивной опухоли указывает на то, что ангиогенез совершенно не должен влиять на нее при пренебрежении конвективной составляющей роста опухоли, что подтверждается численным моделированием. Тем не менее, моделирование, которое учитывает оба типа роста одновременно, позволяет предположить, что

максимально возможный ангиогенный эффект с точки зрения снижения скорости опухоли для высокоинвазивных опухолей должен составлять около 10-15%.

Важно отметить, что игнорирование конвективного движения привело бы к неверному выводу о безразличии скорости роста опухоли к ангиогенезу и для малоинвазивных опухолей, поскольку на этот вывод не влияет конкретное значение подвижности опухолевых клеток. Таким образом, представленное исследование подчеркивает ограничения классических реакционно-диффузионных моделей роста опухоли для исследования лечения онкологических заболеваний. Следует отметить, что учет конвективной составляющей роста опухоли также должен иметь решающее значение для моделирования других видов терапии. В частности, уменьшение количества делящихся опухолевых клеток, вызванное химиотерапией или радиотерапией, должно приводить к недооценке снижения скорости роста опухоли в моделях типа реакция-диффузия.

Выполненные численные симуляции подчеркивают неаддитивный характер двух типов роста опухоли. А именно, добавление достаточно малой подвижности к первоначально иммобилизованным опухолевым клеткам должно привести к заметно меньшему увеличению скорости роста опухоли, чем можно ожидать из аналитических оценок скорости роста соответствующей инвазивной опухоли. Интересно, что математическое моделирование позволяет предположить, что малоинвазивная опухоль может расти даже медленнее, чем такая же опухоль с иммобилизованными клетками. Напротив, при достаточно высокой подвижности клеток два типа роста опухоли производят синергетический эффект.

Исследуемая модель включает в себя множество упрощений, осуществленных ради возможности аналитического исследования. Некоторые из ограничений этой модели были отмечены в разделе 2.2.1, а именно, модель демонстрирует физиологически некорректное поведение при экстремальных значениях некоторых параметров. Следует отметить, что при необходимости учета роста опухоли при таких значениях параметров эти особенности могут быть исправлены с помощью модификаций, некоторые из которых будут рассмотрены в следующих главах – например, снижение скорости потребления глюкозы при ее низком уровне и учет сдвига микроциркуляторной сети из-за конвективных членов. Другие модификации запланированы в дальнейших исследованиях – в частности, учет давления, которое возникает из-за динамики опухолевых клеток.

Глава 3. Исследование явления временного облегчения внутриопухолевой гипоксии в первые дни антиангиогенной терапии

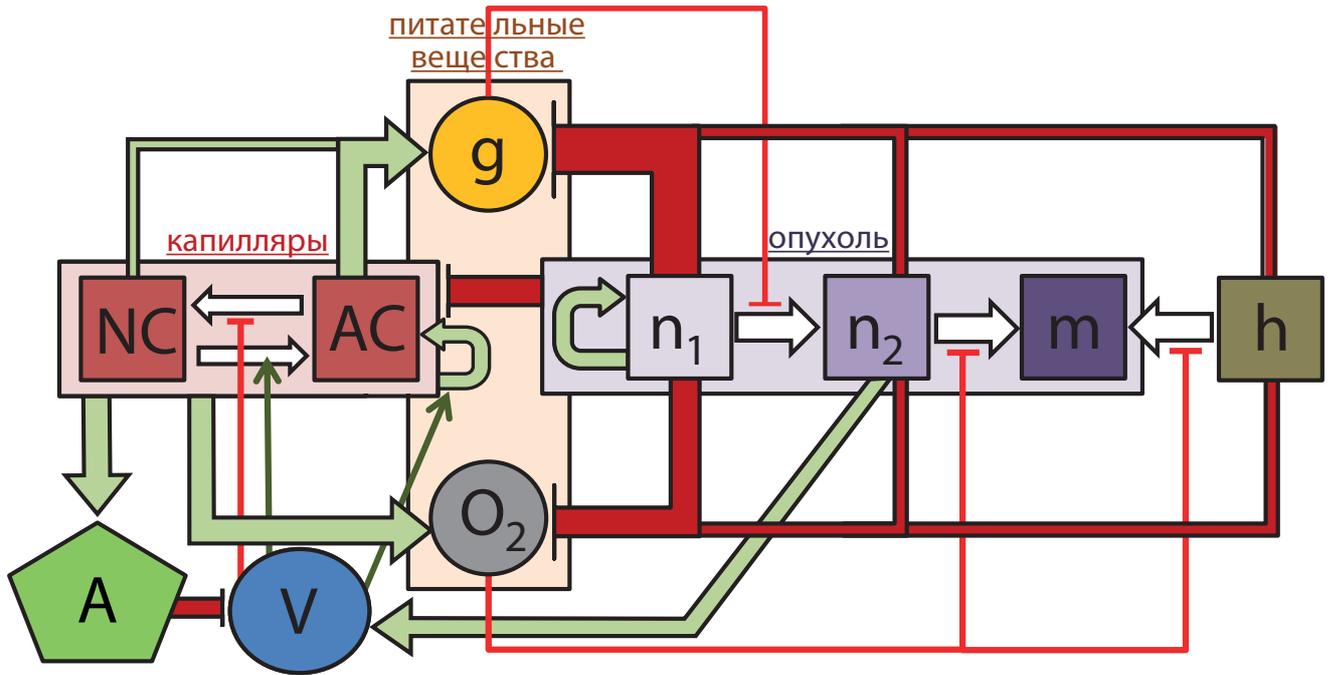
В данной главе представлена математическая модель роста злокачественной васкуляризованной опухоли в ткани, учитывающая ключевые особенности ее метаболизма и притока основных питательных веществ в ткань. Модель применяется для исследования причин явления временного облегчения внутриопухолевой гипоксии в первые дни антиангиогенной терапии, при этом в ней игнорируется изменение кровотока в отдельных капиллярах в результате антиангиогенной терапии, что на данный момент принимается в литературе в качестве основной причины этого явления. Эта задача представляет собой значительный практический интерес, поскольку временное облегчение гипоксии создает основу для оптимизации комбинированной антиангиогенной и радиотерапии, так как эффективность последней зависит от концентрации кислорода в опухоли.

3.1 Модель

Рассматриваемая в данной главе модель представляет собой значительно усложненную версию модели, рассмотренной в предыдущей главе. На Рис. 3.1 показана схема основных взаимодействий между переменными модели. Эти взаимодействия подробно описаны ниже и выражены в математической форме. Все переменные являются функциями пространственной и временной координаты, x и t , которые опущены для упрощения нотации.

3.1.1 Опухоль и нормальная ткань

Динамика опухоли и нормальных клеток описывается следующими уравнениями:

Опухоль:

n_1 – делящиеся клетки
 n_2 – покоящиеся клетки
 m – некротическая ткань

Нормальная ткань:

h – нормальные клетки

Капилляры:

NC – нормальные
 AC – аномальные

Питательные вещества:

G – глюкоза
 O_2 – кислород

Антиангиогенная терапия:

A – бевацизумаб
 V – VEGF

Рисунок 3.1 — Схема модели роста опухоли, определяемой системой (3.1)-(3.4). Зеленые стрелки указывают на стимулирующие отношения, красные – на ингибирующие отношения, белые – на переход между переменными.

$$\begin{aligned}
 \frac{\partial n_1}{\partial t} &= \overbrace{Bn_1}^{\text{деление}} - \overbrace{P_1(g)n_1}^{\text{переход}} - \overbrace{\nabla(In_1)}^{\text{конвекция}}, \\
 \frac{\partial n_2}{\partial t} &= \overbrace{P_1(g)n_1}^{\text{переход}} - \overbrace{d_n(O_2)n_2}^{\text{гибель}} + \overbrace{D_n\Delta n_2}^{\text{миграция}} - \overbrace{\nabla(In_2)}^{\text{конвекция}}, \\
 \frac{\partial h}{\partial t} &= \overbrace{-d_h(O_2)h}^{\text{гибель}} - \overbrace{\nabla(Ih)}^{\text{конвекция}}, \\
 \frac{\partial m}{\partial t} &= \overbrace{d_n(O_2)n_2 + d_h(O_2)h}^{\text{гибель клеток}} - \overbrace{\nabla(I m)}^{\text{конвекция}},
 \end{aligned} \tag{3.1}$$

$$\begin{aligned}
 & \text{где } P_1(g) = k_1 \exp(-k_2 g), \quad d_i(O_2) = d_i^{\max} \exp(-k_i^d O_2), \quad i = n, h \\
 & n_1 + n_2 + m + h = 1, \quad \frac{\partial I}{\partial x} = Bn_1 + D_n \Delta n_2.
 \end{aligned}$$

Опухоль состоит из моноклональной гетерогенной популяции, которая включает в себя делящиеся клетки с нормализованной плотностью n_1 и покоящиеся клетки с плотностью n_2 . Стоит отметить, что термин “покоящиеся” обозначает отсутствие движения клеток по клеточному циклу, при этом покоящиеся опухолевые клетки обладают собственной подвижностью и способны мигрировать по ткани. В данной главе рассматривается рост малоинвазивной опухоли, т.е., коэффициент миграции опухолевых клеток принимается достаточно низким. Кроме того, поскольку известно, что активно пролиферирующие опухолевые клетки мигрируют медленнее, чем покоящиеся, миграция пролиферирующих клеток игнорируется [256]. Переход клеток из пролиферирующего состояния в состояние покоя зависит от локальной концентрации глюкозы g , скорость этой зависимости была оценена в экспериментальном исследовании [257]. Обратный переход не учитывается в этой модели, поскольку он будет играть роль только в том случае, если покоящиеся клетки достигнут областей с достаточным для пролиферации уровнем глюкозы, чего не происходит во время симуляций в данной главе.

Ткань изначально состоит из нормальных клеток, локальная доля которых составляет h . Нормальные клетки и покоящиеся опухолевые клетки могут погибнуть, превратившись в некротическую ткань, доля которой обозначена как m . Критическим фактором для выживания клеток является локальная концентрация кислорода O_2 , причина этого подхода объяснена далее в подразделе 3.1.3. Локальная кинетика опухолевых клеток влияет на распределение других переменных в ткани, для учета чего используется конвективная скорость $I(r,t)$. Градиент конвективной скорости выводится путем суммирования уравнений для всех клеток и некротической ткани, в предположении, что сумма всех компонентов ткани постоянна и нормирована на единицу, что соответствует плотной несжимаемой ткани. При этом объемы всех клеток, как и объем некроза, образовавшегося в результате гибели клеток, считаются равными. Динамика капилляров не влияет на конвективную скорость, так как объем капилляров считается незначительным.

3.1.2 Микроциркуляторная сеть

В модель включены две переменные, используемые для описания микроциркуляторной сети, а именно ее нормальной и аномальной части, NC и AC ,

при этом под аномальными капиллярами имеются в виду капилляры, имеющие повышенную проницаемость в результате влияния VEGF. Локальное соотношение этих переменных можно рассматривать как характеристику аномалии капилляров, которая определяет эффективную локальную проницаемость и, следовательно, итоговый приток веществ. Считается, что приток всех рассматриваемых веществ происходит путем пассивной диффузии через стенки капилляров, при этом игнорируются остальные пути притока веществ, ключевым из которых является фильтрация жидкости. Это физиологически оправдано для кислорода и глюкозы, так как эта составляющая транскапиллярного транспорта для глюкозы составляет около 2%, а для кислорода и вовсе пренебрежимо мала [67]. Конвективные составляющие притока в ткань VEGF и бевацизумаба игнорируются, так как их учет потребует значительного усложнения модели, при этом он не повлияет качественно на рост опухоли из-за особенностей динамики VEGF и бевацизумаба. Так как скорость диффузионного транспорта через стенку капилляров пропорциональна их площади поверхности, переменные NC и AC имеют физический смысл локальной плотности площади поверхности капилляров.

$$\begin{aligned}
\frac{\partial NC}{\partial t} &= \underbrace{-l(n_1 + n_2 + m)NC}_{\text{разрушение}} + \underbrace{\frac{v_{nor}V^*}{V + V^*}AC}_{\text{нормализация}} - \underbrace{\frac{v_{den}V}{V + V^*}NC}_{\text{денормализация}} \\
&\quad \underbrace{-\mu(NC + AC - 1)NC \cdot \Theta(NC + AC - 1)}_{\text{нормализация плотности}} - \underbrace{\nabla(\gamma I \cdot NC)}_{\text{конвекция}}, \\
\frac{\partial AC}{\partial t} &= \underbrace{\frac{RV}{V + V^*}[NC + AC][1 - \frac{NC + AC}{C_{max}}]}_{\text{ангиогенез}} \\
&\quad \underbrace{-l(n_1 + n_2 + m)AC}_{\text{разрушение}} - \underbrace{\frac{v_{nor}V^*}{V + V^*}AC}_{\text{нормализация}} + \underbrace{\frac{v_{den}V}{V + V^*}NC}_{\text{денормализация}} \\
&\quad \underbrace{-\mu(NC + AC - 1)AC \cdot \Theta(NC + AC - 1)}_{\text{нормализация плотности}} - \underbrace{\nabla(\gamma I \cdot AC)}_{\text{конвекция}}.
\end{aligned} \tag{3.2}$$

Разрушение капилляров происходит внутри опухоли, при этом скорость разрушения пропорциональна суммарной плотности опухоли, включая некротическую ткань. Капилляры движутся вместе с конвективными потоками, при этом скорость их движения ниже, чем у клеток из-за их связности. Действие на капилляры фактора роста эндотелия сосудов VEGF, описываемого перемен-

ной V , приводит к образованию новых аномальных капилляров, прорастающих на микрососудах обоих типов, а также к “денормализации” капилляров, выражающейся в переходе из NC в AC , который вводится в модель для отражения увеличения проницаемости сосудов под действием VEGF. Оба явления моделируются с помощью членов типа Михаэлиса-Ментен, благодаря которым скорости соответствующих процессов равны нулю при отсутствии VEGF и становятся близкими к максимальному значению при достаточном его количестве. Общая плотность микроциркуляторной сети ограничена сверху. При низкой концентрации VEGF капилляры нормализуются, и происходит обратный переход из AC в NC . Член нормализации плотности микроциркуляторной сети вводится для отражения тенденции микроциркуляторной сети возвращаться к постоянной физиологически обоснованной плотности, когда общая плотность микрососудов превышает ее (что контролируется с помощью ступенчатой функции Хевисайда). Этот член играет роль, когда опухолевый ангиогенез останавливается из-за терапевтического вмешательства.

3.1.3 Питательные вещества

Модельная динамика обоих питательных веществ – глюкозы g и кислорода O_2 – включает в себя одни и те же процессы: приток в ткань из капиллярной сети, потребление опухолью и нормальными клетками и диффузию внутри ткани. Однако динамика кислорода значительно отличается от динамики глюкозы ввиду особенностей его транспорта в крови, транскapиллярного транспорта и метаболизма злокачественных опухолей. Перенос глюкозы через стенку капилляров зависит от количества и размеров пор в них, поэтому проницаемость для него у капилляров, образованных в результате опухолевого ангиогенеза, больше, чем у наиболее распространенных сплошных капилляров организма, что вместе с увеличением количества капилляров в результате ангиогенеза приводит к усиленному снабжению опухоли этим важнейшим питательным веществом. При этом скорость притока глюкозы в ткань достаточно мала для того, чтобы ее концентрация падала лишь немного вдоль длины капилляра. Непосредственные измерения демонстрируют небольшую разницу артериально-венозной глюкозы в крови даже в случае злокачественных опухолей (см., например, [258]), поэтому концентрация глюкозы в крови считается в модели постоянной.

Поскольку кислород, как низкомолекулярное жирорастворимое вещество, проникает непосредственно через стенки капилляров, проницаемость для него (которая на четыре порядка больше, чем для глюкозы) может считаться равной для обоих типов капилляров в модели. Уровни кислорода в артериальной и венозной крови даже при нормальных условиях отличаются более чем в два раза [259], из чего следует, что его концентрацию в крови нельзя рассматривать как постоянную, а его приток в ткань в первом приближении пропорционален потоку крови через опухолевую микроциркуляторную сеть, а не площади поверхности ее капилляров. Таким образом, для корректного описания притока кислорода в ткань необходимо ввести зависимость кровотока от площади поверхности капилляров. Общие рассуждения позволяют понять, как должна выглядеть такая зависимость на качественном уровне.

Для этого необходимо сначала рассмотреть небольшое капиллярное дерево, соединяющее артериальную и венозную части – так что сопротивление этого капиллярного дерева намного больше, чем у остальной части кровеносной сети, и соответственно скорость кровотока через него близка к нулю. Добавление другого идентичного капиллярного дерева параллельно первому уменьшит вдвое их общее сопротивление и увеличит скорость кровотока через них почти вдвое. Поэтому, при достаточно низкой плотности микроциркуляторного русла кровоток должен расти линейно с ее увеличением. Однако при достаточно большом количестве таких капиллярных деревьев, так что их общее сопротивление наоборот становится меньше, чем у других частей кровеносной сети, добавление любого количества новых капилляров приведет лишь к малому увеличению кровотока, так как оно в этом случае определяется сопротивлением других сосудов. В данной модели используется функция зависимости кровотока от плотности поверхности микроциркуляторной сети, удовлетворяющая этому качественному описанию и аппроксимированная по данным исследования отдельной модели капиллярной сети, проведенного нашими коллегами [260].

Далее, приток кислорода в ткань не является линейно пропорциональным разнице его концентраций в капиллярной крови и ткани, как в случае глюкозы, ввиду сложного механизма переноса кислорода в крови. Его молекулы переносятся в двух формах – как часть оксигемоглобина, т.е., обратимо связанными с молекулами гемоглобина в эритроцитах, и в свободной форме, т.е., растворенными в плазме крови и эритроцитах. Термин “концентрация кислорода” сам по

себе не используется в клиниках, поскольку эта величина не является непосредственно измеряемой. Гораздо более популярным параметром является давление кислорода, которое пропорционально концентрации свободного кислорода и, следовательно, является величиной, разница которой в крови и в ткани находится в прямом соотношении с притоком кислорода [261]. Однако большая часть кислорода в крови (примерно 98% в физиологическом диапазоне) связана с гемоглобином, причем доля оксигемоглобина является функцией давления кислорода, которая называется кривой диссоциации кислорода и гемоглобина. Форма этой функции и ее зависимость от внешних параметров были хорошо известны уже около века назад [262]. В свете вышесказанного, член притока кислорода в ткань в данной модели выведен на основании двух ключевых предположений: 1) транскапиллярный перенос кислорода достаточно быстрый, чтобы значения давления кислорода в капилляре и в ткани становились равными за время протекания кислорода по капилляру; 2) количество свободного кислорода в крови незначительно по сравнению с кислородом в связанном с гемоглобином состоянии. Вместе с более общим модельным предположением о том, что объем капиллярной сети пренебрежимо мал по сравнению с объемом ткани, этот приводит к тому, что приток кислорода в модели пропорционален разнице между значениями насыщения гемоглобина при двух значениях концентрации свободного кислорода – в артериальной крови и в ткани.

Одним из основных признаков злокачественных опухолей является измененный метаболизм клеток. В настоящее время этот признак выделяется как одна из ключевых особенностей рака [22]. Основным и наиболее эффективным метаболическим путем для получения энергии для нормальной клетки является окислительное фосфорилирование (ОКФОС) различных питательных веществ с использованием кислорода. Преобразование одного моля глюкозы в углекислый газ и воду через ОКФОС обеспечивает клетки до 36 молями АТФ, который затем используется ими в качестве источника энергии. При недостаточной концентрации кислорода клетки как правило используют менее эффективные метаболические пути, такие как анаэробный гликолиз [263], который дает только около 2 моля АТФ на один потребленный моль глюкозы. Однако гликолиз способен обеспечить более высокую скорость производства АТФ при достаточном уровне глюкозы ввиду того факта, что он происходит во всем объеме цитоплазмы клетки, тогда как процесс ОКФОС ограничен ее митохондриями.

ми. Относительная роль гликолиза как генерирующего энергию метаболического пути значительно возрастает в злокачественных клетках даже при высокой концентрации кислорода. Это явление известно как “эффект Варбурга” [264]. В настоящее время споры о его причинах не прекращаются, и было предложено несколько возможных объяснений, среди которых: дефекты в митохондриях (предложение, сделанное самим Варбургом), адаптация к гипоксическому микроокружению [265] и прямая модуляция функции митохондрий генами малигнизированных клеток с целью минимизации образования активных форм кислорода, побочных продуктов митохондриального дыхания, которые участвуют в клеточном апоптозе [47]. Рассматриваемая здесь модель основывается на гипотезе о том, что основной причиной эффекта Варбурга является функциональная перестройка метаболизма злокачественных клеток с целью максимизации скорости пролиферации опухоли, поскольку само использование аэробного гликолиза облегчает производство биомассы и позволяет усилить участие митохондрий в биосинтезе [110; 266]. Таким образом, клетки, которые активно используют аэробный гликолиз, имеют определенное эволюционное преимущество перед другими клетками. Многие экспериментальные факты подтверждают эту гипотезу явным или неявным образом. Во-первых, такое же гликолитическое переключение наблюдается в нормальных пролиферирующих тканях и одноклеточных организмах [110]. Во-вторых, эффект Варбурга проявляется в том числе в линиях опухолевых клеток, для которых известно, что их митохондрии функционируют нормально [267], а также в опухолях, растущих при избытке кислорода, например, в опухолях легких и крови [268; 269]. Определенные экспериментальные данные, полученные на молекулярном уровне, также хорошо согласуются с вышеупомянутой гипотезой: например, известно, что онкогены, такие как *c-Myc* и *HIF-1 α* , одновременно усиливают производство как гликолитических, так и биосинтетических ферментов [270]. Также была неоднократно показана значительная корреляция между экспрессией критического фермента аэробного гликолиза, лактатдегидрогеназы, и пролиферативной активностью различных опухолевых клеток [267; 271].

Важным моментом касательно эффекта Варбурга является то, что повышенная относительная роль гликолиза в выработке энергии пролиферирующими опухолевыми клетками вовсе не означает, что они потребляют кислород медленнее, чем покоящиеся клетки, в абсолютном значении. Из-за значитель-

но повышенных энергетических потребностей пролиферирующих опухолевых клеток их скорость потребления кислорода (СПК) и, следовательно, скорость производства энергии за счет ОКФОС, тем не менее, по крайней мере часто, значительно выше, чем в покое состоянии, что подтверждается прямыми экспериментальными измерениями [31].

Подробное адекватное моделирование клеточного метаболизма является едва ли выполнимой задачей, поскольку формирование новых клеток требует выполнения колоссального количества сложных процессов, гибко подстраивающихся под изменяющиеся условия. Тем не менее, возможно грубо отразить в модели основные черты опухолевого метаболизма. В данной модели потребление кислорода, как и потребление глюкозы, описывается традиционным способом, то есть с помощью уравнений типа Михаэлиса-Ментен. Пролиферирующие опухолевые клетки полагаются главным образом на аэробный гликолиз, и обладают высокой скоростью потребления глюкозы по сравнению с покоящимися опухолевыми клетками и нормальными клетками. При значительном снижении концентрации глюкозы пролиферирующие опухолевые клетки переходят в покоящееся состояние, в котором они испытывают метаболический стресс и полагаются главным образом на ОКФОС при производстве АТФ.

При нехватке питательных веществ злокачественные клетки могут разрушать свои собственные органеллы через процесс аутофагии и с помощью ОКФОС использовать их в качестве источника энергии [272]. Ввиду этого наличие кислорода считается в модели решающим фактором выживаемости покоящихся клеток, что отражено в уравнениях (3.1). В формуле для СПК покоящихся клетками два слагаемых: первый описывает окисление глюкозы и играет значительную роль при ее достаточных концентрациях; второй соответствует аутофагии и играет роль при низких уровнях глюкозы, при которых СПК опухолевыми клетками в модели уменьшается. Стоит отметить, что существуют экспериментальные данные, указывающие на то, что при уменьшении концентрации глюкозы относительная роль ОКФОС в опухолевых клетках может увеличиваться вместе с их СПК [33]. Однако такой эффект, не рассмотренный в модели, оправдан именно для активно пролиферирующих опухолевых клеток и его вряд ли можно ожидать для покоящихся опухолевых клеток, находящихся в метаболическом стрессе, которые замедляют свой метаболизм и даже полагаются на аутофагию. Поэтому опухолевые клетки скорее продемонстрируют

снижение СПК при дальнейшем ослаблении притока питательных веществ, что обеспечит им преимущество в выживании. Такое снижение СПК было продемонстрировано в экспериментах на бактериях [273]. Аналогичная особенность в уравнении для нормальных клеток игнорируется – как известно, они хуже переносят нехватку питательных веществ [274], более того, было проверено, что включение этого эффекта для них в модель не влияет на результаты.

Разумеется, глюкоза не является единственным субстратом, окисляемым в опухолевых клетках: многие опухоли также сильно зависят от глутаминолиза, т.е., катаболизма глутамина [270]; кроме того, они могут использовать лактат, произведенный другими клетками в процессе аэробного гликолиза, в качестве топлива для собственного процесса ОКФОС [275]; также существуют другие окислительные пути, индивидуальные для каждой конкретной линии опухолевых клеток [276]. Ради простоты эти особенности метаболизма опухолей не рассматриваются явно в данной модели.

Указанные предположения о динамике питательных веществ обобщены в математической форме следующим образом:

$$\frac{\partial g}{\partial t} = \overbrace{[P_{g,NC}NC + P_{g,AC}AC]}^{\text{приток}}(g_{bl} - g) - \underbrace{[q_{g,n1}n_1 + q_{g,n2}n_2 + q_{g,h}h]}_{\text{потребление}} \frac{g}{g + g^*} + \underbrace{D_g \Delta g}_{\text{диффузия}}, \quad (3.3)$$

$$\frac{\partial O_2}{\partial t} = \overbrace{Q_{O_2}^0 \cdot k_{ic}(NC + AC) \cdot k_{ex}(O_2)}^{\text{приток}} - \underbrace{[q_{O_2,n1}n_1 + \tilde{q}_{O_2,n2}(g)n_2 + q_{O_2,h}h]}_{\text{потребление}} \frac{O_2}{O_2 + O_2^*} + \underbrace{D_{O_2} \Delta O_2}_{\text{диффузия}},$$

$$\begin{aligned} gde \quad k_{ic}(NC + AC) &= 1.6(NC + AC)/(0.6 + NC + AC), \\ k_{ex}(O_2) &= S(O_2^{art}) - S(O_2), \quad S(O_2) = (O_2/\hat{O}_2)^n/[1 + (O_2/\hat{O}_2)^n], \\ \tilde{q}_{O_2,n2}(g) &= q_{O_2,n2}[\frac{g}{g + g^*} + \lambda \frac{g^*}{g + g^*}]. \end{aligned}$$

3.1.4 VEGF и антиангиогенная терапия

В качестве стимулятора ангиогенеза в модели рассматривается VEGF, V , который вырабатывается опухолевыми клетками. Известно, что гипоксия и гипогликемия значительно усиливают его производство [277], поэтому в модели его производят только покоящиеся клетки. Известные аспекты динамики VEGF, а именно, взаимодействия с различными рецепторами эндотелиальных клеток и связывание VEGF с элементами внеклеточного матрикса, не рассматриваются детально, как это было сделано, например, в работе [278]. Вместо этого используются простейшие феноменологические формы членов для описания интернализации VEGF эндотелиальными клетками и его молекулярной деградации. Это упрощение оправдывается тем фактом, что изменение динамики VEGF в разумных пределах практически не влияет на рассмотренный в данной главе эффект. В модели принимается во внимание диффузия VEGF по ткани и его отток из нее, который на практике является причиной повышенной концентрации VEGF в крови у онкологических больных [279]. Отток VEGF из ткани включен в модель в явном виде в предположении, что его концентрация в крови незначительна по сравнению с его концентрацией в ткани.

В модели рассматривается действие и динамика бевацизумаба, первого клинически одобренного антиангиогенного препарата. Он вводится внутривенно, что отражается в обыкновенном дифференциальном уравнении для его концентрации в крови, состоящем из члена введения, благодаря которому концентрация бевацизумаба в крови резко увеличивается в момент его инъекции, и члена его выведения из крови. Бевацизумаб поступает из крови в ткань, где он диффундирует и необратимо связывается с VEGF. В члене притока бевацизумаба учтена разница между проницаемостями разных капилляров для него, причем их соотношение для него значительно больше, чем для других веществ в модели из-за его большого размера. Поскольку бевацизумаб является макромолекулой, разработанной специально для ингибирования VEGF, он практически не взаимодействует с элементами ткани.

$$\begin{aligned}
\frac{\partial V}{\partial t} &= \underbrace{pn_2}_{\text{секреция}} \underbrace{-\omega V(NC + AC)}_{\text{интернализация}} \underbrace{-[P_{V,NC}NC + P_{V,AC}AC]V}_{\text{отток}} \\
&\quad \underbrace{-d_V V}_{\text{деградация}} \underbrace{-(k_A A_n)AV}_{\text{нейтрализация}} \underbrace{+D_V \Delta V}_{\text{диффузия}}, \\
\frac{\partial A}{\partial t} &= \underbrace{[P_{A,NC}NC + P_{A,AC}AC]}_{\text{приток}} (A_{bl} - A) \underbrace{-(k_A V_n)AV}_{\text{связывание}} \underbrace{+D_A \Delta A}_{\text{диффузия}}, \\
\frac{\partial A_{bl}}{\partial t} &= \underbrace{F_{iv}}_{\text{инъекция}} \underbrace{-d_A A_{bl}}_{\text{выведение}}.
\end{aligned} \tag{3.4}$$

3.1.5 Параметры

Модель содержит несколько десятков параметров, которые взяты из экспериментов различной природы, если это возможно, либо оценены для соответствия известным особенностям роста злокачественных опухолей. Базовый набор параметров приведен в таблице 2, где для получения безразмерных значений модели используются следующие нормировочные параметры: $t_n = 1$ час для времени, $L_n = 0,01$ см для длины, $g_n = O_{2,n} = 1$ мМ для концентрации глюкозы и кислорода. Параметры нормализации для VEGF и бевацизумаба используются в уравнениях, описывающих антиангиогенную терапию, и выбираются равными $V_n = 10^{-11}$ моль/мл и $A_n = 1,6 \cdot 10^{-9}$ моль/мл. Последнее значение оценено как концентрация бевацизумаба в крови у среднего человека после введения стандартной дозы 15 мг/кг. Максимальная плотность опухолевых клеток равна $3 \cdot 10^8$ клеток/мл и взята из работы [33], по данным которой также оценены скорости потребления питательных веществ опухолевыми клетками. Нормальная плотность площади поверхности капилляров принимается равной $NC_n = 100$ см²/см³, на основании ее усредненного значения для человеческих мышц [67].

Оценки скорости пролиферации злокачественных клеток и потребления питательных веществ делящимися клетками опухоли основаны на соответствующих экспериментальных значениях, полученные на начальной стадии роста многоклеточных опухолевых сфероидов опухолевой линии ЕМТ6/Ro в суспензии, при этом предполагается, что эти значения должны быть пропорционально уменьшены во время роста соответствующей опухоли. Оценка уровня потребления глюкозы покоящимися опухолевыми клетками основана на наблюдении,

Параметр	Описание	Оцененное значение	Значение в модели	Источник
Клетки опухоли:				
B	скорость пролиферации	$0,03 \text{ час}^{-1}$	0,03	[33] + см. текст
k_1	макс. скорость перехода в покой	$0,4 \text{ час}^{-1}$	0,4	[257]
k_2	чувствительность перехода в покой к глюкозе	$19,8 \left(\frac{\text{мг}}{\text{мл}}\right)^{-1}$	3,6	[257]
d_n^{max}	макс. скорость гибели	$0,02 \text{ час}^{-1}$	0,02	[274] + см. текст
k_n^d	чувствительность гибели к кислороду	1500 (мМ)^{-1}	1500	см. текст
D_n	коэффициент миграции	$10^{-10} \frac{\text{см}^2}{\text{с}}$	0,0036	см. текст
Нормальные клетки:				
d_h^{max}	макс. скорость гибели	$0,03 \text{ час}^{-1}$	0,03	[274] + см. текст
k_h^d	чувствительность гибели к кислороду	300 (мМ)^{-1}	300	см. текст
Капилляры:				
l	скорость разрушения	$5 \cdot 10^{-11} \left(\frac{\text{клетки}}{\text{мл}}\right)^{-1} \text{с}^{-1}$	0,015	см. текст
v_{nor}	скорость нормализации структуры	$0,1 \text{ час}^{-1}$	0,1	см. текст
V^*	константа Михаэлиса для ангиогенеза и денормализации	$10^{-14} \frac{\text{моль}}{\text{мл}}$	0,001	см. текст
v_{den}	скорость денормализации	$0,05 \text{ час}^{-1}$	0,05	см. текст
μ	скорость нормализации плотности	$10^{-5} \left(\frac{\text{см}}{\text{см}^3}\right)^{-1} \text{с}^{-1}$	0,001	см. текст
γ	эластичность сети	0,5	0,5	см. раздел 3.1.2
R	макс. скорость ангиогенеза	$0,01 \text{ час}^{-1}$	0,015	см. текст
C_{max}	макс. плотность площади поверхности	$500 \frac{\text{см}^2}{\text{см}}$	5	см. текст
Глюкоза:				
$P_{g,NC}$	проницаемость нормальных капилляров	$1,1 \cdot 10^{-5} \frac{\text{см}}{\text{с}}$	4	[280]
$P_{g,AC}$	проницаемость аномальных капилляров	$2,8 \cdot 10^{-5} \frac{\text{см}}{\text{с}}$	10	см. текст
G_{bl}	концентрация в крови	$5,5 \frac{\text{мМ}}{\text{мл}}$	5,5	[281]
$q_{g,n1}$	скорость потребления делящимися клетками	$9,5 \cdot 10^{-17} \frac{\text{моль}}{\text{клетки} \cdot \text{с}}$	103	[33] + см. текст
$q_{g,n2}$	скорость потребления покоящимися клетками	$2,3 \cdot 10^{-18} \frac{\text{моль}}{\text{клетки} \cdot \text{с}}$	2	см. текст
$q_{g,h}$	скорость потребления нормальными клетками	$0,49 \frac{\text{мг}}{\text{мин} \cdot 100 \text{ мл}}$	1,6	[282]
g^*	константа Михаэлиса для потребления	$0,04 \text{ mM}$	0,04	[159]
D_G	коэффициент диффузии	$2,6 \cdot 10^{-6} \frac{\text{см}^2}{\text{с}}$	94	[250]

Таблица 2 — Параметры модели.

сделанном в [257], что он должен быть как минимум в 40 раз ниже, чем уровень потребления глюкозы делящимися клетками. Скорость потребления кислорода покоящимися клетками в шесть раз выше, чем глюкозы, поскольку питательные вещества используются клетками в этой пропорции для окисления глюкозы. Доля СПК покоящимися клетками в отсутствие глюкозы меньше единицы ввиду предположений, описанных в разделе 3.1.3, влияние изменения этого значения исследуется в разделе 3.2.2. Значения скоростей потребления питательных веществ нормальными клетками основаны на соответствующих значениях для мышц человека в состоянии покоя. Значения максимальной скорости гибели нормальных и опухолевых клеток оценены по экспериментальным данным о поведении клеток в условиях сильного метаболического стресса. Параметры чувствительности скорости гибели клеток к концентрации кислорода выбраны таким образом, чтобы уровень гибели клеток становился значимым только при уменьшении их СПК в несколько раз, при этом нормальные клетки гораздо

Параметр	Описание	Оцененное значение	Значение в модели	Источник
Кислород:				
$Q_{O_2}^0$	приток при нормальном кровотоке	20,4 $\frac{\text{мМ}}{\text{час}}$	20,4	см. раздел 3.1.6
O_2^{art}	концентрация в артерии	100 мм рт. ст.	0,12	[261]
\hat{O}_2	концентрация, при которой насыщение гемоглобина равно 50%	26,5 мм рт. ст.	0,033	[283]
n	коэффициент Хилла	2,55	2,55	[283]
$q_{O_2,n1}$	СПК делящимися клетками	$4,4 \cdot 10^{-17} \frac{\text{моль}}{\text{клетки} \cdot \text{с}}$	47	[33] + см. текст
$q_{O_2,n2}$	СПК покоящимися клетками	$1,4 \cdot 10^{-17} \frac{\text{моль}}{\text{клетки} \cdot \text{с}}$	12	см. текст
λ	доля СПК покоящимися клетками в отсутствие глюкозы		0,3	см. раздел 3.1.3
$q_{O_2,h}$	СПК нормальными клетками	$0,29 \frac{\text{мл}}{\text{мин} \cdot 100 \text{ мл}}$	8	[282]
O_2^*	константа Михаэлиса для СПК	0,005 мМ	0,005	[159]
D_{O_2}	коэффициент диффузии	$2 \cdot 10^{-5} \frac{\text{см}^2}{\text{с}}$	720	[284]
VEGF:				
p	скорость производства	$1,6 \frac{\text{фг}}{\text{час} \cdot \text{клетки}}$	0,8	[285]
ω	скорость интернализации	$2,8 \cdot 10^{-4} \text{ с}^{-1}$	1	[278]
$P_{V,NC}$	проницаемость нормальных капилляров	$6,4 \cdot 10^{-8} \frac{\text{см}}{\text{с}}$	0,02	см. текст
$P_{V,AC}$	проницаемость аномальных капилляров	$7,8 \cdot 10^{-7} \frac{\text{см}}{\text{с}}$	0,28	см. текст
d_V	скорость деградации	$0,01 \text{ час}^{-1}$	0,01	[286]
k_A	скорость связывания с бевацизумабом	$5,3 \cdot 10^5 \text{ М}^{-1} \text{ с}^{-1}$	$1,9 \cdot 10^{12}$	[287]
D_V	коэффициент диффузии	$5,9 \cdot 10^{-7} \frac{\text{см}^2}{\text{с}}$	21,2	[286]
Бевацизумаб:				
$P_{A,NC}$	проницаемость нормальных капилляров	$1,1 \cdot 10^{-9} \frac{\text{см}}{\text{с}}$	$4 \cdot 10^{-4}$	см. текст
$P_{A,AC}$	проницаемость аномальных капилляров	$8,8 \cdot 10^{-8} \frac{\text{см}}{\text{с}}$	0,032	см. текст
D_A	коэффициент диффузии	$4 \cdot 10^{-7} \frac{\text{см}^2}{\text{с}}$	14,3	см. текст
d_A	скорость выведения из крови	$0,035 \text{ день}^{-1}$	0,0014	[76]

Таблица 2 — Параметры модели (продолжение).

более чувствительны к гипоксии. Коэффициент миграции опухолевых клеток соответствует неинвазивной опухоли.

Метод описания микроциркуляторной сети посредством пространственно-распределенных переменных создает определенные трудности при оценке значений параметров динамики капилляров, которые, однако, на практике сильно зависят от колоссального количества факторов и будут различаться для разных линий опухолевых клеток, тканей организма, состояния здоровья организма, а главное, будут отличаться от организма к организму. Поэтому здесь проведены грубые оценки, с целью адекватной аппроксимации общих черт структуры и динамики функциональной микроциркуляторной сети в процессе роста опухоли. Влияние изменения наиболее значимых параметров капиллярной сети, т.е., скорости ангиогенеза, разрушения и нормализации капилляров, изучается в разделе 3.2.2. Плотность микрососудов в различных мышечных моделях опухолей увеличивается в три-шесть раз в течение нескольких дней [251], что определяет порядок величины максимальной скорости ангиогенеза и позволяет оценить максимальную плотность площади поверхности капилляров. Работа по визу-

ализации с высоким разрешением [249] демонстрирует реконструкцию микроциркуляторной сети опухоли объемом 280 мм^3 , которая показывает, что внутри ядра опухоли такого размера весьма мало функциональных капилляров. Это, наряду с наблюдением, что капилляры внутри опухоли разрушаются в течение нескольких дней [251], позволяет оценить скорость их разрушения. Скорость денормализации оценивается так, чтобы микроциркуляторная сеть была почти полностью аномальной внутри опухоли, при этом выбранная скорость нормализации обеспечивает их возвращение в нормальное состояние через несколько дней, что основано на данных работы [10]. Константа Михаэлиса для скоростей ангиогенеза и денормализации является техническим параметром, необходимым для плавного начала и окончания этих процессов. При уровнях VEGF, равных этой константе, скорости процессов являются полумаксимальными. Скорость нормализации плотности капиллярной сети в микроокружении опухоли подобрана таким образом, чтобы во время антиангиогенной терапии эта нормализация происходила в течение нескольких дней.

Оценка значений проницаемостей капилляров разных типов для разных веществ была выполнена следующим образом. Как было отмечено ранее, обмен низкомолекулярных жиронерастворимых веществ между кровью и межклеточной жидкостью в ткани происходит главным образом из-за пассивной диффузии через капиллярные поры. Этот процесс может быть описан законом Фика, который принимает следующую форму для движения через одну пору, которая считается цилиндрической и перпендикулярной к поверхности капилляра:

$$Q = D' A \frac{C_{cap} - C_{tis}}{h},$$

где Q – приток рассматриваемого вещества, D' – коэффициент его диффузии внутри поры, $(C_{cap} - C_{tis})$ – разность концентраций вещества в капиллярной крови и межклеточной жидкости, h – длина поры, а A – часть площади поверхности поры, доступная для перемещения молекул вещества через нее [67]. Поскольку молекула испытывает эффект, называемый стерическим исключением, что означает, что она не может приблизиться к краю поры ближе, чем длина ее гидродинамического радиуса, эта площадь равна:

$$A = A(a, r) = \pi(r - a)^2,$$

где a – гидродинамический радиус молекулы вещества, r – радиус поры. Для рассмотрения капиллярной сети в целом удобно ввести физически измеримый параметр ее проницаемости P , который определяется следующим образом:

$$P = \frac{D' A_p}{Sh},$$

где A_p – сумма площадей пор в рассматриваемом объеме, доступных для движения молекул через стенку капилляра, S – площадь поверхности капилляров в рассматриваемом объеме. Это определение приводит к виду уравнения для притока веществ, используемому в данной работе:

$$Q = PS(C_{cap} - C_{tis}).$$

Нормальная микроциркуляторная сеть рассматривается как состоящая из сплошных капилляров, которые являются самым распространенным и наименее проницаемым типом капилляров в теле человека. Перенос растворенных в крови веществ в их случае происходит главным образом через относительно небольшие соединения эндотелиальных клеток, в то время как капилляры, образованные в результате опухолевого ангиогенеза, обладают гораздо большими отверстиями в их стенках, называемыми фенестрациями [67]. Дополнительное гидродинамическое сопротивление, испытываемое молекулами при диффузии через поры, может быть количественно оценено с использованием следующего эмпирически полученного уравнения Ренкина [288]:

$$D' = D'(D, a, r) = D \cdot (1 - 2,1 \frac{a}{r} + 2,09 (\frac{a}{r})^3 - 0,95 (\frac{a}{r})^5),$$

где D – коэффициент свободной диффузии вещества. Оригинальное уравнение Ренкина также включает в себя стерическое исключение, которое было выписано выше в явном виде.

Реальные поры, очевидно, не являются идеальными цилиндрами, однако существуют оценки того, что поры в скелетной и сердечной мышцах ограничивают диффузию в той же степени, как это бы делали цилиндрические поры с радиусом 4-5 нм [145], поэтому радиусы пор нормальных капилляров NC принимаются равными 5 нм. Также предполагается, что при нормализации и денормализации капилляров, т.е. перехода из NC в AC и обратно, площадь поверхности капилляров, ширина их стенок и количество пор остаются посто-

янными, а радиусы всех пор меняются одинаково. Этот подход позволяет, зная значение проницаемости P_1 в случае коэффициента свободной диффузии D_1 , радиусов пор r_1 и радиусов молекул a_1 , получить значение проницаемости P_2 при значениях параметров D_2 , r_2 , a_2 :

$$\frac{P_2(D_2, a_2, r_2)}{P_1(D_1, a_1, r_1)} = \frac{D_2'(D_2, a_2, r_2)A(a_2, r_2)}{D_1'(D_1, a_1, r_1)A(a_1, r_1)}.$$

Проницаемость сплошных капилляров для глюкозы оценивалась в экспериментах и примерно равна $P_{g,NC} = 1,1 \cdot 10^{-5}$ см/с [280]. Гидродинамический радиус глюкозы составляет 0,36 нм [289], бевацизумаба – 4,58 нм [290]. Коэффициент диффузии бевацизумаба оценен в предположении обратной пропорциональности между коэффициентом диффузии вещества и радиусом его молекулы, что следует из формулы Стокса-Эйнштейна, с использованием соответствующих значений для VEGF как контрольных. Это приводит к величине проницаемости нормальных капилляров для бевацизумаба $P_{A,NC} = 1,1 \cdot 10^{-9}$ см/с. Гидродинамический радиус VEGF оценен в 3 нм с использованием формулы $r = 0,0483 \cdot M^{0,386}$ [291], где M – его молекулярная масса, выраженная в дальтонах, которая приблизительно равна $4,5 \cdot 10^4$ [292], поэтому значение проницаемости нормальных капилляров для него оценено как $P_{V,NC} = 6,4 \cdot 10^{-8}$ см/с. Чтобы получить значения проницаемости ангиогенных капилляров для моделируемых веществ, необходимо выбрать значение радиусов их пор, которое выбрано равным 7,5 нм. Таким образом, $P_{A,AC} = 8,8 \cdot 10^{-8}$ см/с, $P_{V,AC} = 7,8 \cdot 10^{-7}$ см/с, при этом оба значения хорошо согласуются с экспериментально измеренными проницаемостями опухолевых капилляров для различных веществ с разными размерами молекул [293]. Проницаемость ангиогенных капилляров для глюкозы в этом случае равна $P_{g,AC} = 2,8 \cdot 10^{-5}$ см/с.

3.1.6 Численное решение

Система уравнений (3.1)-(3.4) решалась в одномерной области с размером $L = 1$ см. Для вычислительной простоты использовалась плоская геометрия, поскольку это не влияет на качественные результаты по сравнению со сферически-симметричным случаем. Начальные условия соответствовали нормальной ткани с $h(x,0) = 1$, $NC(x,0) = 1$, с небольшой колонией пролиферирующих опухолевых клеток шириной 0,1 мм, расположенной вблизи левой границы, где

$n_1(x,0) = 1$, $h(x,0) = 0$, $NC(x,0) = 0$. Начальное распределение глюкозы $g(x,0)$ являлось равномерным и было рассчитано как его стационарная концентрация в нормальной ткани. Начальное давление кислорода было принято равным 34 мм рт. ст., что находится в пределах нормального диапазона давления кислорода в покоящихся мышечных тканях [294]. Это привело к начальному распределению кислорода $O_2(x,0) = 0,04$. Значение притока кислорода при нормальном кровотоке $Q_{O_2}^0$ было отрегулировано таким образом, чтобы это распределение кислорода было стационарным. Другие переменные в начальный момент времени были равны нулю. Для всех переменных на обеих границах были заданы граничные условия нулевого потока. Скорость конвективного потока была установлена равной нулю на левой границе, со свободным граничным условием на правой, что привело к следующему уравнению для скорости конвективного потока:

$$I(x,t) = \int_0^x [Bn_1(r,t)]dr + D_n \nabla n_2(x,t).$$

Для ускорения расчетов уравнения для VEGF, глюкозы и кислорода были рассмотрены в квазистационарном приближении из-за высоких скоростей их реакций относительно этих скоростей для других переменных и решались с использованием алгоритма прогонки. Для других переменных использовался метод расщепления по физическим процессам, то есть кинетические уравнения, уравнения диффузии и уравнения конвекции решались последовательно в течение каждого временного шага. Для кинетических уравнений использовался метод Рунге-Кутты четвертого порядка, для уравнений диффузии использовалась схема Кранка-Николсон, конвективные уравнения решались методом коррекции потоков Бориса-Бука с применением явной антидиффузионной схемы. Последний метод представлен в работе [252], другие классические методы описаны во многих книгах (см., например, [253]). Вычислительный код был реализован на языке C++ и выполнен с достаточно точной пространственной и временной дискретизацией, позволяющей уменьшить вычислительное время настолько это возможно без видимого искажения решения.

3.2 Результаты

3.2.1 Симуляция при базовом наборе параметров

На рисунке 3.2 продемонстрировано распределение переменных модели при базовом наборе параметров в четыре момента времени. Для лучшей визуализации значения некоторых переменных отмасштабированы так, чтобы их профили вписывались в рисунки без чрезмерного перекрытия профилей, при этом коэффициенты масштабирования отмечены на рисунке. В начале симуляции активная пролиферация опухолевых клеток n_1 приводит к локальной деградации нормальной микроциркуляторной сети NC , из чего следует значительное локальное снижение уровней питательных веществ. Падение концентрации глюкозы g приводит к переходу части клеток в покоящееся состояние n_2 , в котором они производят VEGF V , что стимулирует увеличение микроциркуляторной сети путем образования ангиогенных капилляров AC , а также способствует денормализации NC , т.е., их переходу в AC . Падение концентрации кислорода O_2 приводит к гибели небольшого количества нормальных и покоящихся опухолевых клеток с образованием некротической ткани m . Рисунок 3.2а относится к моменту, когда с начала симуляции прошло 4 дня. Скорость распространения опухоли в этот момент ускоряется вследствие значительного увеличения притока глюкозы из-за повышенной плотности микроциркуляторной сети, а также повышенной проницаемости ангиогенных капилляров. Это приводит к увеличению общего числа пролиферирующих опухолевых клеток, от которого напрямую зависит скорость распространения фронта опухоли.

Рисунок 3.2б соответствует 10-му дню симуляции и демонстрирует структуру опухоли и ее микроокружения непосредственно перед началом терапии. Опухолевая масса состоит в основном из живых клеток, причем доля пролиферирующих клеток плавно уменьшается по направлению к ее центру, что отражает длительный дефицит глюкозы в ядре опухоли. Провал в концентрации кислорода, расположенный внутри опухоли вблизи ее границы, хорошо иллюстрирует повышенную СПК пролиферирующими опухолевыми клетками, однако уровень кислорода внутри опухоли еще достаточен для того, чтобы объем некротической ткани не увеличивался. Об усиленном притоке питательных веществ в перитуморальной области свидетельствует пик концентрации кислорода снаружи опухоли. Профиль концентрации глюкозы более плавный, этот

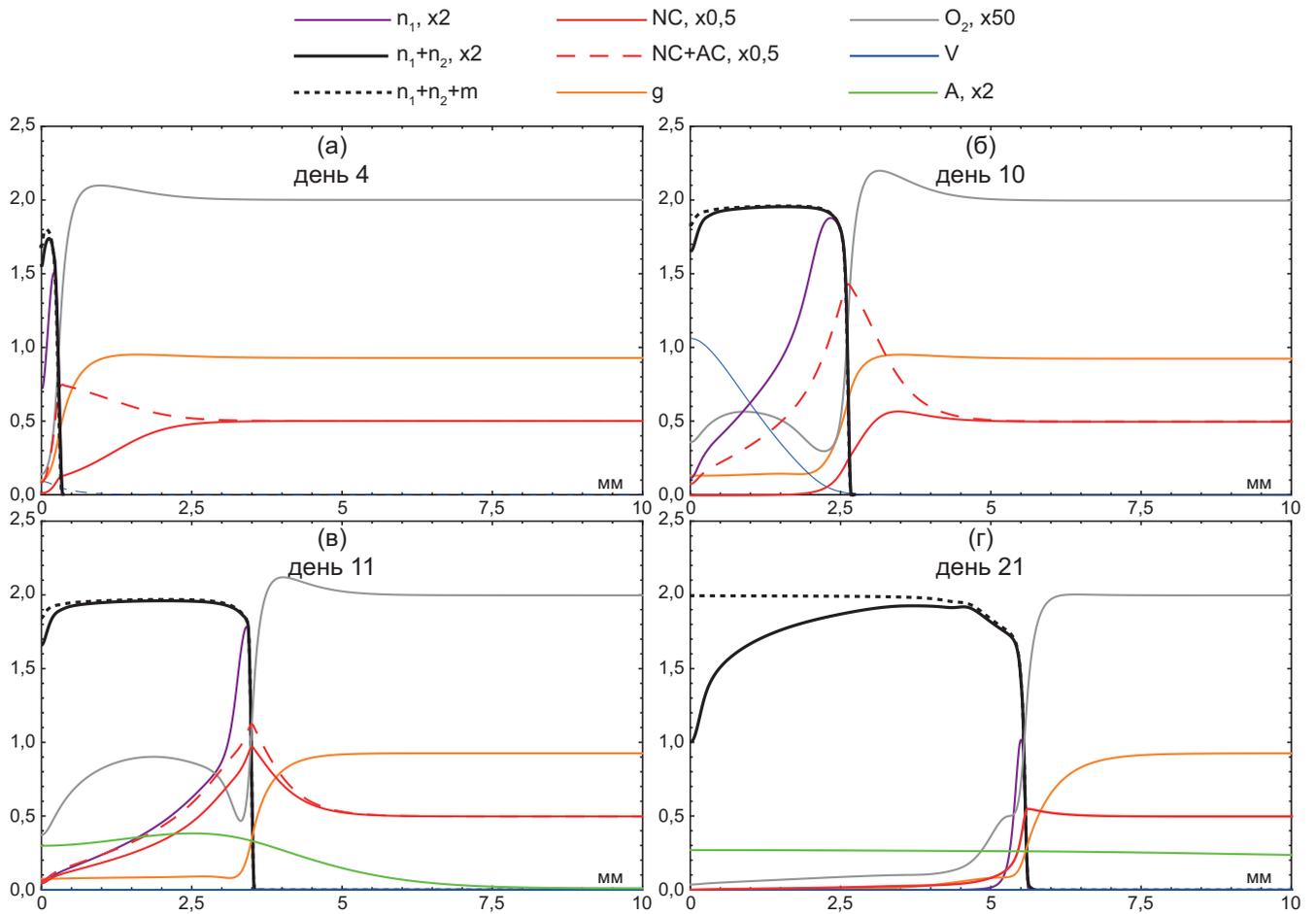


Рисунок 3.2 — Распределения плотностей пролиферирующих опухолевых клеток n_1 , всех опухолевых клеток $n_1 + n_2$, доли опухоли с некрозом в ткани $n_1 + n_2 + m$, плотности поверхности нормальной микроциркуляторной сети NC, всей микроциркуляторной сети NC + AC, концентраций глюкозы g , кислорода O_2 , VEGF V и бевацизумаба A при базовом наборе параметров в дни: а) 4, б) 10, в) 11 (день введения бевацизумаба), г) 21.

контраст обусловлен различием в скоростях поступления питательных веществ в ткани, который намного выше для кислорода из-за гораздо большей проницаемости капиллярных стенок для него.

Введение бевацизумаба A , моделируемое резким увеличением его концентрации в крови, происходит, когда опухоль достигает радиуса 3 мм, на 249-й час симуляции, и сильно влияет на распределение модельных переменных, как видно на Рис. 3.2в, который соответствует концу 11-го дня, когда после инъекции препарата прошло 15 часов. Нейтрализация VEGF приводит к прекращению образования новых капилляров и быстрой нормализации структуры уже существующих. Хотя капиллярная система может медленно вернуться к своей нормальной плотности сама по себе, этот процесс происходит в основном за

счет продолжающегося разрушения капилляров внутри опухоли, рост которой не прекращается, а только замедляется. Следует отметить, что форма распределения бевацизумаба на Рис. 3.2в свидетельствует о том, что его приток в ткани происходит главным образом через аномальные капилляры, которые обладают в 80 раз большей проницаемостью для него.

Средняя концентрация кислорода внутри опухоли, которая до введения бевацизумаба испытывала значительное падение в начале роста опухоли с последующей стабилизацией при активном распространении опухолевого фронта, теперь явно увеличивается, в то время как концентрация глюкозы уменьшается. Сложная динамика модели приводит к этому результату следующим образом. С начала антиангиогенной терапии (ААТ) снижение притока глюкозы, вызванное нормализацией и разрушением капилляров без их дальнейшего образования, приводит к быстрому снижению концентрации глюкозы (приток глюкозы через разные типы капилляров различается в 2,5 раза). Пролиферирующие опухолевые клетки начинают активно переходить в покоящееся состояние, в котором они потребляют меньше питательных веществ, поскольку концентрация глюкозы непосредственно определяет скорость этого перехода. Наряду с тем, что уровень потребления глюкозы также падает под ее низких концентрациях согласно кинетике Михаэлиса-Ментен, это приводит к общему снижению потребления глюкозы, что замедляет дальнейшее падение ее уровня, который, тем не менее, в конечном итоге становится ниже, чем до инъекции бевацизумаба. СПК опухолевыми клетками также уменьшается при их переходе в состояние покоя. При этом на приток кислорода не влияет нормализация капилляров, так как гидродинамические сопротивления и проницаемость различных типов капилляров для кислорода равны – первое является модельным допущением, приводящим к отсутствию изменений кровотока в капиллярах при их нормализации, второе является следствием свободной диффузии кислорода через стенки капилляров (см. раздел 3.3). Таким образом, уменьшенная скорость потребления кислорода при его неизменном притоке приводит к повышению его уровня внутри опухоли. Следует отметить, что, в отличие от рассмотренной выше динамики глюкозы, в случае с кислородом нет отрицательной обратной связи, которая бы сдерживала увеличение его концентрации, поскольку сам по себе этот процесс не приводит к ускорению скорости пролиферации опухоли и последующему увеличению его потребления, как это происходит при повышении уровня глюкозы.

Существует также другая особенность метаболизма опухоли в этой модели, которая должна, по крайней мере теоретически, усиливать эффект снижения гипоксии во время ААТ. Внутренняя часть опухоли, которая через короткое время после введения бевацизумаба состоит почти полностью из покоящихся клеток, испытывает продолжающееся снижение уровня глюкозы. Согласно модельным предположениям (см. раздел 3.1.3), это приводит к уменьшению их СПК, что должно привести к дальнейшему увеличению уровня кислорода. Конечно, глюкоза не является единственным питательным веществом, окисляемым опухолевыми клетками для получения энергии, но разумно предположить, что приток других питательных веществ, если бы они были явно рассмотрены в модели, также уменьшался бы при ААТ – при этом, чем больше молекулярная масса вещества, тем значительнее будет падение его притока. Более того, приток лактата, который активно производится пролиферирующими клетками и может использоваться в качестве субстрата для ОКФОС покоящихся клеток, также будет замедляться при переходе клеток в состояние покоя.

На Рис. 3.2г показано распределение модельных переменных на 21-й день роста опухоли. Из рисунка видно, что продолжающаяся деградация микроциркуляторной сети внутри опухоли в конечном итоге приводит к уменьшению концентрации кислорода внутри опухоли, которая становится даже ниже, чем до терапевтического вмешательства, что приводит к активному образованию некроза в ядре новообразования. Следует отметить, что хотя в это время происходит отток бевацизумаба из ткани в кровь, его уровень как в ткани, так и в крови остается значительным из-за его медленного выведения из крови – таким образом, антиангиогенный эффект длится десятки дней после одиночного введения препарата.

На Рис. 3.3 показано изменение среднего давления кислорода в опухоли для рассмотренной модельной симуляции (так как в ткани присутствует только свободный кислород, его давление пропорционально его концентрации). Серая область обозначает период облегчения гипоксии, который определяется здесь как период, в течение которого среднее давление кислорода в опухоли выше его значения непосредственно перед началом ААТ. Это значение с хорошей точностью сохраняется при свободном росте опухоли. Период облегчения гипоксии длится около 5 дней, в течение него давление кислорода увеличивается в $\approx 1,8$ раз, с 7,8 мм рт.ст. до 13,8 мм рт.ст., падая после его окончания ниже дотерапий-

ного уровня. Эти результаты находятся в хорошем количественном согласии с динамикой кислорода в опухолях, продемонстрированной в различных экспериментах на мышинных моделях опухолей, таких как те, которые проводились в работе [11], где также измерялась перфузия опухолей и было обнаружено, что она увеличивается после инъекции антиангиогенного агента, и [10], где перфузия опухоли не измерялась, но наблюдалась активная нормализация микрососудов при ААТ. Полученные результаты свидетельствуют о том, что уменьшение СПК опухоли, вызванное антиангиогенным лечением, может по меньшей мере в некоторых случаях быть столь же важной причиной временного облегчения гипоксии, как и увеличение кровотока внутри опухоли.

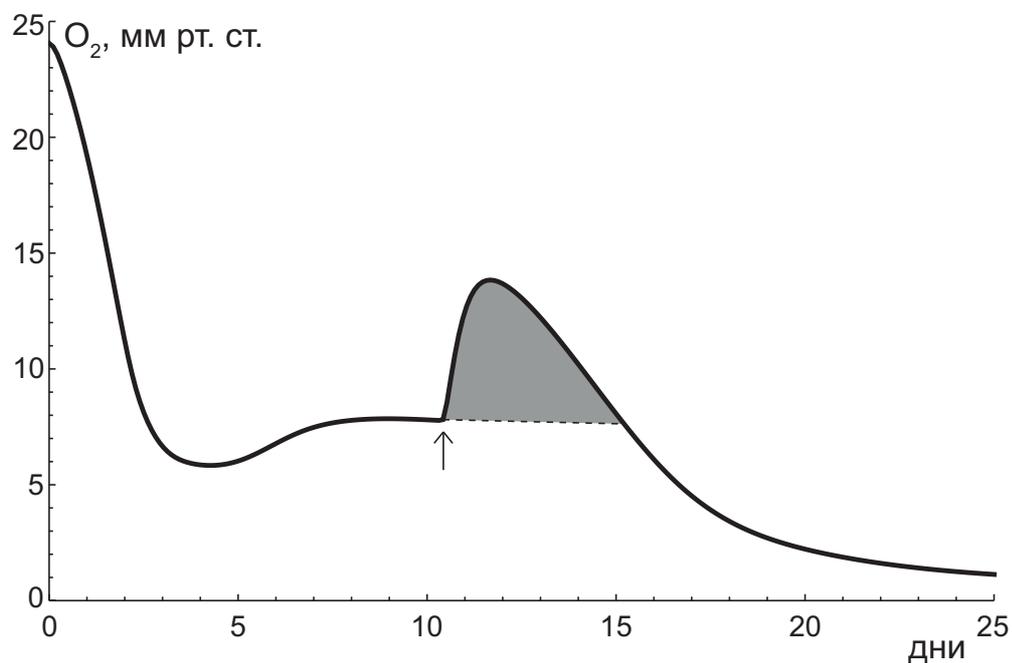


Рисунок 3.3 — Среднее давление кислорода внутри опухоли, на которое влияет введение бевацизумаба в момент, когда опухоль достигает радиуса 3 мм, при базовом наборе параметров. Стрелка указывает на момент начала терапии. Серая область обозначает дополнительную площадь под графиком в сравнении со случаем свободного роста опухоли, отмеченного пунктирной линией.

Как показывают результаты указанных экспериментальных работ, проведение радиотерапии во время достижения пика концентрации кислорода внутри опухоли обеспечивает наилучший терапевтический эффект по сравнению с другими схемами лечения, включающими антиангиогенную и радиотерапию. В работе [10] было проведено пять отдельных исследований с использованием трех линий опухолевых клеток и двух антиангиогенных препаратов, бевацизу-

маба и ангинокса, последний из которых нарушает адгезию эндотелиальных клеток к внеклеточному матриксу и ингибирует их миграцию, что приводит к прекращению ангиогенеза (и, аналогично бевацизумабу, также приводит к нормализации микрососудов). В среднем, проведение радиотерапии на 2-й день после начала ААТ (когда концентрация кислорода внутри опухолей была близка к максимальной в каждом случае) приводило к 70%-ному снижению скорости роста опухоли для случаев, когда опухоль продолжала расти, при этом в одном из экспериментов опухоли даже уменьшались в размере и не возобновляли свой рост (ААТ начиналась в каждом случае, когда опухоли достигали радиусов 100 мм^3 , а конечными точками являлись моменты, когда опухоли достигали 400 мм^3). При этом схема, где радиотерапия проводилась за два дня до ААТ, и схема монорадитерапии, приводили к снижению скорости роста опухоли только на 35% и 30% соответственно (никогда не приводя к спящим опухолям), тогда как моно-ААТ лишь незначительно влияла на рост опухоли в каждом случае. Результаты работы [11], где использовался другой анти-VEGF-агент талидомид, очень похожи, хотя сама моно-ААТ оказалась более эффективной для мышинной модели опухоли, используемой в ней.

3.2.2 Влияние параметров на динамику кислорода

Эффект временного облегчения внутриопухолевой гипоксии, продемонстрированный выше для конкретных значений параметров модели, сохраняется при широком физиологически обоснованном варьировании параметров, что означает, что это явление объективно возникает из общих особенностей динамики опухоли, отраженных в этой модели, а не просто представляет собой пример сложного нелинейного эффекта, который бы проявлялся в локальной узкой области в пространстве параметров. Детальный параметрический анализ системы уравнений 3.1-3.4 является очень сложной и вряд ли выполнимой задачей, поскольку модель содержит 45 параметров и не все они непосредственно связаны с рассматриваемым эффектом. Далее продемонстрированы результаты вариации шести параметров, которые с первого взгляда могут быть ключевыми для динамики кислорода внутри опухоли во время ААТ. Первым параметром является предел скорости перехода пролиферирующих опухолевых клеток в состояние покоя k_1 , когда концентрация глюкозы стремится к нулю. Поскольку повышение уровня кислорода связано с уменьшением его общего потребления опухоли-

выми клетками, которое происходит благодаря этому переходу, можно ожидать, что чем быстрее клетки перейдут в состояние покоя, тем быстрее концентрация кислорода достигнет своего пикового значения. Вторым параметром q_{O_2,n_2} – СПК покоящимися опухолевыми клетками при нормальных уровнях питательных веществ. Хотя его базовое значение связано со скоростью потребления глюкозы предположением, что они производят АТФ главным образом путем окисления глюкозы, q_{O_2,n_2} также может иметь как более высокие значения, например, если скорости окисления других субстратов сравнимы со скоростью окисления глюкозы, так и более низкие, например, если аэробный гликолиз не прекращается полностью в покоящихся клетках. Значение q_{O_2,n_2} , а точнее, его отношение к СПК пролиферирующими клетками, должно определять амплитуду увеличения давления кислорода при переходе клеток в состояние покоя. Третий параметр, λ , представляет собой долю СПК покоящимися опухолевыми клетками в отсутствие глюкозы от ее значения при ее нормальном уровне, что определяет снижение СПК покоящимися клетками при снижении концентрации глюкозы, описывая тем самым замедление метаболизма опухолевых клеток при сильной нехватке питательных веществ. Четвертым параметром является скорость нормализации структуры аномальных капилляров, v_{nor} , которая определяет, как быстро уменьшается общая проницаемость капилляров для глюкозы и, следовательно, ее приток в опухоль, что ускоряет переход клеток в состояние покоя. Пятый и шестой параметры, R и l , являются максимальной скоростью ангиогенеза и скоростью разрушения капилляров соответственно. Это основные параметры, которые определяют объем функциональных капилляров в микроокружении опухоли, что, в свою очередь, определяет скорость поступления глюкозы в опухоль и, следовательно, степень ее изменения после инъекции бевацизумаба. Рисунок 3.4 показывает зависимость среднего давления кислорода внутри опухоли от времени при разных значениях шести рассмотренных параметров. В каждой модельной симуляции инъекция бевацизумаба происходит в тот момент, когда радиус опухоли достигает 3 мм.

Вариация k_1 в физиологически обоснованном диапазоне изображена на Рис. 3.4а, из которого видно, что этот параметр не оказывает заметного влияния на форму кривой, но его вариация сдвигает ее так, что максимальное давление кислорода, а также его значение сразу до терапии немного увеличиваются по мере увеличения k_1 . Этот сдвиг связан с тем, что изменения в функции

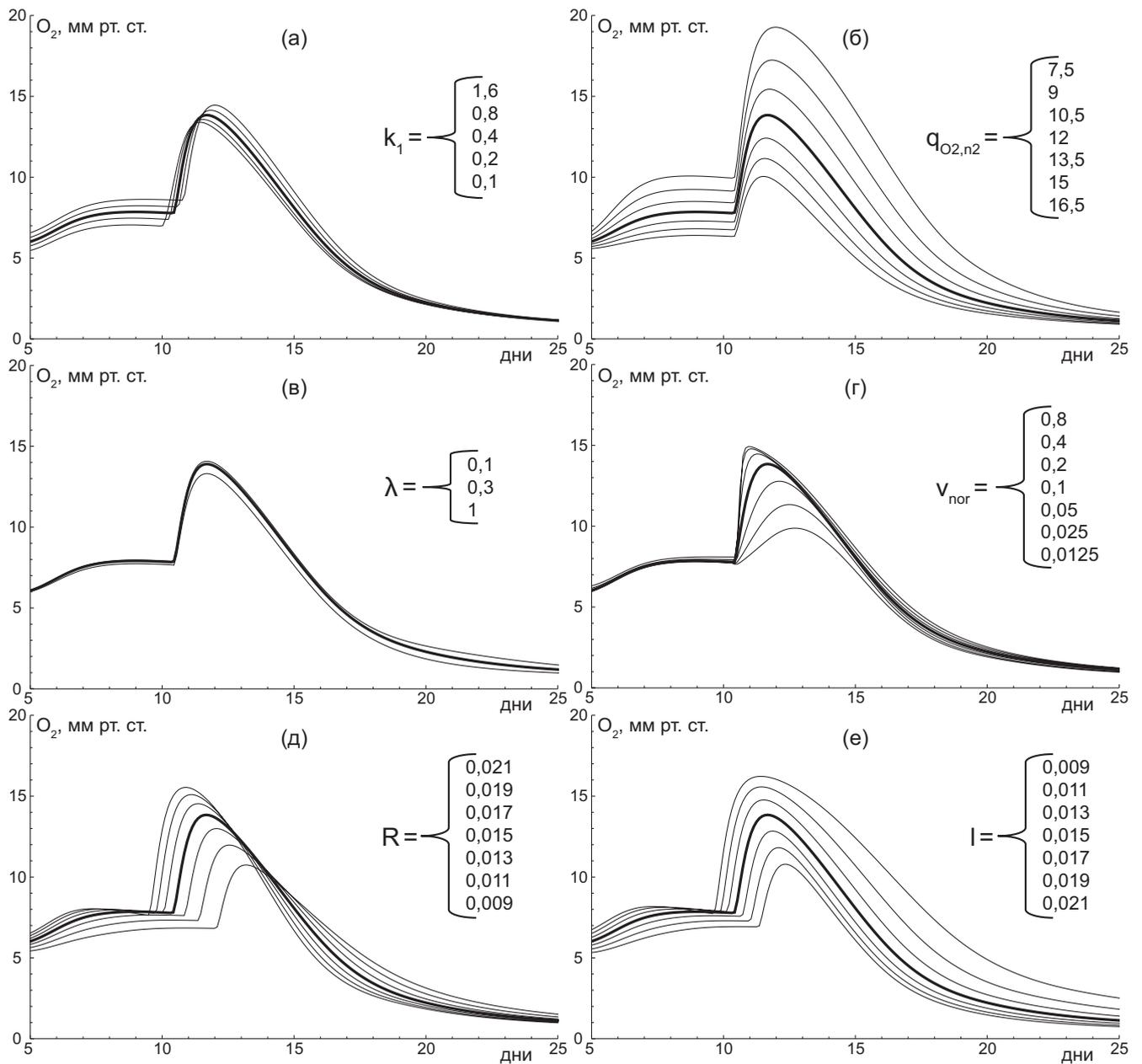


Рисунок 3.4 — Среднее давление кислорода внутри опухоли, на которое влияет введение бевацизумаба в момент, когда опухоль достигает радиуса 3 мм, при вариации а) максимальной скорости перехода опухолевых клеток в состояние покоя k_1 , б) СПК покоящимися опухолевыми клетками q_{O_2,n_2} , в) доли СПК покоящимися опухолевыми клетками в отсутствие глюкозы λ , д) скорости нормализации капилляров v_{nor} , е) максимальной скорости ангиогенеза R , ф) скорости разрушения капилляров внутри опухоли l . Значения варьируемых параметров приведены на соответствующих рисунках, при этом верхние/нижние значения соответствуют верхним/нижним графикам, а средние значения, как и значения неварьируемых параметров, взяты из базового набора. Все графики, соответствующие симуляции при базовом наборе параметров, выделены жирной линией.

перехода опухолевых клеток в состояние покоя влияют на свободный рост опухоли, изменяя баланс ее пролиферирующих и мигрирующих клеток и, таким образом, влияя на общую СПК опухолью, а следовательно, и на давление кислорода внутри опухоли. Скорость роста опухоли также находится под влиянием этого параметра, так что опухоль достигает радиуса 3 мм в разные моменты времени. Однако, несмотря на то, что в этих симуляциях потенциальная скорость перехода пролиферирующих клеток в состояние покоя при полном отсутствии глюкозы различается в несколько раз, реальная величина скорости этого перехода, определяемая функцией $P_1(g)$ (см. уравнения (3.1)), корректируется во время роста опухоли таким образом, что изменение в k_1 оказывает незначительное влияние на динамику кислорода во время ААТ. Удивительно, что $P_1(g)$ вблизи центра опухоли непосредственно перед инъекцией бевацизумаба практически одинакова в каждой из симуляций, ($\approx 0,028$). Это можно объяснить тем, что при одной и той же начальной концентрации глюкозы более высокая скорость перехода клеток в состояние покоя приводит к увеличению доли покоящихся клеток и, следовательно, к снижению общего потребления глюкозы и к более высокой концентрации глюкозы внутри опухоли, что замедляет скорость перехода. Таким образом, система противодействует стремлению опухолевых клеток перейти в состояние покоя.

Значительное увеличение диапазона вариации k_1 физиологически неоправданно. Его более высокие значения будут означать, что опухолевые клетки реагируют на метаболический стресс, переходя в состояние покоя за несколько минут или быстрее, что маловероятно, поскольку клетки в первое время будут сопротивляться остановке клеточного цикла, используя накопленные внутри них питательные вещества. Значительное уменьшение k_1 означает, что клетки почти не реагируют на снижение притока глюкозы и продолжают размножаться при сильной нехватке ее, что невозможно. Однако даже с чисто математической точки зрения график уровня кислорода от времени не меняет своей формы вплоть до достижения экстремальных значений k_1 . Он продолжает смещаться в сторону таким же способом, в то время как время достижения пикового значения давления кислорода действительно уменьшается с увеличением k_1 , как было предложено выше, но незначительно из-за вышеупомянутого механизма сдерживания. При низких значениях k_1 кривая начинает заметно сгла-

живаться, что понятно, так как значение $k_1 = 0$ должно буквально приводить к отсутствию эффекта облегчения гипоксии.

Изменение СПК покоящимися клетками оказывает гораздо более сильное влияние на динамику кислорода. Общая СПК опухолью напрямую влияет на уровень кислорода, и даже умеренное изменение $q_{O_2, n2}$ заметно влияет на дотерапевтический и пиковый значения давления кислорода, а также на продолжительность окна снижения гипоксии, которое изображено на Рис. 3.4б. Поскольку доля покоящихся клеток увеличивается во время ААТ, с уменьшением $q_{O_2, n2}$ увеличивается отношение дотерапевтического и пикового значений давления кислорода, которое варьируется от $\approx 1,59$ до $\approx 1,94$ для рассматриваемой вариации. При этом в отличие от случая с вариацией k_1 , рост опухоли остается практически неизменным как до, так и после инъекции бевацизумаба, в то время как единственной наблюдаемой разницей является более раннее образование некроза при более высоких значениях $q_{O_2, n2}$, так как оно вызвано низкими концентрациями кислорода.

Введение в модель параметра λ диктуется предположением, что опухолевые клетки при метаболическом стрессе должны замедлять свой метаболизм, чтобы не погибать более долгое время, при этом λ определяется как отношение СПК покоящимися опухолевыми клетками при отсутствии глюкозы и при ее нормальном уровне. Из этого определения следует, что этот параметр может принимать значения в диапазоне от 0 до 1. Выше было высказано предположение, что уменьшение СПК покоящимися клетками может продлить эффект облегчения гипоксии внутри опухоли. Однако как показано на Рис. 3.4в, где нижний график относится к случаю с $\lambda = 1$ и, следовательно, не учитывает замедление метаболизма покоящихся клеток, этого эффект оказывает на динамику кислорода очень слабое влияние. Изменение СПК клетками из-за их перехода из пролиферирующего состояния в состояние покоя намного больше, чем сама по себе СПК покоящимися клетками, поэтому вариация последней может приводить лишь к небольшим изменениям в динамике модели и сама по себе не оказывает существенного эффекта. В период снижения гипоксии часть СПК покоящимися клетками, описывающая окисление глюкозы, уменьшается незначительно (например, от $\approx 0,95$ в центре опухоли до проведения терапии до 0,92-0,93 при $\lambda = 0.1$), так как концентрация глюкозы остается на порядок выше, чем значение g^* , то есть концентрация глюкозы, при которой ее потре-

ние и, следовательно, скорость окисления, падают вдвое. Более того, поскольку СПК также зависит от концентрации самого кислорода в соответствии с кинетикой Михаэлиса-Ментен, ее значение даже увеличивается во время окна облегчения гипоксии (от 0,63 до 0,72 от ее максимального значения при $\lambda = 0,1$). После окончания окна облегчения гипоксии концентрация глюкозы монотонно падает с разрушением капилляров, что приводит к уменьшению СПК. Концентрация кислорода также падает, что также ведет к уменьшению СПК, поэтому падение уровня глюкозы лишь немного ускоряет его снижение, но не играет в нем существенной роли. Конечно, результат относительной незначительности λ получен при определенном наборе значений других параметров модели и с использованием определенных форм функций, однако разумно предположить, что этот результат будет сохраняться и при других условиях, при условии, что СПК пролиферирующими опухолевыми клетками значительно выше, чем СПК покоящимися опухолевыми клетками.

На Рис. 3.4е показано давление кислорода от времени для разных значений скорости нормализации структуры капилляров v_{nor} . Этот параметр вряд ли возможно измерить *in vivo*, однако известно, что проницаемость микрососудов заметно изменяется под действием анти-VEGF агента в течение несколько часов (см., например, [83]). С учетом предположения, что нормализация капилляров должна зависеть от большого количества физиологических факторов, значение v_{nor} варьируется в довольно широком диапазоне. Эта вариация показывает, что скорость изменения притока глюкозы, на которую она напрямую влияет, играет гораздо более важную роль, чем k_1 , при определении скорости перехода опухолевых клеток в состояние покоя, и следовательно, в скорости повышения концентрации кислорода внутри опухоли, которая значительно замедляется с уменьшением v_{nor} . Разумеется, с дальнейшим уменьшением этого параметра могут быть достигнуты значения, при которых облегчение гипоксии опухоли не происходит, однако эти значения являются нефизиологически низкими. При высоких значениях скорости нормализации структуры капилляров график давления кислорода от времени приближается к предельной кривой, которая относится к случаю мгновенного скачка проницаемости капилляров к глюкозе, при этом предельное значение пикового давления кислорода превышает его значение до терапии в два раза. Поскольку из-за ААТ образование новых капилляров прекращается, а затем капилляры разрушаются с одинаковой

скоростью при разных модельных симуляциях, приток кислорода к опухоли, а также давление кислорода внутри опухоли, неизбежно падают, поэтому графики его давления от времени практически сливаются в один после прохождения периода облегчения гипоксии.

Максимальная скорость ангиогенеза R и скорость разрушения капилляров l являются основными параметрами, которые определяют степень опухолевой васкуляризации, которая напрямую влияет на приток питательных веществ и, следовательно, на скорость роста опухоли, являясь важным клиническим прогностическим фактором, коррелирующим с исходом пациентов (см., например, [295]). Рисунки 3.4д,е показывают зависимость среднего уровня кислорода в опухоли от времени при вариациях R и l соответственно. Хотя R и l относятся к противоположным действиям образования и разрушения капилляров, эти действия отличаются тем, что образование капилляров может происходить как внутри, так и вне опухоли при достаточной локальной концентрации VEGF, тогда как их разрушение ограничено объемом, занятым опухолью. В целом это приводит к образованию аномальной части микроциркуляторной сети, прилегающей к опухоли. Две группы графиков выглядят похоже в начале роста опухоли, при этом внутриопухолевое давление кислорода падает с уменьшением васкуляризации опухоли. Остановка ангиогенеза отражается более крутыми наколами графиков на Рис 3.4д после прохождения пика давления кислорода, поскольку при ААТ значение R эффективно обращается в нуль, а значение l остается неизменным.

Следует отметить, что при высоких значениях R и низких значениях l картина роста опухоли изменяется так, что давление кислорода не достигает равновесия перед инъекцией бевацизумаба, поскольку больший приток питательных веществ сначала приводит к более высокому уровню кислорода, но затем, поскольку доля пролиферирующих клеток увеличивается быстрее из-за увеличения поступления глюкозы, общая СПК опухолью растет и давление кислорода внутри нее падает. Однако следует отметить, что при этих значениях, соответствующих плотной микроциркуляторной сети, ее плотность внутри опухоли находится вблизи значений, сравнимых с нормальной, а наибольшее значение R соответствует очень быстрому ангиогенезу, а именно удвоению плотности капиллярной сети за 1,4 дня, и обе эти характеристики едва ли достижимы в реальности. Напротив, сильное увеличение скорости деградации,

а также снижение скорости ангиогенеза до полного его отсутствия физиологически обоснованы, и такие изменения приведут к дальнейшему ослаблению эффекта облегчения опухолевой гипоксии.

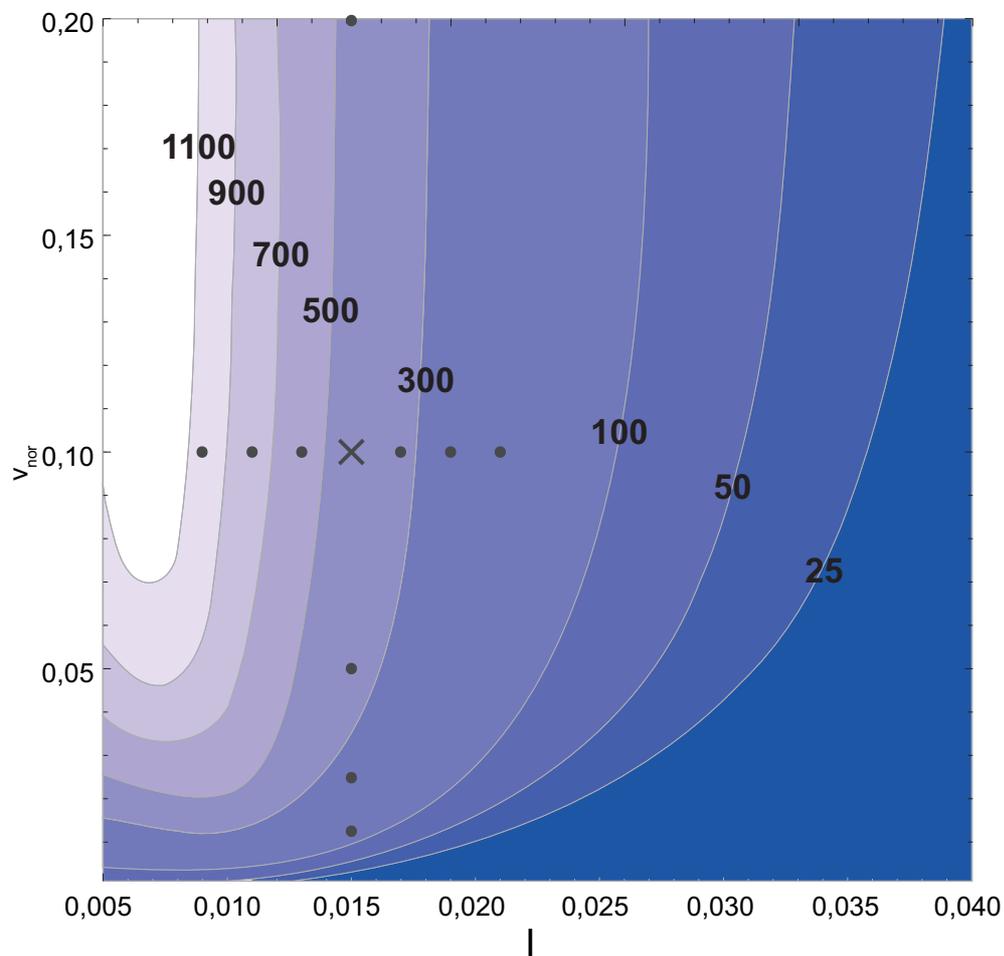


Рисунок 3.5 — Значение дополнительной площади под графиком давления кислорода от времени по сравнению со случаем свободного роста опухоли в зависимости от скорости деградации капилляров l и скорости нормализации их структуры v_{nor} . Значения дополнительной площади под графиком измерены в мм рт. ст.·ч. Значения других параметров модели взяты из базового набора параметров. Крестик обозначает основные значения параметров, для которых график давления кислорода от времени показан на Рис. 3.3. Точки обозначают значения параметров, для которых графики давления кислорода от времени показаны на Рисунке 3.4г,е.

На рисунке 3.5 показано, как облегчение внутриопухолевой гипоксии во время ААТ зависит от одновременного изменения свойств динамики микрососудов, а именно, скорости деградации капилляров и нормализации их структуры, l и v_{nor} . Поскольку повышенное давление кислорода внутри опухоли

на практике приведет к повышению эффективности радиотерапии, на данном рисунке сравниваются не просто продолжительность окна снижения гипоксии или максимальное значение давления кислорода во время него, а интегральная характеристика “дополнительной площади под графиком”, которая обозначена как серая область на Рис. 3.3, и является разностью между площадью под графиком давления кислорода от времени во время окна уменьшения гипоксии, т.е., когда давление кислорода превышает его значение до терапии, и произведением этого значения на продолжительность окна облегчения гипоксии. Рисунок 3.5 позволяет предположить, что l является относительно более важным параметром, чем v_{nor} , т.к., при используемых значениях других параметров модели достаточно быстрая деградация капилляров внутри опухоли приводит к исчезновению эффекта облегчения гипоксии при любой скорости нормализации капилляров, а при высокой васкуляризации опухоли этот эффект выражен даже при нефизиологически медленной скорости нормализации структуры опухолевых капилляров.

3.3 Обсуждение

В данной главе с помощью математического моделирования был исследован эффект временного облегчения внутриопухолевой гипоксии в первые дни ААТ. Этот эффект был продемонстрирован для различных мышинных моделей опухолей, однако он оказался не универсальным явлением, так как в некоторых случаях он не был обнаружен (см. [296], где проведен обзор экспериментов обоих типов). В большинстве исследований в качестве основной причины усиления оксигенации опухоли указано улучшение опухолевого кровотока, вызванное нормализацией структуры капилляров. В данной работе было высказано предположение о том, что увеличение кровотока может быть не единственной причиной временного повышения уровня кислорода в опухоли во время ААТ и что оно может проявляться даже в отсутствие изменений в кровотоке и, следовательно, не изменяющемся притоке кислорода в опухоль, являясь следствием уменьшения общей скорости потребления кислорода опухолью из-за снижения уровня пролиферации опухоли, вызванного нехваткой питательных веществ.

Эта гипотеза была проиллюстрирована посредством численного моделирования роста опухоли в ткани, на которое влияет инъекция бевацизумаба, и было изучено влияние изменения параметров модели на динамику кислорода

во время ААТ. Используемая модель учитывает наиболее важные особенности роста опухоли, фокусируясь на физиологически достоверном описании притока питательных веществ и метаболизма опухоли, и пренебрегая при этом изменениями кровотока при нормализации структуры капилляров. Ключевой отличительной чертой используемой модели является одновременное рассмотрение двух основных питательных веществ, кислорода и глюкозы. Это, в частности, позволяет проиллюстрировать тот факт, что их притоки изменяются по-разному во время нормализации структуры капилляров из-за ААТ. Модельные симуляции показали, что временное облегчение внутриопухолевой гипоксии происходит в довольно широком диапазоне физиологически обоснованных значений параметров и позволили указать основные факторы, определяющие динамику кислорода во время ААТ. Конечно, включение увеличения кровотока из-за нормализации капилляров в модель только усилит проявление рассматриваемого явления. Кроме того, было показано, что скорость нормализации капилляров является одним из основных факторов, влияющих на динамику кислорода внутри опухоли, следовательно, ее влияние будет наиболее значительным.

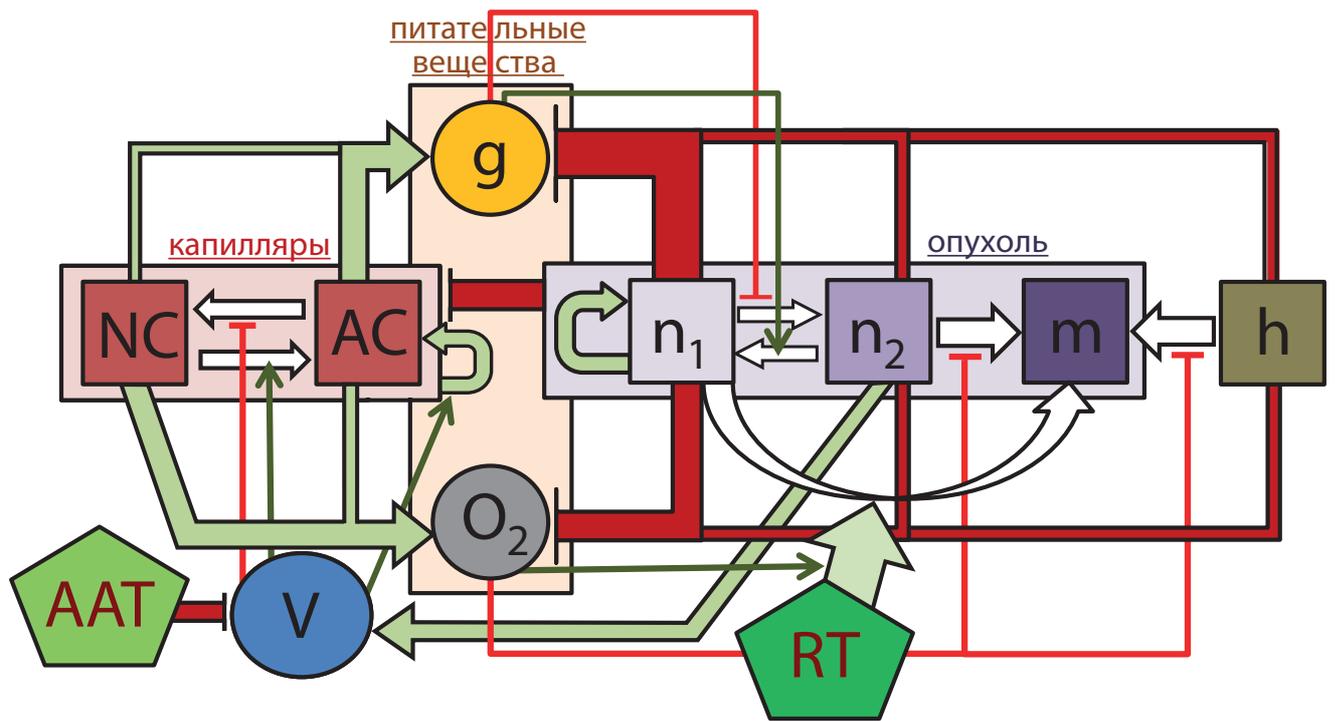
Глава 4. Исследование противоопухолевой эффективности комбинированных фракционированной радиотерапии и антиангиогенной терапии

В данной главе представлена математическая модель роста опухоли с учетом комбинированных РТ и ААТ, основанная на модели, представленной в предыдущей главе. Описанная ниже версия модели не пренебрегает увеличением кровотока в опухолевых микрососудах при нормализации их структуры. Модель используется для исследования эффективности данной комбинированной терапии при различной радиочувствительности опухолей.

4.1 Модель

На Рис. 4.1 показана схема основных связей между переменными модели. Радиотерапия (РТ) приводит к прямой мгновенной гибели части злокачественных клеток, при этом присутствие кислорода повышает ее эффективность, что выражено в математической форме в подразделе 4.1.1. Кроме наличия РТ, данная модель отличается от представленной в предыдущей главе следующими аспектами.

В данной версии модели присутствует переход опухолевых клеток из покоящегося состояния в пролиферирующее, происходящий при достаточном уровне глюкозы. Данный переход важен для рассмотрения длительной терапии и моделирования рецидива опухоли, возникающего после нее. Ввиду отсутствия экспериментальных данных о таком переходе, член, описывающий его, имеет феноменологический вид. Доля скорости потребления кислорода покоящимися опухолевыми клетками в отсутствие глюкозы от ее значения при нормальном уровне глюкозы считается равной нулю, так как в подразделе 3.2.2 было продемонстрировано крайне слабое влияние этого параметра на динамику кислорода внутри опухоли. Скорость разрушения капилляров в данной версии модели различается для нормальных и аномальных капилляров, так как предполагается, что для аномальных капилляров она должна быть выше ввиду недостатка поддерживающих клеток – перицитов – на их стенках [297]. При этом оба значения скорости разрушения капилляров находятся в пределах, рассмотренных в подразделе 3.2.2. Моделирование ААТ существенно упрощено и заключается в мгновенном обнулении концентрации VEGF. Такой подход используется

Опухоль:

n_1 – делящиеся клетки
 n_2 – покоящиеся клетки
 m – некротическая ткань

Нормальная ткань:

h – нормальные клетки

Капилляры:

NC – нормальные
 AC – аномальные
 V – VEGF

Питательные вещества:

G – глюкоза
 O_2 – кислород

Терапия:

AAT – антиангиогенная
 RT – радиотерапия

Рисунок 4.1 – Схема модели, определяемой системой уравнений (4.1)-(4.4). Зеленые стрелки указывают на стимулирующие отношения, красные – на ингибирующие отношения, белые – на переход между переменными.

для того, чтобы не слишком усложнять модель дополнительными уравнениями и параметрами ангиогенного препарата, изменение которых не влияет на результаты качественно, при условии, что ААТ достаточно эффективна. Далее, уровень секреции VEGF аннулируется при начале ААТ, что оправдано тем фактом, что ААТ является длительным лечением, которое обычно прекращается только при значительном проявлении побочных эффектов, которое происходит относительно редко. В свете такого рассмотрения ААТ отток VEGF из ткани также игнорируется для упрощения модели. Кроме того, как было отмечено выше, в модели учитываются различия в сопротивлении нормальных и аномальных микрососудов.

В целом, динамика переменных модели, за исключением влияния на них РТ, которое будет описано далее, определяется следующими уравнениями:

$$\begin{aligned}
\frac{\partial n_1}{\partial t} &= \overbrace{Bn_1}^{\text{пролиферация}} \overbrace{-P_1(g)n_1 + P_2(g)n_2}^{\text{переходы}} \overbrace{-\nabla(In_1)}^{\text{конвекция}}, \\
\frac{\partial n_2}{\partial t} &= \overbrace{P_1(g)n_1 - P_2(g)n_2}^{\text{переходы}} \overbrace{-d_n(O_2)n_2}^{\text{гибель}} \overbrace{+D_n\Delta n_2}^{\text{миграция}} \overbrace{-\nabla(In_2)}^{\text{конвекция}}, \\
\frac{\partial h}{\partial t} &= \overbrace{-d_h(O_2)h}^{\text{гибель}} \overbrace{-\nabla(Ih)}^{\text{конвекция}}, \\
\frac{\partial m}{\partial t} &= \overbrace{d_n(O_2)n_2 + d_h(O_2)h}^{\text{гибель клеток}} \overbrace{-\nabla(Im)}^{\text{конвекция}},
\end{aligned} \tag{4.1}$$

$$\begin{aligned}
&gde P_1(g) = k_1 \exp(-k_2 g); P_2(g) = \frac{1}{2} k_3 (1 - \tanh[\epsilon_{tr}(g_{tr} - g)]); \\
&d_i(O_2) = d_i^{max} \exp(-k_i^d O_2); i = n, h; \\
&n_1 + n_2 + m + h = 1; \frac{\partial I}{\partial x} = Bn_1 + D_n \Delta n_2.
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
\frac{\partial V}{\partial t} &= \overbrace{pn_2}^{\text{производство}} \overbrace{-\omega V(NC + AC)}^{\text{интернализация}} \overbrace{-d_V V}^{\text{деградация}} \overbrace{+D_V \Delta V}^{\text{диффузия}}, \\
\frac{\partial NC}{\partial t} &= \overbrace{-l_N(n_1 + n_2 + m)NC}^{\text{разрушение}} \overbrace{+ \frac{v_n V^*}{V + V^*} AC}^{\text{нормализация}} \\
&\underbrace{-\frac{v_d V}{V + V^*} NC}_{\text{денормализация}} \overbrace{-\mu(NC - 1)NC \cdot \Theta(NC - 1)}^{\text{нормализация плотности}} \overbrace{-\nabla(\gamma I \cdot NC)}^{\text{конвекция}}, \\
\frac{\partial AC}{\partial t} &= \overbrace{\frac{RV}{V + V^*} [NC + AC] [1 - \frac{NC + AC}{C_{max}}]}^{\text{ангиогенез}} \\
&\underbrace{-l_A(n_1 + n_2 + m)AC}_{\text{разрушение}} \overbrace{-\frac{v_n V^*}{V + V^*} AC}^{\text{нормализация}} \overbrace{+ \frac{v_d V}{V + V^*} NC}_{\text{денормализация}} \overbrace{-\nabla(\gamma I \cdot AC)}^{\text{конвекция}}.
\end{aligned} \tag{4.2}$$

$$\begin{aligned}
\frac{\partial g}{\partial t} &= \overbrace{[P_{g,NC}NC + P_{g,AC}AC]}^{\text{приток}}(g_{bl} - g) \\
&\quad - \underbrace{[q_{g,n1}n_1 + q_{g,n2}n_2 + q_{g,h}h]}_{\text{потребление}} \underbrace{\frac{g}{g + g^*}}_{\text{приток}} \overbrace{+ D_g \Delta g}_{\text{диффузия}}, \\
\frac{\partial O_2}{\partial t} &= \underbrace{Q_{O_2}^0 \cdot k_{ic}(NC, AC)}_{\text{потребление}} \cdot \overbrace{[S(O_2^{art}) - S(O_2)]}_{\text{приток}} \\
&\quad - \underbrace{[q_{O_2,n1}n_1 + q_{O_2,n2}n_2 + q_{O_2,h}h]}_{\text{потребление}} \underbrace{\frac{O_2}{O_2 + O_2^*}}_{\text{приток}} \overbrace{+ D_{O_2} \Delta O_2}_{\text{диффузия}},
\end{aligned} \tag{4.3}$$

$$\begin{aligned}
&gde \ k_{ic}(NC, AC) = 1.6(NC + k_{AC}AC)/(0.6 + NC + k_{AC}AC), \\
&S(O_2) = (O_2/\hat{O}_2)^n/[1 + (O_2/\hat{O}_2)^n].
\end{aligned}$$

Особенности численного решения системы уравнений (4.1)-(4.2) полностью аналогичны описанным в разделе 3.1.6.

4.1.1 Описание радиотерапии

Для описания РТ используется классическая линейно-квадратичная модель, которая имеет широкое клиническое применение [298]. Было предложено множество расширений такого подхода, которые учитывают зависящие от времени эффекты, происходящие между фракциями радиотерапии, а именно: восстановление сублетального повреждения, репопуляцию, перераспределение клеточного цикла и реоксигенацию [299]. В рассматриваемой модели учет репопуляции и реоксигенации между фракциями следует непосредственно из построения модели. Восстановление сублетального повреждения игнорируется, поскольку оно осуществляется за несколько часов [246], в то время как здесь рассматривается классическая фракционированная РТ, состоящую из 30-ти ежедневных фракций по 2 Гр (для простоты игнорируется тот факт, что РТ обычно не проводится в выходные дни). Учет клеточного цикла не включен в модель, однако учитывается тот факт, что клетки намного более уязвимы к излучению во время митоза. Единственная модификация классической модели, которая необходима для поставленной цели, это учет кислородного эффекта, обозначает

мого в уравнениях как OER (что является сокращением от “oxygen enhancement ratio”). Такой учет был предложен на основе экспериментальных данных в работе [245] и используется здесь в представленной в ней форме. В рассматриваемой модели продолжительность каждой фракции считается пренебрежимо малой и предполагается, что количество клеток и количество некротической ткани изменяются мгновенно, что реализовано в программном коде непосредственным образом. Также в модели игнорируется гибель нормальных клеток из-за РТ. Уравнения, выражающие значения переменных после фракции от их значений до нее, имеют следующий вид:

$$\begin{aligned}
 n_1|_{postRT} &= n_1|_{preRT} \cdot e^{-(\alpha[OER_\alpha \cdot D] + \beta[OER_\beta \cdot D]^2)}, \\
 n_2|_{postRT} &= n_2|_{preRT} \left[1 - k_{n2,RT} \cdot (1 - e^{-(\alpha[OER_\alpha \cdot D] + \beta[OER_\beta \cdot D]^2)}) \right], \\
 m|_{postRT} &= m|_{preRT} + (n_1|_{preRT} - n_1|_{postRT}) + (n_2|_{preRT} - n_2|_{postRT}), \quad (4.4) \\
 gde \ OER_i &= \frac{p(O_2) * OER_{i,m} + K_m}{p(O_2) + K_m}; \quad i = \alpha, \beta.
 \end{aligned}$$

Здесь $p(O_2)$ – это давление кислорода, выраженное в мм рт. ст. Параметр $k_{n2,RT}$ меньше единицы, поскольку покоящиеся клетки должны быть менее чувствительны к РТ, чем пролиферирующие, так как клетки более уязвимы к излучению во время митоза. Скорость ангиогенеза должна замедляться при РТ, так как облучение оказывает воздействие и на делящиеся эндотелиальные клетки, однако данный эффект игнорируется в модели, поскольку было проверено, что он практически не вносит никаких изменений в результаты.

4.1.2 Параметры

Большинство значений параметров модели совпадают с использованными в главе 3. Базовый набор параметров приведен в таблице 3, где для получения безразмерных значений модели используются те же нормировочные параметры, что и в главе 3: $t_n = 1$ час для времени, $L_n = 0,01$ см для длины, $g_n = O_{2,n} = 1$ мМ для концентрации глюкозы и кислорода, $V_n = 10^{-11}$ моль/мл для концентрации VEGF, $3 \cdot 10^8$ клеток/мл для максимальной плотности опухолевых клеток, $NC_n = 100$ см²/см³ для нормальной плотности площади поверхности капилляров.

Параметр	Описание	Оцененное значение	Значение в модели	Источник
Клетки опухоли:				
B	скорость пролиферации	0,02 час ⁻¹	0,02	[33] + см. 3.1.5
k_1	макс. скорость перехода в покой	0,4 час ⁻¹	0,4	[257]
k_2	чувствительность перехода в покой к глюкозе	19,8 ($\frac{\text{мг}}{\text{мл}}$) ⁻¹	3,6	[257]
k_3	макс. скорость перехода к делению	0,02 час ⁻¹	0,02	см. текст
ϵ_{tr}	чувствительность перехода к делению к глюкозе	10 мМ ⁻¹	10	см. текст
g_{tr}	пороговая концентрация глюкозы для перехода к пролиферации	1 мМ	1	см. текст
d_n^{max}	макс. скорость гибели	0,01 час ⁻¹	0,01	[274] + см. 3.1.5
k_n^d	чувствительность гибели к кислороду	1500 (мМ) ⁻¹	1500	см. 3.1.5
D_n	коэффициент миграции	$10^{-10} \frac{\text{см}^2}{\text{с}}$	0,0036	см. 3.1.5
Нормальные клетки:				
d_h^{max}	макс. скорость гибели	0,03 час ⁻¹	0,03	[274] + см. 3.1.5
k_h^d	чувствительность гибели к кислороду	300 мМ ⁻¹	300	см. 3.1.5
Радиотерапия:				
α	параметр радиочувствительности	0,1 Гр ⁻¹	0,1	см. текст
β	параметр радиочувствительности	0,01 Гр ⁻¹	0,01	см. текст
$k_{n2,RT}$	параметр эффекта РТ для покоящихся клетки	0,25	0,25	см. 4.1.1
$OER_{\alpha,m}$	макс. OER_{α} в аэробных условиях	2,5	2,5	[245]
$OER_{\beta,m}$	макс. OER_{β} в аэробных условиях	3	3	[245]
K_m	константа Михаэлиса для кислородного эффекта	3,28	3,28	[245]
VEGF:				
p	скорость производства	$1,6 \frac{\text{фг}}{\text{час} \cdot \text{клетки}}$	0,8	[285]
ω	скорость интернализации	$2,8 \cdot 10^{-4} \text{ с}^{-1}$	1	[278]
d_V	скорость деградации	0,01 час ⁻¹	0,01	[286]
D_V	дкоэффициент диффузии	$5,9 \cdot 10^{-7} \frac{\text{см}^2}{\text{с}}$	21,2	[286]
Капилляры:				
l_N	скорость разрушения нормальных капилляров	$2,3 \cdot 10^{-11} (\frac{\text{клетки}}{\text{мл}})^{-1} \text{ с}^{-1}$	0,007	см. 4.1
l_A	скорость разрушения аномальных капилляров	$6,7 \cdot 10^{-11} (\frac{\text{клетки}}{\text{мл}})^{-1} \text{ с}^{-1}$	0,02	см. 4.1
v_{nor}	скорость нормализации	0,4 час ⁻¹	0,4	см. 4.2.1
V^*	константа Михаэлиса для ангиогенеза и денормализации	$10^{-14} \frac{\text{моль}}{\text{мл}}$	0,001	см. 3.1.5
v_{den}	скорость денормализации	0,05 час ⁻¹	0,05	см. 3.1.5
μ	скорость нормализации плотности	$2 \cdot 10^{-4} (\frac{\text{см}}{\text{см}^3})^{-1} \text{ с}^{-1}$	0,02	см. 3.1.5
γ	эластичность сети	0,5	0,5	см. 3.1.2
R	макс. скорость ангиогенеза	0,005 час ⁻¹	0,0075	см. 3.1.5
C_{max}	макс. плотность площади поверхности	$500 \frac{\text{см}^2}{\text{см}}$	5	см. 3.1.5
Глюкоза:				
$P_{g,NC}$	проницаемость нормальных капилляров	$1,1 \cdot 10^{-5} \frac{\text{см}}{\text{с}}$	4	[280]
$P_{g,AC}$	проницаемость аномальных капилляров	$2,8 \cdot 10^{-5} \frac{\text{см}}{\text{с}}$	10	см. 3.1.5
G_{bl}	концентрация в крови	$5,5 \frac{\text{мМ}}{\text{л}}$	5,5	[281]
$q_{g,n1}$	скорость потребления делящимися клетками	$1,3 \cdot 10^{-16} \frac{\text{моль}}{\text{клетки} \cdot \text{с}}$	137	[33] + см. 3.1.5
$q_{g,n2}$	скорость потребления покоящимися клетками	$1,7 \cdot 10^{-18} \frac{\text{моль}}{\text{клетки} \cdot \text{с}}$	1,5	см. 3.1.5
$q_{g,h}$	скорость потребления нормальными клетками	$0,46 \frac{\text{мг}}{\text{мин} \cdot 100 \text{ мл}}$	1,5	[282]
g^*	константа Михаэлиса для потребления	0,04 мМ	0,04	[159]
D_g	коэффициент диффузии	$2,6 \cdot 10^{-6} \frac{\text{см}^2}{\text{с}}$	94	[250]
Кислород:				
$Q_{O_2}^0$	приток при нормальном кровотоке	20,4 $\frac{\text{мМ}}{\text{час}}$	20,4	см. 3.1.6
k_{AC}	отношение сопротивлений капилляров двух типов	0,5	0,5	см. текст
O_2^{art}	концентрация в артерии	100 мм рт. ст.	0,12	[261]
\hat{O}_2	концентрация, при которой насыщение гемоглобина равно 50%	26,5 мм рт. ст.	0,033	[283]
n	коэффициент Хилла	2,55	2,55	[283]
$q_{O_2,n1}$	СПК делящимися клетками	$5,9 \cdot 10^{-17} \frac{\text{моль}}{\text{клетки} \cdot \text{с}}$	62,7	[33] + см. 3.1.5
$q_{O_2,n2}$	СПК покоящимися клетками	$9,3 \cdot 10^{-17} \frac{\text{моль}}{\text{клетки} \cdot \text{с}}$	8	см. 3.1.5
$q_{O_2,h}$	СПК нормальными клетками	$0,29 \frac{\text{мл}}{\text{мин} \cdot 100 \text{ мл}}$	8	[282]
O_2^*	константа Михаэлиса для СПК	0,005 мМ	0,005	[159]
D_{O_2}	коэффициент диффузии	$2 \cdot 10^{-5} \frac{\text{см}^2}{\text{с}}$	720	[284]

Таблица 3 — Параметры модели

Максимальная скорость перехода к пролиферации выбрана исходя из соображения, что она должна совпадать по порядку величины со скоростью пролиферации, для других параметров этого перехода сделаны разумные феноменологические оценки, при этом их вариация изменяет результат лишь незначительно. Параметры радиочувствительности сильно отличаются между линиями опухолевых клеток [300] и, кроме того, существенно различаются от пациента к пациенту даже для опухолей одного типа [194]. В базовой симуляции в разделе 4.2.1 рассматривается курс терапии, которая убивает приблизительно 90% опухолевых клеток. Затем параметры радиочувствительности варьируются в довольно широком диапазоне. Значение отношения сопротивлений капилляров двух типов основано на наблюдении, что нормализация опухолевых микрососудов может сопровождаться примерно двукратным увеличением перфузии опухоли [11; 112].

4.2 Результаты

4.2.1 Симуляция при базовом наборе параметров

На Рис. 4.2 показано распределение переменных модели во время моноААТ при используемых в данном варианте модели значениях параметров в четыре момента времени. Данная симуляция качественно похожа на рассмотренную в подразделе 3.2.1 и отличается от нее лишь в деталях. Структура свободно растущей опухоли и ее микроокружения изображены на рис. 4.2а, который относится к моменту времени непосредственно перед началом ААТ. Распределение переменных вблизи границы между опухолью и нормальной тканью не изменяется на качественном уровне во время свободного роста опухоли, который по этой причине не проиллюстрирован далее. Основная масса опухоли состоит из покоящихся клеток n_2 и некроза m из-за дефицита глюкозы g и кислорода O_2 внутри опухоли. Функциональных капилляров внутри опухоли немного, большинство аномальных капилляров AC расположены в перитуморальной области. Внутриопухолевая концентрация VEGF V , где он активно производится и почти не интернализуется эндотелиальными клетками, превышает его уровень вне опухоли, которого, однако, достаточно для неоваскуляризации на расстоянии до двух миллиметров от фронта опухоли. Повышенная плотность микроциркуляторной сети, а также повышенная проницаемость аномальных капил-

ляров приводят к усиленному поступлению глюкозы в ткань около границы опухоли. Несмотря на то, что кровоток и, следовательно, приток кислорода в ткани уменьшены в аномальных капиллярах по сравнению с нормальными, общая плотность микроциркуляторной сети достаточна для того, чтобы общий приток кислорода к границе опухоли был увеличен по сравнению с его притоком при микроциркуляторной сети, соответствующей здоровой ткани, $NC(x) = 1$. Это подтверждается небольшим пиком в профиле концентрации кислорода вблизи границы опухоли, который, в отличие от случая с глюкозой, проявляется из-за гораздо более быстрого притока кислорода. Тем не менее, приток кислорода в перитуморальной области увеличен в гораздо меньшей степени, чем приток глюкозы.

Рисунок 4.2б соответствует первому дню ААТ, которая смоделирована здесь как мгновенное устранение VEGF без его дальнейшего производства. Отсутствие VEGF приводит к остановке ангиогенеза и быстрой нормализации существующих микрососудов, описываемой переходом из AC в NC . Как и в случае, рассмотренном в подразделе 3.2.1, из-за избытка нормальных капилляров в ткани запускается процесс нормализации плотности микроциркуляторной сети. Нормализация состояния микрососудов и плотности микроциркуляторного русла приводит к снижению притока глюкозы, что, в свою очередь, приводит к уменьшению количества пролиферирующих клеток, что существенно сдерживает рост опухоли. В то же время концентрация кислорода внутри опухоли повышается, и в данной симуляции причиной этому служат два процесса – увеличение кровотока в нормализованных капиллярах и снижение потребления кислорода опухолью из-за перехода опухолевых клеток в состояние покоя, вызванное дефицитом глюкозы.

Продолжающееся разрушение капилляров приводит к постоянному снижению притока глюкозы к опухоли, что еще больше замедляет скорость ее роста. Примерно через неделю плотность микрососудов за пределами опухоли почти полностью нормализуется, как показано на Рис. 4.2в. Уменьшение плотности микрососудов внутри опухоли занимает больше времени, так как оно определяется относительно медленной скоростью дегградации нормальных капилляров. Однако концентрация кислорода внутри опухоли в конечном итоге снижается настолько, что значительно укоряет процесс некротизации в центре опухоли, как показано на Рис. 4.2г.

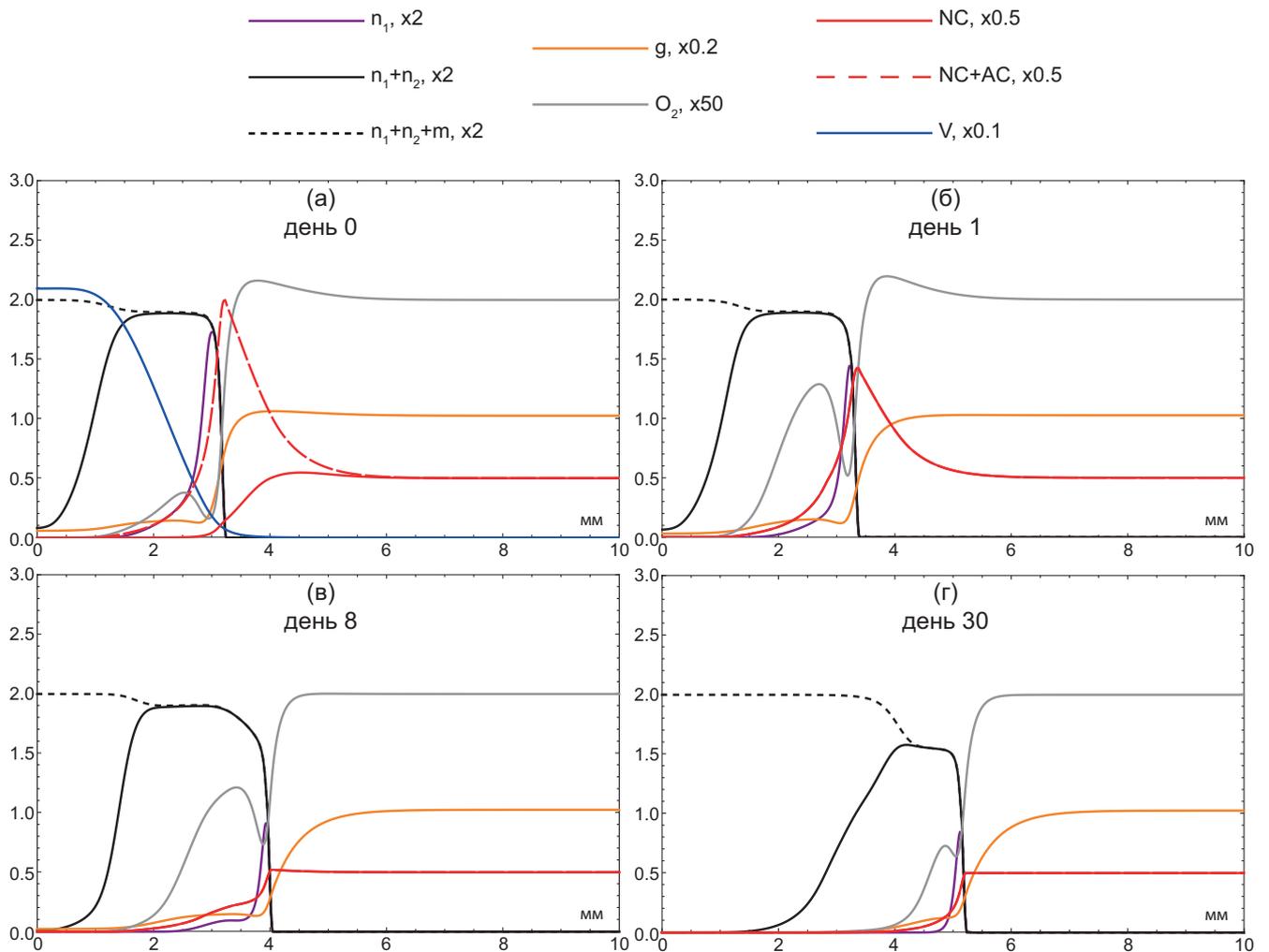


Рисунок 4.2 — Распределения пролиферирующих и покоящихся клеток опухоли n_1 и n_2 , доли некроза m , концентраций глюкозы g , кислорода O_2 , плотностей поверхности нормальной и аномальной микроциркуляторной сетей NC и AC и концентрации VEGF V при антиангиогенной терапии в дни: а) 0 (непосредственно до начала терапии); б) 1; в) 8; г) 30.

Изменение среднего давления кислорода внутри опухоли для рассматриваемой симуляции показано на Рис. 4.3 серой линией. С начала роста опухоли он падает из-за увеличения СПК пролиферирующими клетками, почти стабилизируясь через несколько дней. В начале ААТ на 25-й день моделирования давление кислорода внутри опухоли резко увеличивается в $\approx 3,5$ раза, с 2,2 мм рт. ст. до 7,5 мм рт. ст., затем медленно снижается, опускаясь через примерно 17 дней ниже дотерапевтического уровня. Продолжительность окна снижения гипоксии здесь примерно в три раза больше по сравнению со случаем, рассмотренным в подразделе 3.2.1 и ориентирующимся на доклинические экспериментальные данные. Это оправданно экспериментальными данными о том,

что у людей этот эффект длится дольше, чем у мышей [107]. С целью такого соответствия значение параметра скорости нормализации капилляров было выбрано из верхней части диапазона, рассматриваемого в разделе 3.2.2.

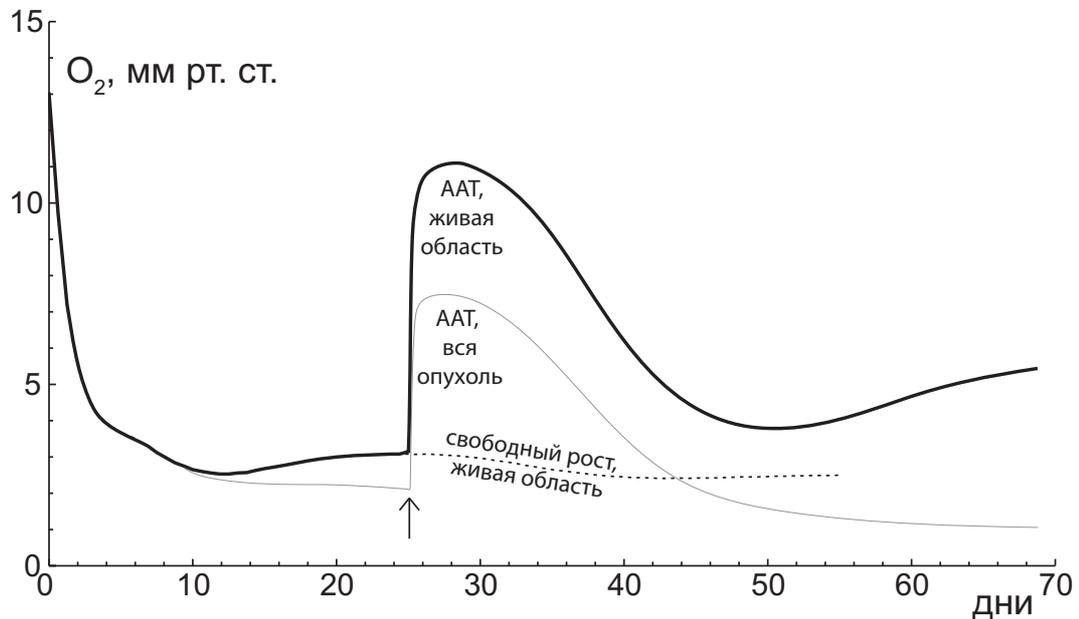


Рисунок 4.3 — Зависимость среднего давления кислорода от времени в живой области опухоли и внутри всей опухоли при антиангиогенной терапии и внутри живой области опухоли при ее свободном росте. Стрелка указывает момент начала лечения.

Однако несмотря на то, что среднее давление кислорода внутри опухоли является параметром, который может быть непосредственно измерен в экспериментах, характеристика, которая более важна для рассмотрения при проведении РТ, это среднее давление кислорода в живой области опухоли, т.е., за исключением ее некротической зоны. Для расчета этой величины вклад величины давления кислорода в каждой вычислительной ячейке был взят с весом, пропорциональным плотности опухолевых клеток в ней. Зависимость этой характеристики от времени изображена толстой черной линией. Примерно с 10-го дня, когда начинается заметное образование некротической ткани внутри опухоли, она расходится с серой линией, а затем всегда находится выше нее. В начале ААТ давление кислорода в живой области опухоли увеличивается примерно в 3,5 раза, с 3,1 мм рт. ст. до 11 мм рт. ст. Активная гибель покоящихся клеток, которая начинается на второй неделе ААТ, приводит к тому, что меньшее количество живых опухолевых клеток остается в районах со слабой

оксигенацией, что эффективно повышает среднее давление кислорода в живой области опухоли. Для сравнения пунктирная линия указывает на поведение этого параметра при свободном росте опухоли. Эта линия заканчивается на 55-й день роста опухоли, так как в это время свободно растущая опухоль достигает границы вычислительного пространства, т.е., радиуса 1 см.

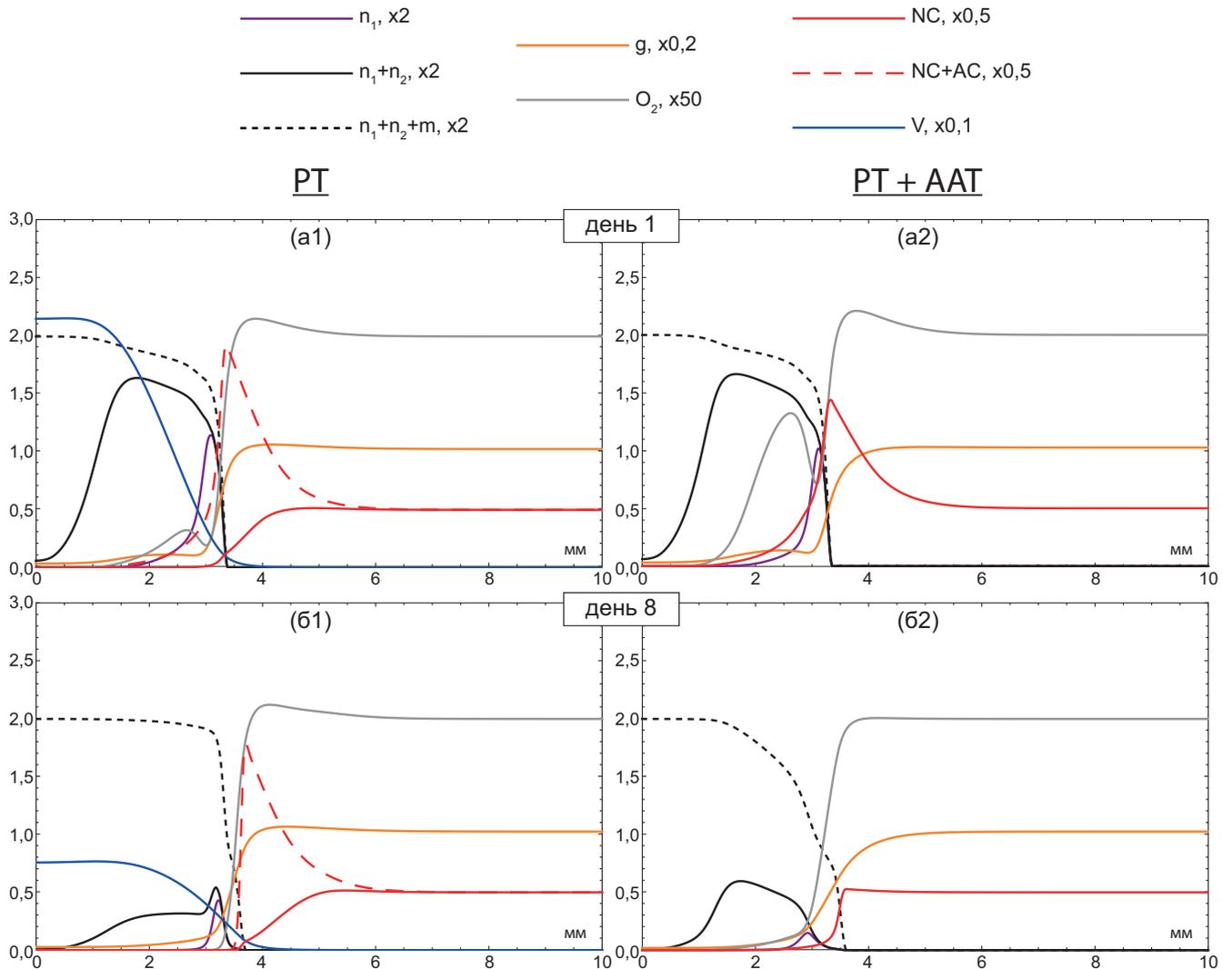


Рисунок 4.4 — Распределения пролиферирующих и покоящихся клеток опухоли n_1 и n_2 , доли некроза m , концентраций глюкозы g , кислорода O_2 , плотностей поверхности нормальной и ангиогенной микроциркуляторной сетей NC и AC и концентрации VEGF V при монорадикотерапии и комбинированной ангиогенной и радиотерапии в различные дни проведения лечения.

На Рис. 4.4 показано распределение переменных модели во время моно-РТ, которая состоит из 30-ти ежедневных фракций по 2 Гр и также начинается на 25-й день симуляции; а также во время комбинированных ААТ и РТ, проводимых совместно по таким же рассматриваемым схемам. Повышенная эффек-

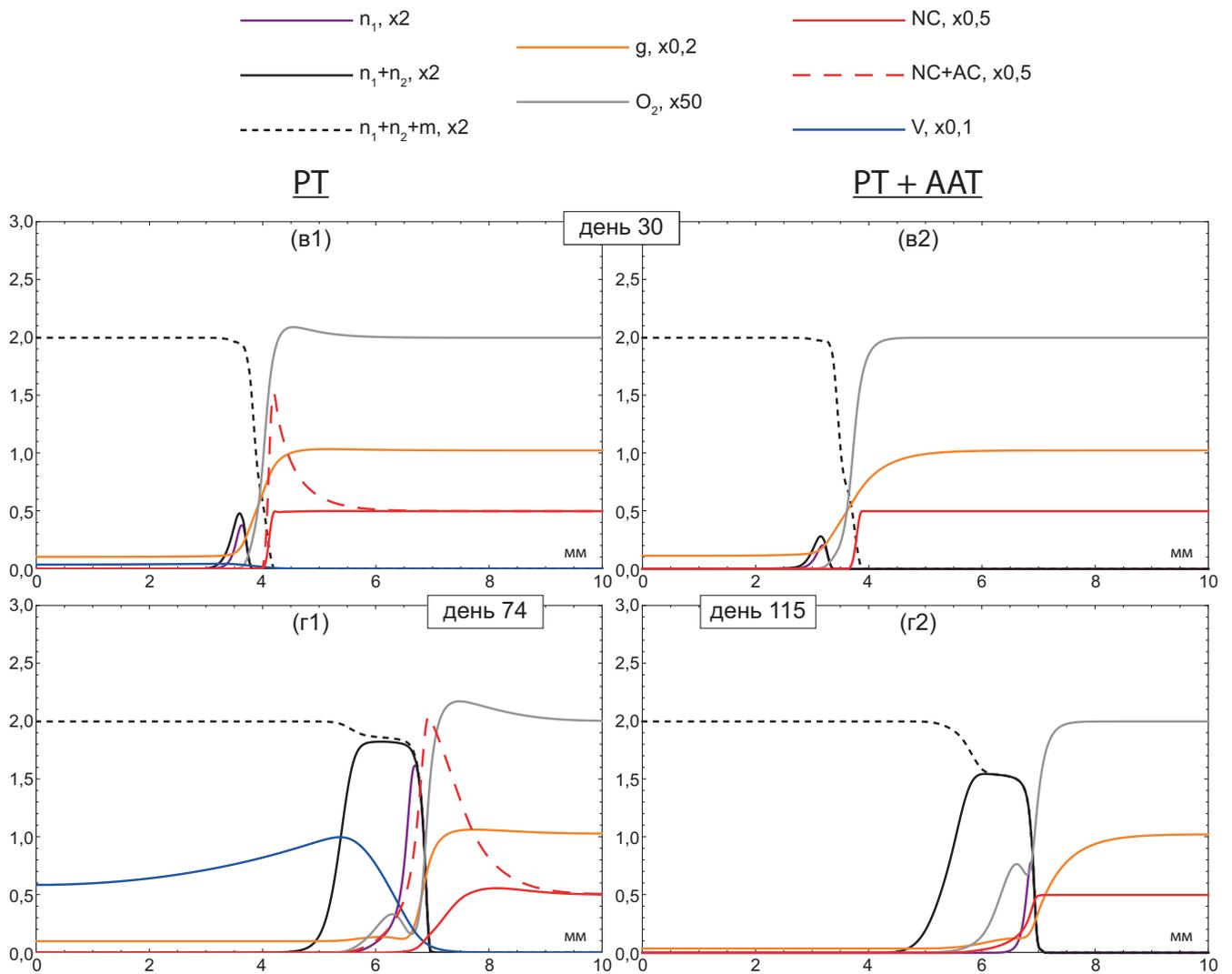


Рисунок 4.4 — (продолжение)

тивность комбинированной терапии в начале лечения подтверждается меньшим количеством пролиферирующих клеток на Рис. 4.4a2 по сравнению с Рис. 4.4a1 (здесь и далее номер 1 относится к моно-РТ, а номер 2 – к комбинированной терапии). Для этого есть две причины: во-первых, повышение концентрации кислорода около живых опухолевых клеток приводит к повышению эффективности РТ; во-вторых, как уже было показано выше, действие ААТ само по себе приводит к уменьшению количества пролиферирующих клеток опухоли. С другой стороны, в отсутствие ААТ во время моно-РТ при большей концентрации глюкозы покоящиеся опухолевые клетки быстрее переходят в состояние пролиферации, в которой они становятся намного более уязвимыми к радиации, поэтому влияние ААТ на общую эффективность несколько неоднозначно. В результате при моно-РТ погибает больше опухолевых клеток, что приводит к более быстрому увеличению некротического ядра, о чем свидетельствуют пунк-

тирные линии на Рис. 4.4б1,б2, которые относятся к 8-му дню терапии. В результате при моно-РТ опухоль становится более компактной – т.е. область, которая содержит значительное количество как опухолевых, так и нормальных клеток, более тонкая и имеет чуть больший радиус. В конце РТ, показанном на Рис. 4.4в1,в2, опухоль, подвергающаяся комбинированной терапии, также становится более компактной и содержит меньше живых клеток, что еще раз указывает на повышенную эффективность комбинированной терапии. Следует отметить, что к концу РТ концентрация кислорода в живой области опухоли в обоих случаях падает до очень низких значений из-за активного разрушения внутриопухолевых капилляров, поэтому коэффициент усиления кислорода становится незначительным. После окончания РТ происходит возобновление роста опухоли, которое, очевидно, стимулируется образованием новых капилляров и, следовательно, происходит быстрее в случае моно-РТ – например, на Рис. 4.4г1,г2 показано, что опухоль в этом случае достигает радиуса 7 мм почти на 6 недель раньше.

На Рис. 4.5а,б показаны зависимости радиуса опухоли и количества опухолевых клеток от времени для трех рассмотренных терапий, а также для свободного роста опухоли. На втором рисунке сплошные линии относятся только к пролиферирующим клеткам, а пунктирные линии – ко всем опухолевым клеткам. Радиус опухоли определяется как максимальная координата, для которой доля опухоли вместе с некрозом превышает 0,1.

Моно-ААТ уменьшает количество пролиферирующих клеток на 30% за первые полдня и значительно ингибирует дальнейшее увеличение их количества. Наклон кривой радиуса опухоли при моно-ААТ плавно снижается в течение первых недель терапии, что отражает замедление роста опухоли из-за медленной деградации нормализованных капилляров внутри нее, что в конечном итоге приводит к примерно 4-кратному снижению скорости роста опухоли.

Как видно из 4.5б, первое воздействие излучения приводит к равному ущербу для опухоли при обоих типах терапии, включающих РТ, т.к., поскольку убийство опухолевых клеток считается мгновенным, ААТ, которая начинается в тот же момент, еще не успевает повлиять на уровень кислорода внутри опухоли (вставка на рисунке акцентирует детали первых дней тех типов лечения, которые включают РТ). Последующая динамика числа опухолевых клеток в этих случаях до конца РТ представляет собой последовательность

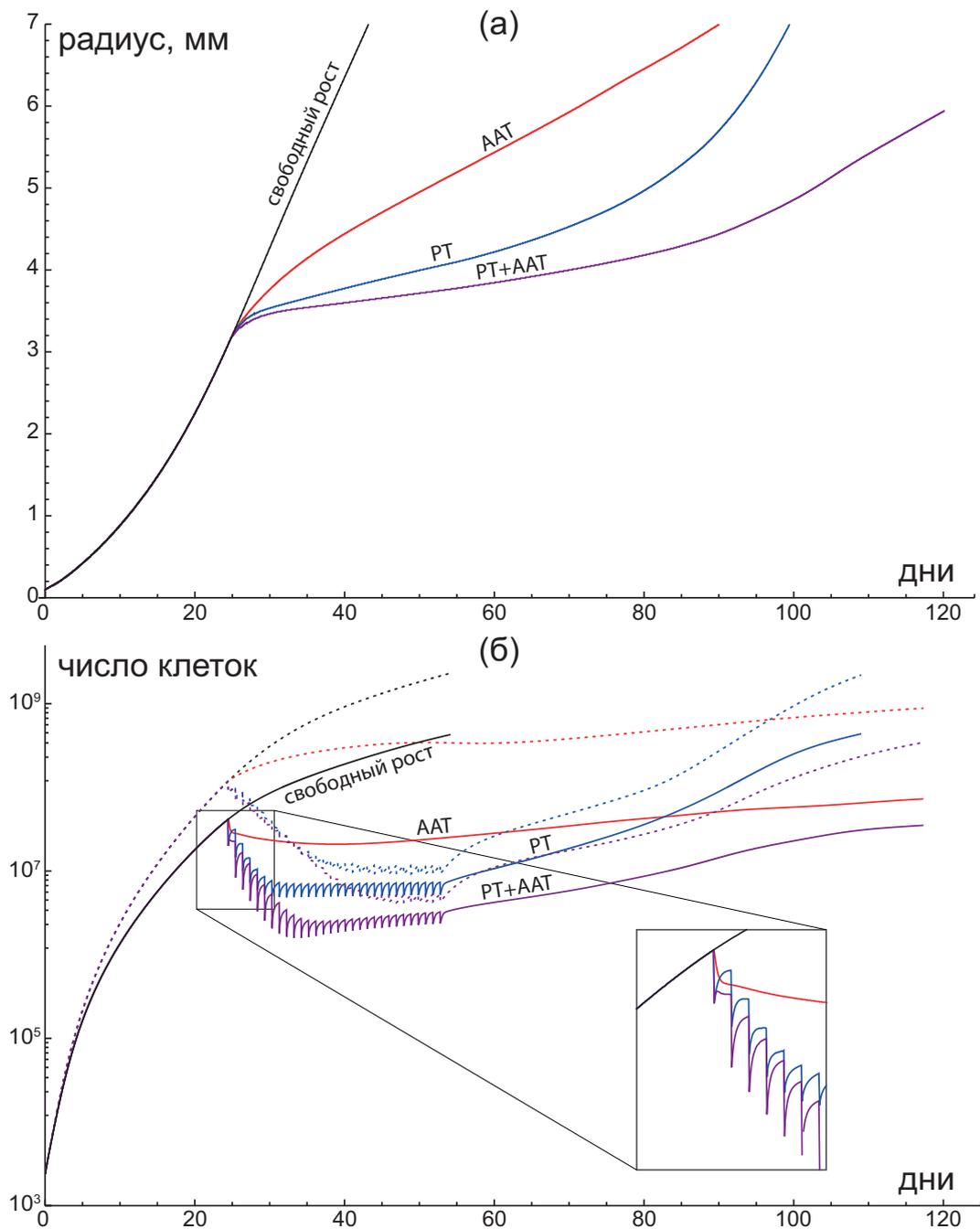


Рисунок 4.5 — а) Радиус опухоли; б) количество опухолевых клеток при свободном росте, антиангиогенной монотерапии, монорадиотерапии и комбинированной антиангиогенной и радиотерапии. Пунктирные линии в б) относятся ко всем опухолевым клеткам, сплошные линии – только к пролиферирующим клеткам.

мгновенных снижений с последующими частичными компенсациями. К концу РТ комбинированный режим оказывается более эффективным, чем моно-РТ с точки зрения как уменьшения радиуса опухоли, так и уменьшения числа ее клеток. Как было указано выше, для этого есть две возможные причины: прямое ограничение поступления глюкозы за счет антиангиогенного действия и

повышение эффективности РТ за счет кислородного эффекта. Однако как видно из поведения кривой, соответствующей количеству опухолевых клеток во время комбинированной терапии, ААТ сама по себе влияет на рост опухоли только после первой фракции излучения, ограничивая количество пролиферирующих опухолевых клеток сверху (см. вставку). Последующие возобновления роста опухоли не сдерживаются антиангиогенной терапией, поскольку такое количество пролиферирующих опухолевых клеток может поддерживаться существующей капиллярной сетью. Таким образом, последующее снижение числа опухолевых клеток связано только с кислородным эффектом, что особенно проявляется при первых фракциях РТ. Например, после третьей фракции 53% пролиферирующих клеток погибают при моно-РТ и 64% – при комбинированной терапии. При этом абсолютное значение числа погибающих клеток больше в случае моно-РТ, что объясняет более быстрое наращивание некротического ядра и, следовательно, больший радиус опухоли в этом случае. Однако уже в течение первой половины времени лечения эффективность одиночных фракций в двух терапиях становится почти одинаковой, так как, как было указано выше, уровень кислорода в жизнеспособной области опухоли падает до низких значений, приводящих только к незначительному усилению действия РТ. При снижении эффективности РТ рост числа опухолевых клеток между фракциями излучения начинает компенсировать гибель клеток, и графики зависимости количества опухолевых клеток от времени практически выходят на предельные циклы к концу РТ.

Динамика среднего давления кислорода внутри живой области опухоли во время моно-РТ и комбинированной терапии показана на Рис. 4.6. Падение этого параметра коррелирует с изменением эффективности отдельных фракций излучения, и таким образом, влияет на динамику числа опухолевых клеток, которая обсуждалась выше. Резкие выбросы в моменты излучения указывают на уменьшение общей СПК опухоли из-за гибели значительной части пролиферирующих клеток, которые являются ее активными потребителями. Более быстрое падение концентрации кислорода по сравнению с моно-ААТ и ее стремление к пренебрежимо малым значениям в обоих случаях являются следствием существенно меньшей плотности капилляров внутри опухоли, происходящей вследствие того, что при уменьшении темпов роста опухоли меньше капилляров проникают внутрь опухоли снаружи. Кроме того, скорость образования новых капилляров

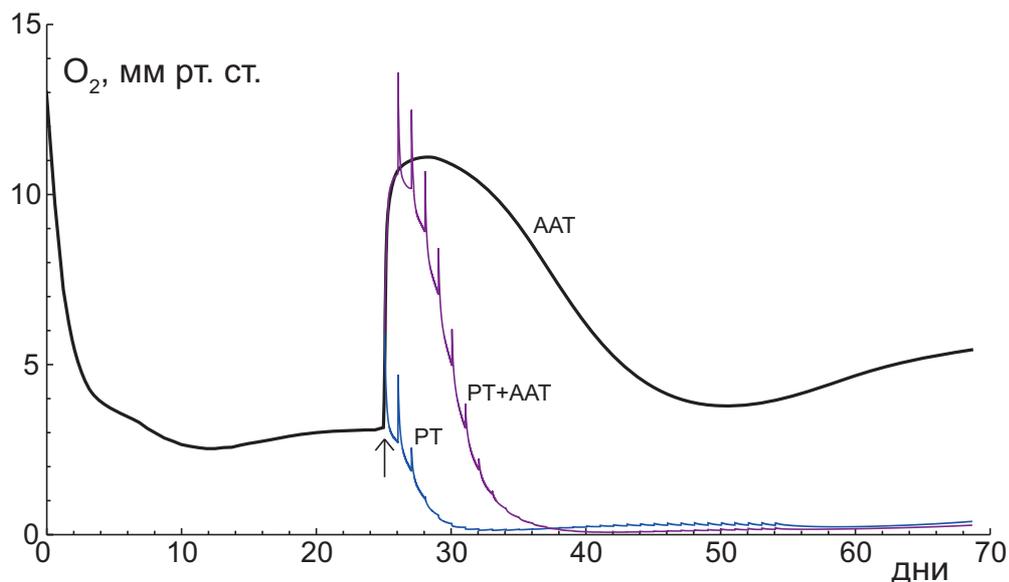


Рисунок 4.6 — Среднее давление кислорода внутри живой области опухоли от времени при антиангиогенной монотерапии, монорадикотерапии и комбинированной антиангиогенной и радиотерапии. Стрелка указывает момент начала лечения.

сводится к нулю при комбинированной терапии, и значительно уменьшается к концу моно-РТ, т.к. уровень производства VEGF значительно падает из-за уменьшения количества клеток опухоли (см. Рис. 4.4в1). К концу РТ (55-й день) давления кислорода в обоих случаях практически стабилизируются при очень низких значениях, что приводит к отмеченному выше факту, что эффективность фракций остается почти постоянной в этот период, тогда как способность опухолевых клеток за один день восстанавливать численность, компенсируя гибель в результате облучения, приводит к предельному циклу числа опухолевых клеток. Следует отметить, что концентрация кислорода в конце РТ несколько выше в опухоли, подвергающейся монорадикотерапии. Это связано с тем, что в отсутствие ААТ дополнительная перитуморальная микроциркуляторная сеть, остающаяся к этому времени, обеспечивает увеличение притока кислорода в опухоль путем диффузии через ткань, что хорошо показано на Рис. 4.4в1,в2.

4.2.2 Вариация по радиочувствительности

Рассмотренная выше симуляция касается ситуации, когда радиочувствительность опухоли достаточно низкая, так что опухолевые клетки не уничтожаются полностью, но рост опухоли значительно замедляется. Несмотря на то,

что добавление ААТ делает лечение более эффективным, это оказывается не универсальным принципом. На Рис. 4.7 показано количество клеток, которые остаются сразу после последней фракции излучения в случаях моно-РТ и комбинированной терапии при разных значениях радиочувствительности опухоли. Соотношение между α и β сохраняется равным 10. До $\alpha = 0,15$ два графика демонстрируют хорошую корреляцию, и в каждом случае после комбинированной терапии к концу РТ остается примерно вдвое меньшее количество опухолевых клеток, чем при моно-РТ. Однако с дальнейшим увеличением радиочувствительности опухоли ситуация качественно изменяется. Эффективность лечения становится равной при $\alpha \approx 0,19$, при которой после курса РТ выживает менее 0,4% от исходного количества опухолевых клеток. После этого значения добавление ААТ снижает общую эффективность лечения ввиду следующей причины.

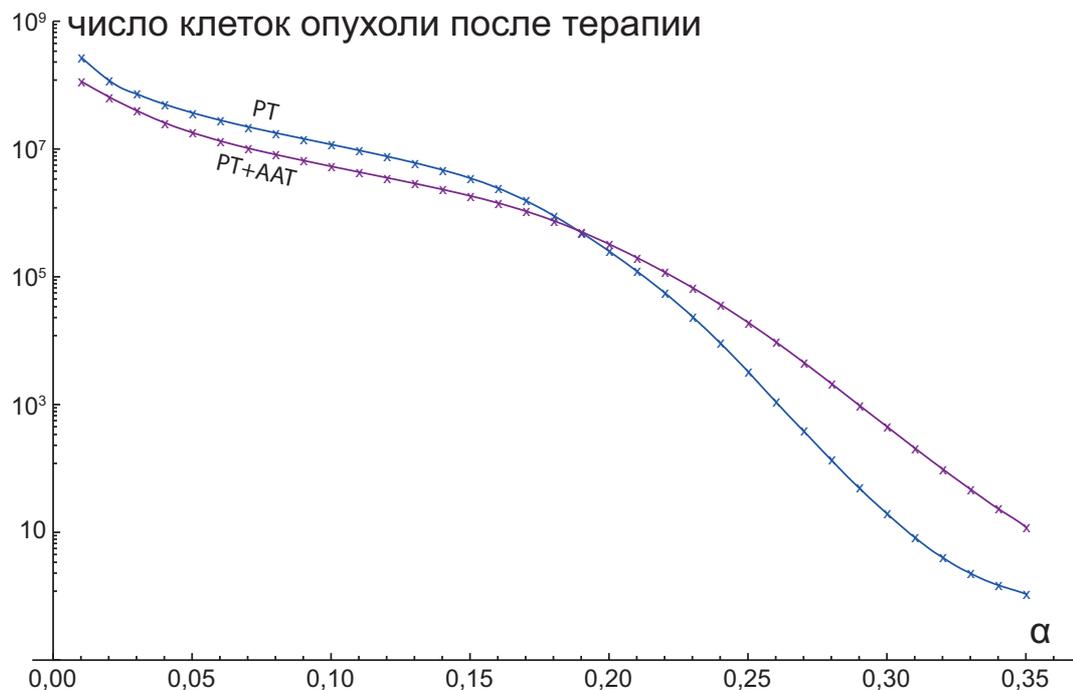


Рисунок 4.7 — Количество живых опухолевых клеток, оставшихся в конце РТ при монорадикотерапии и комбинированной антиангиогенной и радиотерапии в зависимости от радиочувствительности опухоли. Крестики указывают значения, полученные из численных симуляций, сплошные линии — интерполяции данных.

При любых значениях радиочувствительности комбинированная терапия всегда более эффективна в первые дни из-за явления временного снижения гипоксии. Это показано на Рис. 4.8(а), где показана динамика числа опухолевых клеток во время моно-РТ и комбинированной терапии при $\alpha = 0,35$. Как бы-

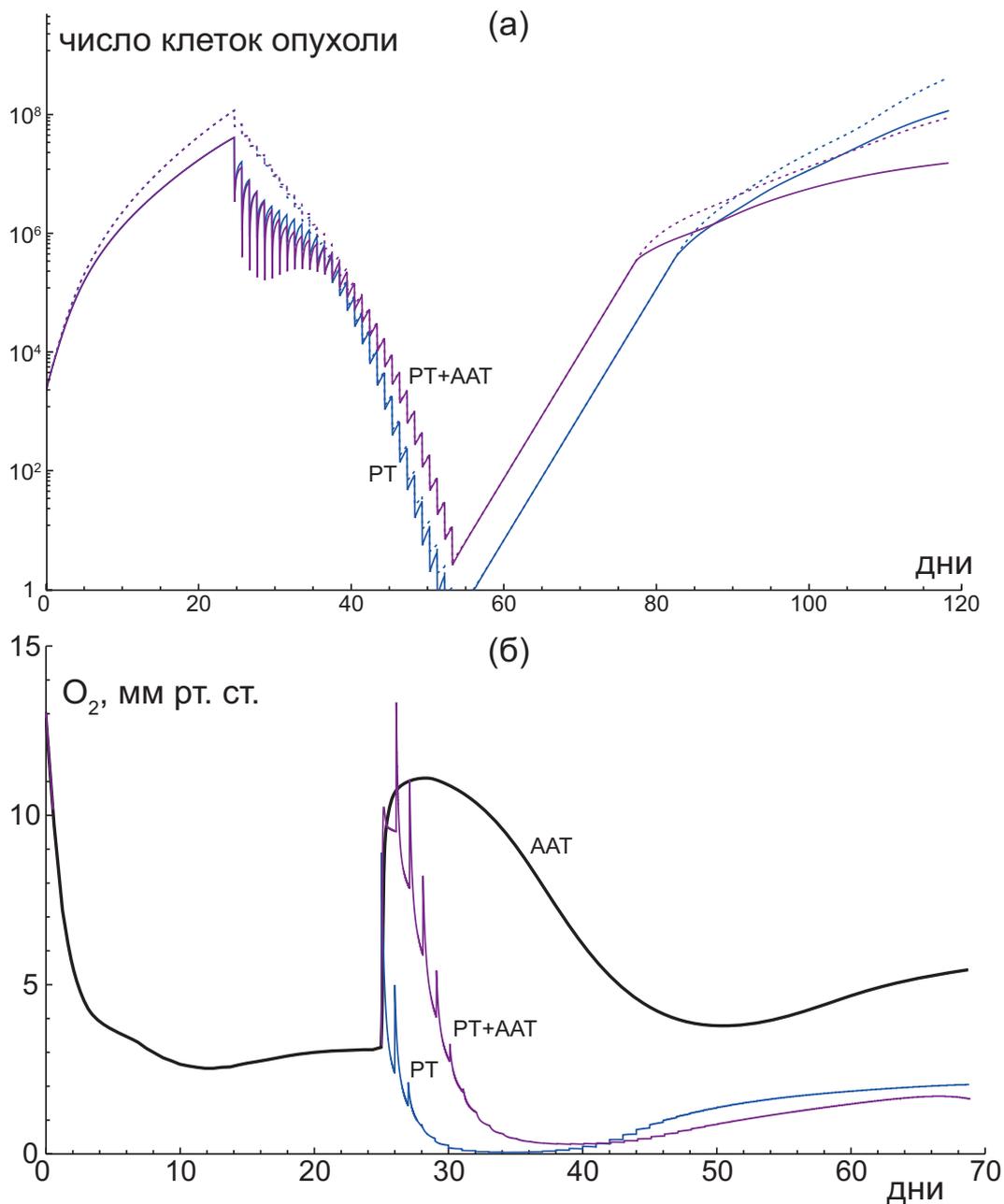


Рисунок 4.8 — а) Число опухолевых клеток при монорадииотерапии и комбинированной антиангиогенной и радиотерапии при параметрах радиочувствительности опухоли $\alpha=10\beta=0,35$. Пунктирные линии относятся ко всем опухолевым клеткам, сплошные линии – только к пролиферирующим клеткам. б) Среднее давление кислорода внутри живой области опухоли со временем при антиангиогенной монотерапии, монорадииотерапии и комбинированной антиангиогенной и радиотерапии при параметрах радиочувствительности опухоли $\alpha=10\beta=0,35$.

ло указано выше, в случае $\alpha = 0,1$ временное уменьшение внутриопухолевой гипоксии заканчивается через несколько дней, после чего средний уровень кислорода в живой области опухоли остается на практически постоянном, очень

низком значении. Однако при увеличении радиочувствительности и, следовательно, при увеличении количества погибших во время каждой фракции клеток, после окончания окна облегчения внутриопухолевой гипоксии уровень кислорода в живой области опухоли начинает заметно повышаться из-за активной гибели его потребителей. Рисунок 4.8(б) иллюстрирует это, демонстрируя динамику среднего уровня кислорода в живой области опухоли для аналогичных симуляций при $\alpha = 0,35$. Повышение уровня кислорода приводит к небольшому повышению эффективности каждой последующей фракции. Как было отмечено в разделе 4.2.1, в отсутствие ААТ приток кислорода в опухоль из перитуморальной области увеличен, что делает моно-РТ более эффективной в этот период, при этом соотношение эффективностей терапий растет с увеличением радиочувствительности. Например, при $\alpha = 0,35$ к концу РТ давление кислорода составляет 0,91 мм рт. ст. и 1,61 мм рт. ст. для комбинированной терапии и моно-РТ соответственно, что приводит к гибели 68% и 72% пролиферирующих клеток после одной фракции. В целом, это делает моно-РТ в конечном счете более эффективной, что особенно важно в случаях, когда добавление ААТ может привести к “спасению” нескольких опухолевых клеток и дальнейшему возобновлению роста опухоли, в то время как практически все опухолевые клетки могут быть устранены к концу моно-РТ, как показано на Рис. 4.8(а). Следует отметить, что вплоть до числа клеток $\approx 2 \cdot 10^5$ рост опухоли в обоих случаях состоит из экспоненциальной фазы, в течение которой клетки размножаются с максимальной скоростью и не переходят в состояние покоя. По достижении этого количества клеток скорость роста опухоли замедляется из-за дефицита глюкозы, оставаясь более высокой в случае моно-РТ, в которой рост опухоли стимулируется началом неоваскуляризации.

4.3 Обсуждение

В этой главе была представлена пространственно-распределенная математическая модель роста опухоли и комбинированной радиотерапии (РТ) с антиангиогенной терапией (ААТ). Были рассмотрены модельные симуляции классической фракционированной РТ с ААТ при вариации радиочувствительности опухоли, которая является характеристикой, специфичной как для типа опухоли, так и для пациента, и изменяющейся на практике в широком диапазоне. Результаты этих симуляций позволяют предположить, что временное облегче-

ние внутриопухолевой гипоксии, вызванное ААТ, должно всегда временно повышать эффективность РТ в первые дни комбинированного лечения. Однако тип влияния ААТ на общую эффективность лечения зависит от радиочувствительности опухоли. При ее низких значениях, когда РТ сама по себе не может уничтожить все опухолевые клетки и, таким образом, служит паллиативной терапией, включение ААТ может продлить выживаемость пациента. Однако при высокой радиочувствительности опухоли ААТ может скомпрометировать лечебное действие фракционированной РТ.

Будучи неизбежной идеализацией реального роста опухоли и противоопухолевой терапии, рассматриваемая модель тем не менее позволяет получить полезную информацию о взаимодействии элементов, участвующих в этих процессах, и выявить их важные характеристики. В частности, с помощью модели было продемонстрировано, что среднее внутриопухолевое давление кислорода, которое часто измеряется в соответствующих экспериментах, не является параметром, который непосредственно влияет на эффективность РТ, поэтому его использование в оценках эффективности РТ должно приводить к ее недооценке. Также было показано, что РТ с самого начала приводит к быстрому снижению давления кислорода внутри живой области опухоли, что снижает эффективность последующих фракций. Кроме того, было продемонстрировано, что вызванное ААТ снижение поступления питательных веществ в опухоль должно влиять на число опухолевых клеток только в самом начале лечения с достаточно эффективной РТ, тогда как основной синергетический эффект этой комбинированной терапии связан с увеличением уровня кислорода, вызванного ААТ.

Интересной и практически важной проблемой, связанной с комбинированными РТ и ААТ, является оптимизация схемы лечения, то есть изменение дозровок и/или времени облучения с целью максимизации лечебного эффекта. Это исследование планируется провести в ближайшем будущем, и представленная модель будет служить основой для него.

Заключение

Основные результаты диссертации можно кратко сформулировать в следующем виде.

1. Разработана пространственно-распределенная непрерывная математическая модель роста солидной васкуляризованной опухоли в ткани, которая учитывает собственную подвижность опухолевых клеток и конвективное движение, возникающее вследствие их пролиферации, что позволяет моделировать два типа роста опухоли – инвазивный, характерный для высокостадийных опухолей, и компактный, присущий низкостадийным опухолям – а также их комбинацию.
2. Получены аналитические оценки скорости роста для компактных и инвазивных опухолей. Эти оценки позволяют предположить, что антиангиогенная терапия, направленная на остановку образования микрососудов в опухолевом микроокружении, может обеспечить уменьшение скорости роста компактной опухоли в несколько раз, но уменьшение скорости роста для инвазивных опухолей должно быть незначительным. Полученные аналитические оценки подтверждаются численным моделированием, которое позволяет оценить влияние антиангиогенной терапии на опухоли со смешанным типом роста и выявляет неаддитивный характер двух типов роста.
3. С помощью математического моделирования моно-антиангиогенной терапии сформулирована гипотеза о том, что кратковременное повышение уровня кислорода в опухоли в первые дни антиангиогенного лечения, часто наблюдающееся экспериментально, может являться следствием падения скорости потребления кислорода опухолью из-за снижения уровня ее пролиферации, вызванного уменьшением притока питательных веществ в результате нейтрализации фактора роста эндотелия сосудов.
4. С помощью математического моделирования сформулирована гипотеза о том, что результат добавления антиангиогенной терапии к фракционированной радиотерапии должен зависеть от радиочувствительности опухоли: при ее низких значениях использование антиангиогенной терапии должно быть выгодным при наличии явления временного облегчения внутриопухолевой гипоксии; однако при высокой радиочувстви-

тельности опухоли использование антиангиогенной терапии может понизить общую эффективность лечения из-за того, что по прошествии окна временного облегчения внутриопухолевой гипоксии антиангиогенная терапия приводит к снижению уровня кислорода внутри опухоли ниже дотерапевтического уровня.

Дальнейшее развитие используемой модели будет состоять в её использовании для теоретических исследований по оптимизации фракционированной радиотерапии в комбинации с антиангиогенной терапией, целью которых будет являться поиск наиболее оптимального распределения доз облучения в зависимости от опухоль-специфичных и пациент-специфичных параметров с целью повышения эффективности такого комбинированного лечения.

Список сокращений и условных обозначений

- FGF** – Фактор роста фибробластов (Fibroblast growth factor)
- OER** – Кислородный эффект (Oxygen enhancement ratio)
- PNAS** – Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America
- VEGF** – Фактор роста эндотелия сосудов (Vascular endothelial growth factor)
- VPF** – Фактор проницаемости сосудов (Vascular permeability factor)
- ААТ** – Антиангиогенная терапия
- АТФ** – Аденозинтрифосфорная кислота
- ДНК** – Дезоксирибонуклеиновая кислота
- МОС** – Многоклеточный опухолевый сфероид
- ОДУ** – Обыкновенное дифференциальное уравнение
- ОКФОС** – Окислительное фосфорилирование
- РТ** – Радиотерапия
- СПК** – Скорость потребления кислорода
- ХТ** – Химиотерапия

Список литературы

1. Sarker M. S. R., Pokojovy M., Kim S. On the Performance of Variable Selection and Classification via Rank-Based Classifier // *Mathematics*. — 2019. — т. 7, № 5. — с. 457.
2. Shape effects of filaments versus spherical particles in flow and drug delivery / Y. Geng [и др.] // *Nature nanotechnology*. — 2007. — т. 2, № 4. — с. 249.
3. Real-time adaptive planning method for radiotherapy treatment delivery for prostate cancer patients, based on a library of plans accounting for possible anatomy configuration changes / M. Antico [и др.] // *PloS one*. — 2019. — т. 14, № 2. — e0213002.
4. Boucher Y., Baxter L., Jain R. Interstitial pressure gradients in tissue-isolated and subcutaneous tumors: implications for therapy // *Cancer Res*. — 1990. — т. 50, № 15. — с. 4478–4484.
5. Acid-mediated tumor invasion: a multidisciplinary study / R. Gatenby [и др.] // *Cancer Res*. — 2006. — т. 66, № 10. — с. 5216–5223.
6. Randomized trial of dose-dense versus conventionally scheduled and sequential versus concurrent combination chemotherapy as postoperative adjuvant treatment of node-positive primary breast cancer: first report of Intergroup Trial C9741/Cancer and Leukemia Group B Trial 9741 / M. Citron [и др.] // *J Clin Oncol*. — 2003. — т. 21, № 8. — с. 1431–1439.
7. Optimization of dosing for EGFR-mutant non-small cell lung cancer with evolutionary cancer modeling / J. Chmielecki [и др.] // *Sci Transl Med*. — 2011. — т. 3, № 90. — 90ra59–90ra59.
8. Sawyers C. Targeted cancer therapy // *Nature*. — 2004. — т. 432, № 7015. — с. 294–297.
9. Ebos J. M., Kerbel R. S. Antiangiogenic therapy: impact on invasion, disease progression, and metastasis // *Nature reviews Clinical oncology*. — 2011. — т. 8, № 4. — с. 210.
10. Scheduling of radiation with angiogenesis inhibitors anginex and Avastin improves therapeutic outcome via vessel normalization / R. P. Dings [и др.] // *Clinical Cancer Research*. — 2007. — т. 13, № 11. — с. 3395–3402.

11. Thalidomide radiosensitizes tumors through early changes in the tumor microenvironment / R. Ansiaux [и др.] // *Clinical Cancer Research*. — 2005. — т. 11, № 2. — с. 743—750.
12. Zheng X., Wise S., Cristini V. Nonlinear simulation of tumor necrosis, neo-vascularization and tissue invasion via an adaptive finite-element/level-set method // *Bulletin of mathematical biology*. — 2005. — т. 67, № 2. — с. 211.
13. Angiogenesis and vascular remodelling in normal and cancerous tissues / M. Owen [и др.] // *J Math Biol*. — 2009. — т. 58, № 4/5. — с. 689.
14. Coupled hybrid continuum-discrete model of tumor angiogenesis and growth / J. Lyu [и др.] // *PloS one*. — 2016. — т. 11, № 10.
15. Bartha K., Rieger H. Vascular network remodeling via vessel cooption, regression and growth in tumors // *Journal of theoretical biology*. — 2006. — т. 241, № 4. — с. 903—918.
16. Welter M., Bartha K., Rieger H. Emergent vascular network inhomogeneities and resulting blood flow patterns in a growing tumor // *Journal of theoretical biology*. — 2008. — т. 250, № 2. — с. 257—280.
17. Current state of knowledge regarding the use of antiangiogenic agents with radiation therapy / R. Mazon [и др.] // *Cancer treatment reviews*. — 2011. — т. 37, № 6. — с. 476—486.
18. Schanne D. H., Grosu A.-L., Duda D. G. Anti-angiogenics and radiation therapy // *Tumor Angiogenesis: A Key Target for Cancer Therapy*. — 2019. — с. 349—358.
19. Sudhakar A. History of Cancer, Ancient and Modern Treatment Methods. // *Journal of cancer science & therapy*. — 2009. — т. 1, № 2. — с. 1—4.
20. Strong L. C. Genetic concept for the origin of cancer: historical review // *Annals of the New York Academy of Sciences*. — 1958. — т. 71, № 6. — с. 810—838.
21. Hanahan D., Weinberg R. The hallmarks of cancer // *Cell*. — 2000. — т. 100, № 1. — с. 57—70.
22. Hanahan D., Weinberg R. Hallmarks of cancer: the next generation // *Cell*. — 2011. — т. 144, № 5. — с. 646—674.

23. Sonnenschein C., Soto A. M. The aging of the 2000 and 2011 Hallmarks of Cancer reviews: a critique // *Journal of biosciences*. — 2013. — т. 38, № 3. — с. 651—663.
24. Lazebnik Y. What are the hallmarks of cancer? // *Nature Reviews Cancer*. — 2010. — т. 10, № 4. — с. 232—233.
25. Grivennikov S. I., Greten F. R., Karin M. Immunity, inflammation, and cancer // *Cell*. — 2010. — т. 140, № 6. — с. 883—899.
26. Human cancers express a mutator phenotype / J. Bielas [и др.] // *Proc Natl Acad Sci*. — 2006. — т. 103, № 48. — с. 18238—18242.
27. Esteller M. Epigenetics in cancer // *New Engl J Med*. — 2008. — т. 358, № 11. — с. 1148—1159.
28. Greaves M., Maley C. Clonal evolution in cancer // *Nature*. — 2012. — т. 481, № 7381. — с. 306.
29. Gottesman M. Mechanisms of cancer drug resistance // *Annu Rev Med*. — 2002. — т. 53, № 1. — с. 615—627.
30. Steel G. Species-dependent growth patterns for mammalian neoplasms // *Cell Proliferation*. — 1980. — т. 13, № 4. — с. 451—453.
31. ATP-producing and consuming processes of Ehrlich mouse ascites tumor cells in proliferating and resting phases / H. Schmidt [и др.] // *Experimental cell research*. — 1991. — т. 194, № 1. — с. 122—127.
32. In situ oxygen consumption rates of cells in V-79 multicellular spheroids during growth / J. Freyer [и др.] // *Journal of cellular physiology*. — 1984. — т. 118, № 1. — с. 53—61.
33. Freyer J., Sutherland R. A reduction in the in situ rates of oxygen and glucose consumption of cells in EMT6/Ro spheroids during growth // *J Cell Physiol*. — 1985. — т. 124, № 3. — с. 516—524.
34. Jain R. K., Forbes N. S. Can engineered bacteria help control cancer? // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. — 2001. — т. 98, № 26. — с. 14748—14750.

35. Glioma morphology and tumor-induced vascular alterations revealed in seven rodent glioma models by in vivo magnetic resonance imaging and angiography / S. Doblas [и др.] // *Journal of Magnetic Resonance Imaging*. — 2010. — т. 32, № 2. — с. 267—275.
36. Effect of the extent of surgical resection on survival and quality of life in patients with supratentorial glioblastomas and anaplastic astrocytomas / M. Ammirati [и др.] // *Neurosurgery*. — 1987. — т. 21, № 2. — с. 201—206.
37. Nitta T., Sato K. Prognostic implications of the extent of surgical resection in patients with intracranial malignant gliomas // *Cancer*. — 1995. — т. 75, № 11. — с. 2727—2731.
38. Cancer Staging Guide. — 2020. — URL: www.nccn.org/patients/resources/diagnosis/staging.aspx/ (дата обр. 20.04.2020).
39. Sporn M. B. The war on cancer. // *Lancet* (London, England). — 1996. — т. 347, № 9012. — с. 1377—1381.
40. Huntington M. K., Kruger R., Ohrt D. W. Large, complex, benign cystic teratoma in an adolescent. // *The Journal of the American Board of Family Practice*. — 2002. — т. 15, № 2. — с. 164—167.
41. Massive benign phyllodes tumor. / D. G. Udupudi [и др.] // *The breast journal*. — 2005. — т. 11, № 6. — с. 521—521.
42. Solid stress inhibits the growth of multicellular tumor spheroids / G. Helmlinger [и др.] // *Nature biotechnology*. — 1997. — т. 15, № 8. — с. 778—783.
43. Jain R. K., Tong R. T., Munn L. L. Effect of vascular normalization by antiangiogenic therapy on interstitial hypertension, peritumor edema, and lymphatic metastasis: insights from a mathematical model // *Cancer research*. — 2007. — т. 67, № 6. — с. 2729—2735.
44. Antiangiogenic therapy of cerebral melanoma metastases results in sustained tumor progression via vessel co-option / W. P. Leenders [и др.] // *Clinical Cancer Research*. — 2004. — т. 10, № 18. — с. 6222—6230.

45. Araujo R., McElwain D. New insights into vascular collapse and growth dynamics in solid tumors // *J Theor Biol.* — 2004. — т. 228, № 3. — с. 335—346.
46. Vessel cooption, regression, and growth in tumors mediated by angiopoietins and VEGF / J. Holash [и др.] // *Science.* — 1999. — т. 284, № 5422. — с. 1994—1998.
47. Gogvadze V., Zhivotovsky B., Orrenius S. The Warburg effect and mitochondrial stability in cancer cells // *Molecular aspects of medicine.* — 2010. — т. 31, № 1. — с. 60—74.
48. Weis S. M., Cheresh D. A. Tumor angiogenesis: molecular pathways and therapeutic targets // *Nature medicine.* — 2011. — т. 17, № 11. — с. 1359.
49. Adair T., Montani J. Angiogenesis. Colloquium series on integrated systems physiology: From molecule to function // *Morgan and Claypool Life Sciences series.* — — с. 84.
50. Flamme I., Frölich T., Risau W. Molecular mechanisms of vasculogenesis and embryonic angiogenesis // *Journal of cellular physiology.* — 1997. — т. 173, № 2. — с. 206—210.
51. Scaling rules for diffusive drug delivery in tumor and normal tissues / J. W. Baish [и др.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences.* — 2011. — т. 108, № 5. — с. 1799—1803.
52. Folkman J., Cole P., Zimmerman S. Tumor behavior in isolated perfused organs: in vitro growth and metastases of biopsy material in rabbit thyroid and canine intestinal segment. // *Annals of surgery.* — 1966. — т. 164, № 3. — с. 491.
53. Preservation of vascular integrity in organs perfused in vitro with a platelet-rich medium / M. A. Gimbrone [и др.] // *Nature.* — 1969. — т. 222, № 5188. — с. 33—36.
54. Carmeliet P. Mechanisms of angiogenesis and arteriogenesis // *Nature medicine.* — 2000. — т. 6, № 4. — с. 389—395.
55. Caduff J., Fischer L., Burri P. H. Scanning electron microscope study of the developing microvasculature in the postnatal rat lung // *The Anatomical Record.* — 1986. — т. 216, № 2. — с. 154—164.

56. Kurz H., Burri P. H., Djonov V. G. Angiogenesis and vascular remodeling by intussusception: from form to function // *Physiology*. — 2003. — т. 18, № 2. — с. 65—70.
57. Burri P. H., Hlushchuk R., Djonov V. Intussusceptive angiogenesis: its emergence, its characteristics, and its significance // *Developmental dynamics: an official publication of the American Association of Anatomists*. — 2004. — т. 231, № 3. — с. 474—488.
58. The human gene for vascular endothelial growth factor. Multiple protein forms are encoded through alternative exon splicing. / E. Tischer [и др.] // *Journal of Biological Chemistry*. — 1991. — т. 266, № 18. — с. 11947—11954.
59. Stegmann T. J. FGF-1: a human growth factor in the induction of neoangiogenesis // *Expert opinion on investigational drugs*. — 1998. — т. 7, № 12. — с. 2011—2015.
60. Potente M., Gerhardt H., Carmeliet P. Basic and therapeutic aspects of angiogenesis // *Cell*. — 2011. — т. 146, № 6. — с. 873—887.
61. Khurana R., Simons M. Insights from angiogenesis trials using fibroblast growth factor for advanced arteriosclerotic disease // *Trends in cardiovascular medicine*. — 2003. — т. 13, № 3. — с. 116—122.
62. Ferrara N., Gerber H.-P., LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors // *Nature medicine*. — 2003. — т. 9, № 6. — с. 669—676.
63. Branching morphogenesis and antiangiogenesis candidates: tip cells lead the way / P. Carmeliet [и др.] // *Nature reviews Clinical oncology*. — 2009. — т. 6, № 6. — с. 315.
64. Fu B. M., Shen S. Structural mechanisms of acute VEGF effect on microvessel permeability // *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. — 2003. — т. 284, № 6. — H2124—H2135.
65. Tumor cells secrete a vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid / D. R. Senger [и др.] // *Science*. — 1983. — т. 219, № 4587. — с. 983—985.

66. Ferrara N., Henzel W. J. Pituitary follicular cells secrete a novel heparin-binding growth factor specific for vascular endothelial cells // *Biochemical and biophysical research communications*. — 1989. — т. 161, № 2. — с. 851—858.
67. Levick J. R. *An introduction to cardiovascular physiology*. — Butterworth-Heinemann, 2013.
68. Fukumura D., Jain R. K. Tumor microvasculature and microenvironment: targets for anti-angiogenesis and normalization // *Microvascular research*. — 2007. — т. 74, № 2. — с. 72—84.
69. Tumor vascular permeability and the EPR effect in macromolecular therapeutics: a review / H. Maeda [и др.] // *Journal of controlled release*. — 2000. — т. 65, № 1/2. — с. 271—284.
70. A framework of fuzzy information fusion for the segmentation of brain tumor tissues on MR images / W. Dou [и др.] // *Image and vision Computing*. — 2007. — т. 25, № 2. — с. 164—171.
71. Normalization of tumour blood vessels improves the delivery of nanomedicines in a size-dependent manner / V. P. Chauhan [и др.] // *Nature nanotechnology*. — 2012. — т. 7, № 6. — с. 383.
72. Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications // *New England Journal of Medicine*. — 1971. — т. 285, № 21. — с. 1182—1186.
73. Ferrara N., Kerbel R. S. Angiogenesis as a therapeutic target // *Nature*. — 2005. — т. 438, № 7070. — с. 967—974.
74. Cao Y. Angiogenesis and vascular functions in modulation of obesity, adipose metabolism, and insulin sensitivity // *Cell metabolism*. — 2013. — т. 18, № 4. — с. 478—489.
75. Therapeutic angiogenesis with recombinant fibroblast growth factor-2 for intermittent claudication (the TRAFFIC study): a randomised trial / R. J. Lederman [и др.] // *The Lancet*. — 2002. — т. 359, № 9323. — с. 2053—2058.
76. Genentech, Inc. *Highlights of Prescribing Information*. — 2020. — URL: www.gene.com/download/pdf/avastin_prescribing.pdf (дата обр. 24.04.2020).

77. National Cancer Institute. Angiogenesis Inhibitors. — 2020. — URL: <https://bit.ly/2W6AKN1> (дата обр. 30.06.2020).
78. Tumour angiogenesis and angiogenic inhibitors: a review / L. Yadav [и др.] // Journal of clinical and diagnostic research: JCDR. — 2015. — т. 9, № 6. — XE01.
79. Duncan W. C., Driesche S. van den, Fraser H. M. Inhibition of vascular endothelial growth factor in the primate ovary up-regulates hypoxia-inducible factor-1 α in the follicle and corpus luteum // Endocrinology. — 2008. — т. 149, № 7. — с. 3313—3320.
80. Clarke J. M., Hurwitz H. I. Targeted inhibition of VEGF receptor 2: an update on ramucirumab // Expert opinion on biological therapy. — 2013. — т. 13, № 8. — с. 1187—1196.
81. Thalidomide promotes degradation of SALL4, a transcription factor implicated in Duane Radial Ray syndrome / K. A. Donovan [и др.] // Elife. — 2018. — т. 7. — e38430.
82. Tumor vessel development and maturation impose limits on the effectiveness of anti-vascular therapy / M. S. Gee [и др.] // The American journal of pathology. — 2003. — т. 162, № 1. — с. 183—193.
83. Time-dependent vascular regression and permeability changes in established human tumor xenografts induced by an anti-vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor antibody / F. Yuan [и др.] // Proceedings of the National Academy of Sciences. — 1996. — т. 93, № 25. — с. 14765—14770.
84. Angiogenesis in brain tumours / R. K. Jain [и др.] // Nature Reviews Neuroscience. — 2007. — т. 8, № 8. — с. 610—622.
85. Vasudev N. S., Reynolds A. R. Anti-angiogenic therapy for cancer: current progress, unresolved questions and future directions // Angiogenesis. — 2014. — т. 17, № 3. — с. 471—494.
86. Airley R. Cancer chemotherapy: basic science to the clinic. — John Wiley & Sons, 2009.

87. Normalization of the vasculature for treatment of cancer and other diseases / S. Goel [и др.] // *Physiological reviews*. — 2011. — т. 91, № 3. — с. 1071—1121.
88. Pharmacodynamic-mediated reduction of temozolomide tumor concentrations by the angiogenesis inhibitor TNP-470 / J. Ma [и др.] // *Cancer research*. — 2001. — т. 61, № 14. — с. 5491—5498.
89. Antiangiogenic compounds interfere with chemotherapy of brain tumors due to vessel normalization / A. Claes [и др.] // *Molecular cancer therapeutics*. — 2008. — т. 7, № 1. — с. 71—78.
90. Potentiation of cyclophosphamide chemotherapy using the anti-angiogenic drug thalidomide: importance of optimal scheduling to exploit the ‘normalization’ window of the tumor vasculature / J. Segers [и др.] // *Cancer letters*. — 2006. — т. 244, № 1. — с. 129—135.
91. Chen H. X., Cleck J. N. Adverse effects of anticancer agents that target the VEGF pathway // *Nature reviews Clinical oncology*. — 2009. — т. 6, № 8. — с. 465.
92. Thrombotic events in patients with cancer receiving antiangiogenesis agents / M. Zangari [и др.] // *Journal of clinical oncology*. — 2009. — т. 27, № 29. — с. 4865—4873.
93. Vargesson N. Thalidomide-induced teratogenesis: History and mechanisms // *Birth Defects Research Part C: Embryo Today: Reviews*. — 2015. — т. 105, № 2. — с. 140—156.
94. Goel S., Wong A. H.-K., Jain R. K. Vascular normalization as a therapeutic strategy for malignant and nonmalignant disease // *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*. — 2012. — т. 2, № 3. — a006486.
95. Neoadjuvant antiangiogenic therapy reveals contrasts in primary and metastatic tumor efficacy / J. M. Ebos [и др.] // *EMBO molecular medicine*. — 2014. — т. 6, № 12. — с. 1561—1576.
96. Rebusci M., Michiels C. Molecular aspects of cancer cell resistance to chemotherapy // *Biochemical pharmacology*. — 2013. — т. 85, № 9. — с. 1219—1226.

97. Bergers G., Hanahan D. Modes of resistance to anti-angiogenic therapy // *Nature Reviews Cancer*. — 2008. — т. 8, № 8. — с. 592.
98. Anti-PlGF inhibits growth of VEGF (R)-inhibitor-resistant tumors without affecting healthy vessels / C. Fischer [и др.] // *Cell*. — 2007. — т. 131, № 3. — с. 463—475.
99. Antiangiogenic therapy elicits malignant progression of tumors to increased local invasion and distant metastasis / M. Pàez-Ribes [и др.] // *Cancer cell*. — 2009. — т. 15, № 3. — с. 220—231.
100. Liu C., Lin Q., Yun Z. Cellular and molecular mechanisms underlying oxygen-dependent radiosensitivity // *Radiation research*. — 2015. — т. 183, № 5. — с. 487—496.
101. Studies on the radiosensitizing effect of oxygen in Chinese hamster cells / J. Chapman [и др.] // *International Journal of Radiation Biology and Related Studies in Physics, Chemistry and Medicine*. — 1974. — т. 26, № 4. — с. 383—389.
102. A randomized clinical trial of radiation therapy versus thermoradiotherapy in stage IIIB cervical carcinoma / Y. Harima [и др.] // *International Journal of Hyperthermia*. — 2001. — т. 17, № 2. — с. 97—105.
103. Jain R. K. Normalization of tumor vasculature: an emerging concept in antiangiogenic therapy // *Science*. — 2005. — т. 307, № 5706. — с. 58—62.
104. Milosevic M. F., Fyles A. W., Hill R. P. The relationship between elevated interstitial fluid pressure and blood flow in tumors: a bioengineering analysis // *International Journal of Radiation Oncology* Biology* Physics*. — 1999. — т. 43, № 5. — с. 1111—1123.
105. Targeted anti-vascular endothelial growth factor receptor-2 therapy leads to short-term and long-term impairment of vascular function and increase in tumor hypoxia / M. Franco [и др.] // *Cancer research*. — 2006. — т. 66, № 7. — с. 3639—3648.
106. ZD6474, a potent inhibitor of vascular endothelial growth factor signaling, combined with radiotherapy / K. J. Williams [и др.] // *Clinical Cancer Research*. — 2004. — т. 10, № 24. — с. 8587—8593.

107. Improved tumor oxygenation and survival in glioblastoma patients who show increased blood perfusion after cediranib and chemoradiation / T. T. Batchelor [и др.] // Proceedings of the National Academy of Sciences. — 2013. — т. 110, № 47. — с. 19059—19064.
108. Increased survival of glioblastoma patients who respond to antiangiogenic therapy with elevated blood perfusion / A. G. Sorensen [и др.] // Cancer research. — 2012. — т. 72, № 2. — с. 402—407.
109. VEGF-targeted therapy stably modulates the glycolytic phenotype of tumor cells / M. Curtarello [и др.] // Cancer research. — 2015. — т. 75, № 1. — с. 120—133.
110. Vander Heiden M. G., Cantley L. C., Thompson C. B. Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation // science. — 2009. — т. 324, № 5930. — с. 1029—1033.
111. Activation of the tie2 receptor by angiopoietin-1 enhances tumor vessel maturation and impairs squamous cell carcinoma growth / T. Hawighorst [и др.] // The American journal of pathology. — 2002. — т. 160, № 4. — с. 1381—1392.
112. Effect of antivascular endothelial growth factor treatment on the intratumoral uptake of CPT-11 / H. Wildiers [и др.] // British journal of cancer. — 2003. — т. 88, № 12. — с. 1979.
113. Antineoplastic therapy combined with whole brain radiation compared with whole brain radiation alone for brain metastases: a systematic review and meta-analysis / F. Meng [и др.] // Eur Rev Med Pharmacol Sci. — 2013. — т. 17, № 6. — с. 777—787.
114. Schanne D. H., Grosu A.-L., Duda D. G. Anti-angiogenics and Radiation Therapy // Tumor Angiogenesis: A Key Target for Cancer Therapy. — 2017. — с. 1—10.
115. Mayneord W. V. On a law of growth of Jensen's rat sarcoma // The American Journal of Cancer. — 1932. — т. 16, № 4. — с. 841—846.
116. Tumor morphology and phenotypic evolution driven by selective pressure from the microenvironment / A. Anderson [и др.] // Cell. — 2006. — т. 127, № 5. — с. 905—915.

117. Mathematical modeling of PDGF-driven glioblastoma reveals optimized radiation dosing schedules / K. Leder [и др.] // Cell. — 2014. — т. 156, № 3. — с. 603—616.
118. Michor F., Beal K. Improving cancer treatment via mathematical modeling: surmounting the challenges is worth the effort // Cell. — 2015. — т. 163, № 5. — с. 1059—1063.
119. Pillis L. G. de, Radunskaya A. E., Wiseman C. L. A validated mathematical model of cell-mediated immune response to tumor growth // Cancer research. — 2005. — т. 65, № 17. — с. 7950—7958.
120. Cappuccio A., Elishmereni M., Agur Z. Cancer immunotherapy by interleukin-21: potential treatment strategies evaluated in a mathematical model // Cancer Research. — 2006. — т. 66, № 14. — с. 7293—7300.
121. Quantifying the role of angiogenesis in malignant progression of gliomas: in silico modeling integrates imaging and histology / K. R. Swanson [и др.] // Cancer research. — 2011. — т. 71, № 24. — с. 7366—7375.
122. Accumulation of driver and passenger mutations during tumor progression / I. Bozic [и др.] // Proceedings of the National Academy of Sciences. — 2010. — т. 107, № 43. — с. 18545—18550.
123. Tomasetti C., Vogelstein B., Parmigiani G. Half or more of the somatic mutations in cancers of self-renewing tissues originate prior to tumor initiation // Proceedings of the National Academy of Sciences. — 2013. — т. 110, № 6. — с. 1999—2004.
124. Stylianopoulos T., Jain R. K. Combining two strategies to improve perfusion and drug delivery in solid tumors // Proceedings of the National Academy of Sciences. — 2013. — т. 110, № 46. — с. 18632—18637.
125. Why one-size-fits-all vaso-modulatory interventions fail to control glioma invasion: in silico insights / J. Alfonso [и др.] // Sci Rep-UK. — 2016. — т. 6. — с. 37283.
126. Prediction of treatment efficacy for prostate cancer using a mathematical model / H. Peng [и др.] // Scientific reports. — 2016. — т. 6. — с. 21599.

127. Geng C., Paganetti H., Grassberger C. Prediction of treatment response for combined chemo-and radiation therapy for non-small cell lung cancer patients using a bio-mathematical model // *Scientific reports*. — 2017. — т. 7, № 1. — с. 1–12.
128. Magi S., Iwamoto K., Okada-Hatakeyama M. Current status of mathematical modeling of cancer—From the viewpoint of cancer hallmarks // *Current Opinion in Systems Biology*. — 2017. — т. 2. — с. 39–48.
129. Brady R., Enderling H. Mathematical Models of Cancer: When to Predict Novel Therapies, and When Not to // *Bulletin of mathematical biology*. — 2019. — т. 81, № 10. — с. 3722–3731.
130. Mathematical modeling in cancer nanomedicine: a review / P. Dogra [и др.] // *Biomedical microdevices*. — 2019. — т. 21, № 2. — с. 40.
131. Machine learning prediction of cancer cell sensitivity to drugs based on genomic and chemical properties / M. P. Menden [и др.] // *PLoS one*. — 2013. — т. 8, № 4.
132. Machine learning applications in cancer prognosis and prediction / K. Kourou [и др.] // *Computational and structural biotechnology journal*. — 2015. — т. 13. — с. 8–17.
133. Using machine learning algorithms for breast cancer risk prediction and diagnosis / H. Asri [и др.] // *Procedia Computer Science*. — 2016. — т. 83. — с. 1064–1069.
134. Application of artificial intelligence using a convolutional neural network for detecting gastric cancer in endoscopic images / T. Hirasawa [и др.] // *Gastric Cancer*. — 2018. — т. 21, № 4. — с. 653–660.
135. Sherratt J. A., Nowak M. A. Oncogenes, anti-oncogenes and the immune response to cancer: a mathematical model // *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*. — 1992. — т. 248, № 1323. — с. 261–271.
136. Komarova N. L., Wodarz D. Drug resistance in cancer: principles of emergence and prevention // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. — 2005. — т. 102, № 27. — с. 9714–9719.

137. Tyrosine kinase inhibitor therapy can cure chronic myeloid leukemia without hitting leukemic stem cells / T. Lenaerts [и др.] // *haematologica*. — 2010. — т. 95, № 6. — с. 900—907.
138. Swanson K. R., Alvord E. C., Murray J. Virtual brain tumours (gliomas) enhance the reality of medical imaging and highlight inadequacies of current therapy // *British journal of cancer*. — 2002. — т. 86, № 1. — с. 14—18.
139. Evolutionary dynamics of cancer in response to targeted combination therapy / I. Bozic [и др.] // *elife*. — 2013. — т. 2. — e00747.
140. Zhang G. *Computational Bioengineering*. — CRC Press, 2015. — ISBN 9781466517561.
141. Roose T., Chapman S. J., Maini P. K. Mathematical models of avascular tumor growth // *SIAM review*. — 2007. — т. 49, № 2. — с. 179—208.
142. Enderling H., AJ Chaplain M. Mathematical modeling of tumor growth and treatment // *Current pharmaceutical design*. — 2014. — т. 20, № 30. — с. 4934—4940.
143. Altrock P. M., Liu L. L., Michor F. The mathematics of cancer: integrating quantitative models // *Nature Reviews Cancer*. — 2015. — т. 15, № 12. — с. 730—745.
144. Clarivate Analytics. Web of Science. — 2020. — URL: apps.webofknowledge.com (дата обр. 24.04.2020).
145. Pappenheimer J., Renkin E., Borrero L. Filtration, diffusion and molecular sieving through peripheral capillary membranes // *American Journal of Physiology—Legacy Content*. — 1951. — т. 167, № 1. — с. 13—46.
146. Size-based hydrodynamic rare tumor cell separation in curved microfluidic channels / J. Sun [и др.] // *Biomicrofluidics*. — 2013. — т. 7, № 1. — с. 011802.
147. Welter M., Bartha K., Rieger H. Vascular remodelling of an arterio-venous blood vessel network during solid tumour growth // *Journal of theoretical biology*. — 2009. — т. 259, № 3. — с. 405—422.
148. The effect of interstitial pressure on tumor growth: coupling with the blood and lymphatic vascular systems / M. Wu [и др.] // *Journal of theoretical biology*. — 2013. — т. 320. — с. 131—151.

149. How tumour-induced vascular changes alter angiogenesis: Insights from a computational model / A. Stéphanou [и др.] // *Journal of Theoretical Biology*. — 2017. — т. 419. — с. 211—226.
150. Modeling the inhibition of breast cancer growth by GM-CSF / B. Szomolay [и др.] // *Journal of theoretical biology*. — 2012. — т. 303. — с. 141—151.
151. Laird A. K. Dynamics of tumour growth // *British journal of cancer*. — 1964. — т. 18, № 3. — с. 490.
152. Hart D., Shochat E., Agur Z. The growth law of primary breast cancer as inferred from mammography screening trials data // *Brit J Cancer*. — 1998. — т. 78, № 3. — с. 382.
153. Cappuccio A., Elishmereni M., Agur Z. Optimization of interleukin-21 immunotherapeutic strategies // *Journal of theoretical biology*. — 2007. — т. 248, № 2. — с. 259—266.
154. Classical mathematical models for description and prediction of experimental tumor growth / S. Benzekry [и др.] // *PLoS Comput Biol*. — 2014. — т. 10, № 8. — e1003800.
155. Growth rate inhibition metrics correct for confounders in measuring sensitivity to cancer drugs / M. Hafner [и др.] // *Nature methods*. — 2016. — т. 13, № 6. — с. 521.
156. Schrek R. A comparison of the growth curves of malignant and normal (embryonic and postembryonic) tissues of the rat // *The American journal of pathology*. — 1936. — т. 12, № 4. — с. 525.
157. Haddow A. The biological characters of spontaneous tumours of the mouse, with special reference to rate of growth // *The Journal of Pathology and Bacteriology*. — 1938. — т. 47, № 3. — с. 553—565.
158. Landry J., Freyer J., Sutherland R. A model for the growth of multicellular spheroids // *Cell Proliferation*. — 1982. — т. 15, № 6. — с. 585—594.
159. Casciari J., Sotirchos S., Sutherland R. Mathematical modelling of microenvironment and growth in EMT6/Ro multicellular tumour spheroids // *Cell proliferation*. — 1992. — т. 25, № 1. — с. 1—22.

160. Sutherland R. M. Cell and environment interactions in tumor microregions: the multicell spheroid model // *Science*. — 1988. — т. 240, № 4849. — с. 177—184.
161. ML M. Cell proliferation and tumour growth // *Cell Proliferation*. — Oxford: Blackwell Scientific Publication. 1963. — с. 190—210.
162. Dethlefsen L. A., Prewitt J., Mendelsohn M. Analysis of tumor growth curves // *Journal of the National Cancer Institute*. — 1968. — т. 40, № 2. — с. 389—405.
163. Gompertz B. XXIV. On the nature of the function expressive of the law of human mortality, and on a new mode of determining the value of life contingencies. In a letter to Francis Baily, Esq. FRS &c // *Philosophical transactions of the Royal Society of London*. — 1825. — 115. — с. 513—583.
164. Dynamics of relative growth. / A. K. Laird [и др.] // *Growth*. — 1965. — т. 29. — с. 249—263.
165. Dynamics of normal growth. / A. K. Laird, S. A. Tyler, A. Barton [и др.] // *Growth*. — 1965. — т. 29. — с. 233—248.
166. Spickett A. M., Van Ark H. Fitting the Gompertz function to dose-response data of larval tick populations. — 1990.
167. Skehan P. On the normality of growth dynamics of neoplasms in vivo: a data base analysis. // *Growth*. — 1986. — т. 50, № 4. — с. 496—515.
168. Prehn R. T. The inhibition of tumor growth by tumor mass // *Cancer Research*. — 1991. — т. 51, № 1. — с. 2—4.
169. Spratt J. S., Meyer J. S., Spratt J. A. Rates of growth of human solid neoplasms: Part I // *Journal of surgical oncology*. — 1995. — т. 60, № 2. — с. 137—146.
170. Spratt J. S., Meyer J. S., Spratt J. A. Rates of growth of human neoplasms: Part II // *Journal of surgical oncology*. — 1996. — т. 61, № 1. — с. 68—83.
171. Pierre-François V. Notice sur la loi que la population poursuit dans son accroissement // *Corresp. Math. Phys.* — 1838. — т. 10. — с. 113—121.
172. Murray J. *Mathematical Biology* Springer Verlag Berlin // Heidelberg, New York. — 1989.

173. Von Bertalanffy L. Problems of organic growth // *Nature*. — 1949. — т. 163, № 4135. — с. 156—158.
174. Analysis of growth of multicellular tumour spheroids by mathematical models / M. Marušić [и др.] // *Cell proliferation*. — 1994. — т. 27, № 2. — с. 73—94.
175. Vaidya V. G., Alexandro Jr F. J. Evaluation of some mathematical models for tumor growth // *International journal of bio-medical computing*. — 1982. — т. 13, № 1. — с. 19—35.
176. A multi-component radiation survival curve using an in vitro tumour model / R. M. Sutherland [и др.] // *International Journal of Radiation Biology and Related Studies in Physics, Chemistry and Medicine*. — 1970. — т. 18, № 5. — с. 491—495.
177. Sutherland R. M., McCredie J. A., Inch W. R. Growth of multicell spheroids in tissue culture as a model of nodular carcinomas // *Journal of the National Cancer Institute*. — 1971. — т. 46, № 1. — с. 113—120.
178. Mueller-Klieser W. Three-dimensional cell cultures: from molecular mechanisms to clinical applications // *American Journal of Physiology-Cell Physiology*. — 1997. — т. 273, № 4. — с. C1109—C1123.
179. Burton A. C. Rate of growth of solid tumours as a problem of diffusion. // *Growth*. — 1966. — т. 30, № 2. — с. 157—176.
180. Greenspan H. Models for the growth of a solid tumor by diffusion // *Studies in Applied Mathematics*. — 1972. — т. 51, № 4. — с. 317—340.
181. Deakin A. Model for the growth of a solid in vitro tumor. // *Growth*. — 1975. — т. 39, № 1. — с. 159—165.
182. Greenspan H. On the growth and stability of cell cultures and solid tumors // *Journal of theoretical biology*. — 1976. — т. 56, № 1. — с. 229—242.
183. McElwain D., Ponzio P. A model for the growth of a solid tumor with non-uniform oxygen consumption // *Mathematical Biosciences*. — 1977. — т. 35, № 3/4. — с. 267—279.
184. Byrne H., Chaplain M. A. Free boundary value problems associated with the growth and development of multicellular spheroids // *European Journal of Applied Mathematics*. — 1997. — т. 8, № 6. — с. 639—658.

185. Sherratt J. A. Traveling wave solutions of a mathematical model for tumor encapsulation // *SIAM Journal on Applied Mathematics*. — 2000. — т. 60, № 2. — с. 392—407.
186. Marchant B., Norbury J., Sherratt J. Travelling wave solutions to a haptotaxis-dominated model of malignant invasion // *Nonlinearity*. — 2001. — т. 14, № 6. — с. 1653.
187. Chaplain M. A., Ganesh M., Graham I. G. Spatio-temporal pattern formation on spherical surfaces: numerical simulation and application to solid tumour growth // *Journal of mathematical biology*. — 2001. — т. 42, № 5. — с. 387—423.
188. Cui S., Friedman A. A free boundary problem for a singular system of differential equations: An application to a model of tumor growth // *Transactions of the American Mathematical Society*. — 2003. — т. 355, № 9. — с. 3537—3590.
189. Gatenby R. A., Gawlinski E. T. A reaction-diffusion model of cancer invasion // *Cancer research*. — 1996. — т. 56, № 24. — с. 5745—5753.
190. Kolobov A., Polezhaev A., Solyanik G. The role of cell motility in metastatic cell dominance phenomenon: analysis by a mathematical model // *Computational and Mathematical Methods in Medicine*. — 2000. — т. 3, № 1. — с. 63—77.
191. Thompson K., Byrne H. Modelling the internalization of labelled cells in tumour spheroids // *Bulletin of mathematical biology*. — 1999. — т. 61, № 4. — с. 601—623.
192. Swanson K., Alvord Jr E., Murray J. Virtual resection of gliomas: effect of extent of resection on recurrence // *Mathematical and Computer Modelling*. — 2003. — т. 37, № 11. — с. 1177—1190.
193. Swanson K. R., Alvord E. C., Murray J. Quantifying efficacy of chemotherapy of brain tumors with homogeneous and heterogeneous drug delivery // *Acta biotheoretica*. — 2002. — т. 50, № 4. — с. 223—237.
194. Predicting the efficacy of radiotherapy in individual glioblastoma patients in vivo: a mathematical modeling approach / R. Rockne [и др.] // *Physics in Medicine & Biology*. — 2010. — т. 55, № 12. — с. 3271.

195. On rugged shape of skin tumor (basal cell carcinoma) / S. Tohya [и др.] // Journal of theoretical biology. — 1998. — т. 194, № 1. — с. 65—78.
196. Sherratt J. A., Chaplain M. A. A new mathematical model for avascular tumour growth // Journal of mathematical biology. — 2001. — т. 43, № 4. — с. 291—312.
197. Extracellular matrix-mediated chemotaxis can impede cell migration / A. J. Perumpanani [и др.] // Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences. — 1998. — т. 265, № 1413. — с. 2347—2352.
198. Tao Y., Cui C. A density-dependent chemotaxis–haptotaxis system modeling cancer invasion // Journal of mathematical analysis and applications. — 2010. — т. 367, № 2. — с. 612—624.
199. Byrne H. M., Chaplain M. A. Modelling the role of cell-cell adhesion in the growth and development of carcinomas // Mathematical and Computer Modelling. — 1996. — т. 24, № 12. — с. 1—17.
200. Byrne H. M. A weakly nonlinear analysis of a model of avascular solid tumour growth // Journal of mathematical biology. — 1999. — т. 39, № 1. — с. 59—89.
201. Chaplain M. A. J., Sleeman B. D. Modelling the growth of solid tumours and incorporating a method for their classification using nonlinear elasticity theory // Journal of mathematical biology. — 1993. — т. 31, № 5. — с. 431—473.
202. Chen C., Byrne H., King J. The influence of growth-induced stress from the surrounding medium on the development of multicell spheroids // Journal of mathematical biology. — 2001. — т. 43, № 3. — с. 191—220.
203. A mathematical model of the stress induced during avascular tumour growth / A. Jones [и др.] // Journal of mathematical biology. — 2000. — т. 40, № 6. — с. 473—499.
204. Early metastasis of human solid tumours: expression of cell adhesion molecules / K. Pantel [и др.] // Cell Adhesion and Human Disease. — 1995. — т. 113, № 35. — с. 157.
205. Byrne H. M. Biological inferences from a mathematical model for malignant invasion // Invasion Metastasis. — 1996. — т. 16. — с. 209—221.

206. A two parameter family of travelling waves with a singular barrier arising from the modelling of extracellular matrix mediated cellular invasion / A. J. Perumpanani [и др.] // *Physica D: Nonlinear Phenomena*. — 1999. — т. 126, № 3/4. — с. 145—159.
207. Solid stress generated by spheroid growth estimated using a linear poroelasticity model / T. Roose [и др.] // *Microvascular research*. — 2003. — т. 66, № 3. — с. 204—212.
208. Franks S., King J. Interactions between a uniformly proliferating tumour and its surroundings: uniform material properties // *Mathematical medicine and biology*. — 2003. — т. 20, № 1. — с. 47—89.
209. Franks S., King J. Interactions between a uniformly proliferating tumour and its surroundings: Stability analysis for variable material properties // *International journal of engineering science*. — 2009. — т. 47, № 11/12. — с. 1182—1192.
210. Cellular automaton of idealized brain tumor growth dynamics / A. Kansal [и др.] // *Biosystems*. — 2000. — т. 55, № 1—3. — с. 119—127.
211. Alarcón T., Byrne H. M., Maini P. K. A cellular automaton model for tumour growth in inhomogeneous environment // *Journal of theoretical biology*. — 2003. — т. 225, № 2. — с. 257—274.
212. Dormann S., Deutsch A. Modeling of self-organized avascular tumor growth with a hybrid cellular automaton // *In silico biology*. — 2002. — т. 2, № 3. — с. 393—406.
213. Paradoxical dependencies of tumor dormancy and progression on basic cell kinetics / H. Enderling [и др.] // *Cancer research*. — 2009. — т. 69, № 22. — с. 8814—8821.
214. Turner S., Sherratt J. A. Intercellular adhesion and cancer invasion: a discrete simulation using the extended Potts model // *Journal of theoretical biology*. — 2002. — т. 216, № 1. — с. 85—100.
215. Front instabilities and invasiveness of simulated avascular tumors / N. J. Popławski [и др.] // *Bulletin of mathematical biology*. — 2009. — т. 71, № 5. — с. 1189—1227.

216. A Hybrid Computation Model to Describe the Progression of Multiple Myeloma and Its Intra-Clonal Heterogeneity / A. Bouchnita [и др.] // *Computation*. — 2017. — т. 5, № 1. — с. 16.
217. Hybrid approach to model the spatial regulation of T cell responses / A. Bouchnita [и др.] // *BMC immunology*. — 2017. — т. 18, № 1. — с. 29.
218. Galle J., Loeffler M., Drasdo D. Modeling the effect of deregulated proliferation and apoptosis on the growth dynamics of epithelial cell populations in vitro // *Biophysical journal*. — 2005. — т. 88, № 1. — с. 62–75.
219. Mathematical modelling of tumour invasion and metastasis / A. R. Anderson [и др.] // *Computational and mathematical methods in medicine*. — 2000. — т. 2, № 2. — с. 129–154.
220. Emerging patterns in tumor systems: simulating the dynamics of multicellular clusters with an agent-based spatial agglomeration model / Y. Mansury [и др.] // *Journal of Theoretical Biology*. — 2002. — т. 219, № 3. — с. 343–370.
221. Gerlee P., Anderson A. A hybrid cellular automaton model of clonal evolution in cancer: the emergence of the glycolytic phenotype // *J Theor Biol*. — 2008. — т. 250, № 4. — с. 705–722.
222. Tumor development under angiogenic signaling: a dynamical theory of tumor growth, treatment response, and postvascular dormancy / P. Hahnfeldt [и др.] // *Cancer research*. — 1999. — т. 59, № 19. — с. 4770–4775.
223. A model of vascular tumour growth in mice combining longitudinal tumour size data with histological biomarkers / B. Ribba [и др.] // *European Journal of Cancer*. — 2011. — т. 47, № 3. — с. 479–490.
224. Predictive pharmacokinetic–pharmacodynamic modeling of tumor growth after administration of an anti-angiogenic agent, bevacizumab, as single-agent and combination therapy in tumor xenografts / M. Rocchetti [и др.] // *Cancer chemotherapy and pharmacology*. — 2013. — т. 71, № 5. — с. 1147–1157.
225. Poleszczuk J., Hahnfeldt P., Enderling H. Therapeutic implications from sensitivity analysis of tumor angiogenesis models // *PloS one*. — 2015. — т. 10, № 3.

226. Jain R. K. Normalizing tumor vasculature with anti-angiogenic therapy: a new paradigm for combination therapy // *Nature medicine*. — 2001. — т. 7, № 9. — с. 987—989.
227. Modeling tumor-associated edema in gliomas during anti-angiogenic therapy and its impact on imageable tumor / A. Hawkins-Daarud [и др.] // *Frontiers in oncology*. — 2013. — т. 3. — с. 66.
228. Anderson A. R., Chaplain M. A. J. Continuous and discrete mathematical models of tumor-induced angiogenesis // *Bulletin of mathematical biology*. — 1998. — т. 60, № 5. — с. 857—899.
229. Chaplain M. A., Stuart A. A model mechanism for the chemotactic response of endothelial cells to tumour angiogenesis factor // *Mathematical Medicine and Biology: A Journal of the IMA*. — 1993. — т. 10, № 3. — с. 149—168.
230. A mathematical analysis of a model for tumour angiogenesis / M. A. Chaplain [и др.] // *Journal of mathematical biology*. — 1995. — т. 33, № 7. — с. 744—770.
231. Chaplain M. A. Mathematical modelling of angiogenesis // *Journal of neuro-oncology*. — 2000. — т. 50, № 1/2. — с. 37—51.
232. Mathematical modelling of flow through vascular networks: implications for tumour-induced angiogenesis and chemotherapy strategies / S. R. McDougall [и др.] // *Bulletin of mathematical biology*. — 2002. — т. 64, № 4. — с. 673—702.
233. Mathematical modelling of flow in 2D and 3D vascular networks: applications to anti-angiogenic and chemotherapeutic drug strategies / A. Stephanou [и др.] // *Mathematical and Computer Modelling*. — 2005. — т. 41, № 10. — с. 1137—1156.
234. McDougall S. R., Anderson A. R., Chaplain M. A. Mathematical modelling of dynamic adaptive tumour-induced angiogenesis: clinical implications and therapeutic targeting strategies // *Journal of theoretical biology*. — 2006. — т. 241, № 3. — с. 564—589.
235. Mathematical modelling of the influence of blood rheological properties upon adaptative tumour-induced angiogenesis / A. Stéphanou [и др.] // *Mathematical and Computer Modelling*. — 2006. — т. 44, № 1/2. — с. 96—123.

236. Secomb T. W. Blood flow in the microcirculation // *Annual Review of Fluid Mechanics*. — 2017. — т. 49. — с. 443—461.
237. Welter M., Rieger H. Interstitial fluid flow and drug delivery in vascularized tumors: a computational model // *PloS one*. — 2013. — т. 8, № 8.
238. Computational model for tumor oxygenation applied to clinical data on breast tumor hemoglobin concentrations suggests vascular dilatation and compression / M. Welter [и др.] // *PloS one*. — 2016. — т. 11, № 8.
239. A coupled discrete/continuum model for describing cancer-therapeutic transport in the lung / K. Erbertseder [и др.] // *PloS one*. — 2012. — т. 7, № 3.
240. Dynamics of tumor growth and combination of anti-angiogenic and cytotoxic therapies / M. Kohandel [и др.] // *Physics in Medicine & Biology*. — 2007. — т. 52, № 13. — с. 3665.
241. A new mathematical model for optimizing the combination between antiangiogenic and cytotoxic drugs in oncology / S. Benzekry [и др.] // *Comptes Rendus Mathematique*. — 2012. — т. 350, № 1/2. — с. 23—28.
242. Model driven optimization of antiangiogenics+ cytotoxics combination: application to breast cancer mice treated with bevacizumab+ paclitaxel doublet leads to reduced tumor growth and fewer metastasis / S. Mollard [и др.] // *Oncotarget*. — 2017. — т. 8, № 14. — с. 23087.
243. Ergun A., Camphausen K., Wein L. M. Optimal scheduling of radiotherapy and angiogenic inhibitors // *Bulletin of mathematical biology*. — 2003. — т. 65, № 3. — с. 407—424.
244. Ledzewicz U., Schättler H. Multi-input optimal control problems for combined tumor anti-angiogenic and radiotherapy treatments // *Journal of Optimization Theory and Applications*. — 2012. — т. 153, № 1. — с. 195—224.
245. Wouters B. G., Brown J. M. Cells at intermediate oxygen levels can be more important than the "hypoxic fraction" in determining tumor response to fractionated radiotherapy // *Radiation research*. — 1997. — т. 147, № 5. — с. 541—550.

246. Mathematical modeling of brain tumors: effects of radiotherapy and chemotherapy / G. Powathil [и др.] // *Physics in Medicine & Biology*. — 2007. — т. 52, № 11. — с. 3291.
247. Patra K. C., Hay N. The pentose phosphate pathway and cancer // *Trends in biochemical sciences*. — 2014. — т. 39, № 8. — с. 347—354.
248. Swanson K., Alvord Jr E., Murray J. A quantitative model for differential motility of gliomas in grey and white matter // *Cell Proliferat.* — 2000. — т. 33, № 5. — с. 317—329.
249. A bioimage informatics based reconstruction of breast tumor microvasculature with computational blood flow predictions / S. Stamatelos [и др.] // *Microvasc Res.* — 2014. — т. 91. — с. 8—21.
250. In vivo investigation of the immersion-liquid-induced human skin clearing dynamics / V. Tuchin [и др.] // *Tech Phys Lett.* — 2001. — т. 27, № 6. — с. 489—490.
251. Bevacizumab-induced transient remodeling of the vasculature in neuroblastoma xenografts results in improved delivery and efficacy of systemically administered chemotherapy / P. V. Dickson [и др.] // *Clinical cancer research*. — 2007. — т. 13, № 13. — с. 3942—3950.
252. Boris J. P., Book D. L. Flux-corrected transport. I. SHASTA, a fluid transport algorithm that works // *Journal of computational physics*. — 1973. — т. 11, № 1. — с. 38—69.
253. Numerical recipes 3rd edition: The art of scientific computing / W. H. Press [и др.]. — Cambridge university press, 2007.
254. Antitumor effects of sunitinib or sorafenib in patients with metastatic renal cell carcinoma who received prior antiangiogenic therapy / I. Tamaskar [и др.] // *The Journal of urology*. — 2008. — т. 179, № 1. — с. 81—86.
255. Kolmogorov A. N. Étude de l'équation de la diffusion avec croissance de la quantité de matière et son application à un problème biologique // *Bull. Univ. Moskow, Ser. Internat., Sec. A.* — 1937. — т. 1. — с. 1—25.
256. Cost of migration: invasion of malignant gliomas and implications for treatment / A. Giese [и др.] // *Journal of clinical oncology*. — 2003. — т. 21, № 8. — с. 1624—1636.

257. Analysis of growth kinetics and proliferative heterogeneity of lewis lung carcinoma cells growing as unfed culture / O. Pyaskovskaya [и др.] // *Exp. Oncol.* — 2008. — т. 30, № 4. — с. 269—275.
258. Cushing'Syndrome with Hypoglycemia Caused by Adrenocortical Carcinoma / M. J. Eymontt [и др.] // *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.* — 1965. — т. 25, № 1. — с. 46—52.
259. Why is the partial oxygen pressure of human tissues a crucial parameter? Small molecules and hypoxia / A. Carreau [и др.] // *Journal of cellular and molecular medicine.* — 2011. — т. 15, № 6. — с. 1239—1253.
260. Multiscale modeling of angiogenic tumor growth, progression, and therapy / M. Kuznetsov [и др.] // *Biophysics.* — 2016. — т. 61, № 6. — с. 1042—1051.
261. Pittman R. N. Regulation of tissue oxygenation // *Colloquium series on integrated systems physiology: from molecule to function.* т. 3. — Morgan & Claypool Life Sciences. 2011. — с. 1—100.
262. Brown W., Hill A. The oxygen-dissociation curve of blood, and its thermodynamical basis // *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Containing Papers of a Biological Character.* — 1923. — т. 94, № 661. — с. 297—334.
263. Human muscle metabolism during intermittent maximal exercise / G. C. Gaitanos [и др.] // *Journal of applied physiology.* — 1993. — т. 75, № 2. — с. 712—719.
264. Warburg O., Wind F., Negelein E. The metabolism of tumors in the body // *The Journal of general physiology.* — 1927. — т. 8, № 6. — с. 519.
265. Zu X. L., Guppy M. Cancer metabolism: facts, fantasy, and fiction // *Biochemical and biophysical research communications.* — 2004. — т. 313, № 3. — с. 459—465.
266. Wallace D. C. Mitochondria and cancer // *Nature reviews. Cancer.* — 2012. — т. 12, № 10. — с. 685.
267. Fantin V. R., St-Pierre J., Leder P. Attenuation of LDH-A expression uncovers a link between glycolysis, mitochondrial physiology, and tumor maintenance // *Cancer cell.* — 2006. — т. 9, № 6. — с. 425—434.

268. The M2 splice isoform of pyruvate kinase is important for cancer metabolism and tumour growth / H. R. Christofk [и др.] // *Nature*. — 2008. — т. 452, № 7184. — с. 230.
269. Imatinib (STI571)-mediated changes in glucose metabolism in human leukemia BCR-ABL-positive cells / S. Gottschalk [и др.] // *Clinical Cancer Research*. — 2004. — т. 10, № 19. — с. 6661—6668.
270. Phan L. M., Yeung S.-C. J., Lee M.-H. Cancer metabolic reprogramming: importance, main features, and potentials for precise targeted anti-cancer therapies // *Cancer biology & medicine*. — 2014. — т. 11, № 1. — с. 1.
271. Pan L., Beverley P., Isaacson P. Lactate dehydrogenase (LDH) isoenzymes and proliferative activity of lymphoid cells—an immunocytochemical study // *Clinical & Experimental Immunology*. — 1991. — т. 86, № 2. — с. 240—245.
272. Mathew R., Karantza-Wadsworth V., White E. Role of autophagy in cancer // *Nature reviews. Cancer*. — 2007. — т. 7, № 12. — с. 961.
273. Evaluation of a nutrient starvation model of *Mycobacterium tuberculosis* persistence by gene and protein expression profiling / J. C. Betts [и др.] // *Molecular microbiology*. — 2002. — т. 43, № 3. — с. 717—731.
274. Remarkable tolerance of tumor cells to nutrient deprivation: possible new biochemical target for cancer therapy / K. Izuishi [и др.] // *Cancer Research*. — 2000. — т. 60, № 21. — с. 6201—6207.
275. Targeting lactate-fueled respiration selectively kills hypoxic tumor cells in mice / P. Sonveaux [и др.] // *The Journal of clinical investigation*. — 2008. — т. 118, № 12. — с. 3930.
276. Energy metabolism in tumor cells / R. Moreno-Sánchez [и др.] // *The FEBS journal*. — 2007. — т. 274, № 6. — с. 1393—1418.
277. Induction of vascular endothelial growth factor expression by hypoxia and by glucose deficiency in multicell spheroids: implications for tumor angiogenesis / D. Shweiki [и др.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. — 1995. — т. 92, № 3. — с. 768—772.

278. Mac Gabhann F., Popel A. S. Interactions of VEGF isoforms with VEGFR-1, VEGFR-2, and neuropilin in vivo: a computational model of human skeletal muscle // *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. — 2007. — т. 292, № 1. — H459—H474.
279. Increased serum concentration of angiogenic factors in malignant melanoma patients correlates with tumor progression and survival / S. Ugurel [и др.] // *Journal of clinical oncology*. — 2001. — т. 19, № 2. — с. 577—583.
280. Clough G., Smaje L. Exchange area and surface properties of the microvasculature of the rabbit submandibular gland following duct ligation. // *The Journal of physiology*. — 1984. — т. 354, № 1. — с. 445—456.
281. Screening for type 2 diabetes / A. D. Association [и др.] // *Diabetes care*. — 2004. — т. 27, suppl 1. — s11—s14.
282. Baker P. G., Mottram R. Metabolism of exercising and resting human skeletal muscle, in the post-prandial and fasting states // *Clinical science*. — 1973. — т. 44, № 5. — с. 479—491.
283. Comparative study of the oxyhaemoglobin dissociation curve of four mammals: man, dog, horse and cattle / T. Clerbaux [и др.] // *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*. — 1993. — т. 106, № 4. — с. 687—694.
284. Oxygen diffusion through natural extracellular matrices: implications for estimating “critical thickness” values in tendon tissue engineering / C. Androjna [и др.] // *Tissue Engineering Part A*. — 2008. — т. 14, № 4. — с. 559—569.
285. VEGF profiling and angiogenesis in human microtissues / J. M. Kelm [и др.] // *Journal of biotechnology*. — 2005. — т. 118, № 2. — с. 213—229.
286. Dynamics of VEGF matrix-retention in vascular network patterning / A. Köhn-Luque [и др.] // *Physical biology*. — 2013. — т. 10, № 6. — с. 066007.
287. Binding and neutralization of vascular endothelial growth factor (VEGF) and related ligands by VEGF Trap, ranibizumab and bevacizumab / N. Papadopoulos [и др.] // *Angiogenesis*. — 2012. — т. 15, № 2. — с. 171—185.

288. Renkin E. M. Filtration, diffusion, and molecular sieving through porous cellulose membranes // *The Journal of general physiology*. — 1954. — т. 38, № 2. — с. 225—243.
289. Bouchoux A., Roux-de Balmann H., Lutin F. Nanofiltration of glucose and sodium lactate solutions: Variations of retention between single- and mixed-solute solutions // *Journal of membrane science*. — 2005. — т. 258, № 1. — с. 123—132.
290. Hydrodynamic radii of ranibizumab, aflibercept and bevacizumab measured by time-resolved phosphorescence anisotropy / L. M. Hirvonen [и др.] // *Pharmaceutical research*. — 2016. — т. 33. — с. 2025.
291. Venturoli D., Rippe B. Ficoll and dextran vs. globular proteins as probes for testing glomerular permselectivity: effects of molecular size, shape, charge, and deformability // *American Journal of Physiology-Renal Physiology*. — 2005. — т. 288, № 4. — F605—F613.
292. Carmeliet P. VEGF as a key mediator of angiogenesis in cancer // *Oncology*. — 2005. — т. 69, Suppl. 3. — с. 4—10.
293. Vascular permeability in a human tumor xenograft: molecular size dependence and cutoff size / F. Yuan [и др.] // *Cancer research*. — 1995. — т. 55, № 17. — с. 3752—3756.
294. Human skeletal muscle intracellular oxygenation: the impact of ambient oxygen availability / R. S. Richardson [и др.] // *The Journal of physiology*. — 2006. — т. 571, № 2. — с. 415—424.
295. Tumor vascularity correlates with the prognosis of patients with esophageal squamous cell carcinoma / N. Tanigawa [и др.] // *Cancer*. — 1997. — т. 79, № 2. — с. 220—225.
296. Ma J., Waxman D. J. Combination of antiangiogenesis with chemotherapy for more effective cancer treatment // *Molecular cancer therapeutics*. — 2008. — т. 7, № 12. — с. 3670—3684.
297. Lenvatinib, an angiogenesis inhibitor targeting VEGFR/FGFR, shows broad antitumor activity in human tumor xenograft models associated with microvessel density and pericyte coverage / Y. Yamamoto [и др.] // *Vascular cell*. — 2014. — т. 6, № 1. — с. 18.

298. Fowler J. F. The linear-quadratic formula and progress in fractionated radiotherapy // The British journal of radiology. — 1989. — т. 62, № 740. — с. 679—694.
299. Jones L., Hoban P., Metcalfe P. The use of the linear quadratic model in radiotherapy: a review // Australasian Physics & Engineering Sciences in Medicine. — 2001. — т. 24, № 3. — с. 132—146.
300. Substructure in the radiation survival response at low dose in cells of human tumor cell lines / L. D. Skarsgard [и др.] // Radiation research. — 1996. — т. 146, № 4. — с. 388—398.