

МНОГОМАСШТАБНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ РОСТА, ПРОГРЕССИИ И ТЕРАПИИ АНГИОГЕННОЙ ОПУХОЛИ

© 2016 г. М.Б. Кузнецов*, Н.О. Городнова**, С.С. Симаков** ***, А.В. Колобов* **

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

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

***Московский физико-технический институт,

141701, Долгопрудный Московской области, Институтский пер., 9

E-mail: kolobov@lpi.ru

Поступила в редакцию 08.06.16 г.

Разработана математическая модель роста ангиогенной опухоли в ткани с учетом терапии бевацизумабом. В модели учитываются конвективные потоки, возникающие в плотной ткани при активном делении клеток опухоли, а также дихотомия миграции и пролиферации злокачественных клеток в зависимости от концентраций основных метаболитов – кислорода и глюкозы. Опухолевые клетки, находящиеся в состоянии метаболического стресса, вырабатывают фактор роста эндотелия сосудов, стимулируя ангиогенез. Для установления взаимосвязи между плотностью капиллярной сети и притоком кислорода разработана и исследована отдельная модель стационарного кровотока внутри капиллярной сети. Численное исследование модели роста опухоли показало, что антиангиогенная терапия бевацизумабом опухолей диффузного типа хоть и уменьшает общее число их клеток, но практически не влияет на скорость их инвазии в нормальную ткань. В то же время обнаружено, что рост компактных опухолей в достаточно широком диапазоне параметров может носить немонотонный характер. Показано, что в этом случае терапия бевацизумабом стабилизирует и существенно замедляет рост опухоли, а ее локальная во времени эффективность чувствительна к моменту ее начала.

Ключевые слова: опухолевый рост, многомасштабное моделирование, ангиогенез, микроциркуляция, бевацизумаб.

В последние десятилетия в борьбе с онкологическими заболеваниями появился новый инструмент – антиангиогенная терапия. Еще в 1966 г. было показано, что в опухолях, размер которых превышает несколько миллиметров, возникает центральная некротическая зона [1]. Это происходит из-за того, что в процессе своего роста клетки опухоли вырабатывают протеолитические ферменты, которые разрушают капилляры, находящиеся внутри опухоли, что затрудняет поступление туда питательных веществ [2]. В то же время рост опухоли сопровождается ангиогенезом, т.е. формированием новых кровеносных сосудов – в основном в нормальной ткани, окружающей опухоль. Антиангиогенная терапия блокирует этот процесс, что ограничивает поступление питательных веществ к опухоли. Изначально предполагалось, что это должно приводить если не к полной остановке, то хотя бы к существенному замедлению роста злокачественных новообразований [3].

В настоящий момент известно большое число различных факторов как стимулирующих, так и замедляющих опухолевую неоваскуляризацию [4]. Наиболее универсальным медиатором ангиогенеза является фактор роста эндотелия сосудов, сокращенно VEGF (vascular endothelial growth factor). Считается, что клетки, испытывающие гипоксию [5] и/или гипогликемию [6], вырабатывают VEGF, запуская процесс неоваскуляризации. Именно на блокирование активности данной молекулы и направлено действие первого клинически одобренного антиангиогенного препарата – бевацизумаба. Бевацизумаб, являясь моноклональным антителом к VEGF, необратимо связывается с ним, что препятствует активации рецепторов на поверхности эндотелиальных клеток и не дает запустить процесс неоваскуляризации.

Успешное блокирование ангиогенеза не останавливает приток питательных веществ к опухоли полностью, а только уменьшает его. Таким образом, именно увеличение за счет неоваскуляризации притока ключевых метаболитов в опухоль во многом определяет потенциальную

Сокращение: VEGF – фактор роста эндотелия сосудов.

эффективность антиангиогенной монотерапии для каждого конкретного типа опухоли. Если ангиогенез существенно увеличивает приток питательных веществ к опухоли, то и антиангиогенная терапия может обладать высокой эффективностью, если же ангиогенез слабо увеличивает приток метаболитов, то и данный вид терапии будет малоэффективен.

Заранее оценить противоопухолевую эффективность антиангиогенной терапии можно с помощью математического моделирования. Основной трудностью моделирования роста опухоли с учетом ангиогенеза является проблема учета разномасштабных процессов. Действительно, диаметр капилляра – 5–10 мкм, расстояние между капиллярами – 100–200 мкм, а размер опухоли может достигать десятков сантиметров, т.е. разница масштабов составляет четыре–пять порядков. В этой связи кажется разумным провести некоторое усреднение и работать не с единичными капиллярами, а с микроциркуляторной сетью переменной плотности.

Ключевым моментом для использования данного подхода является необходимость установить зависимость притока различных веществ в ткань от плотности капиллярной сети. Этот вопрос достаточно тривиален для веществ, чья концентрация в артериальном и венозном концах микроциркуляторной сети практически не меняется – например, для глюкозы эти различия не превышают 10–12%. В этом случае приток вещества линейно зависит от площади поверхности микроциркуляторной сети. Если же концентрация вещества внутри капиллярной сети падает в разы, как это имеет место для кислорода, то приток такого вещества в ткань пропорционален кровотоку через эту сеть и возникает необходимость связать изменение плотности сети и кровотока. При этом сосудистая сеть, образованная в результате опухолевого ангиогенеза, имеет нерегулярную структуру с большим числом тупиковых капилляров, а сами новообразованные капилляры короче и имеют больший диаметр и пониженное кровяное наполнение по сравнению с предсуществующими капиллярами [7]. Все это требует построения и исследования отдельной модели микроциркуляции, которая позволит установить зависимость кровотока от плотности микроциркуляторной сети.

Кровоток в микроциркуляторном русле является весьма сложным процессом, обусловленным такими факторами, как неньютоновские реологические свойства крови, зависимость вязкости крови от диаметра капилляра, по которому она протекает (эффект Фареуса–Линдквиста), зависимость гематокрита от диаметра

капилляра (эффект Фареуса), а также сложная структура и регуляторные эффекты капиллярной сети.

В настоящее время разработан ряд подходов к построению математических моделей микроциркуляторного кровотока. В одном из них [8] кровь рассматривается как однофазная ньютоновская жидкость. Для каждого капилляра считается выполненным закон Пуазейля, связывающий перепад давления на концах капилляра и объемный кровоток в нем. Обобщение на капиллярную сеть производится за счет требования к выполнению закона сохранения массы в точках ветвления капилляров. Этот подход позволяет рассчитывать пространственный (трехмерный) кровоток в капиллярной сети при задании ее структуры. В другом подходе [9] кровь рассматривается как двухфазная ньютоновская жидкость, разделенная на две зоны – основной поток, состоящий из эритроцитов, и пограничный слой, образованный цитоплазмой. Такого рода модели могут использоваться при детальном анализе кровотока в отдельном капилляре. Существуют подходы, учитывающие связь диаметра микрососудов и гематокрита [10]. Моделирование микроциркуляции в органах и тканях производится, как правило, с использованием усредненных моделей, сводящихся к моделям фильтрации вязкой жидкости в пористой среде [11]. Недавнее исследование структуры микроциркуляторного русла с использованием компьютерной микротомографии [8] позволяет использовать статистические распределения его морфометрических параметров (длин и диаметров) для реалистичной настройки пространственной модели. Эта модель может быть использована как основная для расчетов с помощью первого из упомянутых выше подходов, что и было выполнено нами в рамках данной работы.

Таким образом, наша модель микроциркуляции позволяет учесть изменение кровотока, а значит, и изменение притока кислорода, в ткани, где происходит рост ангиогенной опухоли, в зависимости от изменения плотности капиллярной сети. Следует добавить, что применение антиангиогенного препарата, например бевацизумаба, приводит не только к изменению плотности микроциркуляторной сети, которая постепенно возвращается к нормальному уровню, но также существенно сказывается на свойствах ее отдельных элементов – капилляров. В частности, ангиогенные капилляры имеют больший диаметр и множество крупных пор в своих стенках, однако, как показали последние экспериментальные исследования, при блокировании активности VEGF

эти капилляры достаточно быстро «созревают», приобретая строение и свойства нормальных предсуществующих капилляров [12].

Очевидно, что математическое моделирование даже просто роста опухоли с учетом ангиогенеза требует учета большого числа процессов, а значит, и сама модель должна включать различные по своим свойствам переменные. Неудивительно, что такие работы появились сравнительно недавно [13,14]. До последнего времени обычно рассматривался только ангиогенез, при этом опухоль учитывалась исключительно как источник проангиогенных факторов [15–17]. Тем не менее в последние годы появляется все больше работ, посвященных не только росту ангиогенной опухоли, но и моделированию антиангиогенной терапии [18–20].

В данной работе представлена многокомпонентная распределенная модель роста опухоли с учетом ангиогенеза и терапии бевацизумабом, которая является дальнейшим развитием наших предыдущих работ в этой области [21,22]. Ключевым ее отличием от этих работ является отдельное рассмотрение модели микроциркуляции, что позволило включить в модель кислород, который является основным энергетическим метаболитом для нормальных и опухолевых клеток.

МОДЕЛЬ

Мы полагаем, что опухоль состоит из гетерогенной колонии живых клеток – пролиферирующих, плотность которых $n_1(x,t)$, и мигрирующих, плотность которых $n_2(x,t)$, а также некротизированной ткани с плотностью $m(x,t)$, где x – пространственная координата, t – время. Опухоль окружена нормальными клетками организма с плотностью $h(x,t)$. Модель также учитывает концентрации кислорода $O_2(x,t)$, глюкозы $S(x,t)$, фактора роста эндотелия сосудов $V(x,t)$, антиангиогенного препарата бевацизумаба $A(x,t)$, а также объемные плотности поверхности капиллярных сетей: предсуществующей нормальной сети организма $EC(x,t)$ и образованной в результате опухолевого ангиогенеза $FC(x,t)$. Основные взаимосвязи модели изображены на рис. 1. Мы рассматриваем одномерную плоскую геометрию, так как это не приводит к сколь-нибудь значимым искажениям результата – отличия оператора Лапласа в сферически-симметричном и плоском случае существенны только для малых радиусов, где в опухоли располагается некроз.

Мы опираемся на принцип дихотомии миграции и пролиферации клеток опухоли [23] и

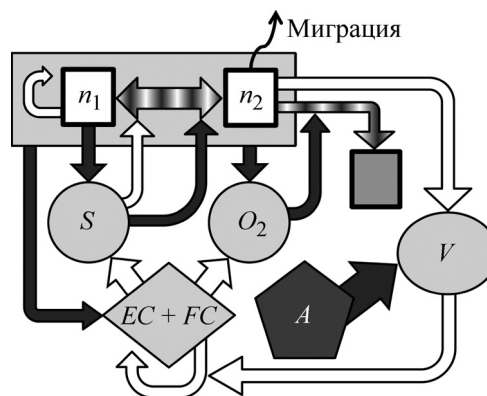


Рис. 1. Блок-схема основных взаимодействий модели: n_1 , n_2 – плотности пролиферирующих и мигрирующих клеток опухоли соответственно, m – плотность некротизированной ткани, O_2 – концентрация кислорода, S – концентрация глюкозы, V – концентрация фактора роста эндотелия сосудов, A – концентрация бевацизумаба, $EC + FC$ – объемная плотность поверхности капиллярной сети. Белыми стрелками показаны стимулирующие связи, темными – ингибирующие, полосатыми – клеточные переходы.

считаем, что в каждый момент времени каждая живая опухолевая клетка либо делится со скоростью B , либо мигрирует с коэффициентом диффузии D_n , при этом интенсивности переходов из одного состояния в другое $P_1(S)$ и $P_2(S)$ зависят от концентрации глюкозы как основного пластического субстрата. Вид этих функций подробно описан в работе [22].

Мы предполагаем, что в качестве энергетического субстрата для клеток кроме глюкозы могут выступать и другие вещества, поэтому именно кислород является критическим веществом для выживания клеток. При недостатке кислорода, который определяется параметрами $O_{2,crit,n}$ и $O_{2,crit,h}$, мигрирующие клетки опухоли и нормальные клетки организма гибнут со скоростями $d_n(O_2)$ и $d_h(O_2)$ соответственно. Аналогично описанному выше для функции $P_2(S)$, $d_{n,0}$ и $d_{h,0}$ – максимальные скорости гибели, а ϵ_n и ϵ_h – параметры, характеризующие отличия функций от ступенчатых. Нормальные клетки организма также гибнут из-за воздействия лизирующих факторов, выделяемых клетками опухоли со скоростью $H(n_1 + n_2)$, где H – параметр лизиса. Все гибнущие клетки переходят в некроз, плотность которого может уменьшаться за счет оттока через лимфатические сосуды организма. Мы предполагаем, что их плотность пропорциональна плотности предсуществующих капилляров, поэтому скорость оттока некротизированной ткани имеет вид $v_{drain}EC$, где v_{drain} – параметр оттока. Мы рассматриваем плотную несжимаемую ткань и предполагаем, что объ-

емы всех клеток одинаковы. Вывод значения поля скорости конвективного потока $I(x,t)$ описан в работе [24], в нашем случае он определяется только скоростью деления опухолевых клеток и скоростью оттока некротизированной ткани. Уравнения для плотностей опухолевых клеток и некроза выглядят следующим образом:

$$\begin{aligned} \frac{\partial n_1}{\partial t} &= Bn_1 - P_1(S)n_1 + P_2(S)n_2 - \frac{\partial(In_1)}{\partial x}, \\ \frac{\partial n_2}{\partial t} &= P_1(S)n_1 - P_2(S)n_2 - d_n(O_2)n_2 - \\ &\quad - \frac{\partial(In_2)}{\partial x} + D_n \frac{\partial^2 n_2}{\partial x^2}, \\ \frac{\partial m}{\partial t} &= d_n(O_2)n_2 + d_h(O_2)h + H(n_1 + n_2)h - \\ &\quad - v_{\text{drain}}EC \cdot m - \frac{\partial(Im)}{\partial x}, \\ \frac{\partial h}{\partial t} &= -d_h(O_2)h - H(n_1 + n_2)h - \frac{\partial(Ih)}{\partial x}, \\ n_1 + n_2 + m + h &= 1, \end{aligned} \tag{1}$$

где

$$\begin{aligned} P_1(S) &= k_1 \exp(-k_2 S), \\ P_2(S) &= \frac{1}{2} k_3 (1 - \tanh[\varepsilon(S_{n,\text{crit}} - S)]), \\ d_n(O_2) &= \frac{1}{2} d_{n,0} (1 + \tanh[\varepsilon_n(O_{2,\text{crit},n} - O_2)]), \\ d_h(O_2) &= \frac{1}{2} d_{h,0} (1 + \tanh[\varepsilon_h(O_{2,\text{crit},h} - O_2)]), \\ I &= \int_0^x [Bn_1 - v_{\text{drain}}ECm] dr + D_n \frac{\partial n_2}{\partial x}. \end{aligned}$$

Как уже было отмечено, в модели используются две переменных для описания сосудистой сети: плотность поверхности нормальной капиллярной сети организма EC и образованной в результате опухолевого ангиогенеза FC , при этом проницаемость ангиогенных капилляров для крупных жирорастворимых молекул существенно выше, чем у предсуществующих [25]. Уравнения для плотностей поверхности капилляров имеют следующий вид:

$$\begin{aligned} \frac{\partial EC}{\partial t} &= -[(n_1 + n_2) + l_m m]EC + \\ &+ v_{\text{mat}} FC \exp\left(\frac{-V}{V_{\text{norm}}}\right) - \frac{\partial(\text{elast} \cdot I \cdot EC)}{\partial x}, \end{aligned} \tag{2}$$

$$\begin{aligned} \frac{\partial FC}{\partial t} &= \frac{R\theta(S - S_{FC,\text{crit}})V}{V + V^*} (EC + FC) \left(1 - \frac{EC + FC}{EFC_{\text{max}}}\right) - \\ &- [(n_1 + n_2) + l_m m]EC - v_{\text{mat}} FC \exp\left(\frac{-V}{V_{\text{norm}}}\right) - \\ &- \frac{\partial(\text{elast} \cdot I \cdot FC)}{\partial x} + D_{FC} \frac{\partial^2 FC}{\partial x^2}. \end{aligned}$$

В отсутствие опухоли EC равно единице, FC – нулю. Первый член во втором уравнении описывает ангиогенез, скорость которого стремится к значению R при больших концентрациях VEGF, малой плотности сосудистой сети и достаточной концентрации глюкозы, при этом капиллярная система может уплотняться до значения EFC_{max} . Капилляры обоих типов разрушаются живыми клетками опухоли с постоянной скоростью l , а также в некротической зоне – со скоростью l_m . Так как VEGF препятствует процессу «созревания» новообразованных капилляров, то мы считаем, что в отсутствие VEGF ангиогенные капилляры могут становиться неотличимыми от предсуществующих с максимальной скоростью перехода v_{mat} . Скорость этого процесса сильно замедляется при концентрациях VEGF, значительно превышающих V_{norm} . Капиллярная сеть, как и клетки, может смещаться в ткани вследствие возникающих в ней напряжений, но мы считаем, что скорость ее движения вследствие ее связности с другими участками микроциркуляторной сети значительно меньше, что описывается параметром elast .

Уравнения, описывающие баланс глюкозы и кислорода, выглядят так:

$$\begin{aligned} \frac{\partial S}{\partial t} &= -[q_{S,n_1} n_1 + q_{S,n_2} (O_2) n_2 + q_{S,h} (O_2) h] \frac{S}{S + S^*} + \\ &+ [Q_{S,EC} EC + Q_{S,FC} FC] (S_{\text{blood}} - S) + D_S \frac{\partial^2 S}{\partial x^2}, \\ \frac{\partial O_2}{\partial t} &= -[q_{O_2,n_1} n_1 + q_{O_2,n_2} n_2 + q_{O_2,h} h] \frac{O_2}{O_2 + O_2^*} + \\ &+ Q_{O_2,\text{norm}} Q_{O_2,ic} (EC + FC) Q_{O_2,c-t}(O_2) + D_{O_2} \frac{\partial^2 O_2}{\partial x^2}, \end{aligned} \tag{3}$$

где

$$q_{S,h}(O_2) = r_h q_{O_2,h} \frac{O_2}{O_2 + O_2^*},$$

$$q_{S,n_2}(O_2) = r_{n_2} q_{O_2,n_2} \frac{O_2}{O_2 + O_2^*}.$$

Здесь D_S – коэффициент диффузии глюкозы в ткани. Скорости потребления веществ клет-

ками обозначены буквой q с соответствующими индексами. Коэффициенты r_h и r_{n_2} характеризуют роль гликолиза относительно окислительного фосфорилирования в получении клеткой энергии – чем он выше, тем больше роль гликолиза. Пролиферирующим клеткам опухоли требуется значительно больше глюкозы, чем остальным, так как она является основным пластическим субстратом.

Формулы для притока глюкозы и кислорода значительно отличаются друг от друга. Как было указано выше, концентрация глюкозы в артериальной и венозной крови изменяется слабо, поэтому мы считаем при моделировании постоянным уровень глюкозы в крови S_{blood} и полагаем, что ее приток в ткань линейно пропорционален площади поверхности капилляров. Поступление глюкозы из капилляров двух типов происходит за счет диффузии через поры капиллярных стенок [26] и характеризуется параметрами $Q_{S,EC}$ и $Q_{S,FC}$ – ангиогенные капилляры пропускают больше глюкозы вследствие наличия в их стенках более крупных отверстий, но эта разница не так велика, как для макромолекул VEGF и бевацизумаба. Приток кислорода в отсутствие опухоли равен $Q_{O_2, \text{norm}}$, он, как и приток глюкозы, зависит от уровня вещества в ткани, но эта зависимость нелинейна.

При нормальных условиях почти весь кислород в крови находится в связанном состоянии с гемоглобином [27]. Зависимость равновесного насыщения гемоглобина кислородом от его парциального давления в крови известна как «кривая диссоциации оксигемоглобина», она хорошо аппроксимируется уравнением Хилла [28] $S_{O_2} = (P_{O_2}/P_{50})^n / [1 + (P_{O_2}/P_{50})^n]$, где коэффициент Хилла $n = 2,7$, а P_{50} , т.е. давление кислорода P_{O_2} , при котором насыщение гемоглобина S_{O_2} равно 50%, мы оценили в 27 мм рт. ст. Мы считаем, что практически весь освобожденный от связи с гемоглобином кислород поступает в ткань и при этом различие в пористости сосудов практически не играет роли – он диффундирует напрямую через стенку капилляров [29]. Поэтому поступление кислорода в кровь пропорционально разности насыщений гемоглобина кислородом в артерии, т.е. при давлении кислорода 100 мм рт. ст., и при тканевом уровне, что и описывается при расчетах функцией $Q_{O_2, c-t}(O_2)$.

Поступление кислорода в ткань зависит от величины потока крови через ее капилляры, который, в свою очередь, зависит от плотности сосудистой сети. Эта зависимость $Q_{O_2, ic}(EC + FC)$

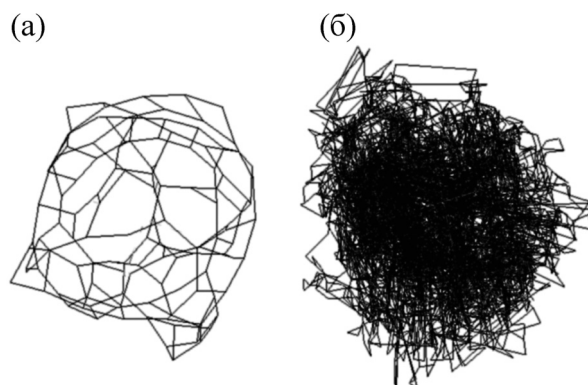


Рис. 2. Полученная в результате работы алгоритма структура микроциркуляторной сети без капилляров (а) и с капиллярами (б).

получена в результате отдельного исследования по микромоделированию капиллярной сети.

Алгоритм генерации структуры микроциркуляторной сети состоит из двух этапов. На первом этапе производится построение базовой сети артериол и венул в виде графа. Изначально координаты вершин располагаются в кубическом элементе трехмерного пространства случайным образом и соединяются так, что из каждой вершины выходит не больше трех сосудов. Равномерное распределение вершин в пространстве достигается за счет использования алгоритма центральных сил раскладки графа в трехмерном пространстве [30].

С помощью итерационного алгоритма с релаксацией отыскивается положение равновесия построенной системы, одновременно обеспечивающее близкое к равномерному распределение вершин в пространстве и распределение длин ребер, не отличающееся более чем на 10%, от данных, приведенных в работе [8]. Количество итераций не превосходит 10^4 . На втором этапе к полученному артериольно-венульному каркасу достраивается сеть капилляров. Капиллярные элементы случайным образом присоединяются к артериольным, венульным и другим капиллярным элементам. После этого вершины, из которых исходит только одно ребро, соединяются с ближайшими аналогичными вершинами. Результат работы алгоритма для одной из реализаций структурной модели микроциркуляторной сети представлен на рис. 2.

Диаметры капилляров устанавливаются случайным образом в диапазоне от 6 до 10 мкм. Длины капилляров вычисляются по их фактическому расположению в пространстве. В наших расчетах это расстояние изменяется в диапазоне от 0,4 мм до 1 мм. Расстояние между капиллярами варьирует от 0,1 мм до 0,2 мм.

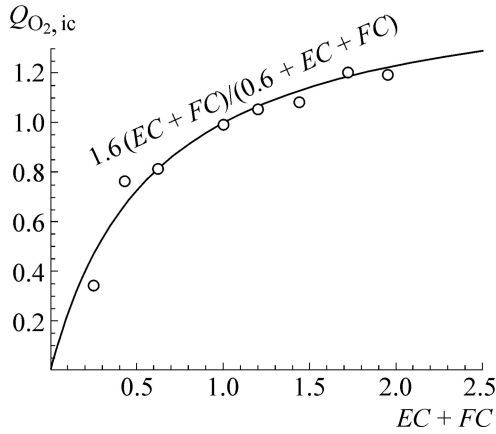


Рис. 3. Полученная в результате микромоделирования зависимость потока крови через капилляры от объемной плотности поверхности капиллярной сети $Q_{O_2, ic}(EC + FC)$. Кружками изображены экспериментальные точки, линией – аппроксимирующая функция, используемая при дальнейших расчетах.

Уплотнение сети моделируется за счет добавления ангиогенных капилляров. При этом случайным образом соединяются любые два уже существующие в структуре сосудистых элемента (артериолы, венулы, здоровые и уже добавленные ангиогенные капилляры), отстоящие друг от друга не более чем на 4 мм. Как видно из значений параметров здоровой микроциркуляторной сети, такая пара элементов всегда существует. Деградация капиллярной сети получается за счет присвоения случайно выбранным капиллярам предсуществующей сети бесконечного сопротивления (выше стандартного на пять порядков). При этом к числу разрушенных капилляров относятся и те, у которых кровоток в результате такой операции оказывается ниже порогового уровня.

Кровоток в капиллярной сети рассчитывается на основе закона сохранения массы в узлах стыковки микрососудов и закона Пуазейля, связывающего поток в сосуде и перепад давления на его концах. Таким образом, рассматривается система уравнений для неизвестных P_v и Q_{uv} , состоящая из набора соотношений

$$Q_{uv} = G_{uv}(P_v - P_u) \quad (4)$$

для каждого из ребер uv и соотношений

$$\sum_{(u,v) \in P} Q_{uv} = 0 \quad (5)$$

для каждой пары вершин u, v . Здесь G_{uv} – коэффициент проводимости, Q_{uv} – объемный кровоток, P_u, P_v – давление в узлах u и v . На входе и выходе из микрососудистой сети задаются постоянные значения давлений 35 и 20 мм

рт. ст. соответственно. Система решается итерационным алгоритмом с релаксацией. Максимальное количество итераций не превосходит $3 \cdot 10^4$. Критерием остановки итераций служит величина относительной погрешности 0,1% между значениями давлений на двух последовательных итерациях.

Расчеты с использованием данной микромодели капиллярной сети позволили нам получить зависимость величины потока крови через капилляры в зависимости от плотности поверхности сети, изображенную на рис. 3.

Уравнения для фактора роста эндотелия сосудов VEGF и бевацизумаба имеют следующий вид:

$$\begin{aligned} \frac{\partial V}{\partial t} &= pn_2 - \omega V(EC + FC) - d_V V - \\ &\quad - (k_A A_n) A V + D_V \frac{\partial^2 V}{\partial x^2}, \\ \frac{\partial A}{\partial t} &= - (k_A V_n) A V + [Q_{A, EC} EC + Q_{A, FC} FC] \times \\ &\quad \times (A_{\text{blood}} - A) + D_A \frac{\partial^2 A}{\partial x^2}, \end{aligned} \quad (6)$$

где $\frac{\partial A_{\text{blood}}}{\partial t} = F_{A, iv} - d_A A_{\text{blood}}$; D_V и D_A – коэффициенты диффузии VEGF и бевацизумаба в ткани. VEGF вырабатывается мигрирующими клетками опухоли, которые находятся в состоянии гипоксии и/или гипогликемии, со скоростью p ; ω – скорость утилизации VEGF эндотелиальными клетками сосудистой сети в процессе ангиогенеза; d_V – скорость его неспецифической деградации. Связывание бевацизумаба с VEGF характеризуется константой k_A . Схему введения бевацизумаба $F_{A, iv}$ мы подбираем исходя из существующих клинических схем введения препарата [31] – в данной работе раз в три недели расчетного времени мы скачкообразно изменяли значение концентрации препарата в крови на величину A_n ; d_A – скорость выведения бевацизумаба из крови.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Мы решали систему уравнений (1)–(6) в одномерной плоской области размером $L = 4$ см. В начальный момент времени $t = 0$ во всей области предполагалось, что $n_2(x, 0) = m(x, 0) = 0$; $S(x, 0) = S_0$; $O_2(x, 0) = O_{2,0}$; $V(x, 0) = 0$; $FC(x, 0) = 0$; возле левой границы находится популяция делящихся клеток опухоли шириной 1 мм, а $EC(x, 0) = 1$ там, где опухолевых клеток нет, а в области, где они есть, плавно спадает

к нулевому значению на левой границе. Для всех переменных на левой границе было задано граничное условие нулевого потока. На правой границе для переменных плотностей клеток и некротизированной ткани, а также переменных плотности капиллярной сети были заданы фиксированные значения, соответствующие нормальной ткани, для остальных – условие нулевого потока.

Для удобства расчетов все параметры модели были обезразмерены. В качестве нормировочных были выбраны следующие значения: для времени – $t_n = 1$ ч, длины – $L_n = 10^{-2}$ см, плотности клеток – $n_{\max} = 10^9$ клеток/мл, концентрации глюкозы и кислорода – $S_n = O_{2n} = 1$ ммоль/л, концентрации VEGF – $V^n = 10^{-11}$ моль/мл, концентрации бевацизумаба – $A_n = 10^{-9}$ моль/мл, нормальная плотность сосудов в ткани была принята за единицу – $EC_n = 1$. Ниже приведены результаты численного исследования для двух наборов параметров, соответствующих диффузной и компактной опухолям. После обезрамеривания параметры имеют следующие значения.

Общие параметры для обоих наборов:

$B = 0,029$	$k_1 = 0,4$ [32]	$k_2 = 3,56$ [32]
$k_3 = 0,23$	$\varepsilon = 1,8$ [32]	$S_{n,crit} = 1,95$ [32]
$d_{n,0} = 0,05$	$\varepsilon_n = 10$	$O_{2,crit,n} = 0,05$
$dh,0 = 0,01$	$\varepsilon_h = 25$	$O_{2,crit,h} = 0,1$
$H = 0,01$	$v_{mat} = 0,0025$	$V_{norm} = 0,00025$
$S_{FC,crit} = 1,67$	$V^* = 0,001$	$EFC_{max} = 3$
$elast = 0,1$	$D_{FC} = 0,00036$	$S^* = 0,11$ [32]
$Q_{S,EC} = 2$	$Q_{S,FC} = 4,8$	$S_{blood} = 5,56$
$DS = 180$ [33]	$q_{O_2,n_1} = 12$	$q_{O_2,n_2} = 24$
$q_{O_2,h} = 6$	$O_2^* = 0,005$ [34]	$DO_2 = 655,2$ [35]
$r_h = 0,17$	$r_{n_2} = 0,33$	$O_{2,0} = 1,5$ [36]
$p = 2$ [37], [38]	$\omega = 0,23$	$dV = 0,46$ [39]
$k_A = 1,9 \cdot 10^{12}$ [40]	$DV = 21,6$ [16]	$Q_{A,EC} = 0,002$
$Q_{A,FC} = 1,23$	$DA = 7,2$ [41]	$d_A = 0,0014$ [41];

параметры для случая диффузной опухоли:

$v_{drain} = 0,02$	$D_n = 1,08$	$l = 0,01$
$l_m = 0,01$	$R = 0,0015$	$q_{s,n_1} = 400;$

параметры для случая компактной опухоли:

$v_{drain} = 0,03$	$D_n = 0,0036$	$l = 0,003$
$l_m = 0,001$	$R = 0,0005$	$q_{s,n_1} = 125.$

В основном параметры взяты либо оценены из литературы. Параметры, характеризующие проницаемость капилляров обоих типов для глюкозы и бевацизумаба, оценены аналогично тому, как это сделано в работе [22]. Уровень глюкозы в крови соответствует значению

1 мг/мл. Значение r_h , близкое к 1/6, означает, что практически всю энергию нормальные клетки организма получают за счет окислительного фосфорилирования. Параметр $Q_{O_2,norm}$ подобран так, чтобы в отсутствие опухолевых клеток в ткани поддерживался заданный уровень кислорода $O_{2,0}$. Начальный уровень глюкозы S_0 подобран так, чтобы в отсутствие опухоли система находилась в равновесии. Для части параметров модели, характеризующих физиологию опухоли и окружающей ее нормальной ткани, отсутствуют надежные экспериментальные данные, их значения мы варьировали в физиологически обоснованных пределах.

При численном решении уравнения для VEGF, кислорода и глюкозы решались методом прогонки в квазистационарном приближении ввиду большой скорости их реакций относительно скоростей для остальных переменных. Для остальных переменных был использован метод расщепления по физическим процессам. Кинетические уравнения решались методом Рунге–Кутты четвертого порядка, для уравнения диффузии была использована схема Кранка–Николсон. Эти методы описаны в работе [42]. Конвективные уравнения решались методом коррекции потоков Бориса–Бука [43] с применением явной антидиффузионной схемы.

На рис. 4 представлены характерные распределения основных переменных модели до и во время терапии бевацизумабом для случая роста диффузной опухоли. Хорошо видно, что распределение плотностей активных клеток опухоли изменяется слабо – общее число активных клеток опухоли изменилось после начала терапии менее чем на 20%, что коррелирует с максимальным уплотнением капиллярной сети на 20%. Высокая скорость прорастания диффузной опухоли не позволяет существенно увеличиться плотности капиллярной сети. Как и было предсказано в работе [21], скорость роста диффузной опухоли под воздействием антиангиогенной монотерапии бевацизумабом фактически не изменилась. Это происходит из-за того, что опухоль растет в основном за счет инвазии в нормальную ткань, описываемую диффузионным членом в уравнении на n_2 , а не за счет конвекции, зависящей от пролиферации и оттока.

Существенно более интересные результаты получаются для случая роста компактной опухоли, у которой клеточная подвижность D_n мала, а рост происходит за счет конвекции. Для данного типа опухолей в широком диапазоне набора параметров в отсутствии терапии существуют режимы немонотонного роста, при

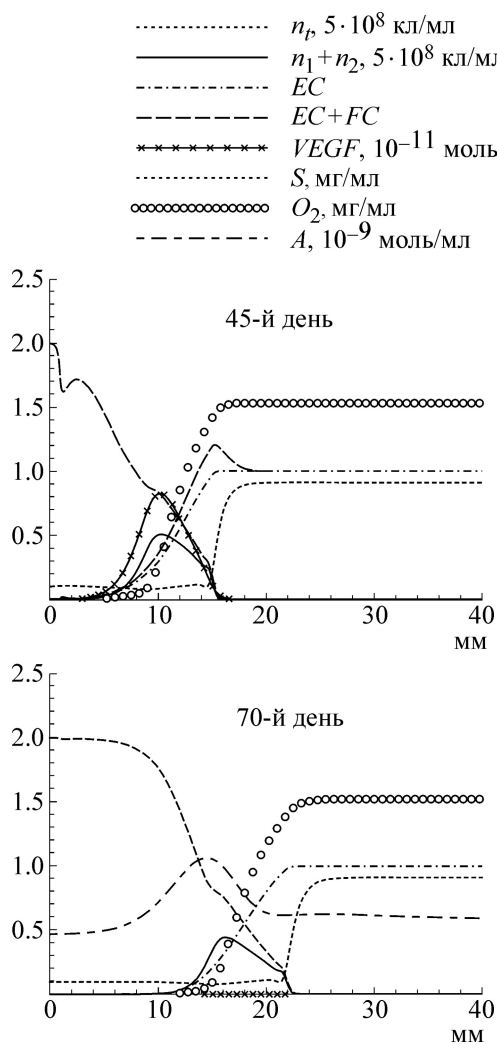


Рис. 4. Профили плотностей всех опухолевых клеток n_t , активных опухолевых клеток $n_1 + n_2$, предсуществующей капиллярной сети EC , суммарной капиллярной сети $EC + FC$, фактора роста эндотелия сосудов $VEGF$ и концентраций глюкозы S , кислорода O_2 и бевацизумаба A в случае диффузной опухоли.

которых возможно незначительное уменьшение размера опухоли, а общее количество активных клеток опухоли может изменяться со временем в разы, как видно на рис. 5. Распределение параметров модели для случая компактной опухоли в отсутствие терапии для двух моментов времени – 437-й день (точка A) и 480-й день (точка B), представлено на рис. 6. Как видно из этих графиков, в момент окончания фазы роста опухоли (точка A) количество активных клеток опухоли достигает своего максимума, а внутри опухоли оказывается много капилляров, которые и обеспечивают основной приток кислорода и глюкозы. Однако эти капилляры, попадая внутрь опухоли, активно разрушаются

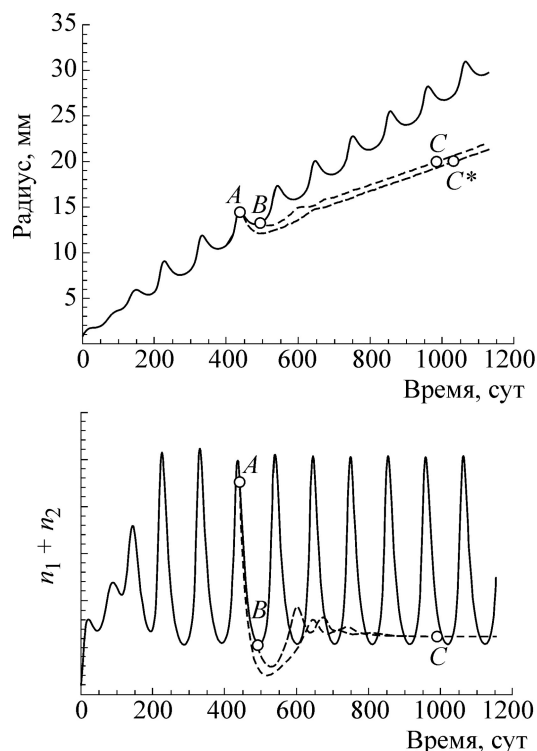


Рис. 5. Зависимость радиуса компактной опухоли и относительного числа ее живых клеток от времени. Сплошная линия – случай без антиангиогенной терапии, пунктирные линии – при проведении терапии в разные моменты времени с ее начала.

злокачественными клетками, так что приток метаболитов падает, а капиллярная сеть на границе «опухоль – нормальная ткань» оказывается недостаточно плотной, чтобы возместить это падение. Клетки начинают активно гибнуть, а часть некротизированной ткани успевает оттечь через лимфатическую сеть, чья плотность считается пропорциональной плотности нормальной капиллярной сети, что и обеспечивает небольшое поджатие опухоли (точка B). Далее за счет ангиогенеза плотность микроциркуляторной сети на границе «опухоль – нормальная ткань» увеличивается, что и обеспечивает дополнительный приток метаболитов для новой фазы роста.

Было проведено исследование эффективности терапии бевацизумабом в зависимости от момента ее начала. Как было показано, если начать терапию бевацизумабом в конце фазы роста (в точке A), то первоначальный эффект такой терапии будет существенно выше, чем в случае начала терапии в конце фазы поджатия (в точке B). В первом случае после введения бевацизумаба наблюдается поджатие опухоли на 3 мм, а число ее клеток падает более чем в 10 раз, тогда как во втором случае

поджимание фактически отсутствует, а число активных клеток падает менее, чем в два раза. Во многом эти различия обусловлены тем, что терапия в момент *A* накладывается на фазу поджимания опухоли. Однако, как видно из рис. 5, минимум числа клеток опухоли после начала терапии в момент *A* оказывается на треть ниже, чем при начале терапии в момент *B*, что означает, что первый вариант оказывается локально (во времени) более эффективным. Но несмотря на эти различия в начале терапии, которые могут длиться несколько месяцев, в долгосрочной перспективе эффективность терапии оказывается одинаковой: рост опухоли стабилизируется, а число активных клеток становится постоянным. При этом в обоих рассмотренных режимах терапии скорости роста, число клеток и даже распределения переменных фактически не отличаются друг от друга – распределение в точках *C* и *C** показано на рис. 6. Антиангиогенная терапия приводит к почти двукратному замедлению скорости роста опухоли. Конечно, это замедление роста зависит от параметров модели и может быть как выше, так и несколько ниже, однако качественно картина действия бевацизумаба на компактную опухоль остается неизменной.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В данной работе представлена модель роста ангиогенной опухоли с учетом терапии бевацизумабом, содержащая 10 переменных. Несмотря на то, что модель учитывает только ключевые процессы развития ангиогенной опухоли, она позволяет включать как новые члены, описывающие процессы, происходящие в опухолевой ткани, так и новые переменные, например, протеолитические ферменты, другие метаболиты, медиаторы и противоопухолевые препараты. Для такого развития модели необходимо только получить данные о значении параметров уравнений, позволяющих описывать эти дополнительные переменные.

Особый интерес представляет обнаруженный в модели немонотонный режим роста опухоли. Примечательно, что блокирование ангиогенеза бевацизумабом приводит к стабилизации роста опухоли и прекращает колебания численности ее клеток, что указывает на то, что эти осцилляции связаны с ангиогенезом. Мы предполагаем, что они происходят, когда скорости разрушения существующих и появления новых капилляров одного порядка. Более подробное исследование зависимости существования этого режима от параметров модели будет проведено в последующих работах. Надо признать, что экспериментальное

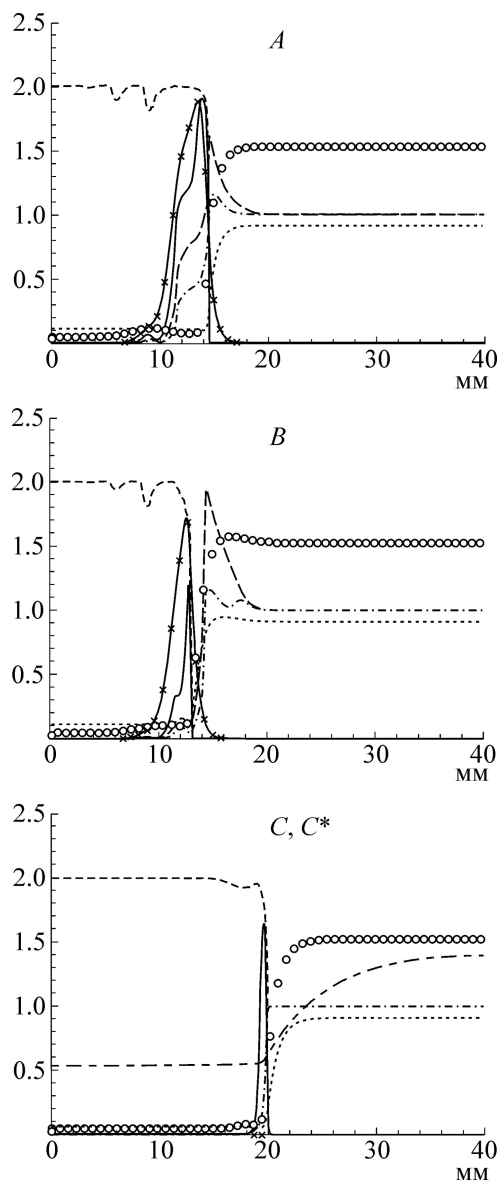


Рис. 6. Профили плотностей всех опухолевых клеток n , активных опухолевых клеток $n_1 + n_2$, предсуществующей капиллярной сети EC , суммарной капиллярной сети $EC + FC$, фактора роста эндотелия сосудов $VEGF$ и концентраций глюкозы S , кислорода O_2 и бевацизумаба A в случае компактной опухоли. Маркировка переменных совпадает с маркировкой на рис. 4.

обнаружение данного режима в настоящее время затруднено, так как точность измерения размера опухоли не опускается ниже нескольких миллиметров, а зачастую достигает сантиметра. В связи с этим, как правило, немонотонность в росте опухоли, обнаруженная экспериментально, даже не исследуется, так как списывается на неточность измерения ее размера.

Весьма перспективным является обнаруженная зависимость противоопухолевой эффектив-

ности терапии бевацизумабом от времени ее начала при немонотонном росте ангиогенной опухоли, хоть она и носит локальный по времени характер. Дело в том, что время неoadъювантной (предоперационной) терапии само по себе ограничено, а значит, такая настройка терапии может иметь существенное значение. Результат может стать еще более значимым, если вместо монотерапии бевацизумабом рассмотреть комбинированную терапию антиангиогенного и цитотоксического агента. В связи с этим перспективным выглядит проведение исследования зависимости противоопухолевой эффективности комбинированной терапии от графика введения препаратов.

Модель роста и терапии опухоли сопряжена с отдельной моделью микроциркуляции, которая позволила связать локальное изменение плотности капиллярной сети и локальный приток кислорода в ткань. Однако потенциал этого сопряжения еще не раскрыт полностью, так как в данной работе мы не учитывали, что изменение микроциркуляторной сети в одной точке пространства может существенно влиять на кровоток, а значит, и на приток кислорода в другой точке. Именно учет пространственного расположения микроциркуляторной сети при сопряжении ее с моделью роста и терапии опухоли и является основным направлением развития данной работы.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант 14-31-00024).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. J. Folkman, P. Cole, and S. Zimmerman, *Ann. Surgery* **164** (3), 491 (1966).
2. M. Welter, K. Bartha and H. Rieger, *J. Theor. Biol.* **259** (3), 405 (2009).
3. J. Folkman, *New England J. Med.* **285** (21), 1182 (1971).
4. T. H. Adair and J.-P. Montani, *Angiogenesis* (Morgan & Claypool Life Sciences series, San Rafael (CA), 2010).
5. P. Carmeliet and R. K. Jain, *Nature* **407** (6801), 249 (2000).
6. B. Drogat, P. Auguste, et al., *Cancer Res.* **67** (14), 6700 (2007).
7. M. A. Konerding, C. van Ackern, and E. Fait, in *Blood Perfusion and Microenvironment of Human Tumors: Implications for Clinical Radiooncology*, Ed. by M. Molls and P. Vaupel (Springer, Berlin, 2002), pp. 5–17.
8. S. K. Stamatelos, E. Kim, A. P. Pathak, and A. S. Popel, *Microvasc. Res.* **91**, 8 (2014).
9. J. E. Fletcher, *Mathemat. Biosci.* **38** (3–4), 159 (1978).
10. J. B. Geddes, R. T. Carr, F. Wu, et al., *Chaos* **20** (4), 045123 (2010).
11. A. S. Kholodov, A. V. Evdokimov, and S. S. Simakov, in *Mathematical biology: recent trends* (Anamaya Publishers, New Delhi, 2006), pp. 22–29.
12. A. Eberhard, S. Kahlert, V. Goede, et al., *Cancer Res.* **60** (5) 1388 (2000).
13. K. R. Swanson, R. C. Rockne, J. Claridge, et al., *Cancer Res.*, **71** (24), 7366 (2011).
14. A. V. Kolobov and M. B. Kuznetsov, *Rus. J. Numeric. Analysis Math. Modelling* **28** (5), 471 (2013).
15. N. V. Mantzaris, S. Webb, and H. G. Othmer, *J. Math. Biol.* **49** (2), 111 (2004).
16. F. Milde, M. Bergdorf, and P. Koumoutsakos, *Biophys. J.* **95** (7), 3146 (2008).
17. Y. Cai, J. Wu, Z. Li, and Q. Long, *PloS One* **11** (3), e0150296 (2016).
18. B. Szomolay, T. D. Eubank, R. D. Roberts, et al., *J. Theor. Biol.* **303**, 141 (2012).
19. S. D. Finley and A. S. Popel, *J. Natl. Cancer Institute*, djt093 (2013).
20. L. Soto-Ortiz, *J. Theor. Biol.* **394**, 197 (2016).
21. A. V. Kolobov and M. B. Kuznetsov, *Biophysics* **60** (3), 449 (2015).
22. A. V. Kolobov, V. V. Gubernov, and M. B. Kuznetsov, *Rus. J. Numeric. Analysis Math. Modelling* **30** (5), 289 (2015).
23. A. Giese, R. Bjerkvig, M. E. Berens, and M. Westphal, *J. Clin. Oncol.* **21**, 1624 (2003).
24. А. В. Гусев и А. А. Полежаев, *Краткие сообщения по физике ФИАН*, № 11–12, 85 (1997).
25. M. A. Konerding, C. van Ackern, and E. Fait, in *Blood Perfusion and Microenvironment of Human Tumors: Implications for Clinical Radiooncology*, Ed. by M. Molls and P. Vaupel (Springer, Berlin, 2002), pp. 5–17.
26. А. Г. Камкин и А. А. Каменский, *Фундаментальная и клиническая физиология* (Академия, М., 2004).
27. R. N. Pittman, in *Colloquium Series on Integrated Systems Physiology: From Molecule to Function* (Morgan & Claypool Life Sciences, 2011), Vol. 3 (3), pp. 1–100.
28. L. Garby and J. Meldon, in *The Respiratory Functions of Blood* (Springer New York, 1977), pp. 35–110.
29. J. R. Levick, *An Introduction to Cardiovascular Physiology* (Butterworth-Heinemann, Oxford, 2013).
30. S. Simakov, I. Ispolatov, S. Maslov, and A. Nikitin, in *Pathway analysis for drug discovery*, Ed. by A. Yuryev (John Wiley & Sons, Inc., 2008), Chapter 4, pp. 67–102.
31. A. T. Falk, J. Barriere, E. Francois, and P. Follana, *Critical Rev. Oncology/Hematology* **94** (3), 311 (2015).
32. O. N. Pyaskovskaya, D. L. Kolesnik, A. V. Kolobov, et al., *Exp. Oncol.* **30**, 269 (2008).
33. K. Groebe, S. Erz, and W. Mueller-Klieser, *Adv. Experim. Med. Biol.* **361**, 619 (1994).
34. J. J. Casciari, S. V. Sotirchos, and R. M. Sutherland, *Cell Proliferation* **25** (1), 1 (1992).
35. C. Androjna, J. E. Gatica, J. M. Belovich, and K. A. Derwin, *Tissue Engineering Part A* **14** (4), 559 (2008).

36. A. Carreau, B. E. Hafny-Rahbi, A. Matejuket, et al., *J. Cell. Mol. Medicine* **15** (6), 1239 (2011).
37. J. M. Kelm, C. D. Sanchez-Bustamante, E. Ehler, et al., *J. Biotechnol.* **118** (2), 213 (2005).
38. K. J. Kim, B. Li, J. Winer, et al., *Nature* **362**, 841 (1993).
39. J. Kleinheinz, S. Jung, K. Wermker, et al., *Head & Face Medicine* **6** (1), 17 (2010).
40. N. Papadopoulos, J. Martin, Q. Ruan, et al., *Angiogenesis* **15**, 171 (2012).
41. Genentech Inc., Avastin full Prescribing Information. <http://www.gene.com/download/pdf/avastinprescribing.pdf> (2015).
42. И. Б. Петров и А. И. Лобанов, *Лекции по вычислительной математике* (Интернет-Ун-т информ. технологий, М., 2006).
43. J. P. Boris and D. L. Book, *J. Comput. Phys.* **11** (1), 38 (1973).

Multiscale Modeling of Angiogenic Tumor Growth, Progression and Therapy

M.B. Kuznetsov*, **N.O. Gorodnova****, **S.S. Simakov** *****, and **A.V. Kolobov* ****

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

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

****Moscow Institute of Physics and Technology (State University),
Institutskiy per. 9, Dolgoprudny, Moscow Region, 141701 Russia*

A mathematical model of angiogenic tumor growth in tissue after bevacizumab therapy has been developed. The model accounts for convective flows, which occur in dense tissue under active division of tumor cells, as well as the migration/proliferation dichotomy of malignant cells, that depends on concentrations of major metabolites – oxygen and glucose. Tumor cells in a state of metabolic stress produce a vascular endothelial growth factor, thus stimulating angiogenesis. To establish the relationship between capillary network density and oxygen supply, a separate model of stationary flow in the capillary network has been developed and investigated. A numerical study of the tumor growth model showed that antiangiogenic bevacizumab therapy, applied to tumors of diffuse type, reduces total number of their cells, but has almost no effect on the speed of their invasion in normal tissues. At the same time, it was found that the growth of dense tumors may be nonmonotonic in a sufficiently wide range of parameters. It was shown that in this case bevacizumab therapy stabilizes and significantly inhibits tumor growth and its local-in-time efficiency is sensitive to the time of its beginning.

Key words: tumor growth, multiscale modeling, angiogenesis, microcirculation, bevacizumab