

ВЛИЯНИЕ КЛЕТОЧНОЙ ПОДВИЖНОСТИ НА УСТОЙЧИВОСТЬ ФОРМЫ ОПУХОЛИ НА НАЧАЛЬНОЙ СТАДИИ ЕЕ РОСТА

Колобов А.В., Полежаев А.А.

(Москва)

Влияние клеточной подвижности на устойчивость формы опухоли исследуется с помощью методов математического моделирования. Показано, что форма опухоли устойчива ко всем видам возмущений в случае высокого коэффициента подвижности ее клеток, тогда как при низкой подвижности граница опухоли неустойчива, что приводит к росту опухоли в выделенных направлениях, например, в направлении источника питательного субстрата.

Influence of cell motility on the stability of the tumour shape in the pre-angiogenic stage of growth

Kolobov A.V., Polezhaev A.A.

(Moscow)

Influence of individual cellular motility on the tumour shape is investigated by means of a mathematical model. It is shown that the tumour shape is stable for any perturbation in the case of high cell motility while low cell motility results in breaking of stability of the tumour boundary that may lead to tumour growth in the predominant direction of nutrient source.

Рост злокачественных новообразований является сложным процессом, в котором увеличение популяции опухолевых клеток сопровождается изменением структуры опухоли. В процессе роста опухоли выделяют две основные фазы: неваккуляризованный рост и ваккуляризованный рост [1].

Известно, что первоначально опухоль растет как неваккуляризованная масса клеток. Таким образом, размер опухоли ли-

митируется поступлением питательных веществ извне опухоли, и ее радиус не превосходит несколько миллиметров [2]. В процессе своего развития опухоль переходит в васкуляризованную фазу роста за счет прорастания кровеносных сосудов внутрь опухоли; этот процесс называется ангиогенезом [1]. Очевидно, в васкуляризованной фазе поступление питательных веществ внутрь опухоли больше не лимитируется диффузией. Считается, что ангиогенез, индуцированный опухолью, необходим, как для роста первичного очага опухоли, так и для инвазии опухолевых клеток и их метастазирования [3].

Пространственная структура опухоли во время невакуляризованной стадии роста аналогична структуре многоклеточного опухолевого сфероиды, то есть имеет сферическую форму с некротической зоной (necrotic zone) в центральной области, которая возникает вследствие нехватки питательных веществ, и тонким живым слоем (viable rim), состоящим из пролиферирующих клеток на границе [4]. Такая пространственная симметрия возникает в результате однородного распределения питательных веществ в эксперименте *in vitro*. В живом организме симметрия невакуляризованной опухоли возможна, когда опухоль удалена от крупных кровеносных сосудов.

Недавние исследования показали, что некоторые опухоли в процессе своего роста могут захватывать уже существующие в организме сосуды (возникшие не в результате ангиогенеза) [5]. В результате этого в опухоли возникает сосудистая сеть, снабжающая ее необходимыми для роста питательными веществами. Это происходит до тех пор, пока захваченные сосуды не разрушаются. Их регрессия приводит к массовой гибели раковых клеток в центральной области опухоли и в значительной мере стимулирует процесс ангиогенеза [5]. Захват нормальных сосудов на ранней стадии опухолевого роста приводит к неоднородному распределению питательных веществ, что существенным образом влияет на пространственную структуру опухоли, а значит и на ее развитие.

Существует небольшое число теоретических работ, в которых авторы исследуют устойчивость радиально-симметричной формы невакуляризованной опухоли к асимметричным возмущениям [6,7]. Однако, подход, разработанный в этих работах,

более подходит для описания многоклеточных опухолевых сфероидов, так как он в основном рассматривает силы, аналогичные поверхностному натяжению, возникающие на границе опухоль - питательная среда (*in vitro*) и не учитывает пространственно гетерогенные условия, в которых растет опухоль в организме, а также клеточную подвижность. Хотя именно эта клеточная характеристика считается критически важной для такого опасного проявления рака, как метастатическая активность [8].

В данной работе исследуется влияние неоднородного окружения на рост опухоли, а именно на устойчивость ее формы в зависимости от величины подвижности ее клеток. С помощью численного исследования двумерной модели показано, что при высокой клеточной подвижности плоская граница опухоли устойчива в неоднородном окружении. При низкой подвижности клеток устойчивость плоского фронта опухоли теряется, так что опухоль способна выпускать так называемые щупальца (*feelers*).

Математическая модель.

Для исследования устойчивости фронта растущей опухоли предложена феноменологическая модель ее роста. Модель учитывает как пространственную неоднородность микроокружения опухоли, так и ее клеточную гетерогенность, и основывается на следующих биологических и математических предпосылках [9]:

- Опухоль растет как двумерная колония злокачественных клеток, окруженная нормальной тканью с клеточной плотностью h .
- Опухолевые клетки могут находиться либо в делящемся 'n', либо в покоящемся 'm' состояниях.
- Пролиферирующие клетки делятся с постоянной скоростью V и при определенных условиях способны переходить в состояние покоя, причем скорость перехода P зависит от концентрации критического метаболита S (кислорода) внутри клетки. Для упрощения модели обратный переход из состояния покоя в состояние деления не учитывался.
- Мы полагаем, что концентрация субстрата внутри клетки равна концентрации субстрата в межклеточном пространстве, которая в свою очередь определяется балансом между диффузией субстрата D_S из внешних областей и его потреблением

клетками опухоли $Q(n, S)$. Мы пренебрегаем потреблением субстрата покоящимися клетками опухоли и нетрансформированными клетками.

- Предполагается, что собственной случайной подвижностью D_n обладают только пролиферирующие клетки опухоли. Однако все типы клеток в модели способны двигаться за счет конвекционных потоков (V – скорость конвекционного потока), возникающих за счет плотной упаковки и не сжимаемости клеток [10].

Математическая модель, основывающаяся на этих предпосылках, может быть записана в следующем виде:

$$\begin{cases} \frac{\partial n}{\partial t} = Bn - P(S)n - \nabla \cdot J_n, \\ \frac{\partial m}{\partial t} = P(S)n - \nabla \cdot J_m, \\ \frac{\partial S}{\partial t} = -Q(n, S) + D_S \Delta S, \\ \frac{\partial h}{\partial t} = F_h - \nabla \cdot J_h \end{cases} \quad (1)$$

где $\nabla \cdot J_i$ – потоки соответствующих типов клеток, состоящие как из диффузионных, так и конвекционных частей.

В дальнейшем считается, что как опухолевые клетки, так и нормальные клетки несжимаемы и находятся в плотной упаковке, а значит:

$$n+m+h=1 \quad (2)$$

где плотности клеток нормированы на максимально возможную плотность. Если учесть равенство (2) то из системы (1) можно исключить уравнение для плотности нормальных клеток и в явном виде записать уравнение для конвекционного потока [10]. В результате система примет следующий вид:

$$\begin{cases} \frac{\partial n}{\partial t} = Bn - n\Phi - P(S)n + \nabla \cdot (D_n(1-n)\nabla n) - (\nabla n, \nabla \varphi), \\ \frac{\partial m}{\partial t} = P(S)n - m\Phi - \nabla \cdot (D_n m \nabla n) - (\nabla m, \nabla \varphi), \\ \frac{\partial S}{\partial t} = -Q(n, S) + D_S \Delta S, \\ \Delta \varphi = \Phi = Bn + F_h, \end{cases}$$

где φ - потенциальное поле, определяющее конвекционный поток ($\mathbf{V} = \nabla \varphi$).

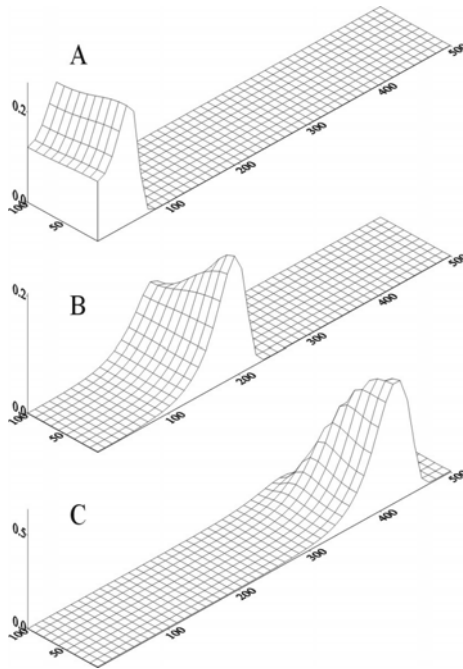


Рис. 1. Пространственное распределение пролиферирующих опухолевых клеток (при малом коэффициенте клеточной подвижности $D_n=0,05$) растущих в среде с неоднородным распределением питательного субстрата. (А – 1 день, В – 6 день, С – 11 день). По оси z отложена нормированная на единицу плотность делящихся клеток n , x, y – пространственные координаты. Точечный источник питательного вещества в точке $(100;0)$ (модельное представление малого сосуда) приводит к неоднородному распределению субстрата. После того как плотность опухолевых клеток около точечного источника достигает порогового значения $n=0,4$ сосуд считается разрушенным. Значения параметров используемые при численном моделировании: $B=0,05$; $q_s=0,3$; $S^*=0,03$; $D_S=10^3$.

Важным является вопрос о виде функции F_h . Однако на начальном этапе исследования будем считать, что опухоль и нормальная ткань не взаимодействуют $F_h=0$. Функции перехода из пролиферации в покой - $P(S)$ и потребления субстрата - $Q(n,S)$ аналогичны используемым в работе [9].

Система (3) решалась в прямоугольной области $x[0,500]$, $y[0,100]$. Потоки клеток и питательного вещества через три границы ($x=0$, $y=0$, $y=100$) этой области равны нулю. На границе $x=500$ поддерживается постоянный уровень питательного субстрата $S=1$ (кислорода), таким образом, эта граница является моделью кровеносного сосуда, откуда и происходит диффузия питательных веществ. Кроме того, через эту границу происходит отток избытка клеточной плотности, возникающей из-за интенсивного роста опухоли. В начальный момент времени в системе находится тонкий плоский слой делящихся клеток вдоль границы $x=0$.

Результаты.

Предложенная математическая модель была использована для моделирования роста опухоли в гетерогенных условиях. Особенно, нас интересовало поведение фронта опухоли при его локальных возмущениях, вне зависимости от причин, вызвавших эти возмущения.

В первом случае, в рассматриваемую область был введен малый сосуд, перпендикулярный плоскости, так что при моделировании он являлся точечным источником питательного вещества. После того, как опухоль доросла до сосуда и захватывала его, он начинал деградировать, и через некоторое время полностью разрушался. На рисунке 1 представлены результаты моделирования роста опухоли в присутствии малого сосуда в случае низкой подвижности клеток опухоли, то есть в том случае, когда движение фронта опухоли определяется конвекционным членом, зависящим от скорости деления клеток. Как видно из этого рисунка, первоначальное возмущение, возникшее в результате неоднородного распределения субстрата в опухоли (особенно, когда опухоль приближается к точечному источнику - сосуду) нарастает со временем, даже после того, как захваченный опухолью сосуд полностью разрушился. На рисунке 2 параметры модели остались теми же, за исключением коэффици-

ента подвижности клеток опухоли, который был увеличен так, что движение фронта опухоли в основном определялось диффузионной подвижностью в соответствии с уравнением Фишера. В этом случае возмущение, вызванное присутствием неоднородности в распределении питательного вещества, затухает и, в конце концов, полностью исчезает.

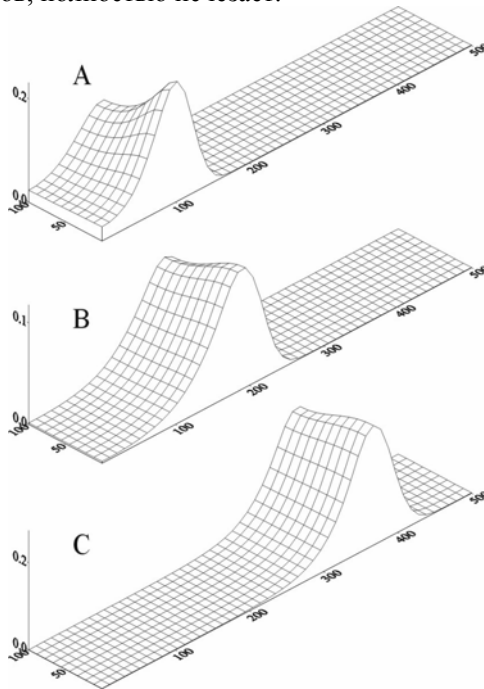


Рис. 2. Пространственное распределение пролиферирующих опухолевых клеток (при большом коэффициенте клеточной подвижности $D_n=2,0$) растущих в среде с неоднородным распределением питательного субстрата. (А – 2 день, В – 4 день, С – 7 день). Остальные значения параметров (и положение источников субстрата) аналогичны используемым в рисунке 1.

Следует отметить, что поведение фронта растущей опухоли не зависит от типа и величины начального возмущения. На рисунке 3 показаны результаты моделирования в случае, когда точечный источник питательного вещества после захвата его опухолью не исчезает, следовательно, происходит постоянное возмущение фронта опухоли. Даже в этом случае фронт опухоли

остается устойчивым при высоком коэффициенте подвижности клеток.

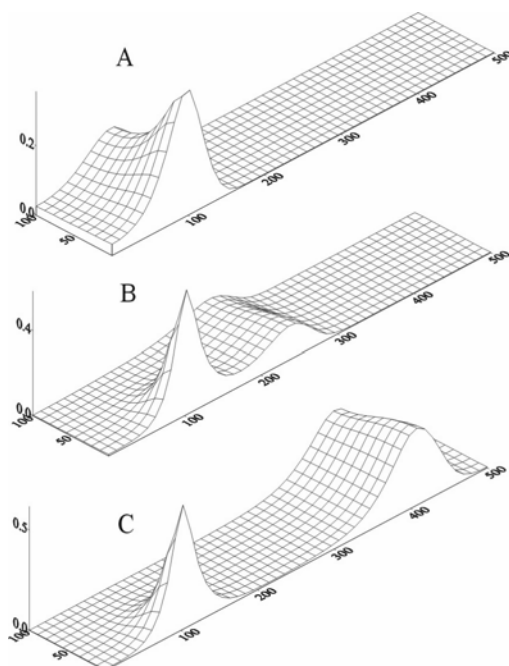


Рис. 3. Пространственное распределение пролиферирующих опухолевых клеток (при большом коэффициенте клеточной подвижности $D_n=2,0$) растущих в среде с неоднородным распределением питательного субстрата. (А – 2 день, В – 4 день, С – 6 день). По оси z отложена нормированная на единицу плотность делящихся клеток n , x, y – пространственные координаты. В отличие от случая представленного на рисунке 1 точечный источник питательного вещества в точке $(100;0)$ не разрушается, а функционирует все время роста опухоли. Остальные значения параметров аналогичны используемым в рисунке 1.

Таким образом, устойчивость фронта растущей опухоли пороговым образом зависит от подвижности клеток опухоли, а значит, от типа подвижности, преобладающей в опухоли, конвекционной или диффузионной.

Выводы

В этой работе предложена двумерная модель роста солидной опухоли в гетерогенном окружении. С помощью этой модели исследовалась устойчивость фронта опухоли при различных ти-

пах его возмущения. Показано, что устойчивость опухоли пороговым образом зависит от величины подвижности опухолевых клеток, так что в случае преобладания конвекционных потоков в опухоли (низкая клеточная подвижность) фронт опухоли неустойчив для всех типов возмущений. Когда же преобладают диффузионные потоки (высокая клеточная подвижность), фронт опухоли устойчив как при одновременных воздействиях, так и длительных возмущающих воздействиях.

Таким образом, результаты представленные в работе свидетельствуют о том, что на начальном этапе роста симметричная структура опухоли не всегда устойчива. Следовательно, симметричные агрегаты трансформированных клеток, такие как многоклеточные опухолевые сфероиды, не могут использоваться в качестве *in vitro* моделей невааскуляризированных опухолей, обладающих высокой клеточной подвижностью.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ №02-01-00064 и гранта поддержки ведущих научных школ.

Литература.

1. J.Folkman. Tumour angiogenesis: Therapeutic implications. *N.Engl.J.Med.*, 285 (1971),1182-86.
2. Freyer J.P. and Sutherland R.M. Regulation of growth saturation and development of necrosis in EMT6/Ro spheroids glucose and oxygen supply. *Cancer Res.*, 46 (1986), 3504-12.
3. Liotta, L. A., Kleinerman, J., and Saidel, G. M. Quantitative relationships of intravascular tumor cells, tumor vessels, and pulmonary metastases following tumor implantation. *Cancer Res.*, 34 (1974), 997–1004.
4. Adam J.A. A mathematical model of tumour growth: Effects of geometry and symmetry. *Math.Biosci.*, 86 (1987), 183-211.
5. Holash J., Wiegand S.J. and Yancopoulos G.D. New model of tumour angiogenesis: dynamic balance between vessel regression and growth mediated by angiopoietins and VEGF. *Oncogene*, 18 (1999), 5356-62.
6. Byrne H.M. and Matthews P. Asymmetric growth of models of avascular solid tumours: exploiting symmetries. *IMA J.Math.Appl.Med.Biol.*, 19 (2002),1-29.

7. Byrne H.M. and Chaplain M.A.J. Modelling of cell-cell adhesion in the growth and development of carcinomas. *Math. Comput. Model.*, 24 (1996), 1-17.
8. Siegel, G., Malmsten, M. and Klussendorf, D. Tumor cell locomotion and metastatic spread. *Microscopy Research and Technique*, 43 (1998), 276-282.
9. Kolobov A.V., Polezhaev A.A. and Solyanik G.I. The Role of cell motility in metastatic cell dominance phenomenon: Analysis by a mathematical model. *J. Theor.Med.*, 3 (2000), 63-77.
10. Gusev, A. and Polezhaev A. Modelling of a cell population evolution for the case existence of maximal possible total cell density. *Kratkie soobscheniya po fizike FIAN*, 11-12 (1997), 85-90.
11. Wyckoff J.B., Jones J.G., Condeelis J.S. and Segall J.E. A Critical Step in Metastasis: In vivo analysis of intravasation at the primary tumor. *Cancer Res.*, 60 (2000), 2504–2511.
12. Bhujwala Z.M., Artemov D., Natarajan K., Ackerstaff E. and Solaiyappan M. Vascular differences detected by MRI for metastatic versus nonmetastatic breast and prostate cancer xenografts. *Neoplasia* 2001 Mar-Apr, 3(2), 143-53.