

МОДЕЛИРОВАНИЕ ДИНАМИКИ ГЕТЕРОГЕННОЙ ОПУХОЛИ. ВЛИЯНИЕ ОБЛУЧЕНИЯ ПРОТОНАМИ ОТДЕЛЬНО И В СОЧЕТАНИИ С ИНГИБИТОРОМ СИНТЕЗА ДНК – АраЦ

Лесовая Е.Н., Садыкова О.Г., Лобачевский П.Н.

Лаборатория радиационной биологии, Объединенный институт ядерных исследований
ул. Жолио-Кюри, 6, г. Дубна, Московская обл., 141980, РФ; e-mail: sadykova@jinr.ru

Поступила в редакцию 01.08.2023. DOI: 10.29039/rusjbpс.2023.0639

Аннотация. Интерпретация роста злокачественной опухоли и ее реакции на терапевтическое воздействие требует рассмотрения ее гетерогенности с учетом присутствия в ней небольшой субпопуляции опухолевых стволовых клеток наряду с обычными опухолевыми клетками. В данной работе предложена математическая модель, сочетающая две основные концепции теории роста опухоли - стохастический рост и наличие субпопуляции опухолевых стволовых клеток. Модель представляет собой систему обыкновенных дифференциальных уравнений, описывающую динамику субпопуляций опухолевых клеток с учетом различных типов деления и переходов между ними. Важной особенностью системы является поддержание равновесной пропорции опухолевых стволовых клеток в необлученной опухоли с помощью обратной связи. Модель применена для интерпретации экспериментальных данных по торможению роста опухоли после одиночного облучения протонами в дозе 10 Гр и комбинированного действия облучения и ингибитора синтеза ДНК АраЦ у лабораторных мышей с привитой меланомой В16. Влияние облучения отдельно и облучения совместно с АраЦ включено в систему с помощью параметра, описывающего вероятность утраты клеткой способности к успешному делению. Рассчитанные в результате зависимости объема опухоли от времени для случаев без облучения, после облучения и после облучения с АраЦ служат хорошим приближением экспериментальных данных, что позволяет оценить параметры системы.

Ключевые слова: опухолевые стволовые клетки, радиотерапия, протоны, пик Брэгга радиосенсибилизаторы, обыкновенные дифференциальные уравнения, математическое моделирование.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время радиотерапия относится к одному из самых распространенных методов лечения рака наряду с хирургией и химиотерапией. Приблизительно половина всех онкологических больных проходят лечение радиотерапией как в качестве основного, так и вспомогательного метода. Традиционным подходом в радиотерапии является использование фотонного (рентгеновского) излучения, эффективность которого существенно возросла с использованием современных методов томографии опухолей. В последнее время также все более широкое распространение в радиотерапии получают корпускулярные типы излучения, такие как протоны и ионы углерода. Преимущество корпускулярных излучений заключается в том, что их физические характеристики позволяют максимально локализовать поглощенную дозу в опухоли при минимизации дозы в окружающих нормальных тканях [1].

Однако, несмотря на все достижения радиотерапии, сам по себе этот метод не обладает стопроцентной эффективностью излечения, поэтому актуальными остаются радиотерапевтические подходы с использованием различных радиосенсибилизаторов, которые увеличивают радиочувствительность преимущественно злокачественных клеток. Особенно применение радиосенсибилизаторов позволит эффективно лечить радиорезистентные опухоли, например, такие как меланома. Одним из таких потенциальных соединений является широко известный аналог цитозина 1- β -D-арабиофуранозилцитозин (АраЦ). Радиосенсибилизирующее действие АраЦ продемонстрировано в лабораторных условиях на различных радиобиологических моделях клеток и животных. Это соединение под названием цитарабин одобрено для клинического применения при лечении ряда злокачественных заболеваний, однако не в качестве радиосенсибилизатора, а в качестве цитостатического средства. Механизм действия АраЦ заключается в блокировании репликации ДНК, которая является неотъемлемым этапом репарации повреждений ДНК, в том числе и радиационно-индуцированных.

Необходимым элементом интерпретации реакции опухоли на облучение и применение радиосенсибилизаторов является понимание механизмов возникновения и прогрессирования опухолей. На сегодняшний день появляется все больше данных в пользу так называемой иерархической теории канцерогенеза в противоположность стохастической теории возникновения и прогрессирования опухолей, которая постулировала, что любая клетка злокачественной опухоли обладает клоногенными свойствами. В отличие от стохастической теории, иерархическая теория предполагает, что раковые клетки формируются и поддерживаются небольшой популяцией клеток – клеточных предшественников, которые обладают способностью неограниченного самообновления и способны дать начало всем остальным опухолевым клеткам в популяции [2]. Эти редкие клетки (их доля порядка 1% в опухоли [3,4]), называемые опухолевыми стволовыми клетками (ОСК), играют важную роль в иницировании и продолжении ракового процесса. Принято считать, что

ОСК являются более резистентными к воздействию терапевтических агентов, в том числе и радиации, а потому именно они являются одной из причин возникновения рецидива опухоли спустя некоторое время после лечения. Поэтому современные экспериментальные и теоретические исследования направлены на изучение особенностей ОСК, их отличие от других опухолевых клеток и ключевые аспекты их взаимодействия друг с другом, а также поиск методов лечения, нацеленных именно на ОСК.

Для изучения радиосенсибилизирующего потенциала АраЦ были проведены эксперименты на мышах с использованием модели опухоли меланомы В16 с целью установить влияние АраЦ на замедление роста опухоли после облучения протонами в пике Брэгга [4]. В этом исследовании радиосенсибилизирующий эффект АраЦ был подтвержден, а также было обнаружено снижение доли ОСК меланомы В16 в 3,1 раза после комбинированного воздействия АраЦ с протонами по сравнению с одиночным облучением. Однако в другом исследовании с этой же моделью было обнаружено увеличение доли ОСК после облучения опухоли фотонным излучением [5]. Данные результаты подчеркивают необходимость более детального изучения роли ОСК в реакции опухоли на облучение.

Целью данной работы является построение математической модели для описания и интерпретации экспериментальных данных, полученных в работе [4], по замедлению скорости роста опухоли после облучения протонами и таковыми в комбинации с АраЦ. Модель основана на концепции ОСК, как наиболее резистентного пула опухолевых клеток, способных дать начало всем другим клеткам и обеспечить рост опухоли после воздействия. Модель не претендует на рассмотрение всех деталей сложной структуры и взаимодействия всех компонентов опухоли, а учитывает только минимально необходимый уровень сложности для интерпретации вышеупомянутых экспериментальных данных.

МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ

В основу построения модели роста опухоли и ее реакции на облучение положены следующие предположения:

1. Опухоль содержит три субпопуляции клеток (рис. 1): а) небольшая субпопуляция опухолевых стволовых клеток (ОСК); б) самая многочисленная субпопуляция собственно клеток присущих рассматриваемой опухоли (ОК); и в) утратившие способность к делению опухолевые клетки из субпопуляции (а) (УСДК).

2. ОСК могут делиться как симметрично, давая начало двум новым ОСК (рис. 1), так и несимметрично, давая начало ОСК и ОК. Пропорция ОСК в опухоли поддерживается приблизительно постоянной с помощью обратной связи. Данное предположение связано с экспериментальными данными, указывающими на незначительные изменения доли ОСК в процессе роста опухоли [4].

3. ОСК ответственны за восполнение субпопуляции ОК в случае их гибели, что достигается путем увеличения вероятности несимметричного деления ОСК. Это предположение согласуется с общепризнанной ролью ОСК в опухоли [2].

4. Рост опухоли замедляется с увеличением ее объема. Это предположение следует из экспериментальных наблюдений [4,6], а также хорошо описано и применяется в других математических моделях [7].

5. Гибель клеток после воздействия (облучения или облучения в присутствии АраЦ) выражается в потере ими пролиферативной способности (репродуктивная гибель). При этом образуются так называемые УСДК (рис. 1). Вероятность перехода ОК в УСДК сохраняется у потомков ОК на протяжении нескольких делений. Это предположение подкреплено наблюдениями в экспериментах по изучению клоногенной выживаемости клеток, в которых наблюдается гетерогенность размеров колоний вследствие образования в процессе роста нежизнеспособных клеток [8-10].

6. УСДК вносят вклад в регистрируемый объем опухоли, однако с течением времени удаляются иммунной системой.

В модели для субпопуляций введены следующие обозначения:

$X(t)$ – объем, занимаемый опухолевыми клетками (ОК);

$Y(t)$ – объем, занимаемый опухолевыми стволовыми клетками (ОСК);

$Z(t)$ – объем, занимаемый утратившими способность к делению опухолевыми клетками (УСДК).

Симметричное деление ОСК на две ОСК происходит с вероятностью $-P_y$, а ассиметричное деление ОСК на ОСК и ОК, соответственно, с вероятностью $(1 - P_y)$. Мы не рассматриваем третий вариант деления ОСК, при котором образуются две ОК, так как модель с этим вариантом эквивалентна модели с двумя путями деления при соответствующем соотношении вероятностей [11,12].

В отличие от ОСК, ОК способны делиться только на две ОК, с вероятностью $-(1 - P_z)$, где P_z – есть вероятность репродуктивной гибели, то есть перехода ОК в состояние УСДК, при котором деления не происходит. Причиной репродуктивной гибели может быть наличие в клетке нерепарируемых повреждений ДНК, образованных в результате действия химического агента или радиации. ОК вполне могут утратить способность к делению и в отсутствие цитотоксического воздействия. Таким образом P_z зависит от внешних условий среды, в которой находится опухоль. Заметим, что для ОСК в нашей модели отсутствует механизм утраты способности к делению. Тем самым мы учитываем более высокую, по сравнению с ОК, устойчивость ОСК к неблагоприятным условиям.

Итак, модель представляет собой систему обыкновенных дифференциальных уравнений, вида:

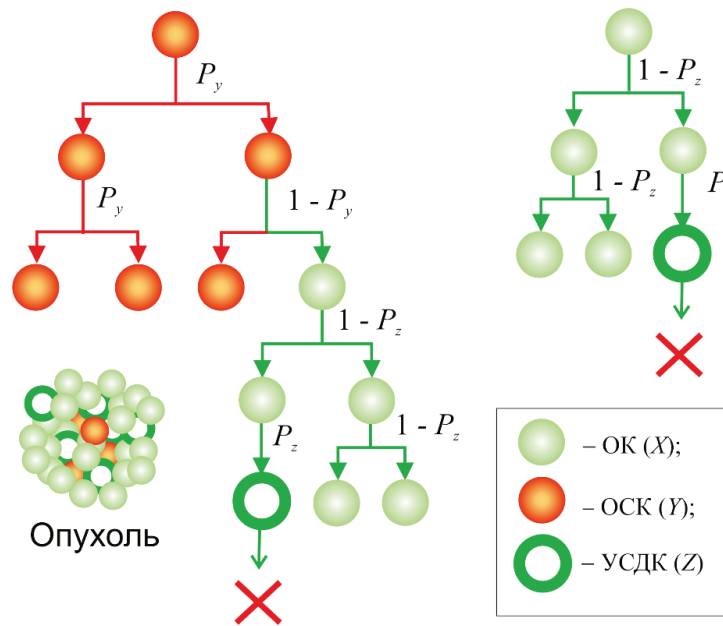


Рисунок 1. Пути и вероятности деления ОСК (слева) и ОК (справа), рассмотренные в данной модели. Симметричное деление ОСК с образованием двух ОСК происходит с вероятностью P_y , несимметричное деление ОСК с образованием ОСК и ОК происходит с вероятностью $1-P_y$. ОК делится только симметрично с образованием двух ОК с вероятностью $1-P_z$, а с вероятностью P_z переходит в УСДК

$$\frac{dX}{dt} = (K_{x0}(1 - 2P_z)X + K_y(1 - P_y)Y) \left(1 - \left(\frac{X+Y+Z}{V_{max}}\right)^b\right), \tag{1}$$

$$\frac{dY}{dt} = K_y P_y Y \left(1 - \left(\frac{X+Y+Z}{V_{max}}\right)^b\right), \tag{2}$$

$$\frac{dZ}{dt} = K_{x0} P_z X \left(1 - \left(\frac{X+Y+Z}{V_{max}}\right)^b\right) - K_z Z. \tag{3}$$

Ограничение роста опухоли, заявленное в предположении п.4, добавлено в уравнения (1) – (3) в виде множителя $1 - \left(\frac{X+Y+Z}{V_{max}}\right)^b$, в котором V_{max} представляет предельную величину объема опухоли, b – свободный параметр [7].

Параметр K_{x0} определяет скорость роста субпопуляции ОК или вероятность деления клетки в единицу времени, которая в нашей модели является постоянной величиной. Скорость роста субпопуляции ОСК – K_y учитывает имеющиеся у всех стволовых клеток, в том числе и у ОСК сигнальные механизмы, которые регулируют равновесную пропорцию стволовых клеток в опухоли. А именно, если пропорция ОСК превышает равновесную F_{s0} , то ОСК делятся медленнее, если наоборот по каким-либо причинам доля ОСК падает, то скорость их пролиферации возрастает. Итак, параметр K_y имеет вид:

$$K_y = K_{x0} \left(\frac{F_{s0}}{F_s}\right)^c, \tag{4}$$

где $F_s = Y/(X + Y + Z)$ – пропорция ОСК в общем объеме опухоли, c – свободный параметр. Такая зависимость скорости роста ОК диктуется условием, что при $F_s < F_{s0}$ единственным способом достижения баланса является увеличение скорости роста ОСК, в то время как при $F_s > F_{s0}$, баланс может быть достигнут как уменьшением их скорости роста, так и уменьшением вероятности симметричного деления ОСК P_y .

Полагаем, что P_y определяется величиной пропорции УСДК в опухоли $F_d = Z/(X + Y + Z)$. Если она возрастает, то соответственно, требуется восполнить популяцию ОК, значит должна увеличиться вероятность асимметричного деления. Итак, для P_y запишем следующее выражение

$$P_y = (1 - F_d)^d, \tag{5}$$

где d – свободный параметр, определяющий эффективность переключения деления ОСК на несимметричный путь при увеличении доли УСДК.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты численного решения системы уравнений (1) – (3) и подбора параметров для оптимальной подгонки к экспериментальным данным [4] представлены на рисунке 2. Соответствующие величины параметров показаны в таблицах 1 и 2.

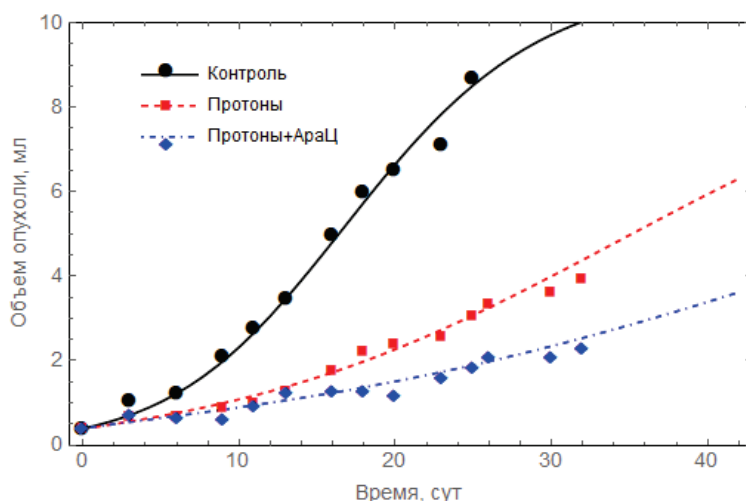


Рисунок 2. Результаты фитирования экспериментальных данных по росту опухоли, представленных символами [4], расчетными кривыми величины объема опухоли $V(t) = X(t) + Y(t) + Z(t)$, полученными при решении системы уравнений (1) – (3). Начальные условия для $X(0) = 0,99 V(0)$, $Y(0) = 0,01 V(0)$, и $Z(0) = 0$. $V(0) = 0,395$ мл (Контроль), $V(0) = 0,383$ мл (Протоны), $V(0) = 0,397$ мл (Протоны + АраЦ)

Значения скорости роста ОК K_{x0} , максимального объема V_{max} и показателя степени b подобраны для оптимального приближения рассчитанной временной зависимости роста необлученной опухоли к экспериментальному графику (рис. 2). При этом равновесная пропорция ОСК F_{s0} принималась равной 0,01 исходя из имеющихся экспериментальных данных, где обнаружено, что в стационарном состоянии доля стволовых клеток в очаге привитой опухоли редко превышает 1-3% [4]. Величина параметра $c = 2$ в выражении (4) практически не влияет на расчетную кривую роста необлученной опухоли. Она подбиралась таким образом, чтобы доля ОСК F_s выходила на равновесную величину 0,01 при начальных значениях $F_s(0)$ в диапазоне от 0,005 до 0,02. В окончательном варианте расчета $F_s(0)$ принималась равной 0,01.

В то время как рост необлученной опухоли близок к экспоненциальному с насыщением по мере приближения к V_{max} , облученные опухоли растут медленнее, чем по экспоненциальному закону (рис. 2). Фактор приближения к V_{max} для этих случаев вносит незначительный вклад, а основными механизмами замедления роста являются образование УСДК и их последующая элиминация. Величины вероятности перехода ОК в УСДК P_z и показателя степени d в выражении (5) приведены в таблице 2. Для необлученной опухоли принимали значение $P_z = 0,01$, которое практически не влияет на расчетную кривую, но отражает тот факт, что в необлученной опухоли тоже могут образовываться нежизнеспособные клетки.

Таблица 1. Параметры модели

Параметр	Наименование	Величина
K_{x0}	Скорость роста ОК, свободный параметр (сутки ⁻¹)	0,225
V_{max}	Максимальный объем опухоли, свободный параметр (мл)	11
F_{s0}	Равновесная доля стволовых клеток в опухоли	0,01
b	Свободный параметр модели	0,7
c	Свободный параметр модели	2
K_z	Скорость элиминации УСДК, свободный параметр (сутки ⁻¹)	0,18

Дополнительно к временным зависимостям злокачественного роста, интересно посмотреть, как ведут себя доля ОСК $F_s(t)$ и доля УСДК $F_d(t)$ в ответ на облучение и облучение в сочетании с АраЦ. Соответствующие графики приведены на рис. 3 и 4. Как видно, в обоих случаях: после облучения протонами и таковыми в сочетании с АраЦ, доля ОСК немного возрастает от заданной равновесной величины (рис. 3). Причем в случае

Таблица 2. Величина P_z в зависимости от облучения и комбинированного воздействия облучения с АраЦ

Условие	P_z	d
Контроль	0,01	3
Облучение	0,28	
Облучение + АраЦ	0,35	

комбинированного с АраЦ облучения этот эффект более выражен. В контексте модели это обусловлено уменьшением доли ОК в опухоли вследствие их перехода в УСДК и неспособности последних делиться. Подобные результаты наблюдались в ряде экспериментов по изменению доли стволовых клеток после облучения фотонами, например, в [5,13]. По-видимому, повышение доли ОСК происходит на фоне снижения скорости роста объемов субпопуляций как ОК, так и ОСК. Так рассчитанный нами рост объема субпопуляции ОСК существенно замедляется после облучения и комбинированного с АраЦ облучения по сравнению с контролем. Этот эффект демонстрирует срабатывание системы обратной связи и переключение ОСК на путь несимметричного деления, чтобы восстановить субпопуляцию ОК. Таким образом, мы получаем в модели опосредованный негативный эффект на ОСК исследуемого цитотоксического воздействия на ОК.

Как следовало ожидать, доля УСДК вначале расчетного периода существенно возрастает в отличие от необлученных УСДК (рис. 4). Далее, вследствие элиминации и наличия в модели системы обратных связей и за счет постепенного роста субпопуляций ОСК и ОК пропорция УСДК начинает убывать.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В работе построена новая математическая модель, описывающая динамику гетерогенной опухоли на основе концепции об опухолевых стволовых клетках. Модель представляет собой систему трех обыкновенных

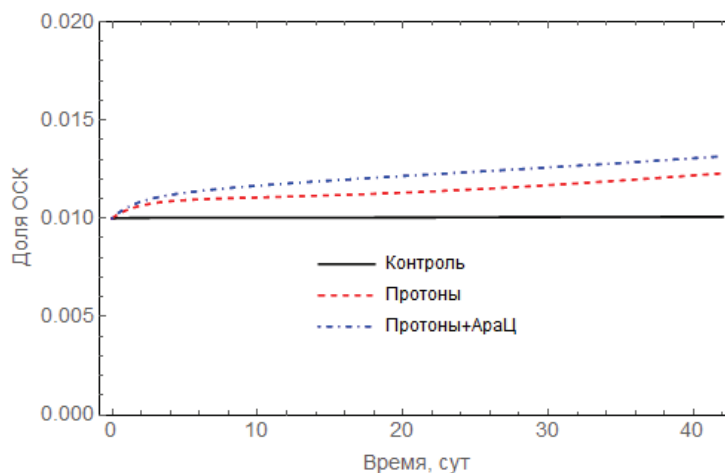


Рисунок 3. Доля ОСК в зависимости от времени. Начальные условия: 1% для всех графиков

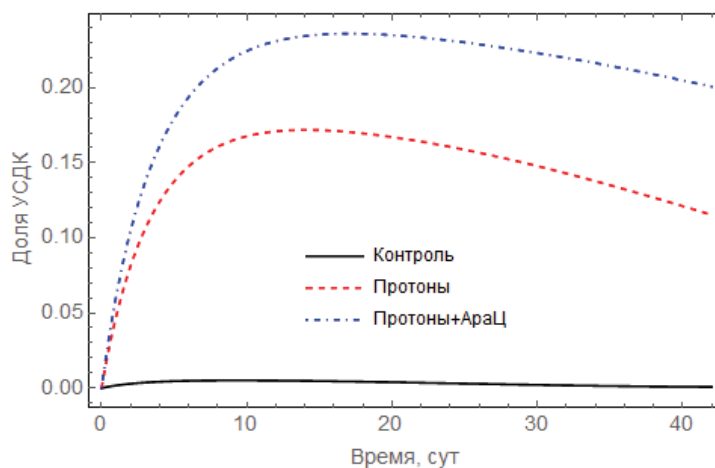


Рисунок 4. Доля УСДК в зависимости от времени. Начальные условия: 0% для всех графиков

дифференциальных уравнений для ОК, ОСК и УСДК. Включение в модель эффектов облучения протонами и протонами в сочетании с АраЦ задается путем изменения параметра, отвечающего за переход клеток из пролиферативного состояния в состояние, в котором дальнейшее деление невозможно. Важным достоинством предложенной системы уравнений является учет механизма саморегуляции выбора симметричного и асимметричного путей делений ОСК. Кроме того, в модели заложена устойчивость ОСК к воздействию неблагоприятных условий. Проявление радиорезистентности ОСК выражено в незначительном повышении их доли после облучения и облучения с АраЦ, как показано в наших расчетах.

В результате численного расчета продемонстрировано существенное снижение скорости роста опухоли после облучения. Причем дополнительное действие АраЦ усиливает эффект облучения. Получено хорошее согласие наших графиков для объемов опухоли в зависимости от времени с экспериментальными данными из работы [4]. С помощью аппроксимации экспериментальных графиков модельными кривыми подобраны оптимальные значения параметров модели.

Список литературы / References:

1. Mohan Rю, Grosshans D. Proton therapy - Present and future. *Adv Drug Deliv Rev.*, 2017, vol. 109, pp. 26-44.
2. Reya T., Morrison S.J., Clarke M.F., Weissman I.L. Stem cells, cancer, and cancer stem cells. *Nature*, 2001, vol. 414, no. 6859, pp. 105-111.
3. Yang G., Xue F., Chen X. Prognostic value of different amounts of cancer stem cells in different molecular subtypes of breast cancer. *Gland Surg.*, 2012, vol. 1, no. 1, pp. 20-4, doi: 10.3978/j.issn.2227-684X.2012.04.02.
4. Zamulaeva I.A., Matchuk O.N., Selivanova E.I. et al. Radiobiological Effects of the Combined Action of 1- β -D-Arabinofuranosylcytosine and Proton Radiation on B16 Melanoma in vivo. *Phys. Part. Nuclei Lett.*, 2023, vol. 20, pp. 63-75.
5. Matchuk O.N., Orlova N.V., Zamulaeva I.A. Changes in the relative number of SP cells of melanoma line B16 after radiation exposure in vivo. *Radiats Biol. Radioekol.*, no. 5, 2016, pp. 487-493.
6. Hu Z., Sun Y., Garen A. Targeting tumor vasculature endothelial cells and tumor cells for immunotherapy of human melanoma in a mouse xenograft model. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, vol. 96, no. 14, pp. 8161-8166, doi: 10.1073/pnas.96.14.8161.
7. Sachs R.K., Hlatky L.R., Hahnfeldt P. Simple ODE Models of Tumor Growth and Angiogenic or Radiation Treatment. *Mathematical and Computer Modelling*, 2001, vol. 33, pp. 1297-1305.
8. Kimmel M., Axelrod D.E. Unequal cell division, growth regulation and colony size of mammalian cells: A mathematical model and analysis of experimental data. *Journal of Theoretical Biology*, 1991, vol. 153, no. 2, pp. 157-180.
9. Panyutin I., Holar S., Neumann R. et al. Effect of ionizing radiation on the proliferation of human embryonic stem cells. *Sci Rep*, 2017, vol. 7, p. 43995
10. Axelrod D.E., Kuczek T. Clonal heterogeneity in populations of normal cells and tumor cells. *Computers & Mathematics with Applications*, 1989, vol. 18, iss. 10p11, pp. 871-881.
11. Weekes S.L., Barker B., Bober S., Cisneros K., Cline J., Thompson A., Hlatky L., Hahnfeldt P., Enderling H. A multicompartiment mathematical model of cancer stem cell-driven tumor growth dynamics. *Bull Math Biol.*, 2014, vol. 76, no. 7, pp. 1762-1782, doi: 10.1007/s11538-014-9976-0.
12. Gao X., McDonald J.T., Hlatky L., Enderling H. Acute and fractionated irradiation differentially modulate glioma stem cell division kinetics. *Cancer Res.*, 2013, vol. 73, no. 5, pp. 1481-1490, doi: 10.1158/0008-5472.CAN-12-3429.
13. Phillips T.M., McBride W.H., Pajonk F. The response of CD24(-/low)/CD44(+) breast cancer-initiating cells to radiation. *J. Natl Cancer Inst.* 98, 2006, pp. 1777-1785.

MODELING OF HETEROGENEOUS TUMOR DYNAMICS. THE INFLUENCE OF PROTON IRRADIATION ONLY AND IN COMBINATION WITH DNA SYNTHESIS INHIBITOR – ARAC**Lesovaya E.N., Sadykova O.G., Lobachevsky P.N.**

Laboratory of Radiation Biology, Joint Institute for Nuclear Research

Joliot-Curie Str., 6, Dubna, Moscow region, 141980, Russia; e-mail: sadykova@jinr.ru

Received 01.08.2023. DOI: 10.29039/rusjbp.2023.0639

Abstract. Interpretation of the growth of a malignant tumor and its response to therapeutic treatment requires consideration of its heterogeneity, taking into account the presence in it of a small subpopulation of tumor stem cells along with ordinary tumor cells. In present work, a mathematical model is proposed that combines two basic concepts of the theory of tumor growth - stochastic growth and the presence of a subpopulation of tumor stem cells. The model is a system of ordinary differential equations that describes the dynamics of subpopulations of tumor cells, taking into account different types of division and transitions between them. An important feature of the system is the maintenance of the equilibrium proportion of tumor stem cells in an unirradiated tumor using feedback. The model was used to interpret experimental data on inhibition of tumor growth after protons irradiation at a dose of 10 Gy only and the combined treatment of irradiation and the inhibitor of DNA synthesis AraC in laboratory mice with grafted melanoma B16. The effect of irradiation only and irradiation in combination with AraC is included in the system using a parameter describing the probability of loss of the cell's ability to successfully divide. As a result, the dependence of tumor volume on time calculated for cases without irradiation, after irradiation and after irradiation with AraC serves as a good approximation of experimental data, which makes it possible to evaluate the parameters of the system.

Key words: *cancer stem cells, radiotherapy, protons, Bragg peak, radiosensitizers, ordinary differential equations, mathematical modeling.*