

904165

На правах рукописи  
УДК 51-7:577.35

Ц-851

ИСАЕВА  
Ольга Геннадьевна

МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ  
ДИНАМИКИ МЕЖКЛЕТОЧНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ  
НА ПРИМЕРЕ ПРОТИВОРАКОВОГО ИММУННОГО  
ОТВЕТА

Специальность 03.01.02 — биофизика

Автореферат диссертации на соискание ученой степени  
кандидата физико-математических наук

Саратов 2010

Работа выполнена в Лаборатории теоретической физики им. Н.Н. Боголюбова  
Объединенного института ядерных исследований.

**Научный руководитель:** доктор физико-математических наук  
Осипов В.А.

**Официальные оппоненты:** доктор физико-математических наук  
профессор Максимова И.Л.  
доктор физико-математических наук  
Смирнова О.А.

**Ведущая организация:** Институт математических проблем  
биологии РАН

Защита состоится “\_\_\_” \_\_\_\_\_ 2010 года в \_\_\_\_\_ на заседании  
диссертационного совета Д 212.243.05 в Саратовском государственном уни-  
верситете им. Н.Г. Чернышевского по адресу: 410012, Саратов, ул. Астрахан-  
ская, 83.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке Саратовского  
государственного университета.

Автореферат разослан “\_\_\_” \_\_\_\_\_ 2010 года

Ученый секретарь  
диссертационного совета д.ф.-м.н.



Дербов В.Л.

Общая характеристика диссертации

Актуальность темы

Важная роль иммунной системы в подавлении роста некоторых типов зло-  
качественных новообразований подтверждается в многочисленных лаборатор-  
ных и клинических экспериментах [1-4]. При этом утверждается, что иммунный  
ответ развивается не только на опухоли, имеющие вирусное происхождение,  
например, лимфомы, саркомы, рак печени [2]. Экспериментально показано, что  
присутствие CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> Т лимфоцитов в опухолевых инфильтратах является  
благоприятным прогнозом в случае рака пищевода, меланомы, а также рака мо-  
лочной железы [2-4]. Мишенями для распознавания при иммунном ответе на  
опухоли не вирусного происхождения могут служить так называемые опухоле-  
ассоциированные антигены – компоненты опухолевых клеток, измененные (по  
структуре или экспрессии) относительно нормальных клеток организма [2,5].  
Таким образом, возникает вопрос о причинах низкой иммуногенности ряда  
опухолей, вследствие которых они практически не поддаются лечению.

В литературе широко обсуждаются механизмы обхода иммунологического  
надзора опухолевыми клетками [6-9]. Среди них выделяют способность опухо-  
левых клеток утрачивать антигенные детерминанты с поверхности, что препят-  
ствует их распознаванию цитотоксическими CD8<sup>+</sup> Т лимфоцитами [6,7]. Име-  
ются данные, что опухолевые клетки секретируют иммуносупрессивные факто-  
ры, например, индуцирующие апоптоз FasL [8]. Отмечают также важную роль  
регуляторных Т клеток в подавлении противораковых иммунных функций [6].  
Показано присутствие этих клеток в инфильтратах нескольких типов опухолей  
человека [9].

Известно, что по мере развития злокачественной опухоли происходит по-  
давление общего состояния иммунной системы [10]. Например, злокачествен-  
ный процесс часто способствует повышенному производству глюкокортикоид-  
ов, которые ингибируют развитие клона специфических Т лимфоцитов. В не-  
которых случаях по причине иммунодепрессии отказываются от применения  
традиционных химиотерапии и радиотерапии. Несмотря на значительное усо-  
вершенствование техники доставки максимальной токсической дозы в опухоль,

Объединенный институт  
ядерных исследований  
БИБЛИОТЕКА

остается опасность повреждения здоровых тканей, в том числе ближайших к опухоли органов иммунной системы. Более того, радиотерапия и химиотерапия могут оказаться не эффективными для лечения больных с ослабленным иммунитетом. Поэтому изучение противоракового иммунного ответа, а также способов усиления угнетенной малигнизацией противораковой резистентности организма и общего состояния иммунной системы является важной и интересной проблемой.

В области лечения злокачественных новообразований появляются новые методы иммунотерапии. Широкое распространение для системного и регионального лечения получает терапия с использованием таких рекомбинантных цитокинов как интерлейкин-2 (ИЛ-2) и интерферон- $\alpha$  (ИФН- $\alpha$ ) (см., например, [11] и указанные там ссылки). В организме они играют важную роль в регуляции иммунного ответа [2,11]. Однако, главным ограничением такого метода иммунотерапии является выраженная токсичность [11]. В экспериментах и клинических испытаниях показана высокая эффективность противораковых вакцин, основанных как на готовых активированных Т лимфоцитах, так и на пептидах опухолевого происхождения [12,13]. Важным достоинством вакцинной терапии является ее низкая токсичность. Интересно отметить результаты исследований противораковых эффектов неионизирующего излучения. В серии экспериментов на мышах было показано, что фотодинамическая терапия способна усиливать противораковый иммунный ответ (см., например, [14]). Экспериментально обнаружено иммуностимулирующее действие низкоинтенсивного сверхвысокочастотного электромагнитного излучения (СВЧ) [15,16]. В настоящее время разрабатываются методы сочетания иммунотерапии с традиционными методами лечения рака, такими как химиотерапия и радиотерапия [17-20]. В частности, в [17] показано, что последовательное назначение химио- и иммунотерапии является более эффективным по сравнению с курсом одиночной химиотерапии. При этом обнаружено, что курс иммунотерапии сразу после химиотерапии дает большее количество положительных ответов, чем обратная последовательность. Таким образом, важной задачей является выбор правильного протокола лечения. Кроме того при назначении курса терапии необходимо

учитывать особенности гистологии опухоли и состояние иммунной системы организма.

Построение адекватной математической модели злокачественного роста с корректным учетом действия определенного вида терапии позволит предсказать поведение опухоли после прекращения лечения и, следовательно, определить наиболее подходящий для пациента курс терапии. Существующие математические модели показывают, что включение динамики иммунного ответа в модели опухолевого роста является существенным для получения клинически наблюдаемых сценариев развития опухоли, таких как неконтролируемый рост опухоли, торможение развития опухоли и колебания размера опухоли.

Для описания взаимодействий между опухолью и иммунной системой широко используются методы популяционной динамики [21-26]. Иммунная реакция на чужеродные агенты, в том числе, на опухолевые клетки представляет собой сложный контролируемый процесс, обеспечиваемый слаженной работой целого ряда клеточных популяций и молекулярных медиаторов. Важной задачей моделирования является определение тех компонентов иммунного ответа, которые оказывают наибольшее влияние на динамику системы, а также представляют интерес для исследования в рамках конкретной задачи.

Первые модели противоракового иммунитета рассматривали взаимодействие двух клеточных популяций: опухолевых клеток и реагирующих на них специфических Т лимфоцитов [21-23]. С развитием методов иммунотерапии и биотерапии возникает необходимость определения эндогенной динамики применяемых при лечении цитокинов, чтобы оценить оптимальный режим дозирования. С этой целью разрабатываются модели с учетом влияния цитокинов. Одна из первых моделей, рассматривающих действие иммунотерапии, основанной на введении ИЛ-2 и активированных Т клеток, была предложена в работе [24]. Модель представляет систему трех обыкновенных дифференциальных уравнений, описывающих динамику опухолевых клеток, эффекторных клеток и ИЛ-2. Популяция эффекторных клеток здесь объединяет макрофаги, НК-клетки и CD8+ Т клетки. Позже в работе [25] была предложена модель, где для описания популяций НК-клеток и CD8+ Т клеток используются отдельные уравнения. В

отличие от [24] в модели [25] не учитывается естественная динамика ИЛ-2, а рассматривается только его внешнее поступление и элиминация. В рамках данной модели рассмотрены эффекты химиотерапии, иммунотерапии, их сочетания и вакцинной терапии. Следует отметить работу [26], где в рамках модели [24] исследуется биотерапия с использованием малой интерферирующей РНК (миРНК). Данный метод позволяет сократить выработку трансформирующего фактора роста- $\beta$  (ТФР- $\beta$ ), который, как известно, обладает иммуносупрессивным действием. Поэтому модель [24] усложняется путем включения уравнений динамики ТФР- $\beta$  и терапевтической концентрации миРНК. В таком виде модель позволяет получить условия, когда лечение миРНК успешно переводит опухолевую популяцию в состояние, контролируемое иммунной системой.

**Целью работы** является построение и исследование кинетической модели межклеточных взаимодействий при клеточном иммунном ответе на злокачественный рост, с учетом ИЛ-2, а также рассмотрение влияния противоракового иммунного ответа на эффективность некоторых известных методов лечения.

**Научная новизна** В настоящее время развиты различные подходы к моделированию злокачественного процесса. Их можно разделить на дискретный, клеточные автоматы, континуальный подход, использующий системы обыкновенных дифференциальных уравнений и уравнений в частных производных для основных компонентов иммунологической реакции, а также гибридный, сочетающий дискретный и континуальный. Ценность континуального метода состоит в простоте применения. Известны попытки расчета оптимальных протоколов химиотерапии и иммунотерапии с помощью подходящих кинетических моделей (см., например [27]).

В представленной на защиту диссертации сформулирована модель противоракового иммунного ответа с учетом ИЛ-2 в виде системы обыкновенных дифференциальных уравнений для популяций опухолевых клеток, цитотоксических Т лимфоцитов, CD8+ Т лимфоцитов (ЦТЛ) и ИЛ-2. Здесь следует отметить ряд существенных отличий от предложенной ранее модели [24]. Прежде всего, для описания роста опухоли используется закон Гомперца [28]. В этом случае стационарное состояние, характеризующее отсутствие опухоли, остается

неустойчивым при любых значениях модельных параметров. Следовательно, даже одна злокачественная клетка может образовать большую колонию. Это позволяет объяснить возникновение рецидивов опухоли и невозможность спонтанной регрессии опухоли до полного исчезновения. В рамках предложенной модели учитывается постоянный приток ЦТЛ в опухоль, чтобы отразить их присутствие в популяции циркулирующих лимфоцитов [4]. Включение постоянного притока ЦТЛ позволяет также учесть восполнение местной популяции активных иммунных клеток, утраченных, например, в результате химического или радиационного поражения, за счет неповрежденных циркулирующих лимфоцитов. В представленной модели впервые рассматривается инактивация молекул ИЛ-2 продуктами метаболизма опухолевых клеток, чтобы показать иммуносупрессивное действие опухоли. В отличие от [24], где рассматривается, что ИЛ-2 производится эффекторными клетками, в данной модели продукция ИЛ-2 зависит от концентрации предшественников Т хелперов и антиген представляющих клеток (АПК), а также уровня презентации опухолевых антигенов на АПК, который характеризует степень иммуногенности опухолей [2]. Действительно, известно, что основными продуцентами цитокинов, в том числе и ИЛ-2, являются активированные CD4+ Т лимфоциты (Т хелперы) [2]. Значимость и необходимость учета упомянутых компонентов модели в динамике опухоли подтверждается анализом чувствительности.

Предложен феноменологический подход описания иммуностимулирующего действия низкоинтенсивного электромагнитного излучения СВЧ диапазона. На примере исследуемой модели показано ослабление роста опухоли и восстановление концентрации ИЛ-2 после облучения. Эти результаты качественно согласуются с экспериментальными данными по изучению эффектов слабого СВЧ на мышах с переносимыми опухолями [16].

Рассмотрено действие следующих методов лечения: химиотерапии, иммунотерапии с использованием ИЛ-2 и ИФН- $\alpha$ , стратегий их сочетания, вакцинной терапии. Для этого в исходную систему добавлены уравнения, описывающие динамику химического препарата и динамику экзогенного ИФН- $\alpha$ . Действие вакцинной терапии учитывается через параметры модели. С целью де-

монстрации индивидуального характера реакции на лечение, расчеты проводились для трех наборов параметров, определяющих различное состояние иммунной системы.

Впервые учитывается запаздывание восстановления численности популяций опухолевых клеток и ЦТЛ при описании действия радиотерапии. Оно возникает в результате значительного повреждения ионизирующей радиацией капиллярной сети опухоли. Для этого в модель добавляются уравнения, описывающие динамику эндотелиальных клеток, образующих кровеносные сосуды, регулирующего цитокина и нормальных клеток. Анализ расширенной модели показывает, что эффективность иммунного ответа определяется уровнем развития индуцированного опухолью ангиогенеза. При этом обнаружено, что при высоком уровне секреции ангиогенного фактора (АФ), в качестве которого может выступать фактор роста эндотелия сосудов (ФРЭС), иммунный ответ становится неэффективным для торможения роста опухоли, что согласуется с экспериментальными наблюдениями [29].

Впервые выполнен расчет однократного применения фотодинамической терапии в рамках модели противоракового иммунного ответа, учитывающей ангиогенез. С этой целью была рассмотрена пространственная динамика клеточных популяций. Полученные результаты отражают зависимость эффектов ФДТ от концентрации кислорода. Обнаружено выраженное иммуностимулирующее действие фотодинамической терапии, которое проявляется в продолжительной ремиссии заболевания, а также повышением уровня ИЛ-2. Однако в случае слабого иммунного ответа стимуляции ФДТ недостаточно для реализации положительного эффекта и опухолевая популяция продолжает увеличиваться. Отсюда можно заключить, что динамика противоракового иммунного ответа играет важную роль в долгосрочной эффективности ФДТ.

**Практическая значимость** Предложенная модель может использоваться для описания ранних стадий развития опухоли или малой популяции злокачественных клеток как рецидива после хирургического лечения. В этом случае иммунный ответ играет определяющую роль в динамике опухоли, тогда как на более поздних стадиях его функции значительно подавлены.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что положительная реакция на лечение зависит от состояния иммунной системы пациента и от размера опухолевой популяции. Таким образом, представленный анализ позволяет оценивать индивидуальные протоколы химио-, радио- и иммунотерапии, а также их сочетания. Например, при расчете радиотерапии было получено, что в случае ослабленной иммунной системы длительный период ремиссии опухоли достигается только после применения вакцинной терапии. Однако следует учитывать, что вакцинная терапия должна быть назначена не позднее определенного срока после радиотерапии. В работе представлен сравнительный анализ различных режимов радиотерапии. Показано, что режим гиперфракционирования является более эффективным при лечении опухоли по сравнению с остальными режимами.

Следует отметить, что в рамках анализа модели, учитывающей индуцированный опухолью ангиогенез, получено важное условие для параметров, характеризующих этот процесс в нормальной ткани. Это условие можно использовать для ограничения доз антиангиогенных препаратов, поскольку неконтролируемое подавление ангиогенеза может стать причиной нарушения процесса тканевой репарации.

#### **На защиту выдвигаются следующие результаты**

1. Сформулирована математическая модель, описывающая динамику иммунного ответа на рост небольшой опухолевой популяции. В рамках модели получены основные клинически наблюдаемые режимы динамики опухоли: колебания численности опухолевой популяции, регрессия опухоли до малого размера и неконтролируемое развитие опухолевой популяции до максимально возможного размера. Показана важная роль презентации антигенов на поверхности антиген представляющих клеток для формирования эффективной иммунной реакции на слабо иммуногенные опухоли или быстрорастущие опухоли.

2. Показано выраженное иммуностимулирующее действие низкоинтенсивного СВЧ, проявляющееся в подавлении роста опухолевой популяции и восстановлении концентрации ИЛ-2. С учетом состояния иммунной системы пациентов выполнен расчет таких методов лечения, как химиотерапия, иммунотера-

пия, последовательные сочетания химио- и иммунотерапии, а также вакцинная терапия. Полученные результаты указывают на важную роль противоракового иммунного ответа в регуляции развития опухолевой популяции после проведенного лечения.

3. В рамках расширенной модели, учитывающей ангиогенез, обнаружено подавление противоракового иммунного ответа при повышении уровня продукции ангиогенных факторов опухолевыми клетками. Расчеты показывают возможность усиления противораковой резистентности при назначении курса вакцинной терапии не позднее определенного срока после радиотерапии. Получено условие, ограничивающее выбор модельных параметров, которые характеризуют ангиогенез в нормальной ткани. Этот результат может быть использован при разработке курсов антиангиогенной терапии.

4. Рассмотрены эффекты фотодинамического воздействия в рамках модифицированной модели, учитывающей пространственную неоднородность распределения клеточных популяций. Обнаружено, что на раннем этапе ангиогенеза, когда популяция опухолевых клеток развивается медленно, однократного фотодинамического воздействия может быть достаточно, чтобы остановить рост опухоли и получить режим ремиссии заболевания. Показано, что важную роль в достижении этого результата играет противораковый иммунный ответ.

**Апробация работы.** Результаты, представленные в диссертации, докладывались и обсуждались на научных семинарах Лаборатории теоретической физики им. Н.Н. Боголюбова Объединенного института ядерных исследований, а также представлялись и докладывались на: Международной конференции "Saratov fall meeting" (Саратов, Россия, 2009), Международной конференции "Cancer system biology" (Rostock-Warnemünde, Germany, 2009); Международной конференции «Математическая биология и биоинформатика» (Пушино, Россия, 2006); Международной конференции «Physics of biological systems» (Dresden, Germany, 2006); 10-й научной конференции молодых ученых и специалистов ОИЯИ (Дубна, 2006); 12-й научной конференции студентов, аспирантов и молодых специалистов университета «Дубна», (Дубна, 2005).

**Публикации** По материалам диссертации опубликовано 8 работ.

**Структура и объем работы** Диссертация состоит из введения, четырех глав, заключения и списка литературы 126 наименований. Работа изложена на 119 страницах, иллюстрирована 31 рисунком.

#### КРАТКОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

**Во введении** обсуждается актуальность проводимых исследований.

**В первой главе** дается краткий обзор моделей злокачественного роста, в том числе моделей противоракового иммунного ответа. Обсуждаются особенности предлагаемой в диссертации модели.

**Во второй главе** формулируется модель, описывающая динамику иммунной реакции на растущую опухолевую популяцию. Для этого используется схема межклеточных взаимодействий, опосредованных цитокинами, при клеточном иммунном ответе, предложенная в [30], которая была модифицирована включением костимулирующих факторов, таких как B7/CD28 и CD40/CD40L вместо ИЛ-1 [2]. Модель представляет собой систему 7 обыкновенных дифференциальных уравнений для клеточных популяций, играющих важную роль в развитии специфического иммунного ответа, и концентрации ИЛ-2. В рамках стандартного подхода производится упрощение системы, в результате которого получаются три уравнения, описывающие динамику опухолевых клеток,  $T(t)$ , ЦТЛ,  $L(t)$  и ИЛ-2,  $I_2(t)$

$$\frac{dT}{dt} = -\alpha_T T \ln \frac{\beta_T T}{\alpha_T} - \gamma_L L T, \quad (1)$$

$$\frac{dL}{dt} = V_L + \alpha_L L I_2 - \beta_T L, \quad (2)$$

$$\frac{dI_2}{dt} = \frac{\alpha_{I_2} T}{T + K_T} - \tilde{\alpha}_L L I_2 - \gamma_T T I_2. \quad (3)$$

Рост опухолевых клеток описывается законом Гомперца (первое слагаемое в (1)). Выражение  $\alpha_T/\beta_T$  определяет максимально возможное значение численности популяции опухолевых клеток – «емкость» популяции. Скорость уничтожения раковых клеток ЦТЛ представлена вторым слагаемым (1). При этом параметр  $\gamma_L$  характеризует уровень антигенов, представленных молекулами МНС класса I на поверхности опухолевых клеток, которые распознаются ЦТЛ.

Первое слагаемое уравнения (2) есть постоянный приток ЦТЛ в область опухоли. Второе слагаемое отражает скорость прироста ЦТЛ, которая принимается пропорциональной концентрации ИЛ-2, поскольку ИЛ-2 является главным ростовым фактором для ЦТЛ. Скорость гибели пропорциональна числу ЦТЛ (третье слагаемое (2)). Скорость продукции ИЛ-2 описывается гиперболой (первое слагаемое в (3)). Это выражение отражает ограничение стимуляции иммунного ответа с ростом популяции опухолевых клеток. Параметр  $\alpha_{I_2}$  в (3) характеризует экспрессию антигенов в комплексе с молекулами МНС класса II, которые распознаются предшественниками Т хелперов, на поверхности АПК. Поскольку ИЛ-2 считается короткодействующим цитокином, учитывается потеря его молекул через связывание с соответствующими рецепторами на поверхности ЦТЛ (второе слагаемое). Третье слагаемое в (3) характеризует прямое повреждающее действие различных иммуносупрессивных субстанций, например простагландинов или других продуктов метаболизма опухолевых клеток, на молекулы ИЛ-2.

Для удобства анализа система (1)—(3) была переписана в безразмерных переменных. В рамках стандартного подхода исследуются особые точки системы (1)—(3). Существование нулевой (без опухоли) особой точки, неустойчивой при любых значениях модельных параметров, означает, что сил иммунного ответа недостаточно, чтобы полностью уничтожить все клетки опухоли. Кривая, изображенная на рис. 1, иллюстрирует зависимость стационарных состояний системы (1)—(3) от безразмерного параметра  $h_6$ , пропорционального  $\alpha_{I_2}$ . При низком уровне антигенной презентации иммунная система не способна остановить злокачественный рост. При высокой антигенной презентации происходит регрессия опухоли до малого размера, при котором устанавливается динамическое равновесие между опухолью и иммунной системой. При среднем уровне антигенной презентации эффективность иммунного ответа зависит от начальных концентраций взаимодействующих компонентов. В случае, когда величина антигенной презентации выше точки бифуркации Хопфа система стремится к устойчивому предельному циклу, и, следовательно, реализуются колебания

численности рассматриваемых популяций. Построены бифуркационные диаграммы для антигенной презентации на АПК в зависимости от скорости роста опухолевой популяции и от уровня антигенной экспрессии на поверхности раковых клеток. Показано, что при малой скорости пролиферации опухолевых клеток, иммунная система способна контролировать рост опухоли, даже при низкой антигенной презентации, тогда как для контроля быстрорастущих опухолей требуется увеличение антигенной презентации. Опухолевые клетки с достаточно высоким уровнем поверхностных антигенов могут эффективно распознаваться ЦТЛ. Однако в случае ослабленной экспрессии антигенов антигенная презентация на АПК играет определяющую роль в формировании иммунного ответа.

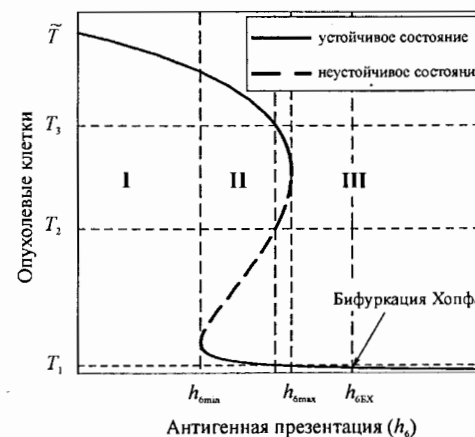


Рис. 1. Кривая стационарных состояний системы в зависимости от параметра, характеризующего антигенную презентацию. При  $h_6 < h_{6min}$  имеет место только одно ненулевое стационарное состояние — устойчивый узел. Когда  $h_{6min} < h_6 < h_{6max}$  имеются два устойчивых стационарных состояния — устойчивый узел и устойчивый фокус и одна неустойчивая точка типа седло (область II). При  $h_6 > h_{6max}$  остается только одно стационарное состояние — устойчивый фокус (область III). При  $h_6 > h_{6ex}$  особая точка становится неустойчивой, и происходит рождение предельного цикла (бифуркация Хопфа).

В главе 2 предложен возможный механизм иммуностимулирующего действия низкоинтенсивного СВЧ электромагнитного излучения при канцерогенезе у мышей через активацию систем клеточного ответа на небольшое увеличе-



ние уровня свободных радикалов после облучения. В рамках феноменологического подхода влияние СВЧ учитывается как слабое возмущение параметров системы. Расчет электромагнитного воздействия выполнен для двух различных наборов параметров M1 и M2, при которых возможны два режима динамики опухоли, зависящие от начальных условий. Показано, что в результате электромагнитного воздействия (ежедневно по 1,5 ч в день в течение 20 дней [16]) происходит восстановление пониженной при опухолевом росте концентрации ИЛ-2. Для случая M2 начальные условия выбираются так, чтобы получить прогрессивный рост опухоли. Обнаружено, что после прекращения облучения для M2 имеет место регрессия опухоли. Таким образом продемонстрирован эффект подавления роста опухоли, который происходит в результате усиления функций иммунного ответа слабым электромагнитным воздействием.

Для учета химиотерапии в систему добавляется уравнение для химического препарата, а в уравнения для опухолевых клеток и лимфоцитов вводятся слагаемые, описывающие скорость уничтожения клеток в результате химического воздействия, аналогично [25]. Для описания иммунотерапии в уравнение для ИЛ-2 добавляется слагаемое, определяющее внешний приток данного цитокина. В модель также добавляется уравнение динамики терапевтического ИФН- $\alpha$ . Известно, что ИФН- $\alpha$  усиливает экспрессию антигенов на поверхности опухолевых клеток. Поэтому в модели предполагается, что параметр, характеризующий уровень антигенной экспрессии, увеличивается с ростом концентрации ИФН- $\alpha$ . В системе учитывается факт усиления действия химического препарата в присутствии ИЛ-2 [18]. Предполагая, что противораковая вакцина основана на пептидах опухолевого происхождения и направлена на усиление иммунного ответа, ее действие учитывается через изменение модельных параметров. Чувствительные к вакцине параметры определяются из экспериментальных данных. Рассматривается два случая назначения вакцинации без запаздывания и с десятидневной задержкой от предписанной даты для двух состояний заболевания: после хирургического лечения и без предварительного лечения ранней опухоли. В таблице 1 кратко представлены результаты численных расчетов исследуемых методов лечения для трех наборов параметров P1, P2 и P3, отража-

ющие разное состояние иммунной системы пациентов. В случае P1 и P2 система имеет одно устойчивое стационарное состояние (область I на рис. 1), которое соответствует слабому иммунному ответу. При выборе параметров P3 в системе имеется два устойчивых стационарных состояния и одно неустойчивое (область II на рис. 1). Это означает, что возможен режим контроля опухоли иммунной системой. На основании полученных результатов проводится сравнительный анализ стратегий лечения.

Таблица 1. Эффекты различных методов лечения для трех наборов параметров.

	P1		P2		P3					
	$t_0$	$\Delta T$	$t_0$	$\Delta T$	$t_0$	$\Delta T$	$t_0$	$\Delta T$		
Химиотерапия		↑ 13.4		↑ 11.4		↑ 20		↑ 0.1	↓ 0.43	
ИЛ-2		↓ 0.34		↑ 7.5		↑ 21		↓ 0.82	↓ 0.92	
ИЛ-2 и ИФН- $\alpha$		↓ 0.42		↑ 3.9		↑ 10		↓ 0.95	↓ 0.93	
Химио/иммуно	6	↑ 9.92	3	↑ 9.3	6	↑ 23.9	3	↓ 0.68	6	↓ 0.88
Иммуно/химио		↑ 12.8		↑ 10.2		↑ 24.3		↓ 0.48		↓ 0.88
Химио и иммуно		↑ 10.9		↑ 9.5		↑ 24		↓ 0.63		↓ 0.88
Вакцинация без 10 дневного запазды- вания		↓ 0.25		↑ 8.92		↑ 18.7		↓ 0.91		↓ 0.91

\*Принимается, что лечение P1 и P2 назначено после хирургии, а для P3 без предварительного лечения. Стрелка ↑ означает увеличение размера опухоли, ↓ — снижение размера опухоли. Относительное изменение размера популяции опухолевых клеток представлено как  $\Delta T = (T(t_0) - T(0))/T(0)$ .  $t_0$  — время после начала лечения, недели. Для P1 и P2 начальные условия:  $T(0) = 8 \times 10^6$  кл.,  $L(0) = 2.25 \times 10^7$  кл.,  $I(0) = 2.4 \times 10^7$  ед., для P3 —  $T(0) = 3 \times 10^7$  кл.,  $L(0) = 3.45 \times 10^7$  кл.,  $I(0) = 1.7 \times 10^7$  ед.

Так, например, для второй группы пациентов (P2) в результате как ИЛ-2, так и ИЛ-2+ИФН- $\alpha$  курсов наблюдается более медленный рост по сравнению с химиотерапией. Однако через 6 недель после начала ИЛ-2 терапии опухоль достигает практически такого же размера как в случае химиотерапии. Обнаружено, что эффекты последовательного режима химио/иммунотерапии практически совпадают с результатами иммуно/химиотерапии и одновременного примене-



ния химио- и иммунотерапии. Причиной таких результатов может служить тот факт, что ИЛ-2 терапия менее эффективна во второй группе, поскольку стимуляции пролиферации ЦТЛ введением ИЛ-2 становится недостаточно для эффективного распознавания опухолевых клеток несущих малое количество антигенов. Хотя ИЛ-2 и ИЛ-2+ИФН- $\alpha$  курсы терапии кажутся, на первый взгляд, наиболее удобными для Р2 по сравнению с другими курсами, при выборе оптимального лечения все же следует учитывать, что вакцинальная терапия менее токсична. Проведя аналогичные рассуждения для остальных групп пациентов Р1 и Р3, можно заключить, что наиболее эффективным способом лечения для Р1 является вакцинальная терапия, в то время как для Р3 существуют альтернативные протоколы лечения, например с применением ИЛ-2 и ИФН- $\alpha$ .

**В третьей главе** исследуется влияние радиотерапии на динамику противоракового иммунного ответа в рамках более сложной модели, учитывающей ангиогенез. Здесь в исходную систему добавляются три уравнения, два из которых описывают динамику эндотелиальных клеток и ангиогенного фактора (АФ), а третье – популяцию нормальных клеток. В уравнения исходной модели вносятся изменения, характеризующие влияние эндотелиальных клеток и ангиогенного фактора на иммунный ответ. В частности, аналогично работе [31], «емкость» популяции опухолевых клеток считается пропорциональной числу эндотелиальных клеток. Это позволяет отразить зависимость развития опухоли от состояния капиллярной сети. В расширенной модели также учитывается стимуляция роста сосудов опухолевыми клетками через продукцию АФ, аналогично [26]. Полагается, что приток ЦТЛ зависит от числа эндотелиальных клеток. В рассмотрение вводится угнетение стимуляции иммунного ответа с ростом уровня АФ [26,29]. В расширенной модели не учитывается пространственная неоднородность распределения клеточных популяций. Это допускается при рассмотрении начальных этапов ангиогенеза, когда популяция опухолевых клеток достаточно мала и в ней нет выделенных областей с низким содержанием кислорода, и, как следствие, отличающихся по радиочувствительности от более оксигенированных участков.

Анализ стационарных состояний полученной системы позволяет получить условие, ограничивающее выбор значений модельных параметров, характеризующих скорость продукции АФ в ответ на дефицит нормальной ткани, скорость элиминации АФ, а также скорость пролиферации и скорость гибели эндотелиальных клеток. В случае нарушения этого условия, имеет место режим полного подавления всех рассматриваемых клеточных популяций системы, что недопустимо для нормального развития ткани. При анализе модели обнаружены следующие динамические режимы. При низких, практически нулевых, значениях скорости продукции ангиогенных факторов, имеет место режим регрессии опухоли до малого размера под действием иммунной системы. С увеличением скорости продукции АФ появляется режим прогрессивного роста опухоли. В данном случае развитие заболевания зависит от размера опухоли, состояния капиллярной сети и популяции лимфоцитов. При высоких значениях скорости продукции АФ иммунная система неспособна сдерживать рост опухоли. Имеет место неконтролируемый рост опухоли.

Эффекты ионизирующей радиации рассматриваются в рамках формализма линейно-квадратичной модели. Для этого в расширенную модель добавляются два уравнения для среднего числа радиационных повреждений, аналогично [32]. На основе рассуждений, приведенных в [32], в уравнения для клеточных популяций включаются слагаемые, описывающие скорость гибели клеток пропорционально количеству повреждений. Рассматривается влияние стандартного курса радиотерапии (30 сеансов облучения в дозе 2 Гр в течение 5 мин.) на динамику системы для двух наборов параметров Р1 и Р3. Численные расчеты показывают, что в случае сильного иммунного ответа радиотерапия способствует достижению режима ремиссии опухоли, тогда как в случае слабого иммунного ответа для торможения роста опухоли требуется назначение вспомогательной вакцинальной терапии не позднее определенного срока после окончания курса радиотерапии (см. рис. 2). В качестве дополнительного результата приводятся полученные путем численного расчета дозовые зависимости вероятности излечения и биологической эффективной дозы (БЭД) для трех курсов фракционирования дозы. Сравнительный анализ кривых позволяет

сделать вывод, что режим гиперфракционирования наиболее эффективен для лечения, если в качестве изоэффекта рассматривать БЭД. С другой стороны этот режим является более щадящим, если в качестве изоэффекта брать вероятность излучения.

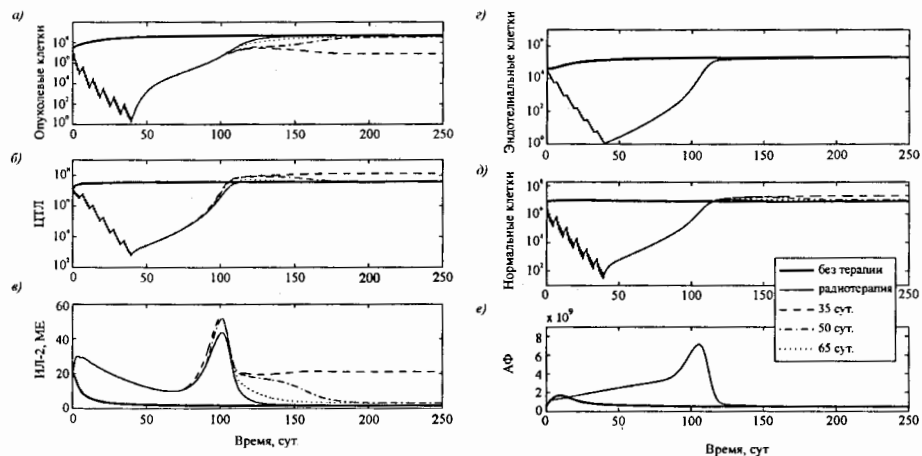


Рис. 2. Эффекты радиотерапии: 30 сеансов облучения в дозе 2 Гр ежедневно, исключая выходные дни, и последующей вакцинальной терапии для набора параметров P1. а) опухолевые клетки б) цитотоксические Т лимфоциты и в) интерлейкин-2, г) эндотелиальные клетки д) нормальные клетки и е) ангиогенный фактор. Начальные условия:  $3 \cdot 10^7$  опухолевых клеток,  $1.35 \cdot 10^7$  ЦТЛ,  $1.8 \cdot 10^7$  молекул ИЛ-2,  $4 \cdot 10^4$  эндотелиальных клеток,  $8 \cdot 10^6$  нормальных клеток и  $6 \cdot 10^8$  молекул АФ.

**В четвертой главе** исследуется влияние фотодинамической терапии на противораковый иммунный ответ. Для этого в представленную в главе 3 модель добавляется уравнение динамики доли не поврежденного клеточного субстрата, заимствованное из работы [33]. Дополнительно, в этом уравнении учитывается, что скорость повреждения субстрата зависит от концентрации кислорода. Причем предполагается, что концентрация кислорода прямо пропорциональна количеству эндотелиальных клеток. Аналогично [33], в уравнения для клеточных популяций включаются дополнительные слагаемые, описывающие гибель клеток с ростом доли субстрата, окисленного в результате фотохимических реакций. С целью учесть ослабление интенсивности лазерного излучения при прохождении вглубь ткани, а, следовательно, уменьшение цитотоксического эффекта, возникает необходимость рассмотрения пространственной динамики

клеточных популяций и АФ. Для этого в уравнения для опухолевых клеток, ЦТЛ, эндотелиальных клеток, нормальных клеток, а также АФ добавляются диффузионные слагаемые. При этом диффузия ИЛ-2 не рассматривается, так как ИЛ-2 является короткодействующим цитокином. В уравнение для эндотелиальных клеток включается дополнительное слагаемое, заимствованное из [34], которое описывает хемотаксическое движение эндотелиальных клеток. Для упрощения решается одномерная задача распространения популяции опухолевых клеток вглубь ткани (вертикальный рост). Начальные условия выбираются таким образом, чтобы создать область с дефицитом кислорода. Такая ситуация может возникнуть в перевиваемых экспериментальных опухолях. При этом рассматривается два случая начального распределения эндотелиальных клеток, отражающих высокий и низкий уровни васкуляризации, и, как следствие, разный характер иммунных ответов. В качестве граничных условий предполагается, что поток через границы рассматриваемой области равен нулю.

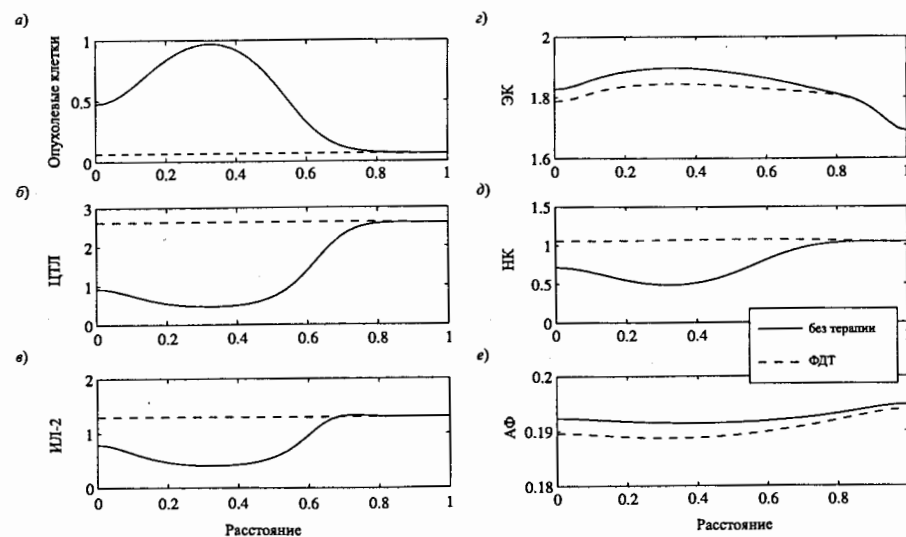


Рис. 3. Плотность клеточных популяций на 100-ый день рассмотрения (через 93 дня после фотодинамического воздействия) как функция глубины ткани. а) опухолевые клетки, б) цитотоксические Т лимфоциты, в) интерлейкин-2, г) эндотелиальные клетки, д) нормальные клетки, е) ангиогенный фактор. Представлены данные по расчету системы в безразмерных величинах.

В результате численных расчетов получены графики зависимостей плотности клеточных популяций от координаты. На рис. 3 представлены результаты для сильного иммунного ответа. Видно значительное сокращение популяции опухолевых клеток на фоне увеличения плотности ЦТЛ и ИЛ-2 после однократного фотодинамического воздействия. Следует отметить, что в случае слабого иммунного ответа режим регрессии опухоли после фотодинамической терапии не достигается.

Далее кратко формулируются основные результаты, полученные в диссертации.

**По теме диссертации опубликованы следующие работы:**

1. O.G. Isaeva, V.A. Osipov. Modelling of anti-tumour immune response: Immunocorrective effect of weak centimetre electromagnetic waves. Computational and mathematical methods in medicine. V.10, №3. P.185-201. 2009
2. O.G. Isaeva, V.A. Osipov. Different strategies for cancer treatment: Mathematical modelling. Computational and mathematical methods in medicine. Vol. 10, №4. P. 253-272. 2009
3. O.G. Isaeva and V.A. Osipov. Photodynamic therapy influence on anti-cancer immunity. Proc. of SPIE. Vol. 7547. 754704. 2010. (9 pages)
4. О.Г. Исаева. Межклеточное взаимодействие, опосредованное цитокинами при клеточном иммунном ответе. Вестник международного университета природы, общества и человека «Дубна» 1(12), С. 57-63, Март, 2005
5. О.Г. Исаева, В.А. Осипов. Теоретическое исследование стратегий лечения злокачественных новообразований. I Международная конференция. Математическая биология и биоинформатика, С. 86-87 Пуцзино, Россия Октябрь, 2006
6. О.Г. Исаева, В.А. Осипов. Математическое моделирование противоопухолевого иммунитета с учетом влияния электромагнитного излучения СВЧ-диапазона. XII научная конференция молодых ученых и специалистов, Международный университет природы, общества и человека «Дубна», Дубна, Россия, Апрель, 2005, С. 100-102

7. O.G. Isaeva and V.A. Osipov. Mathematical modeling of anti-cancer immune response: effects of radiotherapy. Summer school 'Cancer system biology' (book of abstracts) P. 44, Rostock-Warnemünde, Germany, June, 2009
8. Исаева О.Г. и В.А. Осипов. Влияние радиотерапии на противораковый иммунный ответ. Математическое моделирование. Препринт ОИЯИ №P19-2009-132. 2009 (26 с.)

Список литературы

1. O'Byrne K.J., Dagleish A.G., Browning M.J., Steward W.P. and Harris A.L., The relationship between angiogenesis and the immune response in carcinogenesis and the progression of malignant disease // Eur.J.Cancer. 2000. 36. P. 151-169.
2. Ройт И., Бростовф Дж., Мейл Д., Иммунология – М.: Мир, 2001, 592 с.
3. Cho Y., Miyamoto M., Kato K., Fukunaga A., Shichinohe T., Kawarada Y., Hida Y., Oshikiri T., Kurokawa T., Suzuoki M., Nakakubo Y., Hiraoka K., Murakami S., Shinohara T., Itoh T., Okushiba S., Kondo S., and Katoh H., CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> t cells cooperate to improve prognosis of patients with esophageal squamous cell carcinoma // Cancer Res. 2003. 63. P. 1555-1559
4. Garbelli S., Mantovani S., Palermo B., and Giachino C., Melanocyte-specific, cytotoxic T cell responses in vitiligo: the effective variant of melanoma immunity // Pigment Cell Res. 2005. 18. P. 234—242.
5. Coggin I.H., Barsoum A.L., Rohrer J.W., Tumors express both unique TSTA and crossprotective 44 kDa oncofetal antigen. Immunology Today. 1998. 19. P. 405-408
6. Lang K., Entschladen F., Kurt C.W. Zaenker S. Tumor immune escape mechanisms: impact of the neuroendocrine System Cancer Immunol Immunother.. 2006. 55: 749–760
7. Kurte M., López M., Aguirre A., Escobar A., Aguilón J.C., Charo J., Larsen Ch.J., Kiessling R. and Salazar-Onfray F., A synthetic peptide homologous to functional domain of human IL-10 down-regulates expression of MHC class I and Transporter associated with antigen processing 1/2 in human melanoma cells. J Immunol. 2004. 173. P. 1731–1737
8. Kim J.V., Latouche J.B., Riviere I., Sadelain M., The ABCs of artificial antigen presentation. Nat Biotechnol. 2004. 22. P. 403–410
9. Woo E.Y., Yeh H., Chu C.S., Schlienger K., Carroll R.G., Riley J.L., Kaiser L.R. and June C.H., Cutting edge: regulatory T cells from lung cancer patients directly inhibit autologous T cell proliferation. J Immunol. 2002. 168. P. 4272–4276
10. Шапот В.С. О проявлениях и механизмах системного действия опухоли на организм. //Патофизиол. и эксперим. терапия. 1974. №3. С. 3
11. Sznoi M. and Davis T., Antibodies and recombinant cytokines, in: The Cancer Handbook, Chapter 87 Nature publishing group, 2003 P. 1371—1379.
12. Slingsluff Jr.C.L., Petroni G.R., Yamshchikov G.V., Barnd D.L., Eastham S., Galavotti H., Patterson J.W., Deacon D.H., Hibbitts S., Teates D., Neese P.Y.,

- Grosh W.W., Chianese-Bullock K.A., Woodson E.M.H., Wiernasz C.J., Merrill P., Gibson J., Ross M. and Engelhard V.H., Clinical and immunologic results of randomised phase II trial of vaccination using four melanoma peptides either administered in GM-CSF in adjuvant or pulsed on dendritic cells, *J. Clin. Oncol.* 2003. 21(21). P. 4016—4026.
13. Slingluff Jr.C.L., Petroni G.R., Yamshchikov G.V., Hibbitts S., Grosh W.W., Chianese-Bullock K.A., Bissonette E.A., Barnd D.L., Deacon D.H., Patterson J.W., Parekh J., Neese P.Y., Woodson E.M.H., Wiernasz C.J. and Merrill P., Immunologic and clinical outcomes of vaccination with a multiepitope melanoma peptide vaccine plus low-dose interleukine-2 administered either concurrently or on a delayed schedule, *J. Clin. Oncol.* 2004. 22(22). P. 4474—4485.
  14. Korbelik M. and Dougherty G.J., Photodynamic therapy-mediated immune response against subcutaneous mouse tumors // *Cancer Res.* 1999. 59. P. 1941—1946.
  15. Cleary S.F., Liu L.M., and Merchant R.E., Lymphocyte proliferation induced by radio-frequency electromagnetic radiation under isothermal conditions // *Bioelectromagnetics.* 1990. 11. P. 47-56.
  16. Глушкова О.В., Новоселова Е.Г., Синотова О.А., Фесенко Е.Е., Иммунокорректирующее действие низкоинтенсивного сверхвысокочастотного излучения при канцерогенезе у мышей // *Биофизика.* 2003. 48(2). С. 281-288.
  17. Legha S.S., Ring S., Bedikian A., Plager C., Eton O., Buzaid A.C. and Papadopoulos N., Treatment of metastatic melanoma with combined chemotherapy containing cisplatin, vinblastin and dacarbazine (CVD) and biotherapy using interleukin-2 and interferon- $\alpha$  // *Annals of oncology.* 1996. 7. P. 827—835.
  18. Buzaid A.C., Strategies for combining chemotherapy and biotherapy in melanoma, *Cancer Control.* 2000. 7(2). P. 185—197.
  19. Buzaid A.C. and Atkins M., Practical guidelines for the management of biochemotherapy-related toxicity in melanoma, *Clin. Cancer Res.* 2001. 7. P. 2611—2619.
  20. Demaria S., Bhardwaj N., McBride W.H., Formenti S.C. Combining radiotherapy and immunotherapy: a revived partnership // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2005. V. 63. № 3. P. 655-666
  21. DeLizi C. and Rescingo A. Immune surveillance and neoplasia – I: a minimal mathematical model. *Bull. Math. Biol.* 1977. 39. P. 201-221
  22. Степанова Н.В. Динамика иммунной реакции при развитии злокачественной опухоли. // *Биофизика*, т. 24, №5, (1979), С. 890
  23. Kuznetsov V.A., Makalkin I.A., Taylor M.A., and Perelson A.S., Nonlinear dynamics of immunogenic tumors: parameter estimation and global bifurcation analysis, *Bulletin of Mathematical Biology.* 1994. 56(2). P. 295—321.
  24. Kirschner D. and Panetta J. C., Modeling immunotherapy of the tumor-immune interaction, *J. of Mathematical Biology.* 1998. 37, P. 235—252.
  25. de Pillis L.G., Gu W. and Radunskaya A.E., Mixed immunotherapy and chemotherapy of tumors: modeling, applications and biological interpretations, *J. of Theoretical Biology.* 2006. 238(4). P. 841-862.
  26. Arciero J.C., Kirschner D.E. and Jackson T.L. A mathematical model of tumor-immune evasion and siRNA treatment // *Disc. Cont. Dyn. Syst-B.* 2004. 4. P. 39—58.
  27. Burden T., Ernstberger J. and Renee Fister K., Optimal control applied to immunotherapy, *Discrete and Continuous dynamical systems-series B.* 2004. 4(1). P. 135-146.
  28. Vlarar H.P. and Gonzalez J.A., Dynamic response of cancer under the influence of immunological activity and therapy, *J. Theor. Biol.* 2004. 227. P. 335—348.
  29. Ohm J.E. and Carbone D.P. VEGF as a Mediator of Tumor-Associated Immuno-deficiency *Immunologic Research // Immunologic Research.* 2001. 23–2/3. P. 263–272
  30. Wagner H., Hardt C., Heeg K., Pfizenmaier K., Solbach W., Bartlett R., Stockinger H., and Rollingoff M., T-T cell interactions during CTL response: T cell derived helper factor (interleukin 2) as a probe to analyze CTL responsiveness and thymic maturation of CTL progenitors, *Immunoll. Rev.* 1980. 51. P. 215—255.
  31. Hahnfeldt P., Panigraphy D., Folkman J., Hlatky L. Tumor development under angiogenic signaling: a dynamical theory of tumor growth, treatment response, and postvascular dormancy // *Cancer Res.* 1999. 59. P. 4770—4775.
  32. Sachs R.K., Hahnfeld P., Brenner D.J., The link between low-LET dose-response relations and the underlying kinetics of damage production repair-misrepair // *Int. J. Radiat. Biol.* 1997. V. 72. № 4. P. 351 – 374
  33. Черняева Е.Б., Степанова Н.В., Литинская Л.Л. Механизмы взаимодействия фотосенсибилизаторов с клетками (вклад лазерных и оптических методов исследования) // *Итоги науки и техники. Современные проблемы лазерной физики.* 1990. Т.3. С. 136-224
  34. Anderson A.R.A. and Chaplain M.A.J. Continuous and discrete mathematical models of tumor-induced angiogenesis // *Bulletin of mathematical biology.* 1998. 60. P. 857–900

Получено 13 апреля 2010 г.