

Abstrakcja i konkret: modelowanie nowotworów

Zuzanna SZYMAŃSKA, Warszawa

Anna MARCINIAK-CZOCHRA, Heidelberg

Choroby nowotworowe są jednym z najtrudniejszych i najbardziej palących wyzwań współczesnej medycyny. Pytanie, jak wymusić pożądane zmiany w przebiegu choroby, to znaczy jak uzyskać regres lub choćby stabilizację procesu chorobowego, jest jednym z najtrudniejszych, jakie napotyka lekarz. Obserwowany w ostatnich latach szybki rozwój technik molekularnych umożliwił zgromadzenie dużych ilości danych biologicznych. Jednak efektywne leczenie wymaga właściwego zinterpretowania tych danych i zrozumienia mechanizmów poszczególnych procesów. Wobec złożoności układu, jakim jest organizm ludzki, szansy na pełniejsze zrozumienie tych procesów można upatrywać w uzupełnieniu tradycyjnych, heurystycznych metod eksperymentalnych modelami matematycznymi.

Modele matematyczne należy rozumieć jako próbę reprezentacji wybranego układu biologicznego za pomocą języka matematycznego, np. równań różniczkowych. Zwykle oznacza to redukcję złożoności oryginalnego układu do układu prostszego, który daje się analizować, i na podstawie którego można wnioskować na temat układu pierwotnego. Już w 1952 roku Alan Turing w swojej pracy „The Chemical Basis of Morphogenesis” pisał:

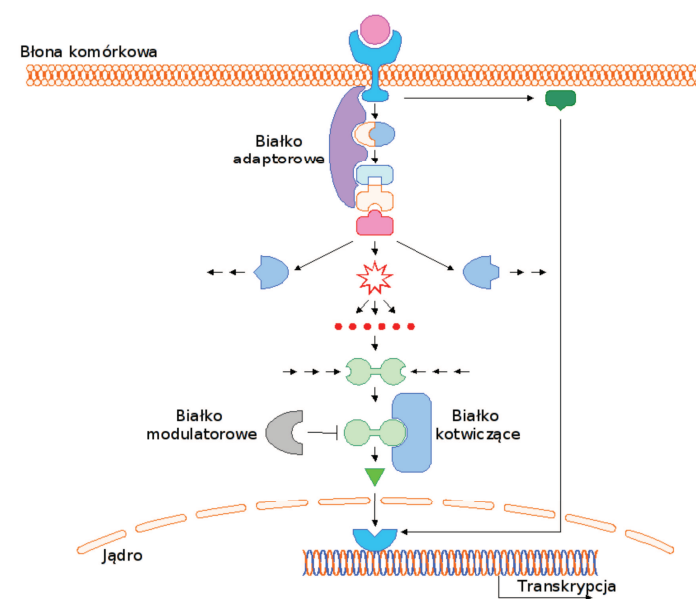
„This model will be a simplification and an idealization, and consequently a falsification. It is to be hoped that the features retained for discussion are those of greatest importance in the present state of knowledge [21].”

Modelowanie matematyczne pozwala między innymi na symulowanie procesu chorobowego (w szczególności odpowiedzi na leczenie), optymalizację procedur terapeutycznych oraz tworzenie eksperymentalnie testowalnych hipotez. Dodatkowo modelowanie ułatwia zrozumienie głównych mechanizmów złożonych procesów biologicznych, projektowanie nowych doświadczeń, a w przyszłości może stanowić alternatywę dla wielu modeli doświadczalnych („*in silico*” zamiast „*in vivo*” bądź „*in vitro*”). Poprzez iteracyjne formułowanie hipotez badawczych i ich eksperymentalną weryfikację można poszerzyć rozumienie natury oddziaływań między poszczególnymi procesami.

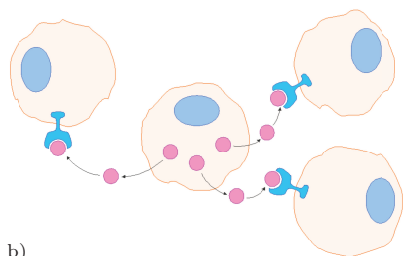
Wieloskalowy charakter procesów nowotworowych

Istotną cechą większości procesów biologicznych jest ich wieloskalowy charakter. Dotyczy to również procesu nowotworowego, który zaczyna się od zmian w obrębie genów. Ich konsekwencją są głębokie jakościowe zmiany w funkcji komórek, tkanek i narządów, co prowadzi do wyniszczenia i śmierci całego organizmu. Ze względu na wysoką częstość występowania chorób nowotworowych możemy nawet mówić o społecznej skali problemu. Oznacza to, że przy opisie tego typu zjawiska mamy do czynienia zarówno z dużymi różnicami w skali przestrzennej jak i czasowej rozważanych procesów.

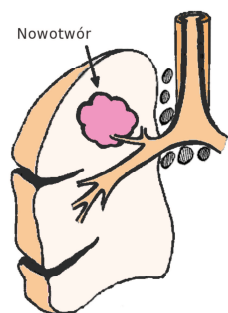
Z racji wieloskalowego charakteru choroby nowotworowej bardzo ważne jest określenie tak zwanej naturalnej skali procesu, która odpowiada różnym stadiom zaawansowania choroby: nieprawidłowości na poziomie komórek biorą swój początek z zaburzonego przebiegu procesów wewnątrzkomórkowych, same z kolei powodując zmiany na poziomie tkanki i organizmu, stąd wyróżnia się skale: subkomórkową, komórkową i makroskopową (patrz Rys. 1). Ze względu na dużą złożoność modelowanych zjawisk, istniejące modele matematyczne ograniczają się najczęściej do opisu na poziomie tylko jednej z wymienionych skal. Nie zmienia to jednak faktu, że lepsze wyjaśnienie procesów obserwowanych na poziomie tkanek wymaga budowy modeli łączących opis makroskopowy z opisami procesów zachodzących na poziomie komórkowym i subkomórkowym.



a)



b)



c)

Rys. 1. Schematy zjawisk opisywanych modelami w skalach: a) subkomórkowej – szlak sygnałowy; b) komórkowej – komunikacja międzykomórkowa (paracrine signalling); c) makroskopowej – rozrost guza.

Skala subkomórkowa: Modele subkomórkowe dotyczą zjawisk zachodzących wewnątrz komórki, takich jak procesy transportu przez błonę komórkową i wewnątrz komórki czy kaskady reakcji biochemicznych, będące przedmiotem intensywnych badań ze względu na rolę, jaką pełnią w procesie ewolucji komórki.

Ewolucja komórki jest regulowana za pomocą genów znajdujących się w jej jądrze. W odpowiedzi na zmiany środowiska komórki ekspresja odpowiednich genów, a co za tym idzie synteza białek, może ulec modyfikacji. Kaskady reakcji biochemicznych, które prowadzą do przekazywania sygnałów molekularnych z receptorów błony komórkowej do wnętrza komórki, nazywane są szlakami sygnałowymi. Szlaki sygnałowe tworzą naturalne układy regulacji, mające na celu zapewnienie z jednej strony odporności na losowe zmiany warunków (czyli utrzymanie homeostazy układu), a z drugiej właściwy charakter zmian

w odpowiedzi na wymuszenia zewnętrzne (czyli ukierunkowaną odpowiedź na czynniki „środowiska”). Białka regulatorowe wytwarzane wewnątrz komórek w wyniku działania szlaków sygnałowych inicjują bądź modyfikują procesy zachodzące na poziomie komórek.

Skala komórkowa: Modele komórkowe są przeznaczone do symulowania procesów podziału, różnicowania, apoptozy i oddziaływań między komórkami – dotyczą pojedynczych komórek i ich wzajemnych interakcji. Procesy zachodzące na poziomie komórek regulowane są za pomocą opisanych wyżej szlaków sygnałowych. Na przykład utrata kontroli nad podziałami komórek nowotworowych jest związana z mutacjami genów kodujących białka uczestniczące w cyklu komórkowym. W wyniku tych mutacji wewnątrzkomórkowe ścieżki sygnałowe działają w sposób zniekształcony, prowadząc ostatecznie do patologicznych zmian w organizmie. Z kolei różnicowanie się komórek, zarówno normalne jak i patologiczne, wpływa na dynamikę szlaków sygnałowych. Uwzględnienie powiązań pomiędzy modelami komórkowymi i wspomnianymi wyżej modelami w skali subkomórkowej jest zatem potrzebne do prawidłowego opisu funkcjonowania komórek.

Skala makroskopowa: Zaburzone procesy komórkowe prowadzą do powstawania i rozwoju nieprawidłowych struktur takich jak guzy nowotworowe, które zaburzają prawidłowe funkcjonowanie tkanek oraz narządów. Do opisu takich zjawisk służą modele makroskopowe. Są one ze swej natury fenomenologiczne, ich celem jest uzyskanie jakościowego obrazu dynamiki całego układu w zależności od parametrów takich jak współczynniki dyfuzji, chemotaksji czy prędkości reakcji biochemicznych. Parametry te są często bardzo trudne do eksperymentalnego zmierzenia, dlatego ważne jest zrozumienie, w jaki sposób zależą one od zjawisk zachodzących na niższych poziomach opisu.

Powyższym „skalom” odpowiadają różne metody i struktury matematyczne. Na przykład do budowy modeli subkomórkowych używa się na ogół równań różniczkowych zwyczajnych lub sieci boolowskich. Z kolei modele komórkowe buduje się najczęściej za pomocą równań różniczkowo-całkowych (równania typu Boltzmanna) lub układów dyskretnych, modele zaś makroskopowe prowadzą do problemów ze swobodnym brzegiem i nieliniowych układów równań różniczkowych cząstkowych. Wybór odpowiednich metod matematycznych najczęściej związany jest z charakterem pytań biologicznych, na które chcemy odpowiedzieć i rodzajem danych, którymi dysponujemy.

Modele inwazji nowotworów

Ważnym przykładem zastosowania metod matematycznych w onkologii są modele inwazji nowotworów. Rokowanie w przypadku choroby nowotworowej

zależy w dużej mierze od tego, czy nowotwór jest złośliwy, to znaczy czy komórki nowotworowe posiadają zdolność naciekania (inwazji) sąsiednich tkanek i tworzenia przerzutów. Właśnie przerzuty są najczęściej bezpośrednią przyczyną śmierci chorych na raka. Proces naciekania nowotworu jest złożony i mimo usilnych starań niedostatecznie poznany. Można w nim jednak wyodrębnić cztery podstawowe składowe: adhezję komórek nowotworowych do macierzy pozakomórkowej (macierz pozakomórkowa jest to substancja wypełniająca przestrzeń pomiędzy komórkami, która zespala komórki w tkanki i narządy), wydzielanie przez komórki nowotworowe enzymów trawiących macierz pozakomórkową, migrację komórek nowotworowych i wreszcie ich proliferację (mnożenie się komórek). Migracja komórek nowotworowych jest wypadkową wielu różnych mechanizmów, z których największą rolę odgrywa haptotaksja – ruch komórek w kierunku gradientu stężenia niedyfundujących substancji, takich jak zawarte w macierzy pozakomórkowej kolagen czy fibronektyna. Migrujące komórki nowotworowe wytwarzają enzymy trawiące macierz pozakomórkową, co z kolei prowadzi do powstania gradientów w jej zagęszczeniu. To właśnie haptotaksja w największym stopniu odpowiedzialna jest za naciekanie tkanek przez komórki nowotworowe.

Pierwszy model opisujący zjawisko inwazji nowotworu zaproponowali w 1996 roku Mark Chaplain i Michelle Orme [17]. Model ten był w późniejszych pracach wielokrotnie modyfikowany przez różnych autorów w celu badania różnych aspektów zjawiska inwazji. Większość tych modeli ma postać układów równań różniczkowych cząstkowych opisujących migrację i proliferację komórek nowotworowych. W tej chwili możemy mówić już o klasycznym modelu inwazji komórek nowotworowych:

$$(1) \quad \begin{cases} \frac{\partial u}{\partial t} = \underbrace{\nabla \cdot (D_u(u, v) \nabla u)}_{\text{transport dyfuzyjny}} - \underbrace{\nabla \cdot (\chi_u(v) u \nabla v)}_{\text{haptotaksja}} + \underbrace{F(u, v)}_{\text{proliferacja}}, \\ \frac{\partial v}{\partial t} = - \underbrace{\delta_v m v}_{\text{degradacja}}, \\ \frac{\partial m}{\partial t} = \underbrace{D_m \Delta m}_{\text{dyfuzja}} - \underbrace{\delta_m m}_{\text{degradacja}} + \underbrace{H(u, v)}_{\text{produkcja}}. \end{cases}$$

W modelu tym zmienne u , v i m oznaczają odpowiednio: gęstość komórek nowotworowych, gęstość macierzy pozakomórkowej i gęstość enzymów trawiących macierz pozakomórkową.

Poszczególne wyrażenia modelu opisują najważniejsze procesy towarzyszące inwazji nowotworu, to znaczy migrację komórek nowotworowych, wzrost guza na skutek proliferacji komórek nowotworowych, a także produkcję i dyfuzję enzymów trawiących macierz pozakomórkową oraz degradację samej macierzy. Każdy z tych procesów jest opisywany za pomocą odpowiedniej funkcji, na przykład, funkcja χ , nazywana funkcją wrażliwości lub współczynnikiem haptotaksji, opisuje reakcję komórek nowotworowych na gradient gęstości macierzy pozakomórkowej. Jest to funkcja malejąca, ponieważ wrażliwość komórek na gradient gęstości macierzy maleje wraz z jego wzrostem. Przykładem takiej funkcji jest wyprowadzona przez Jonathana Sherratta [19] funkcja:

$$(2) \quad \chi(v) = \frac{\chi_0}{(\alpha_0 + \beta_0 v)^2},$$

gdzie $\chi_0 \geq 0$ i $\alpha_0, \beta_0 > 0$.

Ciekawą modyfikacją modelu (1) jest zaproponowany w 2005 roku przez Georgiosa Lolasa i Marka Chaplaina układ opisujący wpływ wewnątrzkomórkowej dynamiki enzymu urokinazy na tempo inwazji [3]. Urokinaza jest jednym z najważniejszych enzymów trawiących macierz pozakomórkową. Modyfikacja modelu polegała na uzupełnieniu makroskopowego opisu inwazji (1) równaniami różniczkowymi opisującymi system aktywacji urokinazy.

Innego typu modyfikacje modelu (1) zaprezentowano w pracy poświęconej badaniu wpływu białek szoku termicznego na szybkość procesu inwazji [20]. Dotychczas, wpływ ten wiązano z aktywacją metalloproteinazy, jednego z głównych enzymów rozkładających macierz pozakomórkową [5]. Jednak na podstawie wyników symulacji i przeprowadzonych doświadczeń autorzy zaproponowali hipotezę alternatywną, zgodnie z którą wpływ białek szoku termicznego na inwazyjność komórek nowotworowych odbywa się poprzez oddziaływanie na ich właściwości motoryczne. Uchwycenie tych zależności wymagało wprowadzenia odpowiednich zmian w wyrażeniach opisujących dyfuzję i haptotaksję, tak aby uzależnić je od rozłożonego w czasie stężenia badanych białek. Analiza wyników symulacji wskazywała na poprawność nowej hipotezy, która zyskała później dodatkowe wsparcie eksperymentalne.

Klasyczny model stał się punktem wyjścia dla nowego typu modeli hybrydowych opisujących dynamikę komórek nowotworowych w sposób dyskretny, a ewolucję pozostałych składników modelu w sposób ciągły, za pomocą równań różniczkowych. Modele traktujące komórki indywidualnie pozwalają na łączenie opisów na poziomach subkomórkowym i komórkowym, z makroskopowym opisem środowiska. Pozwala to w stosunkowo łatwy sposób uwzględnić niejednorodność populacji komórek, efekty biomechaniczne i stochastyczne, które na ogół pomija się w uśrednionych modelach ciągłych [1, 7, 18, 22].

Model hybrydowy oparty o automat komórkowy, zaproponowany i rozwijany przez grupę Alexandra Andersona, pozwolił na wyznaczenie interesujących zależności procesu inwazji od heterogeniczności mikrośrodowiska. Symulacje numeryczne pokazały w szczególności, że w sytuacji hypoksji, czyli niedoboru tlenu, guz nowotworowy charakteryzuje się dużą złośliwością, co zostało potwierdzone w eksperymentach [6].

Warto wspomnieć, że powiązania pomiędzy makroskopowym modelem inwazji, a komórkowym modelem opisującym interakcje na poziomie indywidualnych komórek, były tematem prac analitycznych opartych o zastosowania tzw. uogólnionej teorii kinetycznej [2, 8].

Podsumowanie

W sposób naturalny pojawia się pytanie jak budować modele matematyczne tak złożonych procesów biologicznych, jak procesy nowotworzenia. Ponieważ większość terapii onkologicznych odnosi się do konkretnych przejawów aktywności nowotworów (np. inwazyjności czy angiogenezy), uzasadnionym wydaje się być budowanie modeli w oparciu o konkretne pytania biologiczne. Tworzenie takich prostych, częściowych modeli może być pomocne w zrozumieniu złożonych zjawisk. Takie podejście niesie jednak ze sobą ryzyko pominięcia ważnych aspektów procesu. Dlatego budowane modele należy ciągle konfrontować z wynikami doświadczeń, szukając efektów odróżniających badany mechanizm od innych, dających podobne wyniki, zwracając szczególną uwagę na przypadki (przestrzeń parametrów), w których wyniki modelu pozostają w rozbieżności z wynikami eksperymentów.

Oprócz korzyści dla nauk biomedycznych modelowanie matematyczne ma szansę przyczynić się również do rozwoju matematyki, a w szczególności takich dziedzin jak analiza numeryczna (np. numeryczne rozwiązywanie zagadnień paraboliczno-hiperbolicznych, zagadnień ze swobodnym brzegiem), jakościowa analiza równań różniczkowych cząstkowych (np. analiza fal wędrujących czy bifurkacji), analiza asymptotyczna i wieloskalowa (np. homogenizacja), przydatna do prawidłowego wyprowadzania modeli makroskopowych z uwzględnieniem mikroskopowych danych. Często budowa i analiza nowego modelu wymaga użycia nowych metod matematycznych.

Modelowanie matematyczne w naukach biomedycznych jest wyzwaniem nie tylko naukowym, ale też społecznym w sztywno podzielonym na dyscypliny środowisku akademickim. Korzyści płynące ze stosowania modeli matematycznych obecnie są bezdyskusyjne, ale trzeba pamiętać, że każdy sukces wymaga podejścia

interdyscyplinarnego. Budowa i weryfikacja modeli w oparciu o ilościowe dane eksperymentalne, projektowanie nowych doświadczeń, szukanie nowych metod matematycznych, pozwalających na właściwy opis procesu i jego analizę, a wreszcie symulacje numeryczne i optymalizacja leczenia wymaga współpracy specjalistów z różnych dziedzin. Postęp w pokonywaniu tych barier jest już zauważalny, stosowanie modeli matematycznych w onkologii staje się powoli uznanym narzędziem badawczym. Na przestrzeni ostatnich lat wiodące czasopisma biomatematyczne wydały numery specjalne poświęcone wyłącznie onkologii matematycznej [9, 10, 13, 12, 14, 16, 15, 11]. Coraz więcej osób pracuje nad tymi zagadnieniami, rośnie też liczba celowych projektów badawczych. „*Mathematics Is Biology’s Next Microscope, Only Better; Biology Is Mathematics’ Next Physics, Only Better* [4].”

Literatura

- [1] A. R. A. Anderson. A hybrid mathematical model of solid tumour invasion: The importance of cell adhesion. *Math. Med. Biol.*, 22:163–186, 2005.
- [2] A. Bellouquid and M. Delitala. Mathematical Methods and Tools of Kinetic Theory towards Modelling Complex Biological Systems. *Math. Models Method Appl. Sci.*, 15:1639–1666, 2005.
- [3] M. A. J. Chaplain and G. Lolas. Mathematical modelling of cancer cell invasion of tissue: The role of the urokinase plasminogen activation system. *Math. Models Methods Appl. Sci.*, 15:1685–1734, 2005.
- [4] J. E. Cohen. Mathematics Is Biology’s Next Microscope, Only Better; Biology Is Mathematics’ Next Physics, Only Better. *PLoS Biology*, 2:2017–2023, 2004.
- [5] B. K. Eustace, T. Sakurai, J. K. Stewart, D. Yimlamai, C. Unger, C. Zehetmeier, B. Lain, C. Torella, S. W. Henning, G. Beste, B. T. Scroggins, L. Neckers, L. L. Ilag, and D. G. Jay. Functional proteomic screens reveal an essential extracellular role for hsp90 alpha in cancer cell invasiveness. *Nat. Cell Biol.*, 6:507–514, 2004.
- [6] P. Gerlee and A. R. A. Anderson. An evolutionary hybrid cellular automaton model of solid tumour growth. *J. Theor. Biol.*, 246:583–603, 2007.
- [7] Y. Kim, M. Stolarska, and H. G. Othmer. A hybrid model for tumor spheroid growth in vitro I: Theoretical development and early results. *Math. Models Method Appl. Sci.*, 17:1773–1798, 2007.
- [8] M. Lachowicz. Micro and meso scales of description corresponding to a model of tissue invasion by solid tumours. *Math. Models Methods Appl. Sci.*, 15:1667–1683, 2005.
- [9] M. A. J. Chaplain, Guest Editor. Mathematical Models for the Growth, Development and Treatment of Tumours. *Math. Models Method Appl. Sci.*, 9:491–626, 1999. Special issue.
- [10] M. A. J. Chaplain, Guest Editor. Mathematical Modelling and Simulation of Aspects of Cancer Growth. *J. Theor. Med.*, 4:1–93, 2002. Special issue.
- [11] M. A. J. Chaplain, Guest Editor. Computational Oncology. *J. Math. Biol.*, 48:481–844, 2009. Special issue.
- [12] M. Kimmel and M. Lachowicz and A. Świerniak, Guest Editors. Cancer growth and progression, mathematical problems and computer simulations. *Int. J. Appl. Math. Comput. Sci.*, 13:279–436, 2003. Special issue.
- [13] N. Bellomo and E. de Angelis, Guest Editors. Modeling and Simulation of Tumor Development, Treatment and Control. *Math. Comput. Mod.*, 37:1121–1252, 2003. Special issue.
- [14] N. Bellomo and E. de Angelis, Guest Editors. Modelling Complex Systems in Molecular Biology and Tumor Dynamics and Control. *Math. Comput. Mod.*, 41:1055–1202, 2005. Special issue.
- [15] N. Bellomo and E. de Angelis, Guest Editors. Towards a Mathematical Description of Cancer: Analytical, Numerical and Modelling Aspect. *Math. Comput. Mod.*, 47:531–532, 2008. Special issue.
- [16] N. Bellomo and P. Maini, Guest Editors. Cancer Modeling. *Math. Models Method Appl. Sci.*, 15:1619–1794, 2005. Special issue.

- [17] M. E. Orme and M. A. J. Chaplain. A mathematical model of vascular tumour growth and invasion. *Math. Comput. Model.*, 23:43–60, 1996.
- [18] I. Ramis-Conde, M. A. J. Chaplain, and A. R. A. Anderson. Mathematical modelling of cancer cell invasion of tissue. *Math. Comput. Modelling*, 47:533–545, 2008.
- [19] J. A. Sherratt. Chemotaxis and chemokinesis in eukaryotic cells: the Keller-Segel equations as an approximation to a detailed model. *Bull. Math. Biol.*, 56:129–146, 1994.
- [20] Z. Szymańska, J. Urbański, and A. Marciniak-Czochra. Mathematical modelling of the influence of heat shock proteins on cancer invasion of tissue. *J. Math. Biol.*, 58:819–844, 2009.
- [21] A. Turing. *The chemical basis of morphogenesis*. Philosophical Transactions of the Royal Society of London, 1952.
- [22] S. Turner and J. A. Sherratt. Intercellular adhesion and cancer invasion: a discrete simulation using the extended Potts model. *J. Theor. Biol.*, 216:85–100, 2002.