

Received: 10.02.2022

Revised: 11.03.2022

Accepted: 15.04.2022



DOI: 10.17804/2410-9908.2022.2.006-020

MICROSCOPIC SIMULATION OF THE CHEMOMECHANICS OF SQUAMOUS CELL TISSUE

A. D. Bratsun¹, D. A. Bratsun^{2, a), *} and I. V. Krasnyakov²

¹Academician Ye.A. Vagner Perm State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation,
26 Petropavlovskaya St., Perm, 614990, Russian Federation

²Perm National Research Polytechnic University,
29 Komsomolskiy Ave., Perm, 614990, Russian Federation

^{a)}  <https://orcid.org/0000-0002-3229-2330>  DABracun@pstu.ru

*Corresponding author. E-mail: DABracun@pstu.ru

Address for correspondence: Komsomolskiy Pr., 29, Perm, 620049, Russian Federation

Tel.: +7 (342) 239 14 14; fax: +7 (342) 239 14 14

The development of computer technologies makes it possible to implement a mathematical model of tissue dynamics, which includes the behavior of individual cells. The paper describes a mathematical model of a quasi-two-dimensional tissue, which consists of cells represented by dynamically changing polygons. The model includes two important processes that mimic the properties of real cells, namely mitotic division and intercalation. An equation of motion based on the elastic potential energy is written for each vertex of the polygonal cell. In the course of evolution, the tissue tends to take a position corresponding to the minimum of potential energy. The model allows a simple extension to the case of the feedback between the biomechanical and chemical properties of the medium and the introduction of several competing tissue types. The results of numerical simulation of heterogeneous carcinoma of the solid type are given as an example. The prospects for the development of this approach to simulation are discussed.

Keywords: simulation modeling, epithelial tissue, discrete model with individual dynamics, chemo-mechanical interaction.

Acknowledgment

The work was financially supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (grant FSNM-2020-0026).

References

1. Bratsun D., Merkuriev D., Zakharov A., Pismen L. Multiscale modeling of tumor growth induced by circadian rhythm disruption in epithelial tissue. *J. Biol. Phys.*, 2016, vol. 42, pp. 107–132. DOI: 10.1007/s10867-015-9395-y.
2. Lesne A., Foray N., Cathala G., Forne T., Wong H., Victor J.-M. Chromatin fiber allostery and the epigenetic code. *J. Phys. Condens. Matter*, 2015, vol. 27, 064114. DOI: 10.1088/0953-8984/27/6/064114.
3. Kolobov A.V., Polezhaev A.A. Influence of random malignant cell motility on growing tumor front stability. *Computer Research and Modeling*, 2009, vol. 1, No. 2, pp. 225–232. (In Russian). DOI: 10.20537/2076-7633-2009-1-2-225-232.
4. Stein A.A., Yudina E.N. Mathematical model of a growing plant tissue as a three-phase deformable medium. *Russ. J. Biomech.*, 2011, vol. 15, no. 1, pp. 42–51. (In Russian).

5. Basan M., Elgeti J., Hannezo E., Rappel W.-J., Levine H. Alignment of cellular motility forces with tissue flow as a mechanism for efficient wound healing. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2013, vol. 110, No. 7, pp. 2452–2459. DOI: 10.1073/pnas.1219937110.
6. Von Neumann J. *Theory of self-reproducing automata*. London, University of Illinois Press, 1966, 388 p.
7. Simpson M.J., Landman K.A., Hughes B.D. Distinguishing between directed and undirected cell motility within an invading cell population. *Bull. Math. Biol.*, 2009, vol. 71, pp. 781–799. DOI: 10.1007/s11538-008-9381-7.
8. Chung C.A., Lin T.H., Chen S.D., Huang H.I. Hybrid cellular automaton modeling of nutrient modulated cell growth in tissue engineering constructs. *J. Theor. Biol.*, 2010, vol. 262, no. 2, pp. 267–278. DOI: 10.1016/j.jtbi.2009.09.031.
9. Interian R., Rodriguez-Ramos R., Valdes-Ravelo F., Ramirez-Torrez A., Ribeiro C.C., Conci A. Tumor growth modelling by cellular automata. *Mathematics and Mechanics Complex Systems*, 2017, vol. 5, no. 3–4, pp. 239–259. DOI: 10.2140/memocs.2017.5.239.
10. Markov M. A., Markov A.V. Computer simulation of the ontogeny of organisms with different types of symmetry. *Paleontol. J.*, 2014, vol. 48, No. 11, pp. 1–9. DOI: 10.1134/S0031030114110070.
11. Drasdo D., Loeffler M. Individual-based models to growth and folding in one-layered tissues: Intestinal crypts and early development. *Nonlinear Anal.*, 2001, vol. 47, No. 1, pp. 245–256. DOI: 10.1016/S0362-546X(01)00173-0.
12. Viktorinova I., Pismen L., Aigouy B., Dahmann C. Modeling planar polarity of epithelia: the role of signal relay in collective cell polarization. *J. R. Soc. Interface.*, 2011, vol. 8, pp. 1059–1063. DOI: 10.1098/rsif.2011.0117.
13. Salm M., Pismen L.M. Chemical and mechanical signaling in epithelial spreading. *Phys. Biol.*, 2012, vol. 9, No. 2, pp. 026009–026023. DOI: 10.1088/1478-3975/9/2/026009.
14. Bratsun D.A., Krasnyakov I.V., Pismen L.M. Biomechanical modeling of invasive breast carcinoma under a dynamic change in cell phenotype: collective migration of large groups of cells. *Biomech. Model. Mechanobiol.*, 2020, vol. 19, pp. 723–743. DOI: 10.1007/s10237-019-01244-z.
15. Krasnyakov I.V., Bratsun D.A., Pismen L.M. Mathematical modeling of carcinoma growth with a dynamic change in the phenotype of cells. *Computer Research and Modeling*, 2018, vol. 10, No. 6, pp. 879–902. DOI: 10.20537/2076-7633-2018-10-6-879-902.
16. Krasnyakov I.V., Bratsun D.A., Pismen L.M. Mathematical modelling of epithelial tissue growth. *Russ. J. Biomech.*, 2020, vol. 24, no. 4, pp. 375–388. DOI: 10.15593/RJBiomech/2020.4.03.
17. Denisov E.V., Gerashchenko T.S., Zavyalova M.V., Litviakov N.V., Tsyganov M.M., Kaigorodova E.V., Slonimskaya E.M., Kzhyskowska J., Cherdyntseva N.V., Perelmuter V.M. Invasive and drug resistant expression profile of different morphological structures of breast tumors. *Neoplasma*, 2015, vol. 62, no. 3, pp. 405–411. DOI: 10.4149/neo_2015_041.
18. Guillot C., Lecuit T. Mechanics of epithelial tissue homeostasis and morphogenesis. *Science*, 2013, vol. 340, No. 6137, pp. 1185–1189. DOI: 10.1126/science.1235249
19. Bratsun D.A., Krasnyakov I.V. Study of architectural forms of invasive carcinoma based on the measurement of pattern complexity. *Math. Model. Nat. Phenom.*, 2022. (In print).

Подана в журнал: 10.02.2022

УДК 519.876.5



DOI: 10.17804/2410-9908.2022.2.006-020

МИКРОСКОПИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ХЕМОМЕХАНИКИ ПЛОСКОЙ КЛЕТОЧНОЙ ТКАНИ

А. Д. Брацун¹, Д. А. Брацун^{2, а), *}, И. В. Красняков²

¹Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера,
ул. Петропавловская, 26, Пермь, 914990, Российская Федерация

²Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
Пермский национальный исследовательский политехнический университет,
Комсомольский проспект, 29, Пермь, 914990, Российская Федерация

^{а)}  <https://orcid.org/0000-0002-3229-2330>  DABracun@pstu.ru

*Ответственный автор. Электронная почта: DABracun@pstu.ru

Адрес для переписки: Комсомольский проспект, 29, Пермь, 620049, Российская Федерация
Тел.: +7 (342) 239–14–14; факс: +7 (342) 239–14–14

Развитие компьютерных технологий позволяет реализовать математическую модель динамики клеточной ткани, которая включает поведение отдельных клеток. В работе представлена математическая модель квазидвумерной ткани, которая состоит из клеток, представленных динамически меняющимися многоугольниками. Модель включает два важных процесса, которые имитируют свойства реальных клеток: митотическое деление и интеркаляцию клеток. Для каждой вершины клетки-многоугольника записано уравнение движения, основанное на эластичной потенциальной энергии. В ходе эволюции ткань стремится занять положение, отвечающее минимуму потенциальной энергии. Модель допускает простое обобщение на случай обратной связи между биомеханическими и химическими свойствами среды, введения нескольких конкурирующих типов ткани. Приведен пример численного расчета гетерогенной карциномы солидного типа. Обсуждены перспективы развития такого подхода к моделированию.

Ключевые слова: имитационное моделирование, эпителиальная ткань, дискретная модель с индивидуальной динамикой, хемомеханическое взаимодействие.

1. Введение

Согласно закону Мура плотность транзисторов, размещаемых на кристалле микропроцессора, удваивается каждые 24 месяца. Таким образом, мощность вычислительных устройств растет со временем экспоненциально. Это означает, что потенциал использования вычислительной техники для обработки больших массивов данных и имитационного моделирования больших сложных систем все время возрастает. Причем возможности компьютеров растут быстрее, чем растут амбиции специалистов по численному моделированию применять эти технологии.

Человеческий организм представляет собой сложную систему большого числа клеток, которые координируют свою жизнедеятельность в рамках единой системы. Всего среднестатистический организм человека состоит из примерно 30 триллионов клеток, которые включают около 200 клеточных фенотипов. Характерный размер большинства структурных элементов организма лежит в пределах 5–50 мкм. Но это не единственная сложность, с которой сталкивается имитационное моделирование ткани. Проблема в том, что жизненные процессы протекают на разных пространственных масштабах: процессы генной регуляции про-

исходят на уровне ядер клеток, хемомеханическое взаимодействие регулируется на уровне клеток, процессы морфогенеза и коллективного поведения наблюдаются на уровне тканей и органов. Это означает, что любое математическое моделирование живой ткани, претендующей на реалистичность, должно быть многоуровневым. Можно дискутировать о количестве уровней пространственной самоорганизации, но сам факт многоуровневости не ставится под сомнение в абсолютном большинстве работ. По мнению авторов, минимальный набор должен включать три уровня рассмотрения: ядро – клетка – орган [1], хотя в некоторых работах предлагается булыжная детализация. Например, в работе [2] только внутри ядра клетки выделяется три пространственных уровня протекающих процессов.

Обсудим некоторые подходы к моделированию клеточной ткани. Наиболее популярным подходом до сих пор является разработка моделей сплошной среды [3–5]. Клеточная среда здесь представлена некоторой эффективной средой, свойства которой описываются дифференциальными уравнениями в частных производных. Модельные уравнения могут включать уравнения реакции-диффузии для концентрации веществ в ткани (например для описания геной регуляции), уравнение Навье–Стокса для скорости элементов среды (в случае наличия текучести) и уравнения упругости для распределения механических напряжений (при условии, если среда твердая, но деформируемая). Сильной стороной этого подхода является использование хорошо разработанного аппарата теории сплошных сред. Слабость подхода заключается в том, что теряется детализация процесса, так как динамика отдельных клеток в описании теряется.

Другой подход в моделировании принципиально строится с уровня отдельных элементов сложной системы. Клетки рассматриваются как отдельные динамические объекты со своей эволюцией. Ранние попытки такого моделирования связаны с клеточными автоматами [6], которые представляли собой фиксированные в пространстве элементы среды с заданными правилами взаимодействия с соседями. Работы [7–9] дают недавние примеры применения клеточных автоматов для описания живой ткани. Применение этого подхода позволило получить новые результаты, невидимые в рамках приближения сплошной среды, однако классический клеточный автомат также не способен описывать индивидуальную динамику клеток. Попытка инкорпорировать в модель микроскопическое описание привели к разработке методов сферических частиц [10, 11]. Модель сферических частиц рассматривает каждую клетку в виде сферы, которая может взаимодействовать с соседними клетками с помощью эффективного потенциала. Модель легко обобщается на случай трехмерной ткани, но является, по сути, феноменологической.

Наиболее современные модели деформируемой клетки принимают во внимание геометрию и возможность ее деформации, обусловленную как внешними, так и внутренними силами [1, 12–16]. Учитывается также возможность появления активной силы, которая может быть результатом белковой команды, генерируемой экспрессией генов. Существуют различные реализации модели деформируемых клеток. Вопрос о геометрической поляризации клеток в ткани рассматривался в работе [12]. Задача о заживлении раны была рассмотрена в [13]. В работах [1, 14–16] авторами было изучено структурообразование при росте карциномы при помощи модели деформируемой клетки. При численной реализации использовались массивы из тысяч и десятков тысяч индивидуальных клеток.

Сильной стороной дискретных моделей с индивидуальной динамикой деформируемых клеток является полноценное детализованное описание деформаций на микроскопическом уровне отдельных клеток. Численная реализация позволяет отследить динамику отдельных частиц. При этом описание всей ткани, как целого, также обеспечивается. Определенным недостатком подхода является его сложная программная реализация (особенно в части обобщения на случай 3D) и проблемы со структурной устойчивостью кода.

В работе мы описываем методологию построения модели ткани, которая включает деформируемые клетки с индивидуальной динамикой. Приводятся примеры численного расчета. Обсуждаются перспективы данного подхода к моделированию.

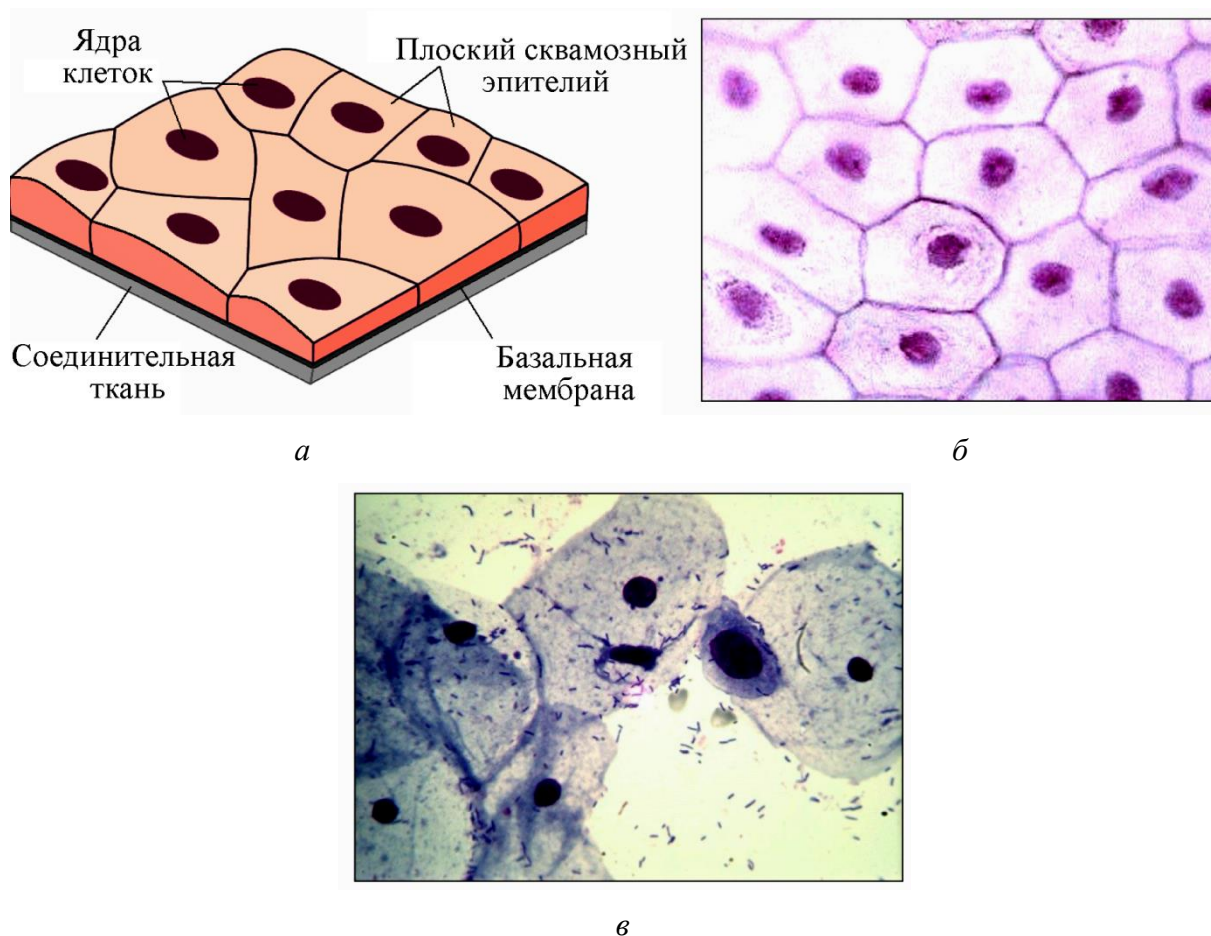


Рис. 1. Эпителиальная ткань: *а* – схематичное изображение однослойного плоского эпителия, выстилающего поверхность базальной мембраны; *б* – микрофотография здоровой ткани однослойного плоского эпителия, окраска гематоксилином и эозином; *в* – микрофотография мазка Папаниколау, демонстрирующая наличие клеток карциномы шейки матки (у раковой клетки меньший размер и более крупное ядро). Микрофотографии выполнены на оборудовании ПГМУ имени академика Е.А. Вагнера

2. Эпителиальная ткань

Наиболее удобной для отработки технологий моделирования является эпителиальная ткань. Во многих случаях эта ткань может считаться двумерной, что существенно упрощает построение модели. Даже если базальная мембрана, подстилающая эпителий, имеет сложную топологию (плотную упаковку), локальные взаимодействия клеток все равно остаются квазидвумерными.

Стоит напомнить, что ткань вообще – это эволюционно возникшая частная система организма, которая состоит из одного или нескольких дифферонов клеток и их производных и обладает специфическими функциями благодаря кооперативной деятельности всех ее элементов. Таким образом, ткань не сводится к простой сумме свойств входящих в нее элементов, что является ярким признаком сложной системы, возникшей в результате процессов самоорганизации.

Эпителий относится к одной из четырех морфофункциональных групп тканей организма (остальные три – кровь, мышечная и нервная ткани). Основная функция эпителия в организме заключается в создании разделительного барьера между средами, выполняющего защитную роль. Клетки покрывают поверхности органов, внутренних полостей и сосудов, а также формируют железы.

Эпителиальная ткань отделена от органа, который она покрывает, базальной мембраной, толщина которой не более 1 мкм (рис. 1 а). Питание клеток осуществляется, как правило, через мембрану посредством механизма диффузии. Таким образом, покровные эпителии не содержат кровеносных сосудов.

Важной особенностью эпителия является плотное прилегание клеток друг к другу. Микрофотография однослойного плоского эпителия, представленная на рис. 1 б, демонстрирует пласт эпителиоцитов, в котором практически отсутствует межклеточное вещество. Клетки связываются друг с другом при помощи десмосом. Такой же плотный контакт наблюдается между клетками и базальной мембраной. Из-за внутреннего давления форма клеток однослойного плоского эпителия близка к многоугольникам (рис. 1). Причем, отрицательные углы у вершин этих многоугольников практически не наблюдаются, так как клетки пытаются принять наиболее выгодную энергетически форму (минимальную площадь поверхности при фиксированном объеме).

Отметим, что клетки любых тканей подвергаются постоянному обновлению, вследствие чего некоторые из них отмирают. На смену им приходят новые клетки, которые появляются в результате митотического деления. Слущивание умерших клеток в однослойном эпителии до последнего момента происходит без потери контакта умершей клетки с базальной мембраной. Обычно этот процесс описывается в литературе как выдавливание (экструзия) отмирающих клеток из пласта соседями. Слой эпителия при этом не теряет свою непрерывность. Как экструзия изношенных клеток, так и появление новых приводят к локальному возникновению в ткани избыточных механических напряжений, которые снимаются за счет небольшого перераспределения (шевеления) клеток в пласте, несмотря на прикрепление десмосомами друг к другу. Этот процесс происходит медленно по сравнению с характерными временами биохимических реакций, большинство из которых определяются циркадианными и ультрадианными биоритмами. В целом, клетки в эпителии свободно перемещаться не могут, что и определяет их фенотип как *эпителиальный*. Под этим понимается клетка, которая полностью подчинена командам со стороны ткани. Противоположным по смыслу является *мезенхимальный* фенотип клеток, который подразумевает свободное движение клеток в эпителии. Такое поведение свойственно, например, раковым клеткам, которые не подчиняются системным командам со стороны ткани. Отдельные раковые клетки ведут себя в ткани настолько активно, что этот тип поведения вызывает прямую ассоциацию с поведением микроорганизмов. Отсюда такой фенотип клеток называют *амебoidalным* [17]. Такое движение в пласте эпителия характерно для одиночных раковых клеток, которые приводят к метастазированию опухоли.

На рис. 1 в представлен цитологический тест, в котором присутствует раковая клетка карциномы шейки матки, раковая клетка имеет морфологию, которая заметно отличает ее от здоровых эпителиальных клеток. Характерный размер злокачественной клетки меньше, ее ядро увеличено. Таким образом, при построении модели раковые клетки следует рассматривать как конкурирующую разновидность клеток эпителия, которые имеют свой набор хемомеханических свойств.

3. Дискретная модель эпителия с индивидуальной динамикой клеток

Основываясь на базовых свойствах эпителиальной ткани, опишем основные особенности разработанной математической модели. Как видно из рис. 1 б, форма произвольной клетки однослойного плоского эпителия в замкнутом пласте с хорошей точностью может

быть представлена в виде многоугольника. Мы используем это наблюдение и вводим в рассмотрение объект индивидуальной динамики *клетки*, который представляет собой набор вершин (зеленые кружки), и соединяющих их линий красного цвета (рис. 2). Число сторон многоугольника является индивидуальной особенностью каждой клетки и может динамически меняться в ходе ее эволюции посредством нескольких механизмов, которые описываются ниже.

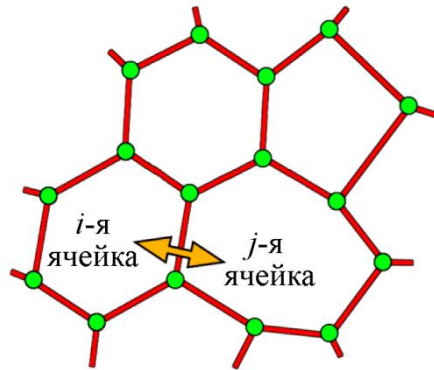


Рис. 2. Модель эпителиальной ткани, состоящей из клеток, задаваемых деформируемыми многоугольниками. Зеленые точки отмечают вершины, для которых производится расчет действия сил. Красными линиями обозначены границы клеток. Обмен химическими сигналами производится за счет диффузионных потоков белков между соседними клетками

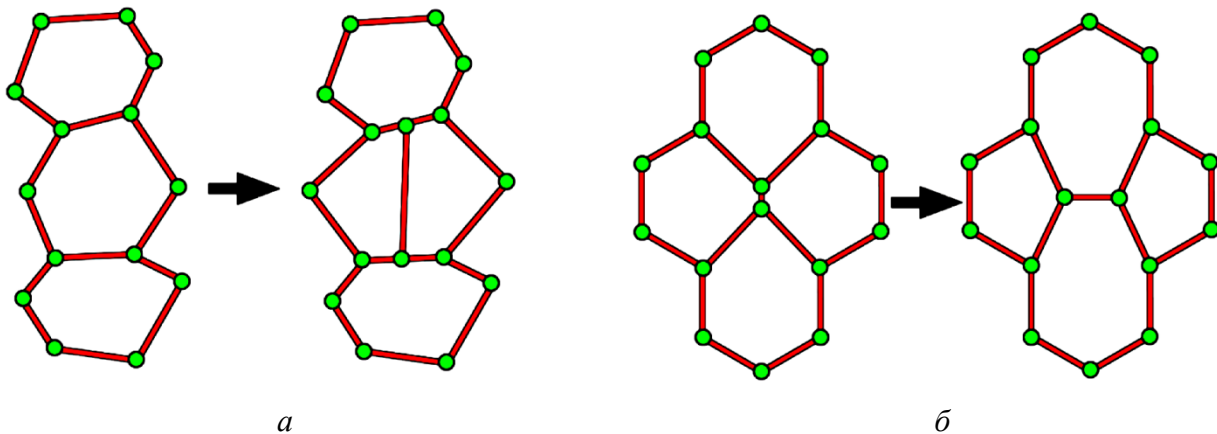


Рис. 3. Стандартные деформации клеток, заложенные в модель: *a* – митотическое деление клетки, которое в общем случае зависит от хемомеханики среды, но может происходить и случайным образом; *б* – интеркаляция двух клеток, которая наступает при уменьшении длины общей границы меньше значения, задаваемого параметром интеркаляции l_0

Пространственный уровень процессов, протекающих в масштабах клеточного ядра, задается системой дифференциальных уравнений, которые описывают экспрессию генов и генную регуляцию в клетках:

$$\frac{dC_i}{dt} = \Phi_i(C) + \alpha \sum_j l_{ij} (C_j - C_i), \quad (1)$$

где C_i – вектор концентраций веществ, участвующих в генной регуляции в i -й клетке; Φ_i – в общем случае нелинейная функция, описывающая кинетику генных реакций. Здесь и далее индексы, описывающие ансамбль клеток, будем обозначать латинскими буквами, а индексы для узлов клеток – греческими. Как видно из (1), обмен между клетками зада-

ется с помощью простого диффузионного механизма, характеризуемого коэффициентом b (рис. 2). Диффузионный поток вещества пропорционален разности его концентраций в соседних клетках и длине перемычки l_{ij} между клетками, сумма в (1) ведется только по соседям i -й клетки. Будем полагать, что внутри одной клетки концентрации веществ релаксируют настолько быстро, что в любой момент времени можно считать их постоянными в пределах рассматриваемой клетки. Таким образом, поле концентраций \mathbf{C} – дискретно, и каждая клетка является пикселем этого поля. Клетки плотно примыкают друг к другу (рис. 2), образуя сплошную поверхность без просветов, как и в естественном эпителии (рис. 1 б).

Динамическое изменение размера и формы клетки в процессе эволюции ткани происходит под действием локальных сил \mathbf{F}_ξ , приложенных к j -му узлу многоугольника:

$$\mathbf{F}_\xi = - \frac{\partial U}{\partial \mathbf{R}_\xi}, \quad (2)$$

где \mathbf{R}_ξ – радиус-вектор ξ -го узла. Смещение узлов приводит к деформации клетки, а следовательно – к изменению ее площади $A(t)$ и периметра $L(t)$. Потенциальная энергия ткани в (2) задается на основе ее эластичных свойств:

$$U = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^{N(t)} \left(\mu(\mathbf{C}_i) L_i(t)^2 + \eta(\mathbf{C}_i) (A_i(t) - A_0)^2 \right), \quad (3)$$

где суммирование ведется по всем $N(t)$ клеткам рассматриваемой системы, число которых может меняться со временем (например за счет деления клеток). Коэффициенты эластичности среды $\mu(\mathbf{C})$ и $\eta(\mathbf{C})$ являются важными величинами модели, определяющими свойства деформации среды. Первое слагаемое в энергии (3) описывает действие сил, стремящихся сократить периметр каждой клетки, а второе – представляет собой сопротивление клетки действию сил растяжения и сжатия со стороны среды и стремление клетки сохранить свою среднюю площадь A_0 (входной параметр модели). В общем случае коэффициенты эластичности являются функциями химических сигналов, поступающих с уровня генной регуляции, управляемой уравнениями (1). Таким образом, биохимические процессы в ядрах могут служить непосредственным триггером для изменения локальных механических свойств ткани. Это формирует свойство хемозластичности среды.

Уравнение движения клеток среды записывается на основе механики Аристотеля:

$$\mathbf{V}_\xi = \frac{d\mathbf{R}_\xi}{dt} = k \left[\mathbf{F}_\xi + \mathbf{F}_\xi^1 \right] \mathbf{H}(|\mathbf{F}_\xi + \mathbf{F}_\xi^1| - F_0), \quad (4)$$

где \mathbf{H} – функция Хэвисайда; k – коэффициент мобильности; F_0 – параметр, определяющий критическую силу, ниже которой ξ -й узел остается неподвижным. Запись уравнения движения в виде (4) объясняется тем, что движение клеток эпителия, как было отмечено ранее, происходит при значительном сопротивлении среды, что приводит к сильно диссипативному движению, похожему, например, на конвекцию Дарси в пористой среде.

Кроме активных сил (2), которые генерируются хемозластичностью среды, в правую часть уравнения (4) можно добавить и другие силы, которые описывают различные биологические и физические явления. Например, в работах [12, 13] было учтено групповое поведение клеток эпителия с помощью введения в рассмотрение дополнительной силы, учитывающей поляризацию клеточной ткани:

$$\mathbf{F}_i^1 = \sum_{j=1}^{N_0(t)} X_j \mathbf{P}_j, \quad (5)$$

где \mathbf{P}_j – вектор поляризации j -й клетки; X_j – концентрация протеина, ответственного за поляризацию. Усреднение в (5) ведется по соседним клеткам, их число $N_0(t)$ для каждой клетки может меняться со временем. Как правило, клетки эпителия выстраивают свой цитоскелет таким образом, чтобы соответствовать общему паттерну ткани, в которую они включены. Таким образом, сила (5) заставляет каждую клетку ориентировать свой цитоскелет, задаваемый вектором поляризации, в соответствии с общим правилом для клеток ткани. Правила могут меняться от точки к точке, давая возможность создавать сложные структуры из клеток различной поляризации.

В работах [14, 15] авторы исследовали развитие гетерогенной опухоли. Для этого все клетки опухоли были классифицированы на разные фенотипы в зависимости от того, какое положение эти клетки занимали в опухоли. Ключевой величиной для классификации был определен индекс эпителиально-мезенхимального перехода S_j раковой клетки:

$$S_i = 1 - \frac{1}{N_0(t)} \sum_{j=1}^{N_0(t)} Z_j, \quad (6)$$

где Z_j – функция состояния j -й клетки, равной 1, если клетка раковая, и 0, если клетка здоровая. Как видно из определения (6), функция S_j равна 0, если раковая клетка находится внутри опухоли (эпителиальный фенотип) и равна 1, если раковая клетка инвазивно продвигается в пласте здоровых клеток (амебоидный или мезенхимальный фенотип). В зависимости от значения индекса клетка обладает индивидуальным набором хемомеханических свойств. Выражения (5) и (6) дают два примера задания свойств модели на уровне ткани.

Митотическое деление клеток в модели происходит согласно сценария, изображенного на рис. 3 а. Для клеток эпителия в модели предполагается, что вероятность p деления клетки зависит от количества ее узлов:

$$p = p_0(\mathbf{C}) q^{n-6}, \quad (7)$$

где $p_0(\mathbf{C})$ и q – параметры задачи. В общем случае p_0 может зависеть от процессов генной регуляции. В случае $q > 1$ деление клеток с большим числом узлов предпочтительно, хотя наиболее выгодной формой клетки остается многоугольник в виде гексагональной ячейки. Новая клетка заносится в реестр и начинает свою индивидуальную эволюцию в ткани эпителия. При этом она наследует от материнской клетки мгновенные значения химических и механических полей в момент деления.

Движение узлов клеток (4) и появление новых клеток (7) вызывают в среде локальные напряжения, которые связаны с ростом потенциальной энергии [18]. Для снятия этих напряжений клетки ткани должны иметь еще одну степень свободы, связанную с процессом интеркаляции (рис. 3 б). Алгоритм интеркаляции может быть записан следующим образом:

$$p_{\text{int}} = \begin{cases} 1, & l_{ij} < l_0(\mathbf{C}) \\ 0, & l_{ij} \geq l_0(\mathbf{C}) \end{cases} \quad (8)$$

Алгоритм (7) срабатывает, если перемычка между i - и j -клетками становится меньше критического значения l_0 , которое в общем случае зависит от процессов в ядрах клеток.

Численное моделирование динамической системы (1–8) может быть выполнено с помощью подходящей конечно-разностной схемы, в которой временной шаг уравнений реакции-диффузии (1) должен быть синхронизирован с шагом механической подсистемы (4).

Выше описана лишь общая методология построения дискретной математической модели клеточной среды с индивидуальной динамикой. Для каждой конкретной задачи базовая модель должна быть существенно доработана и изменена с учетом условий задачи. Разработанную модель можно классифицировать как дискретную сложную систему, которая включает индивидуальную динамику отдельных элементов, а также групповые эффекты коллективного поведения. Описание включает процессы генной регуляции, протекающие в ядрах клеток (1), процессы хемомеханики отдельных клеток (движение (4), деление (7), интеркаляция (8)), процессы коллективного поведения клеток на уровне ткани (активная сила поляризации среды (5) для здорового эпителия, индекс эпителиально-мезенхимального перехода (6) в случае неоднородной карциномы).

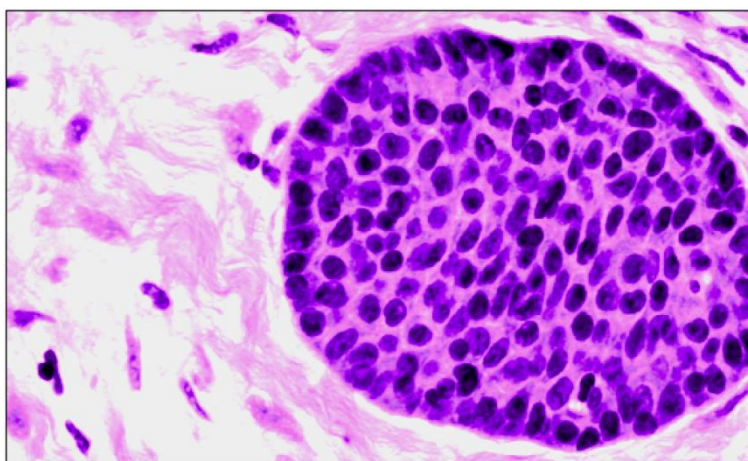


Рис. 4. Микрофотография карциномы молочной железы солидного типа, окраска гематоксилином и эозином. Опухоль характеризуется компактным расположением раковых клеток с четкой границей со здоровой тканью. Микрофотография выполнена на оборудовании ПГМУ имени академика Е.А. Вагнера

4. Пример численного моделирования: карцинома солидного типа

В случае равной подвижности здоровых и раковых клеток реализуется сценарий формирования карциномы солидного типа [14]. Сolidные структуры карциномы представляют собой компактные образования различного размера и формы, состоящие либо из мелких клеток с мономорфными ядрами, либо из крупных клеток с полиморфными ядрами. На рис. 4 представлена микрофотография, которая характерна для гистологических образцов опухоли подобного типа.

За подвижность раковых и здоровых клеток отвечает параметр интеркаляции l_0 , который используется в формуле (8) в качестве критического параметра для наступления интеркаляции. Чем ниже значение этого параметра, тем ниже вероятность интеркаляции и тем менее подвижны клетки в ткани. Solidная структура формируется, когда подвижность как здоровых, так и раковых клеток понижена. Такая опухоль в медицинской практике считается слабо инвазивной, наступление метастазирования маловероятно (если не предпринимать действий, которые могут вывести опухоль из равновесия). В этом случае прогноз для пациента, как правило, положительный.

Гетерогенность опухоли в расчете достигалась тем, что деление раковых клеток зависело от индекса S_j , задаваемого формулой (6), согласно следующего распределения вероятностей:

$$p_i^{can} = p_1 \frac{S_i^n}{1 + S_i^n} \frac{(1 - S_i)^m}{1 + (1 - S_i)^m}, \quad (9)$$

где p_1 – параметр распределения. Формула (9) сконструирована из двух функций Хилла таким образом, чтобы внутренние ($S \rightarrow 0$) и внешние клетки опухоли ($S \rightarrow 1$) практически не делились. За этим стоят следующие обоснованные соображения: внутренние клетки опухоли эпителиального фенотипа страдают от недостатка питания, а внешние клетки мезенхимального фенотипа вынуждены мигрировать во враждебной среде. И то и другое не способствует делению клеток. Максимальный темп деления согласно распределению (6) имеют клетки промежуточного фенотипа, которые располагаются на границе раковой и здоровой ткани ($S \approx 0,5$). Таким образом, основная масса раковых клеток рождается на границе опухоли. Процессами генной регуляции в данном случае мы пренебрегаем, что предполагает уравнение (1) отключенным.

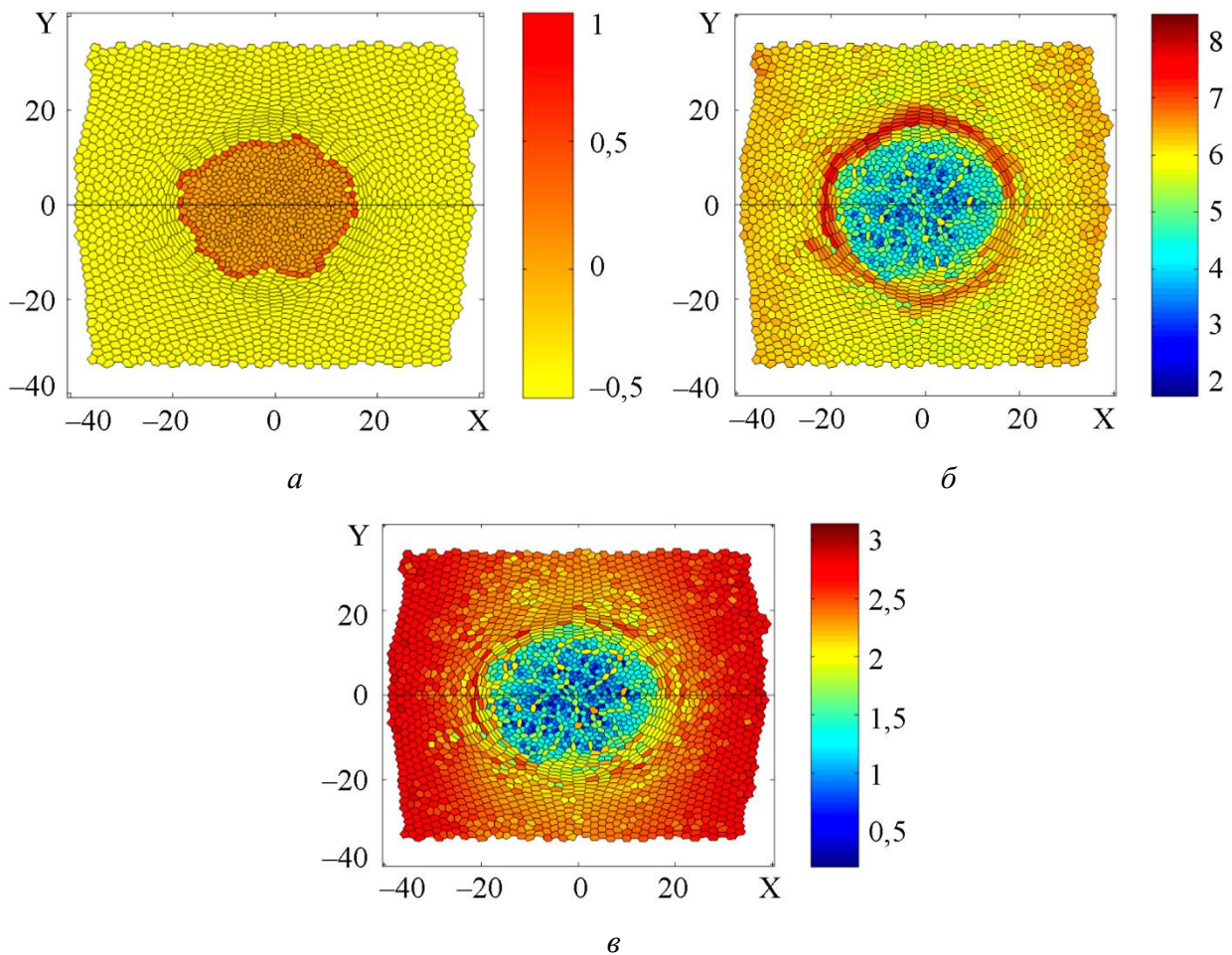


Рис. 5. Результат развития гетерогенной карциномы солидного типа: *a* – поле индекса эпителиально-мезенхимального перехода в раковой опухоли (здоровые клетки эпителия отмечены желтым); *б* – поле периметра клеток; *в* – поле площади клеток. Показаны мгновенные значения полей после интегрирования с начального пласта эпителия, состоящего из правильных гексагонов и одной раковой клетки в центре

На рис. 5 представлены результаты численного расчета системы (2–4, 7–8) со следующими значениями параметров. Для здоровых клеток: $l_0 = 0,2$; $\mu = 1,0$; $\eta = 4,5$; $k = 2,1$; $F_0 = 0,1$; $\alpha = 0,005$; $A_0 = 3\sqrt{3}/2$; $p_0 = 0,0002$; $q = 1,4$. Для раковых клеток: $l_0 = 0,2$; $\mu = 1,0$; $\eta = 1,0$; $k = 2,1$; $F_0 = 0,1$; $\alpha = 0,005$; $A_0 = 3\sqrt{3}/2$; $p_0 = 0,0002$; $q = 1,4$; $n = 8$; $m = 8$

Равновесные значения объемов клеток для обеих популяций взяты одинаковыми, чтобы четче выявить средний эффект изменения размера клеток в ходе эволюционного развития системы. На рис. 5 представлены финальные значения полей индекса эпителиально-мезенхимального перехода в раковой опухоли (a), периметра клеток (b), объема клеток (v). Начальное состояние включало пласт правильных гексагональных клеток, в центре которого была инкорпорирована одна раковая клетка. На верхней и нижней границах ткани поставлены периодические граничные условия. Боковые границы считаются свободными. Начальное состояние включало 1560 клеток, в ходе численного расчета эволюции их число увеличивалось более чем на 40 %.

Изучая результаты имитационного моделирования, представленные на рис. 5, можно заметить, что развитие солидной карциномы приводит к нарастанию существенных напряжений в ткани. Это можно заметить по значительному росту периметров здоровых клеток, примыкающих к опухоли. В среднем периметр этих клеток вырос примерно на 30 % по сравнению с обычным значением периметра здоровых клеток в нормальных условиях. Сравнение здоровых с раковыми клетками еще более существенное: здесь фиксируется превышение практически в два раза (рис. 5 b). Очевидно, что пограничные клетки здорового эпителия испытывают растяжение, находясь под давлением растущей опухоли. Объем раковых клеток в среднем в 2–2,5 раза меньше, чем здоровых клеток (рис. 5 v). При этом равновесное значение объема у обоих видов клеток было задано одинаковым. И первый и второй эффект приводят к сильному росту эластичной потенциальной энергии системы (3), уменьшить которую ткань не может, так как массивы раковых и здоровых клеток находятся в динамическом равновесии друг с другом.

Можно заметить, что проблема была бы еще серьезнее, если бы система частично не находила решение в минимизации избыточного напряжения в опухоли посредством образования нитевидных подструктур, которые состоят из сравнительно крупных клеток. Если типичная величина объема клетки внутри опухоли равна примерно 1, то клетки нитевидных структур имеют объем больше на 50–100 %. Так как размеры клеток в нитях в среднем равны размерам клеток на периферии ткани (рядом со свободной границей), то напряжения вдоль нитей практически отсутствуют.

Сравнение полученной численно солидной структуры (рис. 5 a) с реальным гистологическим образцом демонстрирует хорошее качественное согласие (рис. 4). Для количественного сравнения необходимо получить статистику клеток раковой опухоли, распределяющей их по размерам и форме, а это является непростой задачей. При численном моделировании собрать статистику сообщества раковых клеток гораздо проще. На рис. 6 представлено динамическое изменение числа клеток эпителиального и фронтального фенотипов в опухоли при ее росте из одной переродившейся клетки. Под клетками первого типа мы понимаем клетки со значением индекса S равным 0 (здоровые клетки среди соседей отсутствуют). Фронтальные клетки должны иметь хотя бы одного здорового соседа, но общее число таких соседей не должно превышать половину ($0 < S < 0,6$). Если индекс S больше 0,6, то это означает выдавливание клетки из опухоли, которое в литературе получило название *почкование* (англ. *budding*). Механизмы, которые служат спусковым крючком для почкования, до сих пор исследованы плохо, но биомеханика самой опухоли здесь играет скорее вторичную роль. Очевидно, что клеток мезенхимального фенотипа в солидной опухоли нет, так как здесь наблюдается структурно устойчивая граница между опухолью и здоровой тканью (рис. 5). Как видно из рис. 6, число раковых клеток эпителиального фенотипа нарастает быстрее, что отражает рост внутреннего объема опухоли. При этом надо помнить, что процесс деления в основном происходит вблизи границы. Поэтому большинство клеток при рождении имеют фронтальный фенотип, но затем быстро дифференцируются во внутренний фенотип.

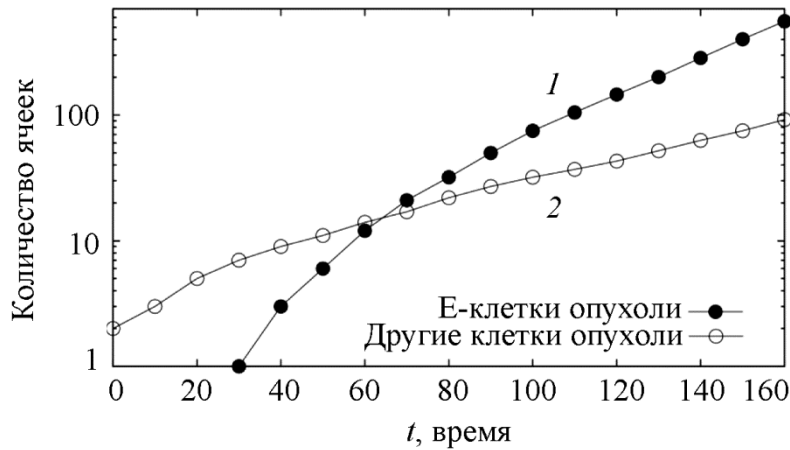


Рис. 6. Динамика изменения количества клеток в опухоли солидного типа:
1 – клетки эпителиального фенотипа ($S = 0$); 2 – клетки фронтального фенотипа ($0 < S < 0,6$).
Вертикальная ось представлена в логарифмическом масштабе

5. Перспективы применения моделей с индивидуальной динамикой

Численная реализация математической модели клеточной ткани с индивидуальной динамикой клеток позволяет получать в ходе расчета полноценную микроскопическую информацию о поведении каждой клетки в пласте эпителия. Это включает в себя нахождение полей сил и давлений, которые локально действуют в ткани. Количество клеток, которые составляют массив ткани или органа в ходе расчета, ограничен только мощностью компьютера. Уже сейчас на больших компьютерах вполне реалистичны расчеты с сотнями тысяч и миллионами клеток. В недалеком будущем это число вполне может сравниться с общим числом клеток в организме человека.

Такое имитационное моделирование может найти свое применение при разработке различных устройств, которые в ходе своей работы соприкасаются с тканью. Например, очень востребована среди специалистов локальная информация о распределении сил вблизи поверхностей скаффолдов. Скаффолд изготавливается из твердых неживых материалов методом 3D печати и используется в качестве строительных лесов для регенерации органа или части ткани, которую требуется заменить у пациента. До сих пор взаимное влияние растущих клеточных тканей и твердых неорганических поверхностей изучено слабо.

В области моделирования опухолей описанный выше подход также может сыграть важную роль, так как позволяет проследить развитие опухоли от ее зарождения до зрелого состояния. Как правило, практикующий врач-онколог, изучая гистологические образцы пациента, при определении вида опухоли полагается только на свою интуицию и опыт. В недавней работе [19] мы показали, что цифровое изображение опухоли на базе, например, микрофотографии гистологического образца, может быть использован для классификации опухолей с помощью специальной обработки изображения и использования несложных алгоритмов компьютерного обучения. Данная методика была опробована на архитектурных формах опухолей, полученных численно.

6. Заключение

В работе представлена дискретная модель двумерной клеточной ткани, которая включает в себя описание индивидуальной динамики клеток и микроскопическую информацию о деформациях отдельных клеток и клеточных групп. Ткань рассматривается как сложная система плотно примыкающих друг к другу структурных элементов, которые взаимодействуют друг с другом посредством обмена химических и механических сигналов. Каждая клетка описывается динамически деформируемым многоугольником, узлы которого пере-

мещаются для минимизации эластичной потенциальной энергии всей ткани. Приведены результаты численной реализации модели для нескольких задач.

Благодарность

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ (грант № FSNM-2020-0026).

Литература

1. Multiscale modeling of tumor growth induced by circadian rhythm disruption in epithelial tissue / D. Bratsun, V. Merkuriev, A. Zakharov, and L. Pismen // *J. Biol. Phys.* – 2016. – Vol. 42. – P. 107–132. – DOI: 10.1007/s10867-015-9395-y.
2. Chromatin fiber allostery and the epigenetic code / A. Lesne, N. Foray, G. Cathala, T. Forne, H. Wong, and J.-M. Victor // *J. Phys. Condens. Matter* – 2015. – Vol. 27. – 064114. – DOI: 10.1088/0953-8984/27/6/064114.
3. Колобов А. В., Полежаев А. А. Влияние случайной подвижности злокачественных клеток на устойчивость фронта опухоли // *Компьютерные исследования и моделирование.* – 2009. – Т. 1, № 2. – С. 225–232. – DOI: 10.20537/2076-7633-2009-1-2-225-232.
4. Штейн А. А., Юдина Е. Н. Математическая модель растущей растительной ткани как трехфазной деформируемой среды // *Российский журнал биомеханики.* – 2011. – Т. 15, № 1. – С. 42–51.
5. Alignment of cellular motility forces with tissue flow as a mechanism for efficient wound healing / M. Basan, J. Elgeti, E. Hannezo, W.-J. Rappel, H. Levine // *Proc. Natl. Acad. Sci.* – 2013. – Vol. 110, No. 7. – P. 2452–2459. – DOI: 10.1073/pnas.1219937110.
6. Von Neumann J. *Theory of self-reproducing automata.* – London, Press: University of Illinois, 1966. – 388 p.
7. Distinguishing between directed and undirected cell motility within an invading cell population / M. J. Simpson, K. A. Landman, B. D. Hughes // *Bull. Math. Biol.* – 2009. – Vol. 71. – P. 781–799. – DOI: 10.1007/s11538-008-9381-7.
8. Hybrid cellular automaton modeling of nutrient modulated cell growth in tissue engineering constructs / C. A. Chung, T. H. Lin, S. D. Chen, Huang H. I. // *J. Theor. Biol.* – 2010. – Vol. 262, Issue 2. – P. 267–278. – DOI: 10.1016/j.jtbi.2009.09.031.
9. Tumor growth modelling by cellular automata / R. Interian, R. Rodriguez-Ramos, F. Valdes-Ravelo, A. Ramirez-Torrez, C. C. Ribeiro, A. Conci // *Mathematics and Mechanics Complex Systems.* – 2017. – Vol. 5, Nos. 3–4. – P. 239–259. – DOI: 10.2140/memocs.2017.5.239.
10. Markov M. A., Markov A.V. Computer simulation of the ontogeny of organisms with different types of symmetry // *Paleontol. J.* – 2014. – Vol. 48, No. 11. – P. 1–9. – DOI: 10.1134/S0031030114110070.
11. Drasdo D., Loeffler M. Individual-based models to growth and folding in one-layered tissues: Intestinal crypts and early development // *Nonlinear Anal.* – 2001. – Vol. 47, Iss. 1. – P. 245–256. – DOI: 10.1016/S0362-546X(01)00173-0.
12. Modeling planar polarity of epithelia: the role of signal relay in collective cell polarization / I. Viktorinova, L. Pismen, B. Aigouy, C. Dahmann // *J. R. Soc. Interface.* – 2011. – Vol. 8. – P. 1059–1063. – DOI: 10.1098/rsif.2011.0117.
13. Salm M., Pismen L. M. Chemical and mechanical signaling in epithelial spreading // *Phys. Biol.* – 2012. – Vol. 9, No. 2. – P. 026009–026023. – DOI: 10.1088/1478-3975/9/2/026009.
14. Bratsun D. A., Krasnyakov I. V., Pismen L. M. Biomechanical modeling of invasive breast carcinoma under a dynamic change in cell phenotype: collective migration of large groups of cells // *Biomech. Model. Mechanobiol.* – 2020. – Vol. 19. – P. 723–743. – DOI: 10.1007/s10237-019-01244-z.

15. Krasnyakov I. V., Bratsun D. A., Pismen L. M. Mathematical modeling of carcinoma growth with a dynamic change in the phenotype of cells. *Computer Research and Modeling*. – 2018 – Vol. 10, No. 6. – P. 879–902. – DOI: 10.20537/2076-7633-2018-10-6-879-902.
16. Krasnyakov I. V., Bratsun D. A., Pismen L. M. Mathematical modelling of epithelial tissue growth // *Russ. J. Biomech.* – 2020. Vol. 24, No. 4. – P. 375–388. – DOI: 10.15593/RJBiomech/2020.4.03.
17. Invasive and drug resistant expression profile of different morphological structures of breast tumors / E. V. Denisov, T. S. Gerashchenko, M. V. Zavyalova, N. V. Litviakov, M. M. Tsyganov, E. V. Kaigorodova, E. M. Slonimskaya, J. Kzhyshkowska, N. V. Cherdyntseva, V. M. Perelmuter // *Neoplasma*. – 2015. – Vol. 62, No. 3. – P. 405–411. – DOI: 10.4149/neo_2015_041
18. Guillot C., Lecuit T. Mechanics of epithelial tissue homeostasis and morphogenesis // *Science*. – 2013. – Vol. 340, iss. 6137. – P. 1185–1189. – DOI: 10.1126/science.1235249.
19. Bratsun D. A., Krasnyakov I. V. Study of architectural forms of invasive carcinoma based on the measurement of pattern complexity // *Math. Model. Nat. Phenom.* – 2022 (принято в печать).