

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Государственный научный центр Российской Федерации –
Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна»

На правах рукописи

ГИНЕВСКИЙ ДМИТРИЙ АЛЕКСЕЕВИЧ

**ИССЛЕДОВАНИЕ КИНЕТИКИ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ
РАДИОСЕНСИЛИЗАТОРОВ В ОПУХОЛИ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ
ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ**

Специальность 1.5.1. Радиобиология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
кандидат медицинских наук, доцент
Ижевский Павел Владимирович

Москва – 2025

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ	6
Актуальность и степень разработанности проблемы.....	6
Цель и задачи исследования	8
Научная новизна диссертационного исследования.....	9
Теоретическая и практическая значимость работы.....	9
Положения, выносимые на защиту	10
Соответствие диссертации паспорту научной деятельности.....	11
Апробация результатов исследования	11
Публикации по теме диссертации	12
Объем и структура диссертации.....	13
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	14
1.1. Задачи оптимизации лучевой терапии	14
1.1.1. Методы нацеливания ЛТ.....	14
1.1.2. Особенности использования радиосенсибилизаторов	20
1.2. Радиосенсибилизаторы	20
1.2.1. Борсодержащие препараты	22
1.2.2. Препараты с действующим элементом с большим Z	25
1.2.3. Платиносодержащие химиотерапевтические препараты.....	29
1.2.4. Экспериментальные методы определения концентрации радиосенсибилизаторов	33
1.3. Математические модели	35
1.3.1. Классификация математических моделей	36
1.3.2. Биосистемы – как объект математического моделирования	38
1.3.3. Математическое моделирование фармакокинетики и фармакодинамики препаратов	41
1.4.1. Сложности математического описания биологических систем	46
1.4.2. Математическое описание стохастических систем.....	47
1.4.3. Применение стохастических дифференциальных уравнений	48
1.4.4. Стохастические дифференциальные уравнения в биофизике	50

1.5. Рассматриваемые процессы	51
1.5.1. Особенности метаболизма раковых клеток	52
1.5.2. Связь между биологическими уровнями и масштабами математического описания	61
1.5.3. Количественные оценки параметров, описывающих превалирующие / основные процессы	63
1.6. Заключение	67
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	69
2.1. Общие принципы построения модели	69
2.2. Общий вид уравнений.....	73
2.3. Определение случайных функций.....	81
2.4. Особенности реализации математической модели	86
2.5. Описание модели для бор-10-фенилаланина	90
2.6. Описание модели для «Цисплатина»	91
2.7. Данные клинических наблюдений	95
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	96
3.1. Результаты расчетов по бор-10-фенилаланину и их обсуждение.....	96
3.2. Результаты расчетов по «Цисплатину» и их обсуждение.....	109
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	123
ВЫВОДЫ	126
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	128
ПРИЛОЖЕНИЕ 1	149
ПРИЛОЖЕНИЕ 2	150
ПРИЛОЖЕНИЕ 3	152
ПРИЛОЖЕНИЕ 4	156
ПРИЛОЖЕНИЕ 5	157

СПИСОК ПРИНЯТЫХ В РАБОТЕ СОКРАЩЕНИЙ

ЛТ - лучевая терапия

3D CRT - трехмерная конформная лучевая терапия

IMRT - радиотерапия с модуляцией интенсивности

IGRT - лучевая терапия под визуальным контролем

SRT - стереотаксическая радиохирургия

НЗТ – нейтронозахватная терапия

БНЗТ - бор-нейтронозахватная терапия

BPA - борфенилаланин, p-borono-L-phenylalanine

BSH - боркаптат натрия, Na₂B₁₂H₁₁SH

ЛПЭ - линейная передачи энергии

ЗНЧ - золотые наночастицы

ДНК - дезоксирибонуклеиновая кислота

РНК - рибонуклеиновая кислота

ФЗТ - фотон-захватная терапия

EPR - улучшенная проницаемость и удержание, (enhanced permeability and retention)

L-ДОПА/L-dopa - (l-3,4-дигидроксифенилаланин) химическое соединение, предшественник нейромедиаторов дофамина, норадреналина и адреналина.

МРТ - магнитно-резонансная томография

НЧ – наночастица

АФК - активные формы кислорода

ПЭТ - Позитронно-эмиссионная томография

КТ - Компьютерная томография

CFD - computational fluid dynamics, вычислительная гидродинамика

ФК – фармакокинетика

ФД – фармакодинамика

СДУ – стохастическое дифференциальное уравнение

АТФ – аденоzinтрифосфат

TCA - трикарбоновая кислота
PPP - пентозофосфатный путь
PEP – фосфоенолпируват
PYR – пируват
PDH – пируватдегидрогеназа
PDK / PDHK - киназы пируватдегидрогеназы
PDP – фосфатаза
HIF(s) – фактор (-ы) индуцируемые гипоксией
LDH – лактатдегидрогеназа
DCA – дихлорацетат
 α -KG - α -кетоглутарат
GLUL - глутамат-аммиачная лигаза
GOT2 - глутамин-оксалоуксусная трансаминаза 2
NAD⁺ - окисленная форма никотинамидадениндинуклеотида
GOT1 - глутамин-оксалоуксусная трансаминаза 1
MDH1 - малат малатдегидрогеназа 1
NADPH – Никотинамидадениндинуклеотидфосфат
ДУ – дифференциальное уравнение
СЛАУ - система линейных алгебраических уравнений
ЗТ – здоровая ткань
ПС – поверхностный слой опухоли
ВО – внутренняя область опухоли
ОП – опухоль

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность и степень разработанности проблемы

Несмотря на значительный прогресс в диагностике и лечении онкологических заболеваний, злокачественные новообразования остаются одной из ведущих причин смерти во всем мире. По оценкам эпидемиологических прогнозов, только в России за 2021, 2022 и 2023 год было выявлено более 580 [1], 620 [2] и 670 [3] тысяч случаев злокачественных новообразований, ежегодный рост данного показателя выше 7,5-8%. При этом ежегодно было зарегистрировано более 270 тысяч смертей от онкологических заболеваний [1,2,3]. В США аналогичные показатели за 2023 год составляют почти 2 миллиона диагнозов и более 600 тысяч смертей от рака [4]. Эти высокие показатели заболеваемости и смертности подчеркивают необходимость постоянного прогресса в разработке новых и более эффективных методов лечения. Клинические исследования показали, что более половины пациентов нуждаются в лучевой терапии, и в некоторых случаях лучевая терапия является единственным методом лечения рака [5].

В настоящее время лучевая терапия (ЛТ) является одним из основных методов лечения онкологических заболеваний и может использоваться в сочетании с хирургией и химиотерапией при многих формах рака [6,7,8,9]. Одной из самых больших проблем, связанных с ЛТ, является доставка достаточной дозы для уничтожения злокачественных клеток без сопутствующего повреждения здоровых тканей. Радиочувствительность клеток нормальных тканей ограничивает дозы, используемые в стандартных протоколах лучевой терапии, и препятствует повышению эффективности лучевой терапии. Повреждение окружающих нормальных тканей может

вызывать различные реакции организма, начиная от неприятных симптомов, которые негативно влияют на качество жизни, до серьезных опасных для жизни осложнений [10,11]. Поиск решения этой основополагающей проблемы ЛТ происходит в двух направлениях: в улучшении точности доставки поглощенной дозы в объем опухоли и на повышении радиочувствительности опухоли.

Точность доставки дозы облучения в опухоль обуславливается методами физического нацеливания излучения. Применение этих методов сегодня находится на высоком уровне, но результаты лечения и выживаемость значительно различаются между учреждениями и группами пациентов [12]. Поэтому считается, что значительный прогресс в эффективности лучевой терапии может быть достигнут за счет повышения радиочувствительности опухоли при помощи применения радиосенсибилизаторов [13,14,15,16].

Эффект от взаимодействия излучения с одним атомом радиосенсибилизатора проявляется в очень ограниченной области. Эта область может несколько отличаться для разных типов излучения, однако она не превышает 5-7 мкм [17,18], что сопоставимо с размером клеток млекопитающих. Поэтому основной задачей при разработке и создании радиосенсибилизаторов является организация их избирательного попадания и накопления именно в опухолевой ткани. При этом основным вопросом в изучении взаимодействия радиосенсибилизаторов с излучением является детальная оценка пространственного распределения дозомодифицирующего агента как в опухолевой, так и в здоровой ткани.

На сегодняшний день существующие экспериментальные методики не позволяют с нужной точностью определить пространственное распределение концентрации радиосенсибилизаторов в опухоли и окружающих ее тканях. Анализ биопсионных проб, позволяет лишь точно определить концентрацию в опухоли, без возможности оценить пространственное распределение [19,20,21,22]. Неинвазивные способы оценки концентрации не

имеют нужной точности измерения и в основном используются для качественной оценки накопления препарата, количественно оцениваются лишь относительные характеристики накопления радиосенсибилизатора, усредненные по всему объему опухоли [23].

Определение концентрации радиосенсибилизатора в крови в настоящее время не составляет особой проблемы, поэтому наибольший интерес представляет собой задача по выявлению связи между динамикой изменения концентрации дозомодифицирующего агента в крови и динамикой пространственного распределения агента в опухоли [24,25,26]

Цель и задачи исследования

Целью диссертационной работы является разработка математической модели пространственно-временного распределения радиосенсибилизаторов в опухоли для повышения эффективности лучевой терапии с учетом стохастических явлений, наблюдавшихся в клеточной структуре.

Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие задачи исследования:

1. Создание метода построения математических нестационарных трехмерных моделей распределения радиосенсибилизатора на тканевом и клеточном уровне с параметрами в виде физических величин, значение которых измерено в независимых экспериментах.
2. При разработке метода построения математических моделей необходимо учесть многоуровневую организацию живого и объединить данные, полученные как *in vivo*, так и *in vitro*.
3. Разработать математическую модель и провести расчет изменения во времени пространственного распределения бора-10 (на примере бор-10-фенилаланина) для нейтрон-захватной терапии.

4. Разработать математическую модель и провести расчет изменения во времени пространственного распределения атомов платины (на примере «Цисплатина») для химиолучевой терапии.
5. Определить последовательность и оптимальное время начала проведения лучевой терапии при комбинированной химиотерапии «Цисплатином» с лучевым воздействием на солидные опухоли.

Научная новизна диссертационного исследования

- Впервые создана методология построения математических нестационарных трехмерных моделей распределения радиосенсибилизатора на тканевом и клеточном уровне, основанная на системе стохастических дифференциальных уравнений, объединяющая данные полученные *in vivo* и *in vitro*.
- Впервые при помощи компьютерного моделирования показана динамика пространственного распределения различных модифицирующих лучевое действие на опухоль агентов (бор-10, платина).
- Впервые получена количественная оценка скорости эндоцитоза в опухолевых клетках, превышающая скорость эндоцитоза в макрофагах примерно в 10 раз.

Теоретическая и практическая значимость работы

- Разработанные математические модели позволяют рассчитать изменяемое во времени пространственное распределение радиосенсибилизирующего агента как в различных частях опухоли, так и в примыкающих к опухоли здоровых тканях.

- Показано, что неоднородность распределения концентрации радиосенсибилизатора в опухоли приводит к значительным погрешностям при оценке полученных значений из данных биопсии.
- Впервые при помощи компьютерного моделирования показана динамика концентрации радиосенсибилизатора в опухоли, в том числе, учитывая разные функциональные состояния агента внутри клеток.
- Впервые определено оптимальное время облучения после введения радиосенсибилизатора, совпадающее со временем достижения максимума концентрации агента в опухолевых клетках.
- Расчеты показывают, что для бор-10-фенилаланина максимум концентрации в ткани опухоли будет наблюдаться через 8-12 часов после начала его внутривенного введения, в зависимости от схемы введения препарата и типа опухоли.
- Расчеты показывают, что для повышения эффективности комбинированной химиолучевой терапии «Цисплатин» следует вводить не менее чем за 72 часа до начала лучевой терапии.

Положения, выносимые на защиту

1. В ходе работы создан метод построения математических моделей, использующий стохастические дифференциальные уравнения для моделирования пространственного распределения и накопления радиосенсибилизаторов в опухоли и в окружающих ее тканях, учитывающий многоуровневую организацию живого и объединяющий данные полученные *in vivo* и *in vitro*.
2. Применение созданного метода позволило разработать математическую модель для расчета пространственного распределения радиосенсибилизатора ^{10}B в опухоли и окружающей здоровой ткани при введении бор-10-фенилаланина.

3. Использование указанного метода дало возможность разработать математическую модель для расчета пространственного распределения атомов платины в опухоли и окружающей ткани при введении химиотерапевтического препарата «Цисплатин».
4. В ходе научного исследования показано, что для химиолучевой терапии с использованием «Цисплатина» оптимальным является облучение после введения препарата не ранее, чем через 72 часа после начала его введения.

Соответствие диссертации паспорту научной деятельности

Отраженные в диссертации научные положения соответствуют области исследований специальности 1.5.1. Радиобиология, и охватывают П.9 «Проблема радиационной чувствительности биологических объектов. Модификация радиочувствительности. Комбинированное и сочетанное воздействие ионизирующих излучений (химические, физические и другие факторы) на живые организмы. Неспецифические реакции организма на облучение» и П.11 «Медицинская радиобиология. Радиационная иммунология; биологическое действие инкорпорированных радионуклидов; оценка поражений инкорпорированными радионуклидами. Медицинская радиобиология: радиобиология опухолей, основы лучевой терапии опухолей; индивидуальная радиочувствительность; противолучевая защита и создание новых радиопротекторных препаратов; радиационная иммунология и гематология; радиационная гигиена и эпидемиология» паспорта специальности.

Апробация результатов исследования

Основные результаты работы были представлены и обсуждены на: Международной конференции “Радиобиологические основы лучевой терапии” Обнинск 2017, International Conference “Physics of Cancer:

Interdisciplinary Problems and Clinical Applications" Tomsk 2017, Российской конференции с международным участием "Радиобиологические основы лучевой терапии" Дубна 2019, Троицкой конференции с международным участием "Медицинская физика" (ТКМФ-7) Москва 2020, Школе-конференции молодых учёных и специалистов «Ильинские чтения» Москва 2020, XI Международной научно-практической конференции "Физико-технические проблемы в науке, промышленности и медицине" Томск 2022, V юбилейном международном форуме "Медицинская физика" (ТКМФ-7) Москва 2022, Российской научно-практической конференции "Перспективные направления в лучевой терапии злокачественных новообразований" Томск 2023, Международная конференция "Актуальные проблемы радиационной биологии. Модификация радиационно-индуцированных эффектов" Дубна 2024, III Международная научная конференция "Иновационные технологии ядерной медицины и лучевой диагностики и терапии" Москва 2024.

Публикации по теме диссертации

По теме диссертации опубликовано 6 печатных работ в рецензируемых российских и иностранных изданиях, входящих в перечень ВАК Минобрнауки РФ (3 – RSCI, 2 – Scopus). Получено 1 свидетельство о государственной регистрации программы ЭВМ. Материалы диссертационной работы были доложены на российских и международных научных конференциях и опубликованы в 10 сборниках материалов конференций. **Личный вклад автора** состоит в разработке методики построения математической модели, построении на базе этой методики математических моделей для конкретных рассматриваемых препаратов, разработке компьютерной программы для решения полученных уравнений, проведении всех представленных расчетов, обработке полученных результатов и подготовке публикаций.

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, изложения полученных результатов исследования и их обсуждения, заключения, выводов и библиографического списка. Работа изложена на 157 страницах печатного текста, включает 18 таблиц, 18 рисунков, список литературы включает в себя 288 источников, из которых 254 на иностранных языках.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Задачи оптимизации лучевой терапии

Лучевая терапия (ЛТ) один из трех основных методов лечения онкологических заболеваний, применяемый как самостоятельно, так и в сочетании с другими методами (хирургией и химиотерапией) [6,7]. Одной из основных проблем ЛТ является подведение эффективной дозы к опухоли с одновременным максимально возможным исключением поражения излучением окружающих здоровых тканей. Эффективность ЛТ растет с увеличением поглощенной дозы в опухоли, но токсичность для нормальных тканей ограничивает дозы, используемые в стандартных протоколах лучевой терапии, что препятствует повышению ее эффективности. Повреждение окружающих нормальных тканей может вызывать реакции организма, начиная от симптомов, негативно влияющих на качество жизни, до серьезных, опасных для жизни осложнений [10,11]. Поэтому поиск решения этой основополагающей проблемы ЛТ происходит в двух направлениях: в улучшении точности доставки поглощенной дозы в объем опухоли и на повышении радиочувствительности опухоли.

1.1.1. Методы нацеливания ЛТ

Точность доставки дозы облучения в опухоль обуславливается методами физического нацеливания излучения, такими как трехмерная конформная лучевая терапия (3D CRT), радиотерапия с модуляцией интенсивности (IMRT), лучевая терапия под визуальным контролем (IGRT), стереотаксическая радиохирургия (SRT). Применение этих методов находится на высоком уровне, но результаты лечения и выживаемость

значительно различаются среди учреждений и групп пациентов [12]. Дальнейшее улучшение эффективности лучевой терапии может быть достигнуто за счет повышения радиочувствительности опухоли при помощи радиационных сенсибилизаторов, применение которых должно учитывать физиологические и биохимические особенности пациента.

Радиационными сенсибилизаторами («радиосенсибилизаторами») принято называть химические соединения или наночастицы, способные увеличивать эффект от облучения в заданной области. В некоторых случаях их называют дозодополняющими или дозомодифицирующими препаратами. Радиосенсибилизатор условно состоит из двух компонентов: средства доставки, что позволяет получить наибольшую его концентрацию именно в нужном месте опухоли, и дозомодифицирующего агента, который усиливает эффект конкретного вида излучения.

Существуют различные варианты лучевой терапии с использованием разных частиц: фотоны, электроны, нейтроны, адроны (протоны и атомы углерода). Электроны (β -излучение) имеют очень низкую проникающую способность, поэтому используются при возможности доставить источник излучения непосредственно к опухоли, это же свойство частиц позволяет сильно ограничить облучаемую область. Остальные же виды лучевой терапии имеют значительную проникающую способность, поэтому и могут быть использованы в сочетании с радиосенсибилизаторами. Рассмотрим эти виды излучения и их взаимодействие с дозомодифицирующими агентами.

1.1.1.1. Нейтрон захватная терапия.

В дистантной ЛТ используются различные виды ионизирующих излучений – фотоны, протоны, ускоренные ионы, а также быстрые, высокоэнергетические нейтроны. Тепловые нейтроны, с энергией 0,5 эВ - 5 мэВ, используются преимущественно совместно с радиосенсибилизатором, в рамках нейтрон захватной терапии (НЗТ). В отличие от других методов

лучевой терапии, требующих специальных методов фокусировки пучка, наведение на цель выполняется повышенной концентрацией радиосенсибилизатора в опухоли. В этом качестве традиционно используются ^{10}B и ^{157}Gd . У этих элементов большое сечение реакции поглощения нейтронов [17]. Несмотря на то, что вероятность поглощения нейтрона у гадолиния в 67 раз больше, чем у бора, гадолиний широко используется в качестве контрастирующего элемента в диагностических, но не в терапевтических целях, основным элементом для НЗТ является бор. Это связано как с тем, что гадолиний – это высокотоксичный металл, соединения которого плохо выводятся из организма, так и с тем, что основным продуктом распада гадолиния является жесткое γ -излучение со средним пробегом в биологической ткани порядка 40 см [27]. В случае бора основная энергия распада выделяется с α – частицами, у которых длина пробега в тканях организма составляет 5,2-7,5 мкм [17], что сопоставимо с размером клеток млекопитающих.

Основными дозомодифицирующими препаратами на основе БНЗТ (бор-нейтронозахватная терапия) являются ВРА (борфенилаланин, p-borono-L-phenylalanine) и BSH (боркарбат натрия, $\text{Na}_2\text{B}_{12}\text{H}_{11}\text{SH}$). Каждый из них имеет свои недостатки, что будет рассмотрено ниже. Несмотря на многочисленные, тщательно спланированные и многообещающие клинические испытания [28,29], БНЗТ очень медленно внедряется в клиническую практику, как из-за сложного поиска идеальных носителей для доставки эффективных концентраций бора к раковым клеткам, так и из-за ограниченной доступности источников тепловых нейтронов.

1.1.1.2. Адронная терапия

В последнее десятилетие самым быстро развивающимся и перспективным вариантом ЛТ является адронная терапия [30], прежде всего терапия протонами. Физические свойства этих частиц позволяют выделять

энергию гораздо более избирательно, чем фотоны благодаря инвертированному профилю глубина-доза, описываемому кривой Брэгга [31]. Здоровые ткани в пределах входного канала луча избегают дозы, в то время как большая часть дозы сконцентрирована в конце пробега частиц (так называемый «пик Брэгга»). Это свойство заряженных частиц, позволяет доставлять градиенты очень высоких доз близко к органам риска, ограничивая область высоких доз объемом опухоли. Результаты фазы I/II клинических испытаний подтверждают обоснованность подхода, особенно для глубоко расположенных опухолей, а также расположенных вблизи критических органов, и нерезекtableльных или рецидивирующих опухолей [32,33]. Такой метод лечения особенно важен для онкологических больных детского возраста [32] из-за значительного снижения интегральной дозы, даже по сравнению с более новыми фотонными методами, такими как лучевая терапия с модулированной интенсивностью (IMRT) [34]. При этом протоны считаются лишь немногим более биологически эффективными, чем фотоны [35]. Сочетание баллистической точности с повышенной способностью уничтожать опухолевые клетки делает обоснованным использование более тяжелых частиц, таких как очищенные ионы ^{12}C [36], которые имеют некоторые преимущества над протонами [37]. Они обеспечивают лучшее физическое распределение дозы за счет меньшего бокового рассеяния [38], а также являются более биологически эффективными из-за большей линейной передачи энергии (ЛПЭ) [39,40]. Сложности, связанные с фрагментацией ядер от первичного луча, наряду с частичным пониманием последствий облучения нормальных клеток излучением с высокой ЛПЭ, а также с учетом сложности получения и обработки ^{12}C , стимулируют исследования по изучению использования протонов совместно с радиосенсибилизаторами. В качестве таковых предлагается использовать золотые наночастицы (ЗНЧ), поскольку результаты экспериментов убедительно показали наличие эффекта [41,42,43,44,45]. Изначально предполагалось, что этот эффект связан с

увеличением ионизации и эмиссии электронов, индуцированных протонами или вторичными электронами, что приводит к локальному увеличению поглощенной энергии. Дальнейшие исследования показали, что наблюдалось очень небольшое увеличение дозы, то есть физические эффекты играют незначительную роль в усилении биологического повреждения.

Считается, что гибель клеток при радиосенсибилизации наночастицами является результатом сложных физических, химических и биологических процессов, вызванных комплексным воздействием наночастиц и ионизирующего излучения [46,47]. Кроме ЗНЧ совсем недавно были проведены первые работы при сочетании протонной терапии с препаратом BSH на основе бора, только в отличие от БНЗТ использовался не обогащённый ^{10}B , а его естественное природное сочетания изотопов (около 80% ^{11}B и 20% ^{10}B). При взаимодействии протона с ^{11}B энергия выделяется с тремя α - частицами с малой длинной пробега, при этом наблюдалось значительное увеличение индуцированных протонами цитогенетических эффектов как с точки зрения гибели клеток, так и с точки зрения индукции повреждения ДНК [48].

1.1.1.3. Фотонная терапия

Самым распространённым вариантом лучевой терапии является терапия с использованием рентгеновского (фотоны) излучения. Существует множество методов физического нацеливания рентгеновского излучения на опухоль, постоянно ведутся работы для улучшения их эффекта с помощью радиосенсибилизаторов. Повышение радиочувствительности опухоли может быть обеспечено за счет введения в нее препаратов, содержащих атомы элементов с высоким атомным номером Z («тяжелыми» элементами), что составляет основной принцип фотон-захватной терапии (ФЗТ) [49]. Существуют и другие виды радиосенсибилизаторов, использующие иные механизмы действия [50]. Наиболее широкое распространение в

исследованиях радиосенсибилизации для ФЗТ получили элементы: гадолиний ($Z = 64$), платина ($Z = 78$) и золото ($Z = 79$). До недавнего времени механизм радиосенсибилизации «тяжелыми» элементами объяснялся более высоким коэффициентом поглощения энергии атомами этих элементов по сравнению с атомами биологической ткани. Добавление небольшой концентрации атомов таких элементов позволяет увеличить локальное энерговыделение при взаимодействии с внешним излучением и вызываемую этим гибель клеток. Поэтому преимущественная доставка препаратов с «тяжелыми» элементами в объем опухоли обеспечивает различие в степени энергопоглощения, улучшает распределение дозы между опухолевой и здоровой тканью и тем самым способствует увеличению эффективности ЛТ [51]. Показано, что эффективность ФЗТ не является простой функцией поглощенной дозы. Существует большое количество экспериментальных данных, свидетельствующих о существенной радиосенсибилизации при незначительном повышении поглощенной дозы, вызванной добавлением в биологическую среду «тяжелых» элементов (с большим атомным номером, Z) в малых концентрациях [52]. Показана заметная радиосенсибилизация при использовании клинических мегавольтных ускорителей в качестве источников фотонов [53]. Согласно общетеоретическим данным, увеличение поглощенной дозы сильно зависит от энергии и становится пренебрежимо малым при увеличении энергии фотонов. Поэтому основное радиосенсибилизирующее действие элементов с высоким Z при облучении получило объяснение за счет фотоэлектрического поглощения материала, которое может вызвать высвобождение электронов (Оже-излучения) и/или флуоресцентных фотонов [52,54,55,56]. Однако полного описания процесса радиосенсибилизации, вытекающего из локализованного выделения энергии через Оже-каскад, нет. Хотя физическая основа радиосенсибилизации подробно рассмотрена во многих работах, но совокупный механизм действия через физико-химические процессы и описание биологических эффектов до настоящего времени не определены. В частности, испускаемые Оже-

электроны индуцируют радиолиз окружающей воды и производят большое количество свободных гидроксильных радикалов, приводящих к молекулярным повреждениям и гибели клеток. Из-за низких энергий Оже-электроны проникают в биологические ткани на глубины в диапазоне 10-100 нм. В результате возникает сильно локализованное энерговыделение, сравнимое с энерговыделением при адронной терапии [18].

1.1.2. Особенности использования радиосенсибилизаторов

Радиосенсибилизаторы усиливают эффект от ЛТ в очень ограниченной области: 5-7 мкм [17] в случае НЗТ и 10-100 нм [18] в случае ФЗТ. Присутствие дозомодифицирующего агента при ЛТ оказывает влияние на химические и биологические процессы как в клетках, так и в межклеточном пространстве. Биологическое действие облучения проявляется в возникновении свободных радикалов – катионов водорода H^+ и гидроксильной группы OH^- , которые существуют очень ограниченное время [57]. Однако они имеют высокую реакционную способность, вступая в химические реакции с молекулами клеток, и в основном это является причиной повреждения внутриклеточных структур и мембран клетки, что в итоге приводит к гибели клетки. Также излучение частиц способно стимулировать иммунологические реакции [58].

Приведенные соображения свидетельствуют о том, что основной задачей при разработке и создании радиосенсибилизаторов является организация их избирательного попадания и накопления именно в опухолевой ткани. При этом основным вопросом в изучении взаимодействия радиосенсибилизаторов с излучением является детальная оценка распределения дозомодифицирующего агента как в опухолевой, так и в здоровой ткани.

1.2. Радиосенсибилизаторы

Все радиосенсибилизаторы условно подразделяют на две категории:

1. Вещества, используемые исключительно для усиления воздействия ЛТ, при этом их непосредственное влияние на опухолевые клетки либо отсутствует, либо не изучено на данный момент.
2. Вещества, которые являются препаратами химиотерапии, которые действуют на клетки опухоли и без ЛТ.

На первый взгляд различие препаратов в этих двух категориях незначительно: как в одном, так и в другом случае должно происходить усиление эффекта от воздействия излучения. Однако при создании препаратов из разных групп преследуются разные цели. Безусловно, в обеих группах учитываются вопросы снижения токсичности для здоровых клеток и тканей, рассматриваются вопросы полного выведения препарата из организма после курса лечения и другие вопросы, связанные с безопасностью применения препаратов. Но при этом целью создания препарата из первой группы является достижение максимальной и равномерно распределенной по опухоли концентрации действующего агента, а целью создания препарата из второй группы является наиболее эффективное поражение опухолевых клеток при минимально возможном воздействии на здоровые. И эта разница между двумя группами меняет задачу наиболее эффективного сочетания введенного препарата и лучевого воздействия.

В случае первой группы основным критерием для оптимального времени лучевого воздействия является максимизация концентрации дозомодифицирующего агента в опухоли на фоне минимально возможной концентрации в здоровых тканях. Поэтому зачастую рассматриваются не абсолютные, а относительные величины, например, концентрация агента в опухоли по отношению к концентрации в крови или в здоровой ткани. При этом эффективность введения препарата оценивается путем сравнения результатов в присутствии препарата и без него.

В случае второй группы все не столь однозначно. Во-первых, оценка эффективности должна уже учитывать, что препарат имеет значимую

возможность уничтожения опухолевых клеток, поэтому необходимо учитывать собственную эффективность препарата. Во-вторых, основной целью создания препарата является поражение опухолевых клеток, и, следовательно, препарат должен взаимодействовать с внутриклеточными структурами и влиять на внутриклеточные процессы, что требует более точной доставки действующего агента препарата. Поэтому при выборе оптимального времени облучения следует учитывать не только его концентрацию в опухоли, но и местонахождение радиосенсибилизатора внутри клетки.

Что касается самих препаратов, то в первую группу входят препараты, содержащие в виде дозомодифицирующего агента элементы с большим Z, а также боросодержащие, а вторая группа - это химиотерапевтические препараты. При этом, из лекарственных средств, широко применяемых в химиотерапии, только платиносодержащие препараты могут быть использованы как радиосенсибилизаторы. Поэтому для полноты картины существующих дозомодифицирующих препаратов достаточно рассмотреть три группы радиосенсибилизаторов: содержащие бор препараты, препараты с действующим элементом с большим Z и платиносодержащие химиотерапевтические препараты.

1.2.1. Борсодержащие препараты

Для оказания терапевтического эффекта борсодержащих препаратов необходимо выполнение трех условий: 1) низкая токсичность и оптимальное усвоение тканями (соотношение концентраций бора в опухоли и в крови равное 3/1); 2) концентрация бора не менее 20 мкг на грамм опухоли; 3) относительно быстрая очистка крови и здоровой ткани от бора и сохранение бора в опухолевой ткани на время облучения [59].

Результаты исследований позволили отобрать два препарата: боркарпрат натрия (BSH) и борфенилаланин (BPA). BSH применяется в

исследованиях с 1968 г. Молекула боркарбата в своем составе имеет 12 атомов бора. После введения BSH ^{10}B присутствует в опухоли в концентрации близкой к концентрации в крови, но при этом почти отсутствует в здоровых тканях [59], в основном такое избирательное накопление связывают с EPR (улучшенная проницаемость и удержание) – эффектом [60,61]. Большинство исследований по фармакокинетике BSH проводилось при изучении опухоли головного мозга [62,63,64,65]. Был сформирован ряд гипотез о том, что BSH при контакте с опухолевыми клетками захватывается ими и может быть обнаружен как в цитоплазме, так и ядре клетки [66,67], однако более поздние исследования ставят под сомнение эту гипотезу [68,69]. На данный момент невозможно сказать, что вопросы, связанные с проникновением BSH в клетки опухоли, а также механизм накопления BSH в опухолевых тканях полностью изучены.

BPA используется в исследованиях с 1987 г. В BPA, в отличие от BSH, всего 1 атом бора. Показано, что при использовании фенилаланина как носителя ^{10}B накапливается в необходимой для лечения концентрации как в мелатонических, так и безпигментных опухолях, а также в ряде других типов злокачественных клеток [19,20,70,71,72]. Отмечено, что поглощение является селективным для L-стереоизомера, что указывает на механизм транспорта отличный от пассивной диффузии [73]. В результате этих исследований сформирована гипотеза о существовании кислотно-аминокислотного транспортного пути, который более специфичен для опухолевых клеток, чем для здоровой ткани [74,75]. Как и в случае BSH, вопросы фармакокинетики и доставки ^{10}B для BPA полностью не изучены.

Основная сложность в разработке агентов доставки бора в опухоль заключается в достижении их опухолеспецифической таргетности. Одним из способов улучшения селективности агентов доставки бора является воздействие на гематоэнцефалический барьер. Например, доставка BPA к опухоли может быть улучшена за счет одновременного использования

препарата, обладающего фармакологически опосредованным открытием гематоэнцефалического барьера [76].

Также отмечается значительное увеличение поглощения борфенилаланина с предварительным использованием L-дигидроксифенилаланина (L-ДОПА) [77]. Исследование было проведено *in vitro* и затем *in vivo* на моделях опухолей животных. Рост опухоли подтверждался с помощью магнитно-резонансной томографии (МРТ).

Решение проблемы селективности также может быть связано с предварительным введением фенилаланина перед введением ВРА [78]. Это приводит, во-первых, к снижению уровня накопления ВРА в нормальных тканях мозга по сравнению с опухолевыми тканями. Во-вторых, фенилаланин способствует уменьшению дозы облучения, воздействующей на нормальный мозг, путем ингибирования внедрения борфенилаланина в нормальные клетки.

Результаты исследования биораспределения BSH, меченного ^{131}I [79], на фоне влияния инфракрасного света показали увеличение накопления ^{131}I -BSH во всех исследуемых тканях. Кроме того, комбинации инфракрасного излучения и вазоактивных препаратов, оказывающих сосудорасширяющий и сосудосуживающий эффект, могут увеличивать концентрацию BSH в опухолевой ткани.

Дальнейшее развития селективности доставки бора в клетки опухоли связывают с новыми носителями, обладающими большей избирательностью. Активно изучаются способы доставки с помощью нанотрубок из нитрида бора, борсодержащих аминокислот, конъюгированных с антителами к рецептору эпидермального фактора роста, антител, провоцирующих ускорение эндоцитоза, а также липосом и иммунолипосом [80,81].

В последнее время все чаще ведутся работы по изучению липосом в качестве механизмов доставки бора благодаря их свойству накапливаться в большинстве опухолей за счет EPR-эффекта. Существующие нанотехнологии позволяют создавать липосомы с заданными

характеристиками, например, обладающие свойствами адресной доставки и пониженной токсичностью [82,83].

Доставка препарата в глиомы затруднена гематоэнцефалическим барьером, но частичное разрушение барьера опухолью повышает поглощение бора и эффективность лечения [84]. Возможно, борсодержащие носители проходят через гематоэнцефалический барьер по механизму трансмембранный диффузии [85]. Липосомы позволяют значительно эффективнее транспортировать бор через гематоэнцефалический барьер с помощью трансцитоза [86]. Но липосомы не обладают селективностью доставки. Поэтому липосомы соединяют с опухоль-специфичными лигандами. В качестве таких лигандов широко используются трансферрин и фолиевая кислота, рецепторы к которым характеризуются избыточной экспрессией в опухолевых клетках. Рецептор-опосредованный эндоцитоз таких липосом обеспечивает адресность поглощения. Также для улучшения селективности доставки формируют комплекс с участием антител, получая иммунолипосомы, которые значительно более эффективно поглощаются опухолевыми клетками [87,88]. Однако эффективность лечения зависит не только от концентрации бора, но и от локализации ^{10}B внутри клетки [89].

Следует отметить, что исследования по одновременному использованию BPA и BSH показали более эффективное накопление бора в опухоли, однако объяснение этому пока не найдено [90].

1.2.2. Препараты с действующим элементом с большим Z

Другая большая группа радиосенсибилизаторов - это препараты с действующим элементом с большим атомным номером (Z). Поскольку элементы платиновой группы являются химиотерапевтическими препаратами, в рамках обзора они вынесены в отдельную группу. Остальные препараты не оказывают непосредственного терапевтического воздействия на опухолевые клетки, к ним можно отнести различные диагностические

препараты, например, на основе гадолиния, и различные металлосодержащие наночастицы. Вне зависимости от назначения этих препаратов, их объединяет то, что их действующий элемент не оказывает непосредственного влияния на жизненный цикл клеток. Наиболее нейтральным, практически инертным является золото [91]. Поэтому особенности накопления препаратов с большим Z рассматриваются на примере золотых наночастиц (ЗНЧ), как наиболее перспективного радиосенсибилизатора [92].

Считается, что основным методом нацеливания ЗНЧ является EPR – эффект [92]. В основе этого эффекта лежит то, что злокачественные опухоли пролиферируют, создавая новые сосуды в окружающих тканях посредством процесса, называемого ангиогенезом. Эта сосудистая сеть показывает несколько аномалий в количестве эндотелиальных клеток и трехмерной структуры, а промежутки между соседними клетками больше, чем в нормальных условиях, что приводит к повышенной проницаемости [93,94]. Кроме того, в опухолевых тканях отсутствует эффективный лимфодренаж. Поэтому некоторые препараты могут накапливаться в большем количестве в опухолевой ткани по сравнению со здоровой тканью [95]. Однако из-за повышенного давления на ядро опухолевой массы обычные лекарства проникают с большим трудом вглубь опухоли и в основном сохраняются на перipherии [96,97].

В ряде экспериментов показано, что размер, форма, функционализация, концентрация и внутриклеточное распределение ЗНЧ может влиять на радиосенсибилизацию этого препарата [98,99,100,101]. Остается актуальным поиск оптимальных параметров наночастиц, а также возможность доставки препарата вглубь опухоли для более равномерного их распределения.

Наночастицы представляют собой коллоидные системы очень малых размеров (от 1 до 1000 нм) с высоким соотношением поверхности к объему. Наибольший эффект оказывают частицы с диаметром менее 5 нм. При внутривенном введении 2,7 г Au/кг массы тела сверхмалые частицы быстро

накапливаются в опухолевой ткани, их концентрация в опухоли становится порядка 7 мг Au/г почти сразу после инъекции [102,103,104,105]. При дальнейшем изучении сверхмалых наночастиц выявлен значительной недостаток. Такие частицы очень быстро выводятся через почки, что создает трудность для создания необходимой концентрации [106]. Применение дозировок >2 г Au/кг массы тела человека может вызвать интоксикацию. Кроме того, это слишком дорого, поэтому применение ЗНЧ такого размера признано нецелесообразным [106]. Основная масса работ строится не на базе чистых ЗНЧ, а с использованием какого-либо носителя или покрытия – оболочки, улучшающей доставку наночастиц в опухоль. Это дает возможность использовать более крупные ЗНЧ порядка 10-100 нм [107,108].

В основе поиска оптимального носителя или оболочки для ЗНЧ, равно как и для других элементов с большим Z [109], лежат три концепции создания оболочки, способствующей более избирательному накоплению препарата в опухоли: пассивное и активное нацеливание, а также триггерная активация [110].

Пассивное нацеливание базируется на EPR – эффекте [60] и на уникальных параметрах среды внутри опухоли, в частности, на отличии pH опухоли от pH нормальной ткани, а также на локальных максимумах температуры внутри опухоли [111]. Также важны свойства наночастиц, например, липидная оболочка облегчает проникновение вглубь опухоли [112]. Пассивное нацеливание ограничено сложностью контроля над процессом, что может вызвать устойчивость к лекарству, а также к избыточному накоплению препарата в печени и селезенке [113].

Активное нацеливание направлено на «программирование» наноносителей после введения путем использования специфических свойств клетки. Нацеливание основано на молекулярном распознавании (взаимодействие лиганд-рецептор или антиген-антитело) опухолевых клеток через специфические рецепторы. Эти рецепторы сверхэкспрессируются в опухолевых клетках, но минимально экспрессируются в здоровых клетках

[114,115]. Лиганд должен иметь высокое сродство к своему рецептору и при взаимодействии должен вызвать рецептор-опосредованный эндоцитоз, после чего внутриклеточному высвобождению может способствовать кислый pH или ферменты [116,117]. При этом, если сродство между лигандом и рецептором слишком велико, проникновение носителя может быть затруднено [118]. Для нацеливания на раковые клетки может быть применено большое количество различных лигандов, например, широкое распространение получили лиганды на основе фолиевой кислоты [119,120,121]. Одними из наиболее новых видов лигандов являются синтетические одноцепочечные олигонуклеотиды РНК или ДНК (состоят из 20–60 нуклеотидов), называемые аптамерами, которые могут образовывать определенные формы (спирали или одноцепочечные петли). Они чрезвычайно универсальны и могут связывать различные виды мишней - белки, неорганические молекулы и клетки - с высокой селективностью, при этом у них отсутствуют признаки токсичности [122,123,124].

Триггерная активация предназначена для локализованного высвобождения действующего агента препарата при помощи внешнего стимула, изменяющего структуру наноносителя [125]. Преимуществами этого типа нацеливания являются высокая специфичность и возможность активации «по требованию», не затрагивая здоровые ткани. Триггеры могут быть как внутренними (колебания pH), так и внешними (температура, температура, ультразвук, магнитные поля и ультрафиолетовое/инфракрасное излучение) [126,127,128]. Наноносители могут быть спроектированы таким образом, чтобы реагировать на эти стимулы и высвобождать действующий агент в нужной области [129]. Локальная гипертермия может повысить проницаемость кровеносных сосудов и способствовать глубокому проникновению в ткани [130,131,132]. Ультразвук может вызвать высвобождение контрастных веществ в месте опухоли, в то время как магнитные поля могут локально управлять наноносителями [133].

Хотя золото считается химически инертным, ряд работ свидетельствует о том, что его поверхность активна, способна катализировать химические реакции и способствовать увеличению производства активных форм кислорода (АФК) [134,135,136,137]. Одним из выявленных механизмов в качестве возможной причины цитотоксичности является взаимодействие поверхности наночастиц с кислородом. В этом процессе донорные электроны переносятся с поверхности НЧ на молекулы кислорода, образующие супероксид, что может привести к образованию АФК путем дисмутации¹. Тем самым ЗНЧ могут оказывать влияние на процессы, приводящие к повреждению ДНК, а также на функцию митохондрий путем деполяризации митохондриальной мембранны через окисление белка кардиолипина [138], что в свою очередь является ключевым этапом в инициации апоптоза. Митохондрии могут быть последующими мишениями окислительного стресса, который ухудшает их функцию, и они могут продуцировать активные формы кислорода и вызывать окислительный стресс в клетке. Окислительный стресс и деполяризация митохондрий часто являются значимыми клеточными событиями, предшествующими индукции клеточной гибели в результате апоптоза [139].

1.2.3. Платиносодержащие химиотерапевтические препараты

Могут ли ЗНЧ или другие наночастицы обладать цитоксическим эффектом - вопрос недостаточно изучен. Из химиотерапевтических препаратов, способных к радиосенсибилизации, наиболее перспективны препараты платины.

Первый препарат с платиной открыт случайно в процессе изучения влияния электрических полей на деление бактериальных клеток в середине

¹ Дисмутация - химическая реакция, в которой один и тот же элемент выступает и в качестве окислителя, и в качестве восстановителя. В результате реакции образуются соединения, которые содержат один и тот же элемент в разных степенях окисления.

20 века [140]. В 1971 году он впервые опробован на человеке, а в 1978 году одобрен для лечения. Препарат «Цисплатин» сегодня широко применяется при химиотерапии в 32 из 78 случаев [141]. На данный момент одобрено для клинического применения 6 платиносодержащих препаратов. Из них 3 получили одобрение во всем мире - это цисплатин, карбоплатин и оксалиплатин, а остальные только в отдельных странах - это недаплатин, лобаплатин и гентаплатин. Изучение воздействия платиносодержащих препаратов на клетки ведется и сегодня, а также постоянно ведутся работы по поиску новых препаратов, которые были бы лишены тех недостатков, которые есть у уже существующих и одобренных к применению.

Механизм воздействия платиносодержащих препаратов состоит из 4 фаз: клеточного поглощения, акватации / активации; связывания с ДНК и клеточного процессинга повреждений ДНК, одним из исходов которого является апоптоз. Хотя этот механизм не был доказан, но до сих пор выдерживал проверку временем [142]. Однако в ряде исследований показано, что этапы этого механизма могут быть расположены в другом порядке [143]. Этот механизм предполагает, что основной мишенью для воздействия платины является ДНК [144,145,146], однако ряд работ указывает на то, что не только взаимодействие с ДНК может служить причиной гибели клеток. Возможно механизм клеточной гибели при применении платиносодержащих препаратов - это их воздействие на митохондрии [147]. Показано, что внеядерные события с участием митохондрий, эндоплазматического ретикулума и лизосом могут быть важны для индукции апоптоза цисплатином [148,149,150]. Приведенные аргументы свидетельствуют о том, что вопрос воздействия платиносодержащих препаратов до сих пор не изучен.

Применение цисплатина при лечении многих локализаций рака [151] минимизировано из-за тяжелых, ограничивающих дозу побочных эффектов, возникающих при неизбирательном поглощении препарата всеми быстро делящимися клетками - не только опухоли, но и, например, клетками

красного костного мозга и почек. Эти побочные эффекты включают: нефротоксичность, нейротоксичность, ототоксичность и миелосупрессию. До некоторой степени нефротоксичность цисплатина может быть снижена за счет использования солевой гипергидратации до и после лечения [152]. Серьезные побочные эффекты от цисплатина означают, что введенная допустимая доза может оказаться сублетальной для опухоли. В свою очередь это означает, что впоследствии опухоль может стать резистентной к дальнейшему медикаментозному лечению. Различают три основных механизма лекарственной устойчивости [141]:

- Снижение поглощения и/или увеличение оттока лекарств.
- Деградация и дезактивация внутриклеточными тиолами. В частности, это может быть связано с повышенным уровнем глутатиона, который может достигать 10 мМ внутри резистентных клеток.
- Улучшенная репарация или переносимость аддуктов ДНК.

Токсичность и резистентность опухолевых клеток к цисплатину привели к разработке улучшенных противоопухолевых препаратов на основе платины, которые проявляют меньше или более переносимые побочные эффекты и способны преодолевать один или несколько механизмов резистентности.

Токсичность препаратов на основе платины напрямую зависит от скорости процесса акватации. Платиновые комплексы с высоколабильными лигандами, такими как вода или нитраты, очень токсичны. Для уменьшения побочных эффектов, связанных с лечением цисплатином, был специально разработан препарат «Карбоплатин». В нем дихлоридные лиганды заменены на 1,1-цикlobутандикарбоксилат, что привело к изменению скорости химической реакции акватации до 10^{-8} 1/c по сравнению с 10^{-5} 1/c у цисплатина [153,154]. Благодаря такой скорости акватации карбоплатин можно вводить в гораздо в более высоких дозах ($300\text{--}450$ мг/м²), чем цисплатин ($20\text{--}120$ мг/м²) [155]. Карбоплатин также имеет побочные эффекты, такие как лейкопения, нейтропения и тромбоцитопения, что также

является дозолимитирующим фактором. Карбоплатин содержит тот же активный компонент, что и цисплатин, и образует одни и те же аддукты ДНК, и поэтому клинически полезен только для лечения тех же типов рака, что и цисплатин.

Другой одобренный во всем мире препарат на основе платины - это оксиплатин. В нем два амминовых лиганда заменены одним бидентатным лигандом [156]. Оксалиплатин преодолевает устойчивость к цисплатину за счет различных аддуктов, которые он образует с ДНК [157]. Еще один препарат недаплатин, одобренный в Японии, в десять раз более водорастворим, чем цисплатин, и значительно менее нефротоксичен, чем как цисплатин, так и карбоплатин [158]. Доклинические и клинические исследования продемонстрировали, что недаплатин обладает более высокой противоопухолевой активностью, чем карбоплатин, и эквивалентен цисплатину [159,160].

На данный момент в испытаниях участвуют десятки различных препаратов группы платины по всему миру, их создание продиктовано желанием снизить побочные эффекты цисплатина или улучшить противоопухолевый эффект для отдельно взятых типов опухоли. Однако существует и другой подход, который не подразумевает создание нового препарата, который должен будет пройти все проверки. Этот подход предполагает использование уже существующих препаратов, но в различных нанооболочках. Различные оболочки, применяемые для карбоплатина, могут решать ряд проблем связанных с доставкой препарата или снизить токсичность [161].

Несмотря на обилие экспериментальных и клинических научных работ, направленных на улучшение существующих и разработку новых радиосенсибилизаторов, требуется создание все более сложных методик проведения измерений для более точной оценки концентрации препарата в опухоли. В наибольшей степени это касается методик определения

концентрации препарата для планирования доставки интегральной дозы в процессе курса лучевой терапии.

1.2.4. Экспериментальные методы определения концентрации радиосенсибилизаторов

Экспериментальные методики определения концентрации препарата в опухоли и здоровой ткани, подразделяют на инвазивные и не инвазивные. При инвазивных методах важен способ получения образца. В эксперименте на животных возможно рассечение органа на небольшие образцы с последующим анализом концентрации в каждом образце. Тем самым возможно получить оценку пространственного распределения препарата, однако такой подход очень трудоемок.

В случае же человека, способ получения образца для прижизненного исследования - это биопсия. Данный метод дает точечную достоверную оценку с хорошей точностью, но оценить пространственное распределение препарата у пациента невозможно. Получаемая при анализе биопсионных проб опухоли у пациентов оценка доверительного интервала показывает значительную неравномерность пространственного распределения препарата в опухоли [19,20,21,22].

Постоянно развиваются не инвазивные методы оценки концентрации препарата. Основаны они на методе меченых атомов, накопление которых может быть обнаружено с помощью ПЭТ. Наиболее перспективным с точки зрения оценки концентрации препарата является метод построенный на использовании технологии ПЭТ/КТ и ПЭТ/МРТ. Суть этих методов — совмещение результатов ПЭТ с результатами, полученными при КТ или МРТ. Регистрация структурных изменений в тканях позволяет выполнять КТ и МРТ, а ПЭТ - выявить функциональные изменения в динамике. При этом можно видеть, как структурные изменения влияют на функциональные трансформации.

При этом следует также рассмотреть, что и с какой точностью можно определить, используя данные методики, на примере ПЭТ/КТ. Как уже говорилось выше, КТ регистрирует структурные изменения, то есть фактически можно увидеть опухоль и ее границы. ПЭТ регистрирует меченные атомы, находящиеся в опухоли и вокруг нее. Современные установки ПЭТ/КТ могут делать множество снимков в разных проекциях, однако фактически можно получить следующие. На конкретное сечение, полученное при помощи КТ, накладывается ортогональная проекция содержания препарата в исследуемом объеме, полученная при помощи ПЭТ. То есть, несмотря на то, что современные компьютеры позволяют рассматривать даже 3D изображение, полученное таким способом, концентрация препарата может быть оценена только на основании количества импульсов в секунду, полученных от меченых атомов по всей глубине исследуемого объекта. Тем самым возможно определить только среднее по глубине значение концентрации препарата путем пропорционального пересчета общего количества импульсов в секунду для конкретной толщины исследуемого слоя в рассматриваемой проекции. И, как следствие, это не позволяет оценить именно пространственное распределение препарата в опухоли, тем более с нужной точностью.

Таким способом возможно оценить среднюю концентрацию в опухоли, для этого разницы между ПЭТ и ПЭТ/КТ практически нет, так как метод определения концентрации основан на пересчете количества импульсов в секунду в объемную или массовую концентрацию препарата.

Определять концентрацию радиосенсибилизаторов по ПЭТ одним из первых предложил K. Ishiwata с авторами [162]. Он рассмотрел динамику накопления ВРА меченого ^{18}F при помощи ПЭТ в различных органах у мышей. С того момента метод начал развиваться и использовался для разных препаратов [163, 164]. Ограничения в использовании данного подхода связаны с необходимостью сравнения данных, полученных с помощью ПЭТ, с концентрацией, полученной путем анализа биопсионной пробы. Таким

путем устанавливается соответствие между данными ПЭТ и концентрацией в абсолютных величинах. Единый протокол по взятию и анализу данных биопсии для сопоставления данных ПЭТ с абсолютными величинами концентрации отсутствует. Этот аспект подробно рассмотрен Fukumitsu N. и Matsumoto Y. в 2021 году [23].

В клинической практике для принятия решения об облучении очень часто используют не абсолютные, а относительные величины, например, соотношение концентраций «tumor-to-normal» [23]. Их получение не требует сравнения с биопсионной пробой. Но даже при определении относительных величин с помощью ПЭТ/КТ есть проблемы при определении этого соотношения [23], связанные с установлением границ опухоли.

Существующие методики клинических наблюдений не дают полноценную картину пространственного распределения препарата в опухоли. Биопсия дает точечную оценку, а неинвазивные методы лишь приблизительную (усреднённую по пространству) или даже качественную оценку. Это не решает основной проблемы при использовании в радиотерапии радиосенсибилизаторов, так как в данном случае одним из основных факторов является именно пространственное распределение радиосенсибилизатора в опухоли, в том числе, и на клеточном уровне. И здесь могут помочь математические модели накопления препарата в опухоли, которые позволят добиться повышения эффективности химиолучевой терапии онкологической патологии.

1.3. Математические модели

Математическое моделирование используется в исследованиях фармакокинетических и фармакодинамических свойств препаратов для повышения эффективности лечения. Возможности стандартных эмпирических подходов к планированию приема лекарств у пациентов для получения оптимального баланса токсичности и эффективности в настоящее

время очень ограничены. Внедрение инструментов математического моделирования является новой тенденцией, позволяющей улучшить существующие методики лечения с учетом специфики каждого пациента [165].

Математическое моделирование позволяет проводить хорошо контролируемое исследование индивидуальных и комбинированных эффектов широкого спектра параметров транспорта препаратов и терапевтической эффективности, что невозможно или экономически нецелесообразно делать с помощью экспериментальных методов. Отсюда большой интерес в мире к разработке различных математических моделей для доставки препаратов в опухоль, в том числе на основе компартментных (камерных) моделей фармакокинетики, а также микроскопических и макроскопических моделей переноса веществ, моделей молекулярной динамики как обычных химиотерапевтических препаратов [166], так и новых систем доставки лекарств, таких как наночастицы [167].

Основной целью математических моделей в онкологии является разработка количественных инструментов для определения наиболее эффективных методов лечения для каждого отдельного пациента («прецизионная медицина»). Это облегчает подбор наиболее эффективного препарата, оптимальную дозу и время для комбинированного применения с другими видами терапии. Математическое моделирование может сыграть неоценимую роль в разработке таких терапевтических стратегий, поскольку оно позволяет проводить относительно быстро, эффективное и недорогое моделирование большого числа схем лечения, чтобы найти наиболее эффективные. Математические модели могут помочь в разработке эффективной терапии рака и прогнозировании поведения заболевания более понятным, эффективным и недорогим способом [168, 169, 170].

1.3.1. Классификация математических моделей

Математические модели традиционно относят к теоретическим методам изучения, однако экспериментальная деятельность - это не только непосредственное проведение эксперимента, но также и обобщение полученных в ходе эксперимента результатов. Обобщение проводится с помощью математических моделей, что делает математическое моделирование неотъемлемой частью экспериментальной работы. Поэтому можно подразделить математические модели на две подгруппы:

- описательные математические модели,
- имитационные математические модели.

Принадлежность математический модели к той или иной подгруппе определяется тем, что является первичным при ее создании – данные эксперимента или параметры теории. В свою очередь, это накладывает ограничение на использование результатов, полученных с помощью создаваемых моделей.

Описательные модели [143,171,172,173] призваны обобщать результаты конкретного эксперимента. Они строятся на базе полученных в ходе эксперимента результатов и предназначены для решения задач аппроксимации полученных данных (определение ожидаемого результата в точках, отличных от полученных в ходе эксперимента). В биологии и медицине такие модели преобладают, поскольку они достаточно просты, могут выполнять функцию прогноза при условии воспроизведения условий первичного эксперимента, на базе которых они построены. Но использование таких моделей за пределами условий первоначального эксперимента может привести к неправильным выводам, так как параметры модели были получены из результатов конкретного эксперимента, который она и призвана описывать.

Описательная модель может быть распространена на другие схожие ситуации, однако для этого необходимо определить, что стоит за каждым параметром модели, каков их физический смысл, и как их переопределить согласно другим условиям эксперимента. С этим связана вторая проблема

описательных моделей: определить физический смысл каждого параметра просто невозможно, так как при создании модели выбирается самая простая зависимость, удовлетворяющая условиям аппроксимации эксперимента в интересующих пределах. Такое обобщение описательной модели на другие схожие ситуации есть задача перехода от описания результатов эксперимента к теоретическому описанию процесса.

Имитационные метаматематические модели имеют строго противоположную причинно-следственную связь [174,175], в отличие от описательных моделей, где первичен эксперимент и основная сложность перехода к теоретическому описанию происходящих процессов связана с тем, чтобы физически определить каждый параметр модели. Первичное для имитационной математической модели есть теоретическая гипотеза, которую требуется проверить экспериментально. При построении имитационной модели все параметры физически определены, а, следовательно, после положительного сравнения с экспериментальными данными, такая модель может быть использована для прогноза любых схожих процессов, а каждый из параметров, при необходимости, может быть измерен в независимом эксперименте.

1.3.2. Биосистемы – как объект математического моделирования

При математическом моделировании биосистемы рассматриваются как иерархические комплексы открытого типа структурно и функционально сопряженных подсистем, включающих элементы нижележащих уровней, интегрирующих всю сложность форм развития материи, в том числе и предбиологических. Качественная неоднородность и нестационарность систем организма проявляется в виде взаимодействия его подсистем с различными (нервными, гуморальными) управляющими сигналами, имеющими в своей основе различную химическую и физическую природу. Даже при достижении одного и того же эффекта эти подсистемы

взаимодействуют либо «медленно» (биохимические, гормональные), либо «быстро» (синаптические, квантово-химические), что создает неоднородность поведения биосистемы во времени. Отсюда возникает иерархичность, которая проявляется в постепенном усложнении функции на одном уровне иерархии и скачкообразном переходе к качественно другой функции на следующем уровне. Столь сложные процессы особенно важно учитывать при создании фармакокинетических моделей, поскольку в них требуется учитывать указанную иерархичность, которая проявляется во всём многообразии взаимодействия в различных тканях, органах и системах организма от межклеточного уровня до работы нейронных ансамблей, что значительно усложняет процесс понимания особенностей их функционирования [176].

Сложные биологические комплексы могут быть разложены на более простые иерархические уровни (см. Таблицу 1). При этом тот или иной уровень иерархии должен отвечать единому принципу: соответствуя структурной организации и функциональному предназначению или деятельности.

Таблица 1 – Уровни рассмотрения биосистем при моделировании в иерархии фармакологических процессов у человека и лабораторных животных [176]

№ п/п	Уровни моделирования	Детерминанты моделирования	Цели и задачи моделирования
1	Квантово-атомарные процессы	Нейтроны, электроны, протоны, тяжелые ионы	Ядерные, донорно-акцепторные взаимодействия элементарных частиц; ионообразование; квантово-электродинамические модели
2	Молекулярно-биохимический (ДНК/РНК, аминокислоты, белки)	Основания ДНК и РНК, аминокислоты, активные центры белков	Мутагенез (ДНК, РНК, пептидные связи, ферменты), катализаторы; энергоперенос. Генотип: транскрипция, репликация; синтез белка.
3	Клеточный (ядро и цитоплазматические органеллы: лизосомы, митохондрии, рибосомы и др.)	Мембранные, ферменты; РНК-белок; ДНК - белок; лизосомы, митохондрии, хромосомы, рибосомы и др.	Накопление и перераспределение энергии, синтез белка, хранение генетического кода и белков; деление, генерация потенциалов действия, продукция гормонов, транспорт кислорода и др.
4	Ткани, органы	Клетки, межклеточные субстанции;	Процессы в межклеточном пространстве, обмен веществом с кровянной и лимфатической системами
5	Системы органов, организм в целом	Совокупность конstellации внутренних органов	Поддержание гомеостаза

1.3.3. Математическое моделирование фармакокинетики и фармакодинамики препаратов

Постоянно предпринимаемые попытки математически моделировать процессы фармакокинетики (достижения препаратом клетки - «мишени») и фармакодинамики (оценки эффектов после действия вещества на «мишень») требуют адекватной экспериментальной проверки, что связано с высокой ценой и сложностью проведения экспериментов (*in vivo, in vitro*). Обычно анализируются два параметра (концентрация лекарства – эффект, либо время – эффект) [177]. Построение математических моделей на основе протекающих в организме процессов, рождающих теорию работы биосистемы, имеет фундаментальное значение для развития науки и прикладное для медицины. Алгоритм их построения включает в себя анализ объекта исследования, серию экспериментов, статистическую обработку их результатов. Затем следует оценка сложности системы, измерение или подбор входных и выходных переменных, выбор класса и параметров модели, её оптимизация [178].

Традиционно построение фармакокинетических моделей происходит путем анализа ранее полученных эмпирических данных. Измеряется концентрация лекарственного средства в биологических средах (кровь, моча, слизь и т. д.) в определенные моменты времени. Частота и продолжительность забора проб зависят от продолжительности пребывания лекарства или его метаболитов в организме. Концентрация препаратов может определяться различными методами: жидкостной или газожидкостной хроматографии, радиоиммунного или ферментохимического анализа, полярографически, спектрофотометрически и т. д. На основании полученных значений строится график, на оси абсцисс которого отмечается время отбора проб, а на оси ординат - концентрация лекарственного вещества в биологической пробе в соответствующих единицах. Полученная кривая характеризует фармакокинетические процессы, происходящие с исследуемым препаратом.

В целях упрощения вычислений при математическом моделировании фармакокинетических процессов организм представляют в виде одной или нескольких изолированных проницаемой мембраной частей («камер» или «компартментов»), в которых предполагается равномерное распределение лекарственного средства [172,173,179,180]. Понятие «камера» при этом условно, так как за ним не стоит какого-либо анатомически ограниченного пространства, это только единица формализованной фармакокинетической системы. Параметры таких моделей не имеют физического определения. Это некие числа, полученные при определении параметров аппроксимации экспериментально полученных точек.

При таком подходе к анализу и моделированию фармакологические параметры определяются в виде дискретных точечных значений, полученных в ходе эксперимента. В реальной ситуации эти показатели чрезвычайно динамичны как в скоростях взаимодействия препарата с клетками, так и функционально непрерывными процессами его поступления в кровь, метаболизма и экскреции. Таким образом, фармакокинетические параметры меняются непрерывно, тогда как их измерение и выявление структурных элементов осуществляется дискретно. Одним из вариантов обхода этого ограничения является усложнение камерных моделей через увеличение числа камер [177] для рассмотрения многих параллельно происходящих процессов. Однако специфические характеристики опухолевого роста приводят исследователей к необходимости моделировать процессы интрапатомального поступления препарата и реакцию микроокружения опухоли на лекарство [176], что становится невозможно в рамках камерных моделей и приводит к рассмотрению других видов математических моделей [177].

Сегодня разрабатывается значительное количество математических моделей [181], которые явно учитывают пространственную (трехмерную) архитектуру опухолей и развитие, прогрессирование опухоли, реакцию на лечение нормальных и опухолевых органоидов, а также многокомпонентных тканей, чтобы

оценить, какие терапевтические стратегии будут наиболее эффективными. Уравнения реакции-диффузии лучше всего подходят для описания пространственной и временной эволюции концентраций химических веществ и плотности клеток. Такие уравнения позволяют учесть взаимодействия диффундирующей химической молекулы или популяции клеток с ее окружением. Во всех таких моделях используется концентрация препарата в крови в качестве исходных данных для последующего расчета его распределения в опухоли [182,183].

Предлагаются трехмерные вычислительные модели гидродинамики (computational fluid dynamics - CFD) для исследования глубины проникновения химиотерапевтического препарата в опухолевый узел и влияния ряда ключевых параметров на его транспорт [184]. Значительные усилия по моделированию CFD были предприняты преимущественно для опухолей головного мозга с акцентом на сравнение различных систем высвобождения лекарств [185,186,187,188,189,190] и включение переходного потока вследствие мозгового отека [191].

Наибольший интерес представляют модели, позволяющие по прогнозируемым концентрациям лекарственного средства в крови рассчитать пространственное распределение препарата внутри солидной опухоли, разрешив уравнения диффузионной конвекции с частными производными [24]. При этом стараются учесть: сосудистое снабжение, высвобождение и активацию лекарственного средства, диффузионный и адвективный транспорт, метаболизм, дезактивацию и поглощение клеткой.

Препарат может поставляться из сосудистой системы экстравазацией, или может быть выпущен в ткань из движущегося носителя лекарственного средства (таких как наночастицы), или он может быть активирован за счет специфических условий (например, высокая кислотность среды, облучение). Препараты могут мигрировать через ткань с интерстициальной жидкостью (адвективный транспорт) или беспорядочно перемещаться из-за броуновского движения молекул препаратов (диффузионный перенос).

Широкое распространение получили методы компьютерного моделирования для анализа ФК / ФД [192, 193]. Эти модели играют все более важную роль в современных исследованиях препаратов [194]. Интегрированные модели ФК / ФД являются мостом между этими двумя классическими темами в фармакологии [195]. Как правило, величина фармакологического эффекта лекарственного средства не прямо пропорциональна дозе. Наиболее широко используемым описанием формы реакции в зависимости от концентрации является предложенная Хиллом сигмоидная модель [196].

Фармакологическая активность препарата зависит от количества лекарственного средства в месте воздействия, но чаще всего доступ к этим местам для отбора проб ограничен. Это вынуждает исследователей полагаться на оценку концентрации в плазме в качестве индикатора фармакологического эффекта. Динамические изменения уровня лекарственного средства в плазме и месте воздействия часто не синхронны, и поэтому ограничения выборки могут привести к неадекватному пониманию взаимосвязи между уровнями лекарственного препарата в плазме и эффектом. Соответственно, возникают ситуации, когда нелинейности ограничивают возможность экстраполировать концентрацию в плазме на уровни воздействия на ткани в разных сценариях.

Rizk M. L. с соавторами показали [25], что установление математических связей между наблюдаемым эффектом и концентрацией препарата в плазме позволит сделать выводы об эффективности препарата на основании только параметров плазмы. В этом случае при последующих экспериментах будут учитываться только параметры плазмы. Это позволит существенно упростить измерение таких параметров, особенно в случаях, когда локализация патологического очага не позволяет использовать инвазивные методы. Однако на данный момент этой цели достигнуть не удалось [26].

Дело в том, что ФК/ФД модели являются объединением трех факторов, непосредственно ФК и ФД, а также изменений, происходящих в биологической системе со временем [197]. Фармакокинетические модели призваны описывать зависимость концентрации действующего вещества от времени. Модели фармакодинамики описывают зависимость конечного эффекта от концентрации действующего вещества. Таким образом, не зная концентрацию препарата в изучаемой области, определить эффект не удается.

Тем не менее, математическое моделирование стало ценным инструментом, с помощью которого можно дополнить традиционные методы биомедицинских исследований, чтобы предсказать результаты эксперимента, генерировать новые гипотезы и оптимизировать терапию. Появляется коммерчески доступное программное обеспечение, такое как ACSLXTREME (AEGIS Technologies) [198] и SAAMII [199].

Большинство существующих математических моделей относятся к описательным математическим моделям, имитационные модели в биологии и медицине распространены несоизмеримо меньше. Это обусловлено тем, что при создании имитационных моделей всегда возникает ситуация, когда необходимо оценить определенные допущения и ввести некие модельные условия. И чем сложнее изучаемый объект и неоднозначнее изучаемые процессы, тем больше таких допущений. В случае биологических объектов, с учетом иерархичности протекающих процессов и свойств самоорганизации живой материи, однозначно определить происхождение того или иного процесса просто невозможно. Однако можно обратиться к другим областям науки, где рассматривался вопрос столь сложной организации изучаемого объекта, когда его характеристики и характеристики протекающих в нем процессов, не могут быть строго определены.

1.4. Стохастические методы моделирования

При математическом моделировании пространственно-временных процессов в биологических системах существует ряд проблем. Если распределить научные проблемы на плоскости, где одна ось обозначает количество переменных, необходимое для описания состояние системы, а вторая - нелинейность описываемой системы, то задачи описания биологических систем будут находиться в той же области многомерности и нелинейности, что и задачи квантовой теории поля, нелинейной оптики и турбулентных потоков [200]. Согласно этой классификации, все эти задачи находятся “за гранью” полностью изученного. На данный момент для задач, находящихся в этой области, только формируется метаматематический аппарат, способный описать те процессы, которые происходят в этих системах.

Как отмечает в своей книге Л.А. Блюменфельд [201], общепринятых методов описания и понимания строения и функционирования физических систем может быть недостаточно для описания биологических систем. Следовательно, можно сделать вывод, что для описания биологических систем необходимо разрабатывать новые подходы.

1.4.1. Сложности математического описания биологических систем

Очень часто при описании биологических систем встречаются слова: ”Это связано с тем, что биологические системы крайне сложны”, однако эти “сложности” связаны с вполне конкретными свойствами биологических систем [202]. Такими как:

- многомерность, биологические системы имеют большое количество измерений (степеней свободы), это обусловлено тем, что у них, как правило, больше частей, компонентов и типов взаимодействия [203];
- регуляция / саморегуляция, биологические системы могут адаптироваться к изменениям и возмущениям, идущим извне [204];

- неоднородность, биологические объекты изучения имеют сложную пространственную форму и строение [205,206];
- нелинейность, чаще всего биологические процессы ведут себя нелинейно [200];
- многомасштабность, в биологических системах наблюдается взаимосвязь процессов на разных масштабах рассмотрения и в разных подсистемах [207];
- нестационарность, биологические системы изменяются во времени;
- все биологические системы являются системами открытого типа, живые существа научились избегать распада на составные части за счёт отрицательной энтропии [208].

С учетом всех этих свойств биологических систем при рассмотрении пространственно-временных процессов в них возникают уникальные проблемы, так как не существует единого математического аппарата. Однако опыт, приобретённый наукой в процессе изучения систем со схожими свойствами, позволяет найти решение этих проблем.

Задачи фармакокинетики связаны с получением непрерывной функции концентрации от времени, поэтому основу математического аппарата следует искать в методах, работающих с непрерывными функциями. В первую очередь, это стохастические дифференциальные уравнения (СДУ) [202]. Поскольку общих методов решения СДУ не существует, необходимо рассмотреть, что такое СДУ в общем виде, как они появились и каким образом их применяли в различных областях науки.

1.4.2. Математическое описание стохастических систем

Первым указал на некий непредсказуемый процесс и попытался его объяснить британский ботаник Роберт Броун. Занимаясь в 1827 году изучением поведения цветочной пыльцы под микроскопом, он обнаружил, что отдельные споры совершают абсолютно хаотичные импульсные

движения. Он установил, что эти движения никак не связаны ни с завихрениями и токами воды, ни с ее испарением, но определить причину наблюдаемого процесса так и не смог. Однако, будучи дотошным экспериментатором, Броун установил, что подобное хаотичное движение свойственно любым микроскопическим частицам - таким как пыльца растений, взвеси минералов или вообще любая измельченная субстанция.

Людвиг Больцман первым указал на возможность решения многих физических задач исключительно статистическим подходом, связывающим микроскопические процессы с макроскопическими параметрами [209]. Несмотря на то, что в явном виде он не говорил о случайности процессов, он заложил фундамент в виде статистической физики, который в дальнейшем позволил развить его идеи до описания стохастических процессов.

Первыми, кто независимо друг от друга почти в одно и тоже время записали стохастическое дифференциальное уравнение, описывающее физический процесс, были Мариан Смолуховский (1904) и Альберт Эйнштейн (1905), которые в виде СДУ записали описывающие броуновское движение уравнения [210]. Однако важно заметить, что за несколько лет до них СДУ были использованы французским математиком Луи Бушелье в задачах, связанных с анализом рынка, в его работе “Теория спекуляций” [211].

Дальнейшее развитие применения СДУ принадлежит французскому физику Полю Ланжевену, именно он записал СДУ в общем виде [212], работая над метаматематическим описанием броуновского движения, введя дополнительный шумовой член, который впоследствии получил название - ланжевеновский источник.

1.4.3. Применение стохастических дифференциальных уравнений

Основные работы с СДУ и стохастическими исчислениями принадлежат российскому физику Р.Л. Стратоновичу и японскому

математику К. Ито. Каждый из них создал свою теорию стохастического исчисления [213,214,215]. Дело в том, что броуновское движение, которое в математике обозначается как винеровский случайный процесс, оказалось очень сложным объектом изучения. Винеровский процесс не дифференцируем, поэтому потребовалось создание нового вида исчисления – стохастический интеграл. Однако аналитическое решение может быть получено только для ограниченного числа задач, в основном тех, где используется ланжевеновский источник, то есть случайность представлена в виде независимого – внешнего источника.

Ито и Стратонович заложили фундамент для дальнейшего развития и понимания стохастических систем, однако с развитием компьютеров основными методами решения СДУ стали численные методы. Для численного решения СДУ предложено большое количество методов с использованием различных подходов, но при анализе эффективности и применимости различных методов в различных задачах было установлено [216], что невозможно выбрать некий оптимальный метод для решения любой задачи. Это происходит потому, что численное решение СДУ связано с корректным выбором шага по времени и пространству, так как в отличие от обыкновенных ДУ, где размер шага определяет в основном точность решения, в СДУ он является определяющей характеристикой случайных процессов, рассматриваемых в системе. Поэтому чаще всего при решении конкретной задачи, описываемой с помощью СДУ, подбирается или конструируется свой собственный численный метод решения.

В физике наиболее предпочтительным методом решения СДУ считается преобразование исходного уравнения к уравнению Фоккера-Планка с целью получения плотности вероятности искомой переменной. При этом такой подход во многом ограничен [216,217], а наиболее перспективные методы объединяет то, что решение проходит для конкретной реализации стохастических процессов, и для многократно полученных решений разных реализаций одних и тех же стохастических процессов можно провести

статистический анализ для получения среднего значения и среднеквадратичного отклонения [218].

1.4.4. Стохастические дифференциальные уравнения в биофизике

На сегодняшний день СДУ применяется во многих областях, в том числе в биофизике, при моделировании внутриклеточных процессов. В основном это задачи, связанные с описанием реакционно-диффузионных процессов [219,220,221,222]. В физике, где СДУ получили наибольшее распространение - это задачи нелинейной оптики, распространения сигнала, диффузии волн и частиц в случайно-неоднородной среде [223,224,225]. Ученые из этих областей науки фактически являются первопроходцами в изучении стохастических систем, именно они вынуждены формулировать передовые мысли, описывающие суть применимости стохастического подхода при рассмотрении динамических систем.

Как писал в одной из последних своих работ В.И. Кляцкин: «Основная задача статистического анализа стохастических динамических систем – выявить на основе соответствующего статистического анализа такие общие особенности стохастических динамических систем, которые проявляются с вероятностью 1, т.е. почти для всех реализаций рассматриваемых систем» [226]. И это действительно основа, так как при моделировании стохастических систем необходимо определить некие свойства системы или процессы, протекающие в ней, которые будут неизменны в разных реализациях и будут определять саму суть описываемой системы. При этом остальные свойства и процессы, протекающие в системе, будут носить дополнительный уточняющий характер, несмотря на то, что в определенных ситуациях, точках резонанса между разными случайными процессами, их кумулятивный эффект может значительно менять исходный основной процесс и даже изменять систему в целом, переводя протекание основных процессов в другие режимы.

При рассмотрении задач фармакокинетики можно применить эти знания из других областей науки и проанализировать происходящие процессы с целью выявления основных или превалирующих процессов.

1.5. Рассматриваемые процессы

Общую схему метаболизма радиосенсибилизирующего препарата в организме можно представить следующим образом (см. Рисунок 1).

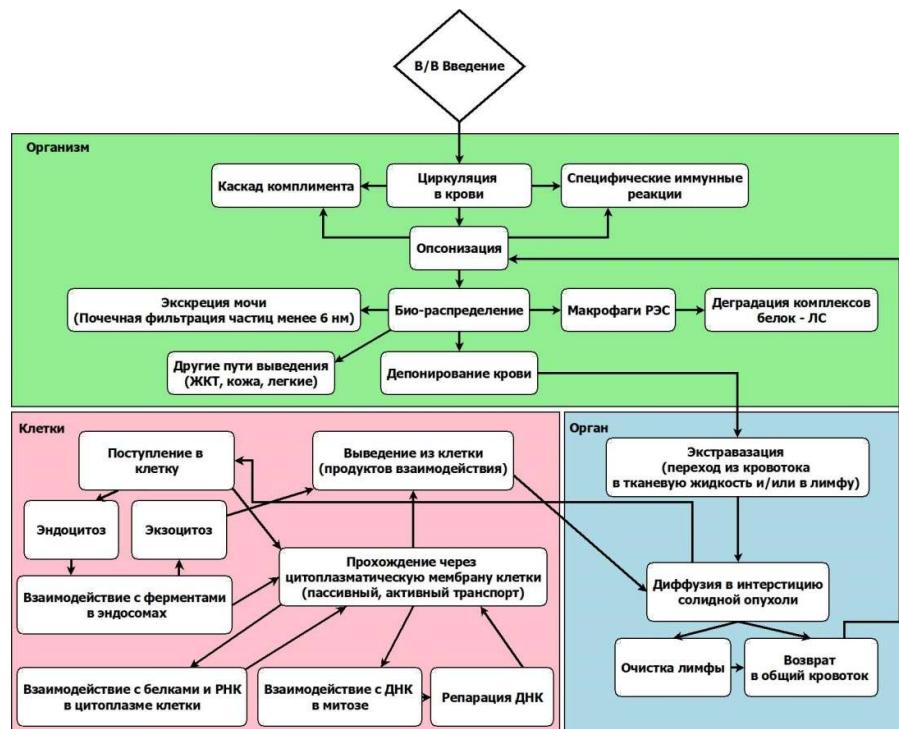


Рисунок 1 – Общая схема метаболизма радиосенсибилизатора в организме на примере платины [227] с дополнением клеточного уровня.

На рисунке 1 цветные области отмечают уровни (масштабы) рассмотрения процессов метаболизма. Для солидных типов рака для накопления препарата непосредственно в опухоли и в пространстве вокруг нее на уровне всего организма описываются процессы, связанные с концентрацией препарата в крови. Основными уровнями рассмотрения являются орган и клетки. При расположении опухоли в отдельно взятом органе требуется учитывать морфологию опухоли и ее местоположение. Это вопросы, касающиеся геометрии и свойств рассматриваемой области.

Рассмотрение на этом уровне позволяет учитывать слой гипоксии в опухоли. В этом слое происходит отбор клеток, имеющих тенденцию к озлокачествлению. Дефицит кислорода приводит их к резистентности к лучевой и химиотерапии, поскольку в этих клетках нарушена доставка и активность многих противоопухолевых препаратов. Гипоксия снижает эффективность рН-зависимых соединений и алкилирующих агентов. Однако основное взаимодействие и зависимость от свойств агента начинается при рассмотрении процессов на клеточном уровне.

1.5.1. Особенности метаболизма раковых клеток

Между нормальными и раковыми клетками существуют два хорошо известных различия в метаболизме: «эффекты Варбурга и Крэбтри». В 1927 году Отто Варбург обнаружил, что раковые клетки посредством гликолиза производят в два раза больше АТФ, чем нормальные клетки, даже в оксигенированных опухолях [228]. Затем было показано, что опухолевые клетки отличаются от нормальных обратимым снижением потребления кислорода в ответ на повышение уровня глюкозы («эффект Крэбтри») [229]. Оба этих метаболических эффекта считаются защитными и способствуют выживанию раковых клеток в динамичной среде, периодически испытывающей гипоксию.

В настоящее время показано, что существует более сложная картина реализации различных стратегий «перепрограммирования метаболизма» в раковых клетках. Эффект Варбурга проявляется не во всех типах рака.

В начале процесса канцерогенеза в клетках происходит «перепрограммирование метаболизма», сопровождающееся генерацией промежуточных продуктов («интермедиаторов») синтеза макромолекул, необходимых для роста и пролиферации опухолевых клеток. Переход на гликолиз связывали с затруднениями в поступлении кислорода во внутренние слои опухоли. Варбург предполагал, что причиной повышенного

гликолиза были поврежденные митохондрии [230]. Однако обнаружение негликолитических видов рака показало, что даже в первично гликолитических опухолях митохондрии необходимы для пролиферации, метастазирования, а в некоторых опухолях они гиперактивны [231].

Традиционно митохондрии рассматривались как источники энергии клеток, но они также обеспечивают жизненно важные биосинтетические, анаболические и апоптотические функции, некоторые из которых в раковых клетках перепрограммируются [232]. В опухолевых клетках эпителия наблюдается усиление окислительного фосфорилирования, что позволяет митохондриям продуцировать большое количество АТФ. Соответственно, воздействие на митохондрии позволит уничтожать раковые клетки [233].

Метаболическое перепрограммирование позволяет раковым клеткам развиваться в условиях ограничения питательных веществ и кислорода, что часто встречается в быстрорастущих опухолях из-за недостаточной васкуляризации. Тем не менее, большинство видов рака также сохраняют цикл Кребса, важного источника эффективного образования АТФ и интерконверсии метаболитов, анаплероза [234, 235].

Показано, что в различных типах опухолей онкогенные сигнальные пути ускоряют метаболические процессы в митохондриях. Однако разные популяции клеток в пределах одной опухоли имеют разные биоэнергетические изменения, необходимые для удовлетворения их высоких энергетических потребностей.

Кратко перечислим основные метаболические пути, воздействие на которые способно привести к торможению роста и уничтожению опухоли. Это биосинтез макромолекул, гликолиз, цикл трикарбоновых кислот и метаболизм липидов.

1.5.1.1. Биосинтез макромолекул

Центральные метаболические пути обеспечивают субстраты для биосинтеза макромолекул (протеины, нуклеиновые кислоты и липиды

мембран), необходимые для роста и пролиферации клеток (см. Рисунок 2). В опухолевых клетках к ним относятся: ТСА/цикл Кребса, малат-аспартатный членок, гликолиз, метаболизм гликогена, пентозофосфатный путь, одноуглеродный метаболизм, серин- глициновый биосинтез, биосинтез липидов и холестерина.

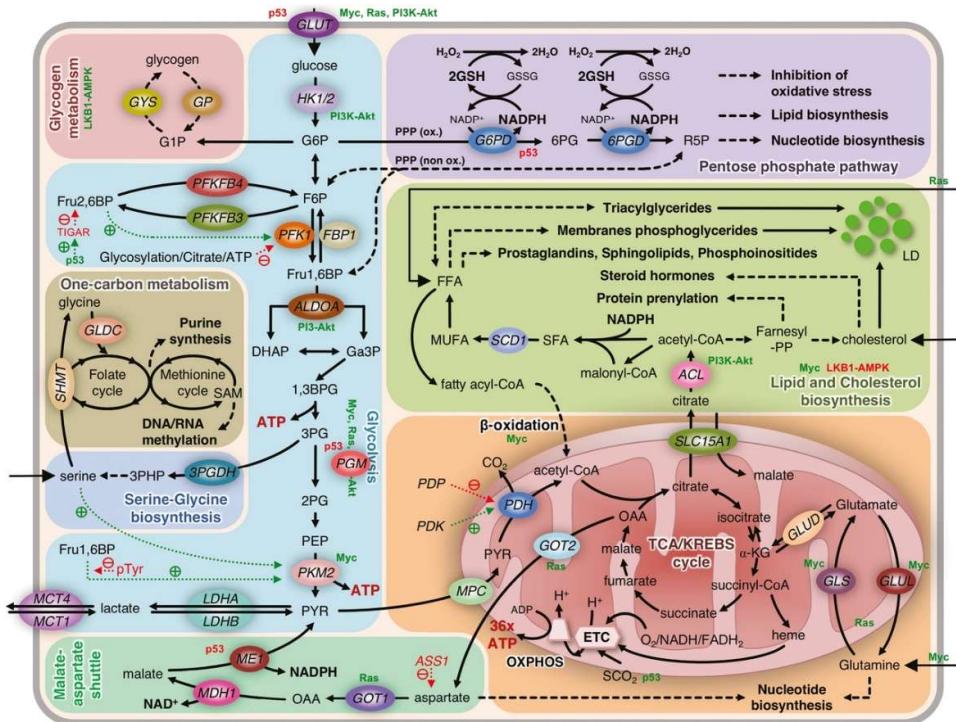


Рисунок 2 – Основные пути метаболизма клеток опухоли и их регуляция онкогенами и онкосупрессорами. В цветных прямоугольниках - ключевые метаболические пути. Основные участвующие в этих путях ферменты показаны внутри цветных овалов [236].

1.5.1.2. Гликолиз

Пролиферация клеток возможна лишь тогда, когда метаболизм способен обеспечить достаточное количество «интермедиаторов» - как для генерации энергии, так и для синтеза компонентов клетки. Основой для получения энергетических молекул является глюкоза, конвертируемая в глюкозо-6-фосфат (G6PD – в верхней части рисунка 2) под действием гексокиназы. Из четырех изоформ данного ферmenta особое место занимают гексокиназы 1 (HK1) и 2 (HK2), поскольку они перемещаются на мембрану

митохондрий, где используют вновь синтезированный АТФ для катализа указанной реакции. Процесс транслокации гексокиназы необходим для предотвращения апоптоза клеток, а делеция в гене НК2 блокирует инициацию и прогрессирование опухоли. Кроме того, глюкозо-6-фосфат также может участвовать в синтезе гликогена или вступать в пентозофосфатный путь (PPP). Следовательно, первая скорость-лимитирующая гликолитическая реакция - это фосфорилирование фруктозо-6-фосфата в фруктозо-1,6-бисфосфат с помощью фосфофруктокиназы 1 (PFK1), фермента, который строго контролируется несколькими аллостерическими регуляторами.

Другим гликолитическим ферментом, которому уделяется значительное внимание в контексте метаболического перепрограммирования, является пируваткиназа. Этот фермент катализирует превращение фосфоенолпирувата (PEP) в пируват (PYR) в реакции с образованием АТФ.

Предполагается, что способность переключаться между высокой и низкой активностью дает раковым клеткам способность адаптироваться к условиям микросреды, и что остановка на одном из этих этапов может ограничивать их рост.

1.5.1.3. Цикл трикарбоновых кислот

Цикл трикарбоновых кислот (ТСА) представляет собой важный узел биосинтетических процессов в опухолевых клетках. Пируват - критическая точка ветвления клеточного углеродного метаболизма – переходит в митохондриальный матрикс с помощью митохондриальных транспортеров (МРС – в нижней части рисунка 2) [237, 238]. В матриксе пируват расщепляется пируватдегидрогеназой (PDH) с формированием ацетил-КоА и CO₂. Активность PDH контролируется киназами пируватдегидрогеназы (PDK / PDHK) и фосфатазами (PDP), которые регулируют активность катализической субъединицы E1. В ответ на гипоксию, под действием

гипоксия-индуцильного фактора (HIF), индуцируются несколько изоформ PDK. Это ингибирует активность PDH и блокирует использование пирувата для окислительного метаболизма. Пирамат превращается в лактат под действием лактатдегидрогеназы (LDH) и секретируется из клетки. Реактивация PDH ингибированием активности PDK дихлорацетатом (DCA) вызывает апоптоз в некоторых раковых клетках [239].

Важными функциями ТСА цикла является продукция цитрата, одного из прекурсоров продукции ацетил-КоА в цитоплазме и α -кетоглутарата (α -KG). Метаболит α -KG синтезируется из глутамата в анаплерозе, восполняя интермедиаты ТСА цикла для компенсации оттока метаболитов. Однако α -KG также можно использовать для генерации глутамата реакциями трансаминирования. Глутамат же может превращаться в глутамин с помощью глутамат-аммиачной лигазы (GLUL).

Поскольку глутамин действует как донор азота для синтеза пуринов и пиримидинов, контроль уровня глутамина важен для раковых клеток, особенно в условиях низкой доступности глутамина. Экспрессия GLUL контролируется онкогеном MYC посредством механизма, включающего деметилирование промотора и истощение фермента, ограничивающего способность раковых клеток формировать опухоли [240]. Еще один интермедиат ТСА цикла, сукцинил-КоА, может использоваться для синтеза гемов - переносчиков электронов, которые функционируют как простетические группы цитохрома С, или комплексов III и IV дыхательной цепи. Наконец, оксалоацетат может конвертироваться в аспартат митохондриальной глутамин-оксалоуксусной трансаминазой 2 (GOT2). Аспартат является важным источником азота и углерода для синтеза пуринов и пиримидинов. Также он участвует в цикле малат / аспартат, что важно для регенерации цитоплазматического NAD⁺. Аспартат транспортируется из митохондрий, конвертируется обратно в оксалоацетат глутамин-оксалоуксусной трансаминазой 1 (GOT1) и впоследствии конвертируется в малат малатдегидрогеназой 1 (MDH1). Эта реакция может стимулировать

регенерацию NADPH в раковых клетках, позволяя синтезировать пируват из малата цитоплазматическим ферментом МЕ1. Экспрессия онкогенного RAS в раковых клетках поджелудочной железы приводит к перепрограммированию метаболизма аспартата и глутамина через GOT1 и GOT2 для облегчения образования NADPH и синтеза антиоксидантов [241].

«Метаболическое перепрограммирование» позволяет раковым клеткам выживать и размножаться во враждебном микроокружении. Эти изменения поддерживают выработку энергии, анаболические процессы и сохранение окислительно-восстановительного потенциала, механизмы, которые необходимы для пролиферации и выживания опухолевых клеток. Переключение в ряде ключевых метаболических путей, в основном, регулируется мутациями, в результате которых раковые клетки становятся зависимыми от определенных питательных веществ, например, глутамина [242].

1.5.1.4. Метаболизм липидов

Липиды участвуют во многих клеточных процессах, которые определяют фенотип раковых клеток, трансформированный по сравнению с исходными нормальными клетками. Жирные кислоты являются незаменимыми промежуточными веществами генерации фосфоглицеридов - основных блоков биологических мембран. Вместе с холестерином они образуют структурную основу бислоя липидов, который формирует плазматическую мембрану или окружает мембранные органеллы. Определенные виды липидов могут играть особую роль в гомеостазе мембран, например, в формировании липидных рафтов, контролирующих сигнальные реакции в клетках. Жирные кислоты могут конвертироваться в триацилглицериды (накопление энергии и выживание клеток в условиях ограничения нутриентов). Липиды используются в качестве субстратов при модификации протеинов, например, членов секреции сигнальных

протеинов WNT семейства [243, 244]. Жирные кислоты являются прекурсорами для синтеза липидных медиаторов, небольших молекул с сигнальной функцией, таких как простагландини, сфинголипиды и фосфоинозитиды. Холестериновый путь также обеспечивает изопреноиды для пренилирования сигнальных протеинов, включая Rho и Ras, и субстраты для синтеза стероидных гормонов. Метаболизм липидов участвует в трансформации нормальных клеток в опухолевые. Биосинтез жирных кислот и холестерина в опухолевых клетках человека часто нарушен [245, 246, 247].

Деградация липидов является эффективным источником энергии. Важность вклада окисления жирных кислот в метаболизме опухолевых клеток показана Carracedo et al., 2013. При некоторых типах рака клетки зависят от поступления экзогенных липидов - субстратов для бета-окисления в митохондриях [248]. Высоко эффективное использование жирных кислот для генерации АТФ в цикле Кребса требует поступления кислорода. Концентрация кислорода около 1% поддерживает бета-окисление липидов в зоне гипоксии. Гипоксия индуцирует поглощение жирных кислот, обеспечивая субстратами для генерации энергии во время реоксигенации. Кроме того, индуцируемый гипоксией фактор 1 α в значительной степени отвечает за изменения метаболизма, которые поддерживают выживание гипоксических опухолевых клеток [242].

Кроме источника энергии процессы поглощения и деградации липидов важны для формирования метастазов, показана ключевая роль метаболизма липидов в метастазировании [249,250].

Значимость доступности кислорода для синтеза и деградации липидов чрезвычайно высока, поскольку расщепляющим жирные кислоты ферментам требуется кислород, поэтому в условиях гипоксии возникает риск накопления токсичных насыщенных жирных кислот. Поступление из плазмы крови ненасыщенных жирных кислот может компенсировать процесс накопления. Описанные процессы указывают на существование сложного баланса синтеза, поглощения и деградации жирных кислот в различных

слоях опухоли. Это обеспечивает возможность нацеливания препаратов с учетом терапевтической уязвимости опухолевых клеток [248].

1.5.1.5. Изменяющие метаболизм онкогенные сигнальные пути

Помимо весьма сложной организации метаболизма раковых клеток существуют механизмы управления этим метаболизмом - онкогенные сигнальные пути. Они контролируются генетическими факторами, ассоциированными с клеточной трансформацией и туморогенезом, многократно пересекаются с метаболической сетью. Часто механизм регуляции включает модулирование экспрессии ферментов, вовлеченных в специфический метаболический процесс. Существуют и другие механизмы (дифференциальный сплайсинг, посттрансляционные модификации или прямые протеин-протеиновые взаимодействия).

Белки RAS -protoонкогены (HRAS, KRAS и NRAS) - представляют собой небольшие GTPases, которые при раке часто активируются вследствие мутаций, поддерживающих протеин в активном ГТФ-связанном состоянии. Белки RAS, исходящие от рецепторов клеточной поверхности, контролируют сложную молекулярную схему, состоящую из множества взаимосвязанных сигнальных путей для воздействия на множественные клеточные процессы, которые управляет онкогенезом [251]. KRAS играет жизненно важную роль в контроле метаболизма опухоли посредством стимуляции поглощения глюкозы и направления промежуточных продуктов глюкозы в биосинтез гексозамина и пентозофосфатные пути (PPP), способствует биогенезу рибозы. Онкогены RAS способствуют поглощению глюкозы и гликолизу [252], тем самым увеличивая доступность гликолитических интермедиаторов для биосинтетических реакций, обеспечивающих быстрый рост и пролиферацию. RAS также активирует глутаминовый метаболизм для анаплероза и продукции NADPH [253]. RAS-трансформированные клетки способны получать аминокислоты за счет поглощения цельных протеинов из

окружающей среды путем макропиноцитоза [254]. В некоторых карциномах макропиноцитоз - основной источник нутриентов [255].

Активация RAS увеличивает зависимость раковых клеток от аутофагии - регулируемой деградации клеточных компонентов, генерирующей нутриенты при голодании. В широком смысле «аутофагия» определяется как механизм, с помощью которого внутриклеточные и внеклеточные субстраты доставляются в лизосомы для деградации. Он имеет решающее значение для поддержания как цитоплазматической, так и геномной целостности и, следовательно, является ключом к поддержанию гомеостаза клетки. Процесс способен оказывать избирательные эффекты в ответ на многочисленные формы внутриклеточного и внеклеточного стресса. Эффект аутофагии зависит от присутствия TP53 [256].

В зависимости от пути доставки и специфики груза выделяют три различных типа аутофагии: макроаутофагию, микроаутофагию и аутофагию, опосредованную белками - шаперонами (СМА). Из них макроаутофагия, которую часто называют просто аутофагией, является наиболее характерной формой. Определяется объемной секвестрацией цитоплазмы и органелл в двухмембранных органеллах, называемых аутофагосомами.

Микроаутофагия характеризуется прямым поглощением цитоплазматических субстратов путем инвагинации лизосомной мембраны, а СМА - переносом растворимых белков в лизосому через лизосомальные белки-шапероны [257].

Хотя изначально аутофагия считалась неселективным клеточным процессом, специфический катаболизм клеточных органелл, таких как митохондрии, пероксисомы, эндоплазматический ретикулум и рибосомы, задокументирован и получил название «митофагия», «пексофагия», «ER-фагия/ ретикулофагия» и «рибофагия» соответственно.

В целом, роль аутофагии в поддержании гомеостаза универсальна для распознавания разнообразных субстратов и способности регулировать или реагировать на определенные клеточные пути и стимулы. Это отражает

сложную сигнальную сеть в регуляции аутофагии. В совокупности этот процесс является фундаментальным и незаменимым, так как в ответ на блокировку канонических сигнальных каскадов клетки выбирают альтернативные пути для активации аутофагии в ответ на внутриклеточные и внеклеточные сигналы, которые могут быть не эквивалентны, но достаточны для поддержания жизнеспособности [256].

Такое сложное устройство метаболизма раковых клеток, а также взаимное влияние систем, рассматриваемых на разных уровнях организации, приводит к тому, что ключевой сложностью при математическом описании биологических процессов является необходимость учитывать большое количество факторов, влияющих друг на друга, что делает практически невозможным единое математическое описание каждого процесса в отдельности на разных уровнях рассмотрения одновременно. Отсюда возникает необходимость использовать СДУ, которые позволяют выделять наиболее значимые процессы, а остальные не отбрасывать, но учитывать их как дополняющие, влияющие на первичные значимые процессы. Для такого подхода крайне важно понимание, что такое уровень организации и как он может быть привязан к конкретным математическим масштабам.

1.5.2. Связь между биологическими уровнями и масштабами математического описания

Основной проблемой при описании биологических систем с учетом разных уровней организации является необходимость рассмотрения системы одновременно на разных масштабах (см. таблицу 1). Предлагаются варианты градации, связанные с рассматриваемым объектом, однако в биологии масштабы рассмотрения введены давно, и к ним привязана фактически вся экспериментальная база. Это эксперименты *in vivo* и *in vitro*. В экспериментах *in vivo*, помимо выживаемости животных от воздействия некоего фактора, изучаются образцы тканей, взятые у живых организмов, то

есть границей масштаба рассмотрения являются отдельно взятые ткани, в которых изучается рассматриваемый процесс. А в случае *in vitro* масштабы рассмотрения связаны с группой клеток одной из тканей, изучаются биохимические процессы в этих клетках и их органеллах, при этом внешняя среда для клеток имитируется до некоего идеального состояния, связанного с конкретным экспериментом. При этом получается, что масштабы рассмотрения *in vivo* и *in vitro* не пересекаются, а, следовательно, вопросы сопряжения межмасштабного взаимодействия не рассматриваются.

С одной стороны, такое разграничение масштабов в биологии позволяет проводить научные изыскания практически для любой задачи. Но с другой, отсутствие сопряжения между масштабами приводит к тому, что результаты, полученные *in vivo*, могут противоречить результатам *in vitro*, и с развитием науки технологий, применяемых для изучения разногласий между двумя этими подходами, становится все больше.

Сравнительно недавно появился новый вид экспериментального изучения, называемый *in silico*. Этот подход связан с проведением математического эксперимента, который в теории позволит сопрягать результаты, полученные на разных масштабах рассмотрения. А для этого, в первую очередь, необходимо определиться, какие процессы можно рассматривать на каких масштабах, и какие ограничения эти процессы накладывают на характерные области рассмотрения. Это поможет найти подходы для сравнения результатов, полученных *in silico*, с результатами натурных экспериментов *in vivo* и *in vitro*.

Как было показано выше, основной задачей фармакокинетики/фармакодинамики является поиск связи между концентрацией/эффектом в изучаемой области, в зависимости от концентрации препарата в крови, которую сравнительно просто измерить в прямом эксперименте. Исходя из этого, для подхода *in silico* зависимость концентрации препарата в крови от времени можно считать известной, кроме того, учитывая, что характерные временные показатели для тока крови значительно меньше, чем характерные

временные показатели для обмена веществом с окружающими тканями, можно считать, что концентрация препарата одинакова во всем объеме крови [258].

Поэтому, если привязывать данные процессы к принятым в биологии масштабам рассмотрения, то для модели *in silico* разумно общую рассматриваемую в модели область привязывать к масштабам, подходящим для процессов, изучаемых *in vivo*, а элементарные объемы этой области, необходимые для численного решения математических уравнений, привязать к масштабам *in vitro*. Другими словами, общая рассматриваемая область - это область живой ткани, при этом элементарный объем - это набор клеток, характерный для рассматриваемой ткани, причем их количество достаточно для статистической оценки. Что является первым ограничением для выбора минимального размера элементарного объема.

На уровне *in vivo* необходимо рассмотреть процессы поступления препарата из крови в межклеточное пространство, а также процесс распространения препарата в межклеточном пространстве. А на уровне *in vitro* рассмотреть процессы поступления препарата внутрь клетки и биохимию препарата внутри клетки.

1.5.3. Количественные оценки параметров, описывающих превалирующие / основные процессы

Поступление препарата из крови в межклеточное пространство связано с процессами микроциркуляции, которые хорошо изучены [259]. В учебных пособиях по патофизиологии приводятся численные значения перфузии для различных органов от 360 мл/мин х 100 г ткани для почек и до 3 мл/мин х 100 г для костной ткани. Очевидно, что в случае опухолевой ткани в связи с EPR-эффектом эти значения будут выше, чем для тканей, окружающих опухоль.

Кроме процесса поступления препарата из крови нужно рассмотреть процесс выведения препарата или продуктов, получившихся в процессе

химических взаимодействий с ним, из межклеточного пространства. При рассмотрении процессов фармакокинетики/фармакодинамики в отдельно взятом объеме ткани не имеет значения, куда они выводятся: в кровеносные или лимфатические капилляры, так как они выпадают из дальнейшего рассмотрения в рамках модели. Но важна количественная оценка этого процесса, чтобы учитывать изменение концентрации препарата внутри изучаемой области. В случае здоровой ткани количественная оценка выводимого объема вещества сопоставима с количественной оценкой поступающего объема, иначе бы наблюдалась отечность. В опухолевой ткани существует дисбаланс между входящем количеством вещества и исходящим, и как следствие наблюдается отечность [260].

Другой процесс, который необходимо рассмотреть в масштабе *in vivo*, - это распространение препарата в межклеточном пространстве. Его можно описать при помощи уравнения диффузии, однако в отличие от классической диффузии, где перемещение частиц объясняется случайным взаимодействием с молекулами, в данном случае помимо классической диффузии присутствуют процессы адвекции / конвекции [24]. При этом рассмотрение направленных потоков имеет смысл только при клеточном масштабе, когда возможно рассматривать каждый кровеносный капилляр и межклеточный проток в отдельности, в случае же рассмотрения в масштабе ткани таких направленных потоков бесчисленное множество, которое не имеет определенной пространственной закономерности, а, следовательно, может быть рассмотрено как случайное воздействие, но отличающееся от молекулярного взаимодействия как при классической диффузии. Поэтому возможно рассматривать данный процесс как диффузию, но для построения конечного СДУ и оценки тензора диффузии необходимо учитывать, что природа данного процесса отличается от классической диффузии.

Количественная оценка зависимости коэффициента диффузии от молекулярной массы вещества в ткани получена в экспериментальной работе [261,262].

Процессы, рассматриваемые в масштабе *in vitro* имеет смысл разделить на две категории: 1) процессы, которые происходят вне зависимости от вида препарата; 2) процессы специфичные для каждого препарата.

К первой группе относятся процессы эндоцитоза: фагоцитоз, пиноцитоз и рецепторно-опосредованный эндоцитоз. Эти процессы имеют некоторые различия, но суть у них одна - это захват части межклеточного пространства при помощи изменения формы внешней мембраны клетки и захват части вещества межклеточного пространства в эндосому. При этом препарат, с одной стороны, попадает внутрь клетки, а с другой заключен в липидную оболочку клеточной мембранны. Эти процессы достаточно хорошо изучены, однако количественные оценки этих процессов для клеток животных рассматривают относительно скорости эндоцитоза у макрофагов, которая равна $30-50 \text{ нл}/10^6 \text{ клеток за час}$ [263]. Следует подчеркнуть, что скорость эндоцитоза у макрофагов максимальная среди клеток животных организмов. Наличие и скорость процесса рецепторно-опосредованного эндоцитоза напрямую зависит от конкретного препарата, но сам механизм при этом не меняется.

Как показывают экспериментальные исследования, эндоцитоз является одним из важнейших путей проникновения препаратов в клетку, и в случае НЧ гадолиния основным местом положения НЧ являются именно лизосомы [264].

Другие варианты проникновения лекарственных препаратов в клетку уже более специфичны для каждого конкретного препарата в отдельности, где присутствуют пассивные и активные виды транспорта, однако их рассмотрение в отрыве от конкретного препарата лишено смысла.

Все остальные процессы, связанные с препаратом и рассматриваемые на масштабе *in vitro*, имеет смысл анализировать с учетом выбора конкретного препарата.

Нами проводились расчеты для двух препаратов: борфенилаланин (ВРА) и цисплатин, поэтому биохимические процессы описаны применительно к ним.

В случае ВРА происходит только одна ферментативная химическая реакция – отделение бора от фенилаланина как необходимой для клеток аминокислоты.

Результаты работ по изучению биохимических процессов, связанных с цисплатином, опубликованы в 1992 г А.С. Сингиным [265] и в 2004 году К.А. Тackа с соавторами [143]. В работе А.С. Сингина сделан упор на рассмотрение вопросов доставки цисплатина и его взаимодействия с биологическими молекулами, вплоть до ДНК. В работе К.А. Tacka основное внимание уделено внутриклеточному взаимодействию. Авторами получены различные оценки кинетических параметров рассматриваемых химических реакций. Так, константу химической реакции первого порядка акватации цисплатина А.С. Сингин оценил в 0.396 1/ч, а К.А. Tacka - 0.205 1/ч.

Общая схема биохимических процессов, связанных с проникновением цисплатина через клеточную мембрану, и взаимодействия внутри клетки, предложенная К.А. Tacka, приведена на рисунке 3.

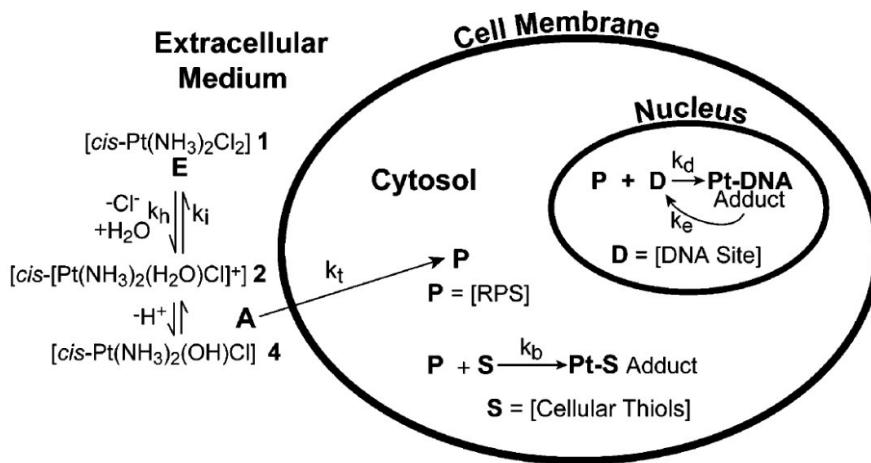


Рисунок 3 – Биохимические процессы, протекающие с участием цисплатина, рассматриваемые в масштабе *in vitro* [143].

Рассмотрены прямая и обратная реакция акватации цисплатина. Показано, что цисплатин только в определенной акватированной форме

способен проникать в клетку, так как в присутствии клеток данная форма цисплатина полностью исчезает из питательной среды. В тоже время другие формы цисплатина показывают одну и ту же концентрацию, как в присутствии клеток, так и без них [143].

К.А. Tacka рассматривает процесс проникновения в клетку как односторонний. Этот процесс описывается линейной функцией с кинетическим коэффициентом $k_t = 4.2 \cdot 10^{-13}$ моль/М*ч на одну клетку, что свидетельствует о том, что рассматривался не только активный транспорт, но и пассивный транспорт цисплатина через клеточную мембрану. Однако, если рассматривается пассивный транспорт в одном направлении, то необходимо рассматривать его и в обратном направлении, так как пассивный транспорт определяется в первую очередь градиентом концентрации вещества внутри и вне клетки.

Процессы в цитоплазме связаны с химическими реакциями второго порядка, описывающими образование аддуктов цисплатина с тиольными группами в составе белков в цитоплазме и молекулой ДНК. Также рассматривается процесс репарации поврежденной ДНК с целью удаления платиновых аддуктов. Однако в работе К.А. Tacka [143] не рассматриваются процессы выведения из клетки этих репарированных аддуктов, в то время как в работе [143] явно указывается на то, что количество атомов, связанных с ДНК, со временем уменьшается.

1.6. Заключение

Как уже указывалось ранее, изучение механизма взаимодействия платиновых препаратов, в частности, цисплатина с клеткой продолжается [266,267]. При этом постоянно возникают новые гипотезы, имеющие экспериментальное подтверждение, однако инструмента, который бы позволил сочетать все эти новые находки в едином теоретическом описании, нет. Поэтому проблема создания инструмента, который бы мог объединить и

описать в едином комплексе процессы, рассматриваемые на разных масштабах, стоит достаточно остро. В настоящей работе предпринята попытка разработки подобного инструмента.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Построение трехмерных математических моделей распространения препарата в биологической ткани, как было показано ранее, сопряжено с рядом проблем, для решения которых не существует готового инструмента. По этой причине возникает необходимость либо использовать достижения других областей науки с определенной их адаптацией, либо разрабатывать собственные подходы. Поэтому метод построения модели предлагается начать непосредственно с анализа того, что отражает конкретное дифференциальное уравнение, и как можно обойти те сложности, которые связаны с тем, что лежит в основе классических дифференциальных уравнений.

2.1. Общие принципы построения модели

Основной сложностью при построении математических моделей является определение однозначного закона, который бы связывал состояние системы в двух разных моментах времени. Согласно детерминизму Лапласа, если $U(t_i)$ - состояние системы в момент времени t_i , а $U(t_i+1)$ - состояние системы в момент времени t_i+1 , то существует взаимно-однозначное соответствие:

$$L(U(t_i)) = U(t_i+1) \quad (1)$$

где L - есть некий универсальный закон, связывающий два состояния системы в разных моментах времени, при этом важно отметить, что ничего кроме $U(t_i+1)$ получиться из $U(t_i)$ не может [201,268]. Другими словами, для создания математической модели необходимо строго и однозначно

определить все параметры уравнений, необходимых для описания закона связи состояний в двух моментах времени. При переходе к бесконечно-малым шагам по времени это приводит к записи классических дифференциальных уравнений (ДУ). В простейшем одномерном виде это формула (2).

$$\frac{\partial x}{\partial t} = f(t, x) \quad (2)$$

где $f(t, x)$ - некая однозначная функция.

Однако в биологических системах определить все параметры для задания однозначной функции времени невозможно, так как биологические системы обладают самоорганизацией [269], иерархией неустойчивых режимов, приводящих к стохастизации поведения в фазовом пространстве, а также тем фактом, что некоторые параметры невозможно измерить экспериментально.

При построении новой *имитационной* математической модели предлагается изменить фундаментальный подход к описанию, отказаться от Лапласовского детерминизма [201], исключающего случайность, и перейти от классических ДУ к стохастическим дифференциальным уравнениям (СДУ) [214,215]. В простейшем одномерном случае такой подход описывается формулой (3)

$$\frac{\partial x}{\partial t} = f(t, x) + \sum_{m=1}^n g_m(t, x) \eta_m(t, x) \quad (3)$$

где $f(t, x)$ и $g_m(t, x)$ - некоторые однозначно определённые функции, а $\eta_m(t, x)$ - набор случайных функций. Если проанализировать причинно-следственную связь в уравнениях (2) и (3), то в уравнении (2) присутствует однозначно определённая функция $f(t, x)$, которая является причиной изменения величины x со временем. При известном x в момент времени t_0 , значение x в момент времени $t_1 > t_0$, будет всегда определяться только

уравнением (2) и не будет меняться от реализации к реализации. В случае уравнения (3) помимо функции $f(t,x)$ присутствуют еще члены $g_m(t,x)\eta_m(t,x)$, которые также являются причинами изменения величины x со временем. Однако в этом случае при каждом новом вычислении значения x в момент времени t_1 , мы можем получать разные значения x . Это происходит из-за разной реализации случайной функции $\eta_m(t,x)$ при каждом вычислении. Следует отметить, что слагаемое $g_m(t,x)\eta_m(t,x)$ состоит из двух компонент: $g_m(t,x)$ - первичная причина изменения величины x , и $\eta_m(t,x)$ - некоторое случайное воздействие, изменяющее первичную причину. Тем самым, задавая разную плотность вероятности для функций $\eta_m(t,x)$ мы можем менять воздействие случайного фактора на первичную причину, не предопределяя однозначно получаемый результат воздействия. Это дает возможность количественной оценки вероятного воздействия на изучаемую систему в целом, от каждой причины, которая влияет на значение величины x в каждый момент времени.

Решением ДУ является функция $x(t)$ или, другими словами, однозначное соответствие каждому моменту времени конкретного значения величины x .

В случае СДУ решением является плотность вероятности для искомой величины, получаемая в результате статистической обработки в выборке реализаций. Однако в тех случаях, когда необходима оценка непосредственного значения самой искомой функции, его можно определить как интервал, в котором с некоторой вероятностью может находиться значение величины x в любой момент времени.

Для того, чтобы записать СДУ в каждом конкретном случае, необходимо проанализировать процессы, которые могут происходить с изучаемым объектом в рассматриваемой системе. В нашем случае изучаемым объектом является химическое вещество («лекарственный препарат»),

которое несет радиосенсибилизирующий агент («агент»), а рассматриваемой системой - опухоль и прилегающие к ней нормальные ткани.

Рассмотрим общие стадии возможных процессов, происходящих с препаратом («агентом») после его поступления в кровь при внутривенном введении [270]. При этом следует уточнить, что на этом этапе анализа мы рассматриваем именно стадии возможных процессов, а не сами процессы, так как каждая стадия может состоять из нескольких отдельных процессов или целого каскада последовательных процессов. При этом рассматриваемые процессы принадлежат разным уровням организации живого, то есть могут быть рассмотрены только на разных масштабах. Общая схема процессов представлена на рисунке 4

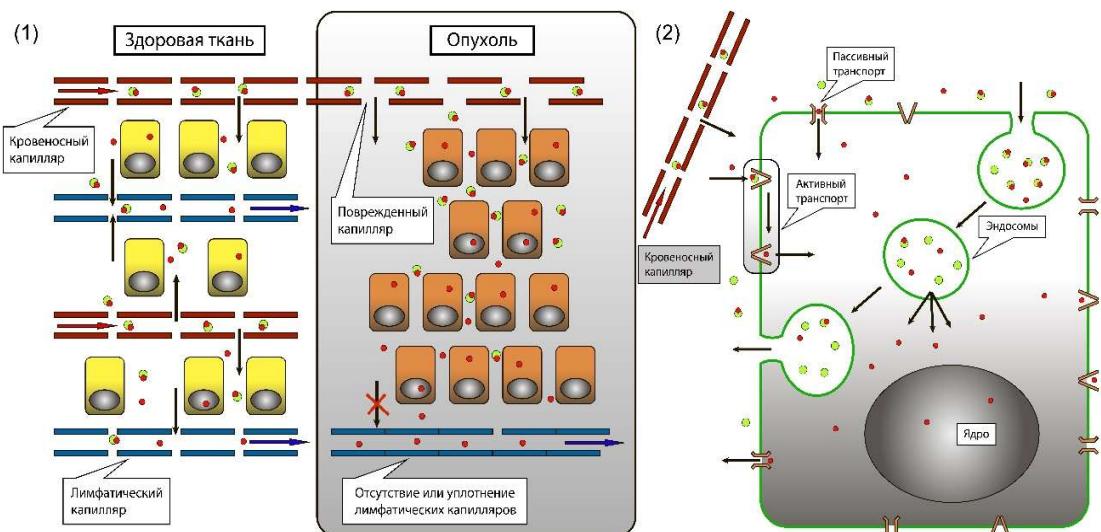


Рисунок 4 – Общая схема рассматриваемых процессов на разных уровнях организации. Слева (1) на тканевом уровне. Справа (2) на клеточном уровне.

1. Взаимодействие препарата с транспортирующими его белками крови.
2. Проникновение препарата в межклеточное пространство (см Рисунок 4(1)).
3. Распространение препарата по межклеточному пространству (см Рисунок 4(1)).
4. Взаимодействие на молекулярном уровне со средой межклеточного пространства.
5. Эндоцитоз (захват агента клеткой) (см Рисунок 4(2)).

6. Взаимодействие с мембраной клеток и проникновение агента через мембрану в цитоплазму клетки (см Рисунок 4(2)).
7. Взаимодействие на молекулярном уровне с цитоплазмой.
8. Взаимодействие агента с ДНК.
9. Репарация поврежденной агентом ДНК.
10. Вывод нереакционно-способного агента через мембранны из цитоплазмы (см Рисунок 4(2)).
11. Экзоцитоз (выведение агента или продуктов его распада из клетки) (см Рисунок 4(2)).
12. Выведение агента из межклеточного пространства (см Рисунок 4(1)).

В случае конкретного фармакологического препарата может отсутствовать тот или иной процесс, и каждый из этих процессов будет иметь определённые особенности взаимодействия [270].

При записи СДУ подразумевается разделение на первичную причину и некое случайное воздействие, которое может влиять на поведение системы. Первичные причины – это главные (превалирующие) процессы, которые могут влиять на состояние или положение в пространстве молекул агента, их наличие подтверждено, а воздействие однозначно определено. Эти процессы хорошо изучены, то есть все параметры, необходимые для их математического описания, могут быть измерены экспериментально. Случайное воздействие - сопутствующие процессы, имеющие непредсказуемое влияние на превалирующие процессы. Они либо мало изучены, либо для их полноценного моделирования недостаточно данных.

2.2. Общий вид уравнений

Для того, чтобы записать общий вид системы СДУ в трехмерном виде, необходимо проанализировать классы возможных процессов, происходящих с препаратом, и их математическое описание.

1. *Перемещение препарата по межклеточному пространству.* Принцип моделирования этого процесса целиком и полностью зависит от масштаба рассмотрения. Если брать процесс перемещения на клеточном уровне, то необходимо рассматривать конкретную клеточную структуру с межклеточными протоками и описывать перемещения частиц в этих протоках, отдельно учитывая все возможные взаимодействия клеточной структуры с препаратом. В данной работе рассматривается перемещение препарата на тканевом уровне, поэтому мы можем не рассматривать в явном виде геометрию межклеточных протоков, но учитывать их наличие при задании описательных параметров среды. Для того, чтобы это сделать, необходимо рассмотреть причины перемещения препарата именно на клеточном уровне.

- a) Перемещение препарата в межклеточном пространстве происходит по межклеточным протокам. Переходя к описанию среды распространения на тканевом уровне, можно сказать, что она сильно неоднородна по пространству. Однако конкретно определить эту неоднородность, особенно в опухоли, не представляется возможным, поэтому ее можно задать как случайную неоднородность.
- b) Перемещение препарата происходит не только при помощи диффузии, но и за счет различных направленных потоков, кроме того, на это перемещение влияет электромагнитное взаимодействие частиц препарата с поверхностью мембран клеток и другими частицами, находящимися в межклеточном пространстве.

Процесс классической диффузии частиц в жидкости определяется Броуновским (случайным) движением молекул этой жидкости. Но при этом перемещение частиц происходит в направлении обратном вектору градиента концентрации. В случае рассмотрения на тканевом уровне описание каждого отдельного направленного потока невозможно, однако их общее большое количество и разнонаправленность позволяют говорить о том, что их воздействие на частицы препарата также носит случайный характер, то же

можно сказать и о влиянии электромагнитных сил. При этом мы можем утверждать, что распространение препарата, как и при классической диффузии, в среднем происходит в направлении обратном вектору градиента концентрации.

Поэтому допустим, что процесс перемещения или распространения препарата в межклеточном пространстве можно описать при помощи уравнения диффузии:

$$\frac{\partial C(\vec{r}, t)}{\partial t} = \nabla \left[\hat{D}(C, \vec{r}) \cdot \nabla C(\vec{r}, t) \right] \quad (4)$$

где $C(\vec{r}, t)$ - концентрация препарата в точке \vec{r} в момент времени t , а $\hat{D}(C, \vec{r})$ - тензор диффузии для концентрации C в точке \vec{r} . Однако в данном случае тензор зависит не от концентрации, а от времени, так как перемещение препарата определяется средой, а так как среда — это живая ткань, то ее параметры могут меняться со временем. Кроме того, поскольку мы допускаем распространение препарата только в направлении обратном вектору градиента концентрации, все компоненты, кроме диагональных, в тензоре $\hat{D}(C, \vec{r})$ равны 0. А раз среда у нас неоднородна по пространству, то диагональные компоненты тензора являются случайными функциями по пространству и времени.

Поэтому уравнение (4) можно переписать в виде.

$$\frac{\partial C(\vec{r}, t)}{\partial t} = \sum_{i,j=1}^3 \frac{\partial}{\partial x_i} \left(D_j(\vec{r}, t) \frac{\partial C(\vec{r}, t)}{\partial x_j} \right) \quad (5)$$

где $D_j(\vec{r}, t)$ - случайные функции.

2. Химические реакции, происходящие с препаратом. В данной работе рассматриваются химические реакции первого и второго порядка, а также ферментативные химические реакции. Следует отметить, что при необходимости, руководствуясь той же логикой, можно рассмотреть и другие типы химических реакций.

a) *Химические реакции первого порядка.* К ним относятся реакции, скорость которых пропорциональна концентрации реагирующего вещества. Математически такая реакция описывается следующим образом:

$$\frac{\partial C(t)}{\partial t} = -kC(t) \quad (6)$$

где $C(t)$ - концентрация реагирующего вещества, зависящая от времени, а k - константа скорости химической реакции. Однако это соотношение справедливо для однородной среды. При рассмотрении биологической ткани концентрация реагирующего вещества может быть разной не только в разные моменты времени, но и в разных точках пространства. Кроме того, при рассмотрении химической реакции в живой ткани необходимо учитывать, что среда, в которой рассматривается данная химическая реакция, сильно неоднородна и изменяется со временем, что приводит к непостоянству константы скорости реакции как в разных точках пространства, так и во времени. При этом строго описать зависимость константы скорости химической реакции от времени и координат не представляется возможным, потому что на это может влиять много различных факторов. Следовательно, можно считать, что константу скорости химической реакции можно считать случайной функцией пространства и времени. Поэтому уравнение (6) приобретает вид:

$$\frac{\partial C(\vec{r}, t)}{\partial t} = -k(\vec{r}, t)C(\vec{r}, t) \quad (7)$$

где $k(\vec{r}, t)$ - случайная функция пространства и времени.

b) *Химические реакции второго порядка.* К ним относятся реакции, скорость которых пропорциональна концентрации каждого из реагирующих веществ.

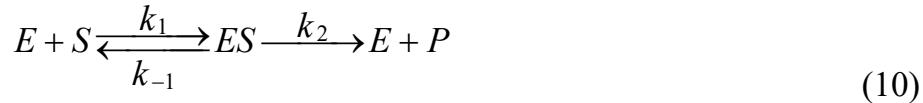
$$\frac{\partial C_1(t)}{\partial t} = \frac{\partial C_2(t)}{\partial t} = -k C_1(t) C_2(t) \quad (8)$$

где $C_1(t), C_2(t)$ - концентрации реагирующих веществ, зависящие от времени, а k - константа скорости реакции. Проведя рассуждения, аналогичные химической реакции первого порядка, уравнение (8) можно переписать в виде:

$$\frac{\partial C_1(\vec{r}, t)}{\partial t} = \frac{\partial C_2(\vec{r}, t)}{\partial t} = -k(\vec{r}, t) C_1(\vec{r}, t) C_2(\vec{r}, t) \quad (9)$$

где $k(\vec{r}, t)$ - случайная функция.

с) *Ферментативная химическая реакция.* Скорость такой реакции описывается уравнением Мехаэлиса-Ментена. Это уравнение описывает общую кинетику следующих химических реакций.



где E - фермент, S - субстрат, ES - фермент-субстратный комплекс, P - продукт, k_1 - константа скорости реакции образования фермент-субстратного комплекса из фермента и субстрата, k_{-1} - константа скорости реакции диссоциации фермент-субстратного комплекса на фермент и субстрат, k_2 - константа скорости реакции превращения фермент-субстратного комплекса в фермент и продукт.

Уравнение Мехаэлиса-Ментена имеет вид:

$$\frac{\partial C(t)}{\partial t} = \frac{V_{\max} C(t)}{C(t) + K_m} \quad (11)$$

где $C(t)$ - концентрация субстрата, зависящая от времени, $V_{\max} = k_2 E_0$ - максимальная скорость ферментативной химической реакции, зависящая от начальной концентрации фермента и константы скорости реакции превращения фермент-субстратного

комплекса в фермент и продукт, $K_m = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}$ - константа Михаэлиса. Проведя рассуждения, аналогичные химической реакции первого порядка, уравнение (11) можно преобразовать к виду:

$$\frac{\partial C(\vec{r}, t)}{\partial t} = \frac{v_{\max}(\vec{r}, t)C(\vec{r}, t)}{C(\vec{r}, t) + K_m(\vec{r}, t)} \quad (12)$$

где $v_{\max}(\vec{r}, t)$ и $K_m(\vec{r}, t)$ - случайные функции.

3. *Преодоление препаратом барьера разделения двух сред.* Препарат может проходить через барьер, разделяющий среды внутри биологической ткани. К этому классу процессов относятся, например, процессы проникновения препарата из кровеносных капилляров в межклеточное пространство, из межклеточного пространства в лимфатические капилляры, проникновение препарата в цитоплазму клетки через мембрану клетки или процессы экзо- и эндоцитоза. Другими словами, это процесс, при котором препарат из одной внешней среды переходит в другую изолированную среду. Все процессы в этом классе разделяют на два подкласса.

a) *Пассивный транспорт*, когда перемещение происходит за счет разницы концентрации с разных сторон барьера в направлении обратном вектору градиента концентрации. В общем случае скорость изменения концентрации с одной стороны барьера можно описать уравнением.

$$\frac{\partial C_2(t)}{\partial t} = k_1 C_1(t) - k_2 C_2(t) \quad (13)$$

где $C_1(t)$, $C_2(t)$ - концентрации вещества с разных сторон барьера, k_1 , k_2 - удельные объемные скорости поступления вещества через барьер в противоположных направлениях.

Так как этот процесс рассматривается в биологической ткани, концентрация может быть разной в разных точках пространства, а

также барьер может иметь разную пропускную способность в разных направлениях в каждой точке пространства, кроме того, пропускная способность барьера может меняться со временем, однако точно определить, как именно будет меняться пропускная способность от времени, предсказать невозможно, поэтому уравнение (13) можно переписать в виде:

$$\frac{\partial C_2(\vec{r}, t)}{\partial t} = k_1(\vec{r}, t)C_1(\vec{r}, t) - k_2(\vec{r}, t)C_2(\vec{r}, t) \quad (14)$$

где $k_1(\vec{r}, t)$ и $k_2(\vec{r}, t)$ - случайные функции.

b) *Активный транспорт*, когда перемещение происходит посредством белков переносчиков, находящихся в мембране клеток, и перемещение может быть по направлению, совпадающему с физическим градиентом концентрации. Фактически, это две противонаправленные ферментативные химические реакции. Следовательно, уравнение в общем виде для изменения концентрации с одной стороны барьера можно записать в виде:

$$\frac{\partial C_2(t)}{\partial t} = \frac{v_1 C_1(t)}{C_1(t) + K_1} - \frac{v_2 C_2(t)}{C_2(t) + K_2} \quad (15)$$

где $C_1(t)$, $C_2(t)$ - концентрации вещества с разных сторон барьера, v_1 , K_1 - максимальная скорость ферментативной химической реакции и константа Михаэлиса при перемещении в одном направлении, а v_2 , K_2 - максимальная скорость ферментативной химической реакции и константа Михаэлиса при перемещении в обратном направлении через барьер.

Проведя аналогичные рассуждения, как и в случае ферментативной химической реакции, уравнение (15) можно переписать в виде:

$$\frac{\partial C_2(\vec{r}, t)}{\partial t} = \frac{\nu_1(\vec{r}, t)C_1(\vec{r}, t)}{C_1(\vec{r}, t) + K_1(\vec{r}, t)} - \frac{\nu_2(\vec{r}, t)C_2(\vec{r}, t)}{C_2(\vec{r}, t) + K_2(\vec{r}, t)} \quad (16)$$

где $\nu_1(\vec{r}, t)$, $\nu_2(\vec{r}, t)$, $K_1(\vec{r}, t)$, $K_2(\vec{r}, t)$ - случайные функции.

В последующих математических выражениях явное указание зависимости от координат и времени уточняться не будет, однако следует заметить, что все параметры и неизвестные в последующих математических выражениях являются функциями координат и времени.

Исходя из вышеизложенного, система СДУ в общем виде для концентрации агента в различных органах и тканях может иметь вид:

$$\frac{\partial C_n}{\partial t} = \sum_{i,j=1}^3 \frac{\partial}{\partial x_i} \left(D_{j,n} \frac{\partial C_n}{\partial x_j} \right) + \sum_{m=1}^N k_m C_m + \sum_{p,q=1}^N k_{p,q} C_p C_q + \sum_{m=1}^N \frac{a_m C_m}{b_m + C_m} \quad (17)$$

где коэффициенты $D_{j,n}$, k_m , $k_{p,q}$, a_m и b_m являются случайными функциями координат и времени, N – количество рассматриваемых превалирующих процессов.

Первое слагаемое в правой части системы уравнений (17) описывает процесс распространения агента в межклеточном пространстве. Помимо классической диффузии, оно характеризуется большим количеством разнонаправленных потоков, взаимодействием препарата с внешней поверхностью мембран клеток, а также электромагнитным взаимодействием с самой средой межклеточного пространства.

Второе слагаемое системы уравнений (17) описывает механические переходы между отдельными компонентами структуры биологической ткани (см. Рисунок 4). Например, переход из кровеносного капилляра в межклеточное пространство или попадание агента в эндосому в процессе эндоцитоза. В некоторых случаях такие переходы могут описываться через ферментативную химическую реакцию, когда транспорт осуществляется при помощи транспортных белков, в этом случае такое перемещение будет учитываться в четвертом слагаемом. Также это слагаемое описывает

химические реакции первого порядка при взаимодействии со средой, например, реакцию акватации цисплатина.

Третье слагаемое системы уравнений (17) с квадратичной нелинейностью появляется, когда учитываются химические реакции второго порядка, как например, связывание агента с различными белками.

Последнее, четвертое, слагаемое системы уравнений (17) описывает ферментативные химические реакции, которые могут происходить с препаратом.

2.3. Определение случайных функций

Случайные функции в уравнении (17) могут описывать в общем случае произвольные случайные процессы с n -мерной плотностью вероятности [271], то есть могут рассматриваться, в том числе, как процессы с эволюционной памятью (немарковские случайные процессы). Моделирование процессов в биологической ткани следует начинать с простейших случаев. Поэтому будут рассмотрены совершенно случайные процессы [271], для которых автокорреляционная функция представляется в виде дельта-функции Дирака, когда значения функции в любых двух отличных точках пространства или времени статистически независимы. Плотность вероятности случайных процессов записывается через функцию плотности вероятности случайной величины для определения мгновенных значений параметров в каждой точке пространства, в любой момент времени. Следовательно, коэффициенты системы уравнений (17) $D_{j,n}, k_m, k_{p,q}, a_m, b_m$ в ходе расчета определяются при помощи иерархичной системы случайных процессов, каждый из которых имеет распределение Гаусса. Математическое ожидание каждого параметра может быть определено экспериментально с известной погрешностью измерения. Поэтому первый случайный процесс связан с погрешностью проведения эксперимента по определению среднего значения. Помимо этого, существуют случайные процессы, связанные с

неоднородностью структуры биологической ткани и с характером конкретного процесса. Кроме того, существуют случайные процессы, определяемые временными отклонениями, связанными с жизнедеятельностью организма в целом. Поэтому в общем случае плотность вероятности случайного процесса, использованного при моделировании для определения мгновенных значений параметров в каждой точке пространства в любой момент времени, можно представить в виде [270]:

$$F(p_1 \dots p_M) = \frac{1}{(2\pi)^{M/2} \prod_{m=1}^M \sigma_m} \exp \left\{ -\frac{(p_1 - \bar{p}_1)^2}{2\sigma_1^2} - \sum_{m=2}^M \frac{p_m^2}{2\sigma_m^2} \right\} \quad (18)$$

где M – количество случайных факторов, влияющих на значение параметра, p_1 – фактор первого случайного процесса, связанный с определением среднего значения искомого коэффициента, $p_2 \dots p_M$ – факторы дополнительных случайных процессов, которые играют роль при определении конкретных значений коэффициентов системы уравнений (17), σ_m – среднеквадратичное отклонение для каждого из факторов [270].

Рассмотрим определение мгновенного значения коэффициента диффузии в конкретной точке пространства и времени. Равномерный по направлениям коэффициент D_{exp} “псевдодиффузии” определен экспериментально [261,262] со среднеквадратичным отклонением σ_{exp} . При вычислении значения с ним связан первый случайный процесс с фактором p_1 . Коэффициент D_{exp} определен в культуре клеток, которая отличается от клеточной структуры живой ткани, а сами ткани, особенно опухолевые, сильно различаются по морфологическим параметрам. Варьируется размер клеток, структура их расположения, размер межклеточных протоков и их взаимодействие со средой. Поэтому в тканях организма этот коэффициент может отличаться от экспериментальных значений. Из-за сложностей учета этих параметров такими различиями обычно пренебрегают, экстраполируя

результаты, полученные *in vitro*, на характеристики всего организма (*in vivo*). При имитационном моделировании это отличие можно учесть случайным образом в несколько этапов [270].

Вторым случайным фактором p_2 является скорость распространения в разных направлениях, поэтому диффузионный коэффициент в уравнении (17) имеет разные значения для разных направлений. В случае использования данных, полученных на культурах клеток (*in vitro*), структура клеток во всех направлениях одинакова (в случае изучения монослоя речь идет только о двух направлениях). А в случае здоровой ткани может отсутствовать возможность распространения в некоторых направлениях. В случае опухолевой ткани структура клеток нарушается, и эти нарушения чаще всего носят случайный характер [270].

Помимо этого, живая ткань характеризуется “извилистостью” (англ. - *tortuosity*). Это понятие определяет, насколько равномерно расположены клетки в межклеточном пространстве, имеется ли наличие выделенных протоков межклеточного пространства. Поэтому случайная реализация данной клеточной структуры является функцией координат и связана со случайным фактором p_3 [270].

Кроме этого, биологическая ткань, как составная часть живого организма, может быть подвержена разным внешним воздействиям, меняющимся со временем в связи с жизнедеятельностью организма, начиная с механического воздействия, связанного с перемещением живого организма, осмотические изменения, связанные с внешним давлением, химические изменения, вызванные стрессом и т.д. Такие случайные изменения связаны со случайным фактором p_4 [270].

Следует отметить, что все факторы кроме p_4 , влияют на случайный процесс только в нулевой момент времени, при формировании случайных величин для описания моделируемой среды в конкретной реализации случайного процесса. Фактор p_4 , будет влиять на случайный процесс в

любой момент времени, внося случайные изменения, связанные с внешними воздействиями, являющиеся следствием жизнедеятельности организма в целом [270].

Всего для определения коэффициентов диффузии использовано 5 случайных факторов.

В случае случайных величин $k_m, k_{p,q}, a_m, b_m$, когда они используются для описания параметров химических реакций, также рассматривается экспериментально определенное среднее (математическое ожидание), и первым фактором случайного процесса является фактор p_1 , связанный непосредственно с погрешностью определения нужной величины в эксперименте.

Чаще всего эксперименты по определению параметров химической реакции производят в однородной среде. В случае биологической ткани необходимо учитывать, что среда, в которой происходят химические реакции, заведомо неоднородная. Как, например, pH среды вне опухоли составляет 7.3, в то время как в опухоли величина pH может опускаться до 6 [265]. Поэтому случайная реализация данной неоднородности является функцией координат и связана со случайным фактором p_2 .

Кроме того, необходимо учитывать случайный фактор p_3 , связанный с жизнедеятельностью организма в целом.

И также, как и в случае определения случайных величин при определении мгновенных значений компонентов тензора диффузии все факторы, кроме последнего, учитываются только в нулевой момент времени.

При определении мгновенных значений для случайных величин $k_m, k_{p,q}, a_m, b_m$, когда они используются для описания процесса перехода через некий барьер (стенка капилляра, клеточная мембрана и при описании процессов эндоцитоза), необходимо учитывать, что параметры прямого и обратного процессов связаны, и поэтому рассматриваются всегда в паре, а также они имеют одинаковое среднее, определенное в эксперименте, как,

например, для процесса эндоцитоза используется удельная объемная скорость эндоцитоза [263]. Фактически это величина определяет, какой объем межклеточного вещества в единицу времени захватывается и выбрасывается клетками в некотором объеме ткани. Если прямой и обратный процесс не будут в среднем компенсировать друг друга, то получится ситуация, что клетка может захватывать неограниченный объем вещества из межклеточного пространства, что невозможно, так как объем самой клетки ограничен.

В остальных случаях мгновенные значения определяются подобным образом, как и остальные описанные выше случайные параметры. Берется экспериментально определённое среднее, фактор случайного процесса p_1 , связанный с погрешностью экспериментального определения необходимого параметра. Фактор p_2 связан с неоднородностью среды, и случайная реализация мгновенного значения будет функцией координат. А также фактор p_3 связан с жизнедеятельностью организма в целом, поэтому реализация мгновенного случайного значения становится функцией времени.

Однако в случае перехода препарата из кровеносных капилляров в межклеточное пространство и из межклеточного пространства в лимфатические капилляры для определения коэффициентов обмена k_m используются дополнительные соображения, связанные с процессом перехода препарата из кровеносных капилляров в межклеточное пространство. В качестве превалирующих процессов в этом случае выбран процесс перетекания вещества из капилляров в межклеточное пространство и обратный ему процесс оттока вещества из межклеточного пространства в лимфатические и кровяные капилляры (см. Рисунок 4(1), процессы № 2 и 10). Эти процессы характеризуются удельной объемной скоростью поступления и оттока вещества и, в случае здоровой ткани, эти скорости в среднем равны. В опухолевой ткани (см. Рисунок 4(1)), наблюдаются нарушения этого баланса. Для опухолевых тканей оценка может быть произведена лишь на основании

данных о структуре капиллярной сети. При этом *плотность* кровеносных капилляров во внешней части опухоли выше, чем в окружающей здоровой ткани.

Капилляры в опухоли морфологически отличаются от капилляров окружающих тканей, что изменяет входящий поток вещества в межклеточное пространство, а через поврежденные стенки капилляров препаратору проще проникать в межклеточное пространство [272]. При этом количество лимфатических капилляров значительно меньше, чем в здоровой ткани. Внутренняя часть опухоли может вовсе не содержать капилляров. Поэтому для описания случайных процессов необходимо ввести еще один фактор случайного процесса p_d , который будет учитываться только в опухоли в процессе, описывающем отток вещества из межклеточного пространства, так как только там наблюдается дисбаланс входящего и исходящего потоков вещества. При рассмотрении фактора p_d учитывается только отрицательная область значений при конкретной реализации случайной величины, подчиняющейся распределению Гаусса. Это позволяет случайным образом определить мгновенное значение дисбаланса входящего и исходящего потоков в конкретной точке пространства.

Поэтому построение случайных процессов для определения мгновенных значений случайных величин в данном случае для здоровой и опухолевой тканей различаются. При вычислении коэффициентов обмена используется от 3 до 4 случайных факторов.

Таким образом, все случайные величины в системе уравнений (17) определялись путем анализа природы описываемого ими превалирующего процесса и возможных сопутствующих процессов или факторов, влияющих на него [270].

2.4. Особенности реализации математической модели

Одним из преимуществ данного подхода к моделированию является то, что в виде расчетной области можно взять любую трехмерную структуру тканей, задав в каждой точке пространства свои параметры, в том числе можно взять послойные МРТ снимки опухоли и окружающих тканей и по ним восстановить трехмерную структуру. Однако в работе было решено ограничиться послойным представлением солидной опухоли произвольной формы, в которой рассматривались два слоя: внутренняя гипоксичная область, не имеющая прямого взаимодействия с кровеносной системой, и внешний слой опухоли, сопровождающийся воспалением и отечностью, спровоцированными дисбалансом входящего и исходящего потоков веществ из кровеносных капилляров в межклеточное пространство и из межклеточного пространства в лимфатические капилляры. А также опухоль окружена здоровой тканью. Модельная структура опухоли приведена на рисунке 5. Размер расчетной области 2x2x2 см.

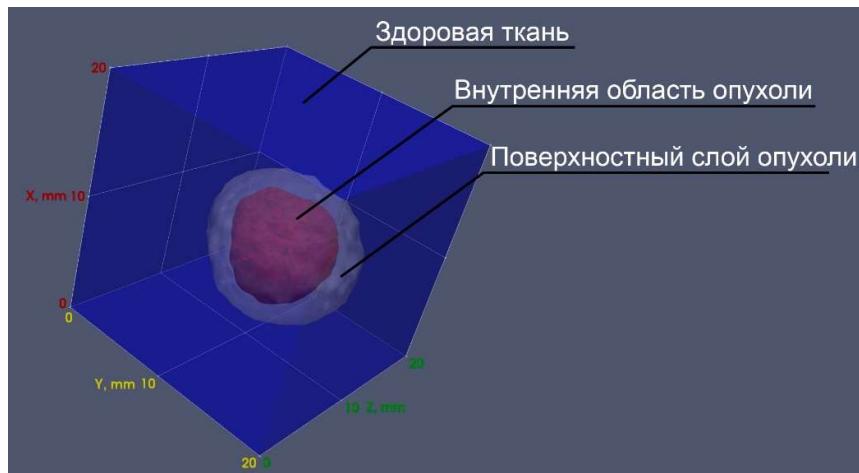


Рисунок 5 – Модельное представление опухоли.

Во всех трех областях: здоровой ткани (ЗТ), поверхностном слое опухоли (ПС), внутренней области опухоли (ВО) - задаются свои параметры случайных процессов, описывающих мгновенные значения случайных величин $D_{j,n}, k_m, k_{p,q}, a_m, b_m$ в уравнении (17).

Следует отметить, что существует значительное количество методов получения случайных чисел, подчиняющихся нормальному распределению [273]. Самым распространенным из них является преобразование Бокса-

Мюллера, однако оно даже при использовании двойной точности при вычислениях не дает возможности возникновения сверхредких событий, что негативно влияет на проведение моделирования. Поэтому использовался более управляемый и точный метод Зиггурат [274], модифицированный автором настоящей работы.

Система уравнений (17) решается численно. Программа написана на языке FORTRAN, блок схема программы приведена в приложении 1. На программу получено свидетельство о государственной регистрации программы ЭВМ [275].

Аппроксимация системы производится методом контрольного объема [276]. Очевидно, что для адекватного численного моделирования очень важными являются вопросы определения размеров контрольных объемов и шагов по времени.

Минимальный контрольный объем выбирается на основе изучаемой биологической ткани. Необходимо, чтобы контрольный объем содержал не менее 500 клеток, и в нем с большой вероятностью находился кровеносный капилляр. В среднем размер клетки млекопитающих составляет 10-20 мкм, поэтому средний размер минимального контрольного объема порядка 10^7 мкм³ будет гарантировать необходимое количество клеток в контрольном объеме и нахождение там кровеносного капилляра. Максимальный размер контрольного объема должен оцениваться, исходя из размеров расчетной области и детализации распределения препарата по ткани, а также из макроструктуры ткани [270].

Минимальный шаг по времени связан с временной составляющей случайных функций, необходимых для того, чтобы система успела релаксировать от предыдущего состояния к следующему. С другой стороны, максимальный шаг по времени не должен приводить к усреднению происходящих процессов по времени. В приведенных далее расчетах использовались шаги по времени от 1 до 5 минут, в зависимости от временного периода, который должен охватить расчет [270].

Еще одно пространственное ограничение накладывается на всю область расчетов - граница опухоли не должна пересекаться или совпадать с границей расчетной области. В этом случае можно считать, что на границе расчетной области потоки сбалансированы, следовательно, суммарный поток равен нулю, а граничные условия соответствуют задаче Неймана [270].

Так как концентрацию препарата в крови можно сравнительно просто измерить, то функцию зависимости концентрации агента в крови от времени считаем известной. Так как скорость перемещения крови по кровеносным сосудам значительно выше скорости процессов в ткани, можно утверждать, что концентрация препарата в крови зависит от времени, в то время как ее зависимостью от координат в рамках расчетной области можно пренебречь. Тем самым можно считать, что во всей расчетной области концентрация препарата в крови одинакова в каждой точке пространства.

При расчетах использовались равномерные трехмерные сетки от $20 \times 20 \times 20$ до $100 \times 100 \times 100$. Увеличение количества ячеек в сетке больше $50 \times 50 \times 50$ не приводило к изменению статистических параметров, поэтому в работе приведены результаты для сетки $50 \times 50 \times 50$. На каждом шаге по времени система линейных алгебраических уравнений (СЛАУ) строилась для последовательности поправок к полученному ранее решению. Такой подход исключает возможность накопления ошибки. В качестве одного из критериев сходимости использовалось относительное уменьшение невязки до заданного значения 10^{-5} . Для решения СЛАУ взят метод BCG [277], использующий двойную точность. Поэтому можно утверждать, что точность решения на каждом шаге по времени была не ниже заданного значения невязки. Статистическая обработка результатов расчета проводилась по 30 и более независимым реализациям совокупности случайных процессов, что позволяет оценить дисперсию искомых величин. Значение дисперсии получается как минимум на 2 порядка больше, чем оценка ошибки численного метода. Указанные оценки позволяют утверждать, что ошибка

численного метода может вносить лишь незначительный вклад в статистику изучаемых процессов [270].

2.5. Описание модели для бор-10-фенилаланина

Рассмотрим вариант реализации описанной методики построения модели на примере численного решения уравнений динамики проникающего в клетку, но не взаимодействующего с ее структурами препарата ВРА, с бором ^{10}B в качестве действующего агента. В системе уравнений (19) представлены следующие процессы [270]:

1. Проникновение агента из капилляров в межклеточное пространство;
2. Распространение препарата по межклеточному пространству;
3. Эндоцитоз;
4. Высвобождение атомов ^{10}B в ходе ферментативной химической реакции от носителя (фенилаланин);
5. Экзоцитоз (выход ^{10}B «отработанного агента» из клетки).

В этом случае система уравнений (17) может быть представлена в виде системы уравнений (19)

$$\begin{cases} \frac{\partial C_{lbo}}{\partial t} = \nabla(\hat{D}_{lb} \nabla C_{lbo}) - k_{bmb}C_{lbo} + k_{bbm}C_{lbb} - k_{bmc}C_{lbo} + k_{bcm}C_{lbi} \\ \frac{\partial C_{fbo}}{\partial t} = \nabla(\hat{D}_{fb} \nabla C_{fbo}) - k_{bmb}C_{fbo} - k_{bmc}C_{fbo} + k_{bcm}C_{lbi} \\ \frac{\partial C_{lbi}}{\partial t} = k_{bmc}C_{lbo} - k_{bcm}C_{lbi} - \frac{v_{\max}C_{lbi}}{k_m + C_{lbi}} \\ \frac{\partial C_{fbi}}{\partial t} = k_{bmc}C_{fbo} - k_{bcm}C_{fbi} + \frac{v_{\max}C_{lbi}}{k_m + C_{lbi}} \end{cases} \quad (19)$$

где C_{lbb} - известная функция концентрации агента в крови, которая зависит только от времени и одинакова для всех точек пространства. C_{lbo} - концентрация агента в межклеточном пространстве, C_{fbo} - концентрация «отработанного» агента в межклеточном пространстве, C_{lbi} - концентрация агента в эндосомах клетки, C_{fbi} - концентрация «отработанного» агента в эндосомах клетки. \hat{D}_{lb} и \hat{D}_{fb} - тензоры диффузии с ненулевыми случайными

диагональными компонентами для агента и «отработанного» агента соответственно. k_{bbm} и k_{bmb} - удельные объемные скорости поступления вещества из кровеносных капилляров в межклеточное пространство и из межклеточного пространства в лимфатические капилляры. k_{bmc} и k_{bcm} - удельные объемные скорости эндоцитоза и экзоцитоза. k_m и v_{max} - константа Михаэлиса и максимальная скорость ферментативной химической реакции расщепления ВРА на фенилаланин и ^{10}B .

Все коэффициенты в системе уравнений (19) являются случайными функциями координат и времени, определёнными по описанной выше методике.

Начальные условия – нулевые. Границные условия описаны выше. Все параметры случайных процессов приведены в приложении 2.

2.6. Описание модели для «Цисплатина»

Второй препарат – «Цисплатин», широко применяемый в химиотерапии, а также предлагаемый в качестве радиосенсибилизирующего агента при лучевой терапии рака [270].

Для него рассмотрены следующие процессы:

1. Проникновение агента из кровеносных капилляров в межклеточное пространство.
2. Распространение агента по межклеточному пространству.
3. Эндоцитоз.
4. Процесс акватации цисплатина и обратный ему процесс.
5. Проникновение аквированного цисплатина через мембрану клетки в цитоплазму.
6. Взаимодействие цисплатина с тиольными группами белков в цитоплазме.
7. Взаимодействие со структурами ДНК при исчезновении ядерной мембранны в процессе митоза клеток.

8. Репарация блокированных платиной фрагментов ДНК.
9. Вывод нереакционно-способного агента через мембранны из цитоплазмы.
10. Экзоцитоз.

Система уравнений для этого препарата выглядит следующим образом (20).

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{\partial C_{lpo}}{\partial t} = \nabla (\hat{D}_{lp} \nabla C_{lpo}) - k_{pmb} C_{lpo} + k_{pbm} C_{lpb} - k_{pmc} C_{lpo} + k_{pcm} C_{lpi} - k_{wp} (pC_{lpo}) + k_{wm} C_{lpow} \\ \frac{\partial C_{lpow}}{\partial t} = \nabla (\hat{D}_{lp} \nabla C_{lpow}) - k_{pmb} C_{lpow} - k_{pmc} C_{lpow} + k_{pcm} C_{lpiw} + k_{wp} (pC_{lpo}) - k_{wm} C_{lpow} - k_{trco} C_{lpow} + k_{trcoo} C_{lpc} \\ \frac{\partial C_{lpi}}{\partial t} = k_{pmc} C_{lpo} - k_{pcm} C_{lpi} - k_{wp} (pC_{lpi}) + k_{wm} C_{lpiw} \\ \frac{\partial C_{lpiw}}{\partial t} = k_{pmc} C_{lpow} - k_{pcm} C_{lpiw} + k_{wp} (pC_{lpi}) - k_{wm} C_{lpiw} - k_{trci} C_{lpiw} \\ \frac{\partial C_{lpc}}{\partial t} = k_{trco} C_{lpow} + k_{trci} C_{lpiw} - k_{trcoo} C_{lpc} - k_{ths} C_{lpc} C_s^* - k_{thd} C_{lpc} C_d^* \\ \frac{\partial C_s}{\partial t} = -k_{ths} C_{lpc} C_s^* \\ \frac{\partial C_d}{\partial t} = -k_{thd} C_{lpc} C_d^* \\ \frac{\partial C_{pd़}}{\partial t} = k_{thd} C_{lpc} C_d^* - k_{rep} C_{pd़} \\ \frac{\partial C_{fpc}}{\partial t} = k_{ths} C_{lpc} C_s^* + k_{rep} C_{pd़} - k_{trcoo} C_{fpc} \\ \frac{\partial C_{fpi}}{\partial t} = k_{pmc} C_{fpo} - k_{pcm} C_{fpi} \\ \frac{\partial C_{fpo}}{\partial t} = \nabla (\hat{D}_{fp} \nabla C_{fpo}) - k_{pmb} C_{fpo} - k_{pmc} C_{fpo} + k_{pcm} C_{fpi} + k_{trcoo} C_{fpc} \end{array} \right. \quad (20)$$

где C_{lpb} - известная функция концентрации платины в крови от времени, C_{lpo} - концентрация платины в неакватированном состоянии в межклеточном пространстве, C_{lpow} - концентрация платины в акватированном состоянии в межклеточном пространстве, C_{lpi} - концентрация платины в неакватированном состоянии в эндосомах, C_{lpiw} - концентрация платины в акватированном состоянии в эндосомах, C_{lpc} - концентрация «активной» платины в цитоплазме, C_{lpc}^{*s} - C_{lpc} переведенная в единицы моль/л, C_{lpc}^{*d} - C_{lpc} переведенная в единицы количества атомов платины на грамм ткани, C_s - безразмерная нормированная на 1 концентрация тиолов в цитоплазме, C_s^* -

C_s умноженное на начальное значение концентрации тиолов , C_d - безразмерное нормированное на 1 количество сайтов связывания в ДНК, C_d^* - C_d умноженное на начальное значение количества сайтов связывания ДНК, C_{pd} - концентрация платины, связанной с ДНК, C_{fpc} - концентрация связанной платины в цитоплазме, C_{fpi} - концентрация «отработанной» платины в эндосомах, C_{fpo} - концентрация «отработанной» платины в межклеточном пространстве. \hat{D}_{lp} и \hat{D}_{fp} - тензоры диффузии с ненулевыми случайными диагональными компонентами для цисплатина, связанного с белком, и «отработанного» агента соответственно. Отдельные параметры для акватированного цисплатина не вводятся, так как считается, что весь свободный акватированный цисплатин очень быстро поглощается рядом расположеннымими клетками, либо соединяется с белком-переносчиком и перемещается вместе с ним, k_{pbm} и k_{pmb} - удельные объемные скорости поступления вещества из кровеносных капилляров в межклеточное пространство и из межклеточного пространства в лимфатические капилляры, k_{pmc} и k_{pcm} - удельные объемные скорости эндоцитоза и экзоцитоза, k_{wp} - скорость химической реакции акватации (замена хлора на OH группу)

цисплатина. $k_{wm} = k_{wm}^* [Cl^-] \frac{[H^+]}{K_a + [H^+]}$, где k_{wm}^* - скорость обратной химической реакции акватации цисплатина, $[Cl^-]$ - концентрация хлора,

$[H^+]$ - концентрация водорода, K_a - константа кислотности среды, численно равная константе кислотности угольной кислоты. k_{trco} и k_{trci} - удельные объемные скорости проникновения цисплатина из межклеточного пространства и из эндосом соответственно в цитоплазму клетки. k_{trcoo} и k_{trcfo} - удельные объемные скорости выхода цисплатина и «отработанного»

агента соответственно из цитоплазмы в межклеточное пространство. k_{ths} - скорость химической реакции связывания платины с тиольными группами в цитоплазме. k_{thd} - скорость химической реакции связывания платины с сайтами связывания ДНК с учетом длительности митоза в клеточном цикле. k_{rep} - скорость репарации ДНК.

Коэффициент p равный примерно 0,08-0,1 появляется из-за того, что в плазме крови цисплатин находится в двух состояниях - в связанном с белками-переносчиками и в свободном [278,279,280]. Динамическое равновесие между этими состояниями достигается при соотношении: 0,9-0,92 связанный с белками цисплатин и 0,08-0,1 свободный цисплатин. Для проникновения в цитоплазму через мембрану клетки цисплатин должен находиться в свободном состоянии и в полностью или частично аквратированной форме. Поэтому в процессе аквратации рассматривается только свободный цисплатин, так как согласно экспериментам [143] концентрация в межклеточном пространстве аквратированного цисплатина фактически нулевая, практически не регистрирующаяся. Это свидетельствует о том, что весь свободный аквратированный цисплатин практически сразу же поглощается находящимися рядом клетками. Таким образом, вводя коэффициент p можно исключить из общего пула все молекулы цисплатина, связанные с белком-транспортёром. Связанный с белками-переносчиками цисплатин может попасть внутрь клетки в процессе эндоцитоза, но не проходя через мембрану клетки, а находясь в изолированных эндосомах. В них он находится в динамическом равновесии и способен проникать в цитоплазму, пройдя через мембрану эндосомы.

Все коэффициенты в системе уравнений (20) являются случайными функциями координат и времени, определёнными по описанной выше методике.

Начальные условия – нулевые, кроме функций C_s и C_d . Начальные значения этих функций являются также случайными функциями координат,

определенными по описанной выше методике. Математическое ожидание распределений для этих функций получено в [143,281]. Границные условия описаны выше. Все параметры случайных процессов описаны в приложении 3.

2.7. Данные клинических наблюдений

Все данные клинических наблюдений взяты из опубликованных литературных источников. Критерием отбора таких источников служит наличие следующей совокупности данных по пациентам:

- динамика концентрации атомов радиосенсибилизирующего агента в крови или количество проб, достаточное для аппроксимации этой динамики,
- наличие проб биопсии опухоли или другие данные, результаты которых могут быть представлены в размерности массовой концентрации.

Данные для ВРА были взяты из работ Elowitz E.H. [19] и Coderre J.A. [20], табличные данные приведены в приложении 4.

Данные для «Цисплатина» были взяты из работ Holding J.D. [21] и Gouyette A. [22], табличные данные приведены в приложении 5.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Расчеты проведены для ВРА и для «Цисплатина».

На примере ВРА проведены расчеты для разных вводимых концентраций и рассмотрены различные способы сравнения с доступными клиническими данными.

На примере «Цисплатина» расчеты были проведены для одного и нескольких введений препарата с интервалом в одну неделю для оценки накопительного эффекта при повторном введении препарата. А также был проведен расчет для другой схемы введения препарата, когда он вводится не за один раз в течении 8 часов, а та же суммарная доза препарата вводится за два раза по 6 часов с интервалом в сутки.

На базе полученных результатов произведен общий анализ возможностей данного метода моделирования и направления его развития.

3.1. Результаты расчетов по бор-10-фенилаланину и их обсуждение

При нейтрон-захватной терапии (НЗТ) локальное увеличение поглощенной дозы создается за счет вторичного излучения, возникающего при взаимодействии нейtronов с поглощающим элементом, входящим в состав предварительно доставленного в опухоль препарата. Эффективность НЗТ зависит от скорости накопления поглощающего элемента клетками опухоли [282].

Для целей нейтрон-захватной терапии рассматривалось большое количество различных химических элементов, но как наиболее перспективный был выбран ^{10}B . Это связано с тем, что основная энергия, выделяемая при ядерной реакции $(^{10}\text{B}(n, \alpha)^7\text{Li})$, возникающей при столкновении нейтрона с ^{10}B , распределяется между α -частицей и ядром лития. Эти частицы характеризуются высоким темпом торможения и малым

пробегом в воде и тканях организма - 7,5 мкм и 5,2 мкм [17] соответственно. Эти величины сопоставимы с размером клеток млекопитающих. Порядка 16% от выделяемой энергии приходится на γ -квант с длинной пробега в воде 10 см. Тем самым бор-10 является лучшим кандидатом для нейтрон-захватной терапии, поскольку зона поражения вторичным излучением ограничивается, в основном, одной отдельно взятой клеткой с минимальным поражением окружающих тканей.

Исходя из сказанного, первым препаратом, для которого было проведено моделирование, был борфенилаланин (BPA), с ^{10}B в виде действующего агента. Это связано с тем, что, во-первых, для применения препаратов на основе бора крайне актуален вопрос распределения препарата по опухоли, так как область поражения ограничивается размерами клетки, а во-вторых BPA имеет более сложный механизм нацеливания на опухолевые клетки.

В проанализированных литературных источниках, посвященных вопросам моделирования кинетики лекарственных препаратов и наночастиц [283], традиционно предполагается, что структура опухоли однородна, опухоль растет из своего центра, увеличиваясь в объеме за счет бесконтрольного деления раковых клеток.

Однако известно, что подобные предположения не соответствуют морфологическим данным о патогенезе опухолей. Структура опухоли однородна лишь на самом раннем этапе развития, когда она растет из своего центра, так называемой стволовой опухолевой клетки. По мере роста опухоли ее пространственная структура меняется, в том числе за счет многочисленных мутаций в геноме опухолевых клеток. По мере увеличения объема возрастает потребность в питательных веществах, которых, очевидно, больше вблизи поверхности опухоли. Приведенные соображения свидетельствуют о том, что существуют отличия в процессах, происходящих вблизи поверхности опухоли, от тех процессов, что происходят в центре. Эти различия находят свое отражение в свойствах окружающей опухолевые

клетки среды. Так, например, pH в нормальной ткани или вблизи поверхности опухоли составляет 7,3-7,4, в то время как в центре опухоли значение pH может опускаться до 6-6,5 [265]. Поэтому проведение имитационного моделирования было ограничено рассмотрением солидных опухолей на ранних их этапах развития и объемом в 1,5 см³.

Условно опухоль разделена на две области - поверхностный слой толщиной в 1,5-2 мм, и внутренняя часть опухоли. Протекающие в этих слоях процессы и параметры среды могут отличаться в разных областях, а окружающую нормальную ткань можно считать третьей областью. Параметры распределений случайных величин заданы в этих областях по-разному (см. Рисунок 5).

Следует отметить, что количество областей с разными описаниями процессов может быть увеличено, разбираемый принцип моделирования этому не препятствует.

Далее отдельные области обозначены: здоровая ткань (ЗТ), поверхностный слой опухоли (ПС), внутренняя область опухоли (ВО), вся опухоль ПС+ВО (ОП) (см. Рисунок 5).

Расчеты проводились для разной концентрации внутривенного введения препарата: 250 мг/кг в течение 2 часов, 290 мг/кг в течении 2 часов, 350 мг/кг в течении 1,5 часов.

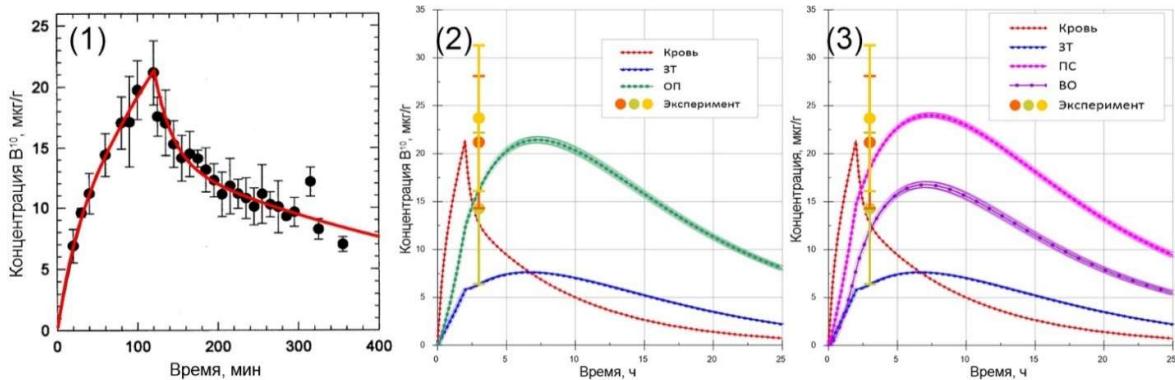


Рисунок 6 – Концентрация ¹⁰B: 1) В крови (аппроксимация данных клинических наблюдений Coderre J.A. с соавторами [20]), 2) средняя по всей опухоли концентрация ¹⁰B в сравнении с данными полученными при анализе проб биопсии [20], 3) средняя по ПС и ВО концентрация ¹⁰B в сравнении с данными биопсии [20].

На рисунке 6 приведены результаты моделирования для 2-часового внутривенного введения ВРА с дозой 250 мг/кг. Настройка параметров модели велась под глиобластому. Концентрация бора в крови бралась как аппроксимация результатов Coderre J.A. с соавторами [20] (см. Рисунок 6(1)). Результаты расчета приведены на рисунках 6(2,3) с указанием точек, полученных в ходе клинических наблюдений [19,20]. Сложность получения биопсии глиобластомы такова, что получается лишь одна проба, что делает невозможным сравнить результаты в динамике.

Произвести полноценное сравнение расчетных значений с точно такими же полученными в ходе клинических наблюдений не представляется возможным, так как перед исследователями никогда не ставилась задача настолько детального изучения концентрации препарата. Зачастую такая детализация невозможна из-за невозможности взять достаточное количество проб биопсии, а неинвазивные методы не обладают необходимой точностью и не позволяют разделять разные химические состояния агента, тем более различать локализацию агента на клеточном уровне. Это делает практически невозможным более детальное определение концентрации агента при клинических наблюдениях, в то время как при математическом моделировании определяется практически каждое химическое состояние агента в каждой точке пространства. Поэтому для сравнения с клиническими данными полученные при моделировании результаты приходится усреднять по пространству, а из разных состояний агента получать общую усредненную оценку его концентрации.

В целом результаты моделирования хорошо согласуются с клиническими данными, полученными при анализе проб биопсии трех разных пациентов. На рисунке 6(2) представлены результаты сравнения с данными при анализе проб биопсии, путем усреднения концентрации бора по всему объему опухоли и по всем его состояниям. На рисунке 6(3) приведены те же точки, полученные при анализе проб биопсии, но сравниваются они уже с усредненными отдельно результатами расчета в области ПС и ВО для

опухоли. И совпадение результатов становится еще лучше. В работе Coderre J.A. с соавторами [20] отдельно говорится о том, что пробы биопсии дают очень большую погрешность, что и отражено на рисунках 6(2,3), это объясняется сильной неравномерностью распределения ^{10}B , что будет показано далее при анализе трехмерных результатов расчета.

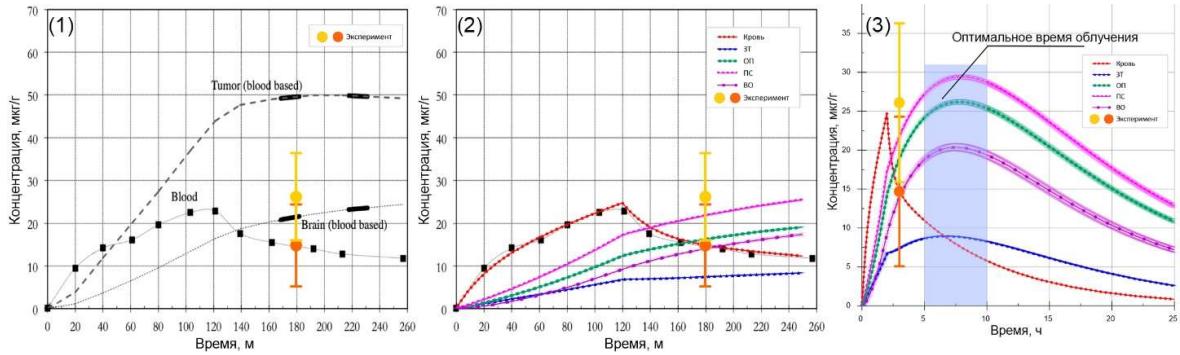


Рисунок 7 – Концентрация ^{10}B : 1) Результат расчета по камерной модели [172] с наложенными на него данными анализа биопсионных проб [20], 2) усреднённая по пространству в разных областях концентрация ^{10}B в сравнении с клиническими данными [20], рассчитанная на основе данных по концентрации в крови использованных в камерной модели [172] 3) Тоже что и 2, только на большем промежутке времени.

На рисунке 7(1) представлены результаты моделирования при помощи камерной модели, приведенной в работе Koivunoro H. с соавторами [172], при внутривенном 2-часовом введении ВРА в дозировке 290 мг/кг, с нанесенными на них результатами, полученными при анализе биопсийных проб глиобластомы у двух пациентов [20], при той же схеме введения препарата. Из графика видно, что результаты расчета и клинические наблюдения авторов работы [172] различаются в несколько раз. На рисунках 7(2,3) приведены результаты расчетов при помощи предлагаемой модели на разных масштабах по времени. Из графиков видно, что они совпадают с результатами клинических наблюдений. Также на рисунке 7(3) виден максимум концентрации, приходящийся на 5 часов после введения препарата. При максимуме концентрации радиосенсибилизатора в опухоли облучение будет наиболее эффективным. Однако для полноценного сравнения динамики процесса накопления препарата имеющихся данных по

анализу биопсионных проб категорически недостаточно. Сравнение динамики без сравнения абсолютных значений возможно с результатами ПЭТ, однако для этого необходимо знать детальные параметры опухоли: ее размеры, объемную форму, локализацию. В клинических работах эти данные не приводятся. Это связано с тем, что в клинической практике на данный момент времени основным критерием возможности проведения облучения является соотношение концентраций tumor-to-normal (T/N), которое должно быть ≥ 2.5 [23]. Но этому критерию соответствует соотношение расчётных концентраций как спустя час после введения T/N=2,51, совпадающие со временем взятия биопсионных проб в работах Coderre J.A. с соавторами [19,20], так и спустя 5 часов после введения T/N=2,9.

Поэтому сравнение с имеющимися результатами ПЭТ можно провести исключительно качественно, а не количественно.

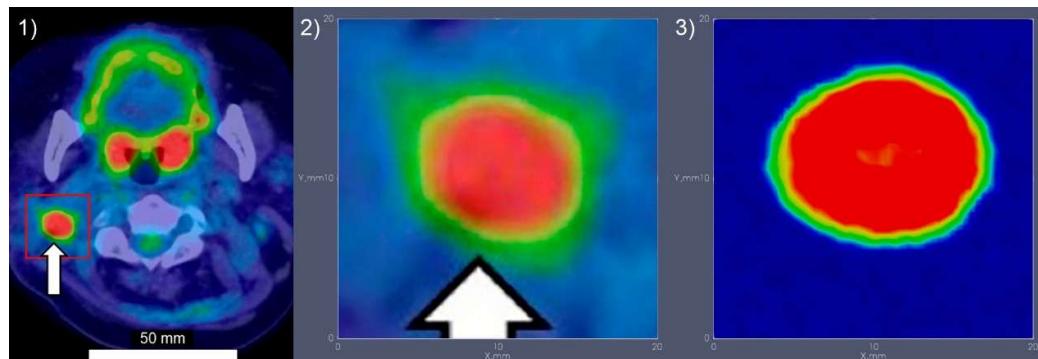


Рисунок 8 – Качественное сравнение результатов расчетов с результатами ПЭТ/КТ. 1) Результаты ПЭТ/КТ, приведенные в работе N. Fukumitsu [23]. 2) Увеличенная область, обозначенная на первом снимке, до масштабов равных расчетной области. 3) Результаты расчета, приведенные в виде усреднённой проекции по оси Z, для возможности сравнения с результатами ПЭТ.

На рисунках 8(1,2) представлены изображения, полученные с помощью ПЭТ/КТ [23], а на рисунке 8(3) представлены результаты расчетов в виде пригодном для сравнения с ПЭТ. Качественно изображения, представленные на рисунках 8(2,3), очень похожи, отличия связаны с формой опухоли и невозможностью точно сопоставить термические шкалы. Поэтому сравнение данного метода моделирования с результатами ПЭТ возможно, однако даже для качественного сравнения динамики необходимо понимание

формы опухоли, ее расположение и, главное, четкое сопоставление термических шкал между данными клинических наблюдений и расчетом. Для полноценного количественного сравнения, кроме выше перечисленного, также нужно иметь информацию о калибровке, термической шкале относительно биопсионных проб. На необходимость более системного и детализированного подхода в исследованиях, в том числе медицинских, указывает наличие проблем, рассмотренных Fukumitsu N., и Matsumoto Y [23]. В своей статье они указывают на необходимость стандартизации представления клинических данных, чтобы они могли быть использованы не только в рамках конкретной работы, но и в совокупности с другими работами, что даст более детализированное представление о рассматриваемых процессах.

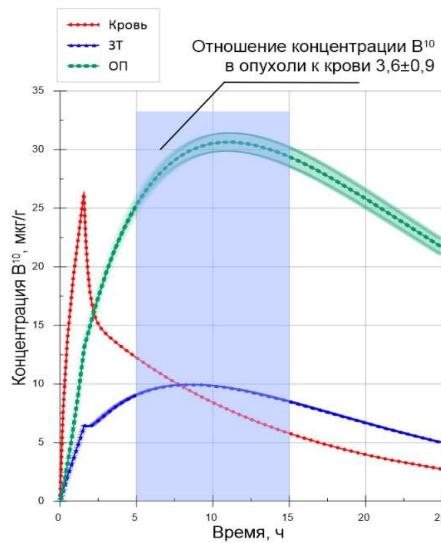


Рисунок 9 – Концентрация ^{10}B в крови, получена Kiger W.S. с соавторами [173,284], средние значение в ЗТ, и средние по всей опухоли ОП. Для внутривенно вводимой в течение 1,5 часов концентрации ВРА 350 мг/кг.

На рисунке 9 представлены результаты расчетов для концентрации ^{10}B для вводимой внутривенно дозы ВРА 350 мг/кг в пригодном для сравнения с клиническими данными виде. В частности, для такой дозы данные клинических наблюдений представляют в виде относительной величины равной отношению концентрации ^{10}B в опухоли к концентрации в крови. По данным Kiger W.S, отношение концентраций в опухоли к крови (tumor-to-

blood) составляет 3,5-4 к 1 (для глиобластомы) [173,284], а по данным Fukuda H. 3,4+/-0,83 (меланома) и 1,4-4,7 к 1 (glioblastoma) [285,286]. При моделировании (см. Рисунок 9) отношение концентрации в опухоли к крови в среднем в указанном промежутке времени составило 3,6±0,9. При разработке модели учитывались морфофизиологические параметры тканей мозга при глиобластоме.

Выше приведены результаты расчета в адаптированном виде для сравнения с теми или иными данными клинических наблюдений. В ходе моделирования протекающих процессов поступления ^{10}B в ткани получены 3D изображения изменений во времени общей концентрации ВРА (см. Рисунок 10). Следует отметить, что подобным образом могут быть представлены результаты для каждой из концентраций в системе уравнений (19), соответствующие каждому состоянию радиосенсибилизирующего агента, рассмотренного в модели.

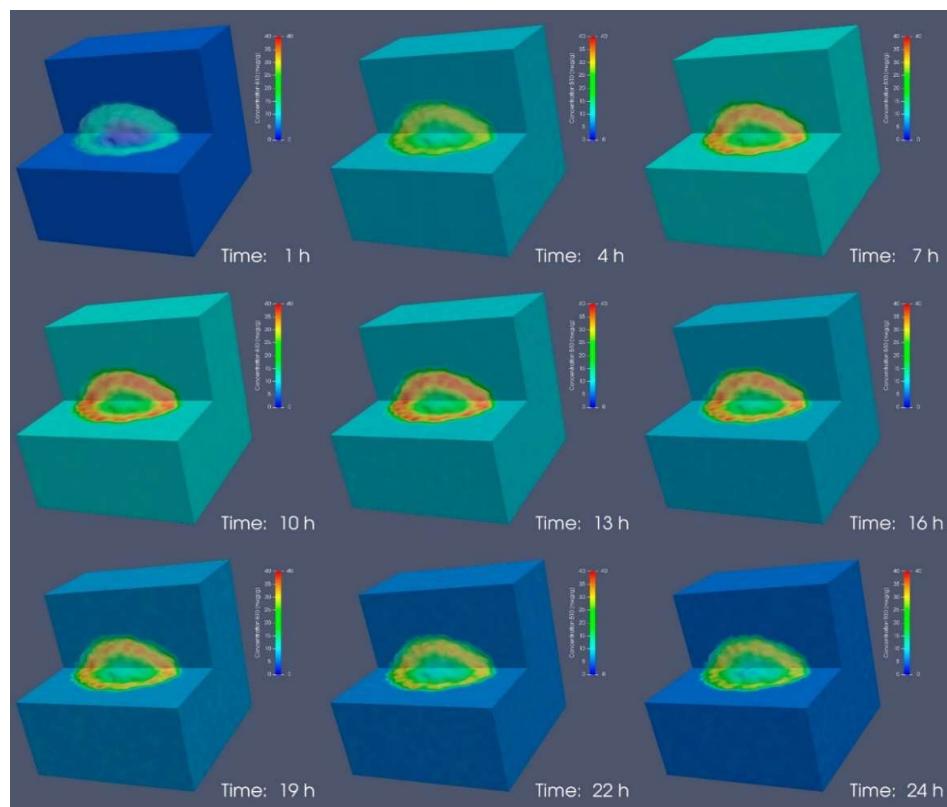


Рисунок 10 – 3D графики концентрации ^{10}B в ткани. Для внутривенно вводимой в течении 1,5 часов концентрации ВРА 350 мг/кг.

Как видно из рисунка 10, концентрация внутри опухоли меньше, чем в ее поверхностном слое. Это связано с тем, что фенилаланин, являясь незаменимой аминокислотой, ускоренно поступает внутрь клеток. При создании препарата ВРА предлагалось использовать это свойство для того, чтобы как можно больше ^{10}B попадало в опухолевые клетки. Результаты моделирования показывают, что большая часть препарата поглощается там, где есть непосредственное снабжение кровью, а в области, где кровоснабжение затруднено, препарата в клетках накапливается меньше. Поэтому результаты, полученные при анализе биопсии [19,20] и при оценке соотношения tumor-to-blood, имеют такой значительный разброс [173,284,285,286]. Это объясняется тем, что пробу биопсии брали из зон с разным кровоснабжением.

Кроме того, при сравнении с данными ПЭТ (см. Рисунок 8) разница в концентрации внутри опухоли по сравнению с ее поверхностью не может быть выявлена, так как ПЭТ регистрирует наличие меченых атомов в виде проекции по всему объему в направлении ортогональном плоскости проекции. Это не позволяет полноценно изучить распределение препарата в пространстве, которое возможно с помощью предложенной модели.

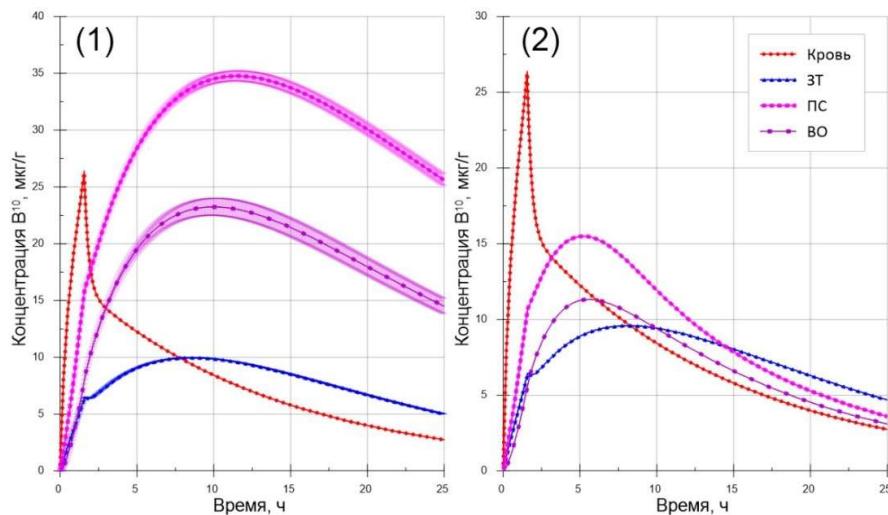


Рисунок 11 – Концентрация ^{10}B в крови по Kiger W.S. с соавторами [173,284], средние значение в ЗТ и средние в ПС, средние значение в ВО. (1) результаты моделирования на базе СДУ, (2) результаты моделирования на базе ДУ.

На рисунке 11(1) показаны те же результаты, что и на рисунке 9, только отдельно рассмотрены ПС и ВО. Это усреднение результатов, представленных на рисунке 10 по пространству, где можно в явном виде видеть разницу концентраций в ПС и ВО. На рисунке 11(2) показаны результаты моделирования при помощи той же системы уравнений, но вместо случайных функций взяты постоянные коэффициенты равные математическому ожиданию, взятому при построении функций распределения случайных величин, другими словами из вычислений была полностью убрана случайная составляющая, и их можно рассматривать как классические ДУ с постоянными коэффициентами. Из графика видно, что, хотя рассматриваются те же процессы, что и в СДУ, с использованием тех же экспериментальных и клинических данных для определения коэффициентов, результаты сильно отличаются как от результатов, полученных при помощи СДУ, так и от данных полученных в ходе клинических наблюдений.

Для того, чтобы учесть тот или иной процесс, протекающий в живой ткани, или задать новое свойство активной среды, которой является биологическая ткань, в рамках ДУ необходимо заранее знать количественные значения необходимых параметров. А это очень часто является проблемой, так как биологические системы не имеют некого постоянного статического состояния, они все время подвержены изменениям, и предсказать их новое состояние не представляется возможным с необходимой точностью. Поэтому практически любой параметр, описывающий биологические процессы в рамках ДУ, задается как среднее, что уже является неким допущением.

Следует отметить, что каждый член СДУ (см. уравнение (3) со случайной функцией), отражает некий процесс, который в силу разных причин не может быть определен однозначно из-за большого количества факторов, знание которых требуется для его точного описания. То есть классическое ДУ предполагает, что оно однозначно описывает протекающие процессы, или, другими словами, в рамках конкретной теории об изучаемом процессе известно все. В то время как СДУ предполагает, что некоторые

процессы настолько сложны, что не могут быть на данном этапе определены точно, то есть допускается наличие неизвестных факторов, которые можно назвать “незнанием” в рамках изучения конкретного процесса. Количественная же оценка этого “незнания” может быть получена при помощи функции плотности вероятности этой случайной величины: чем больше поле возможных значений, тем больше величина “незнания”.

Поэтому можно утверждать, что на рисунке 11(2) показан результат расчета при допущении того, что исследуемые процессы определены полностью и однозначно в рамках некой теории. На рисунке 11(1) показан результат расчета при максимально разумной оценке “незнания” протекающих процессов. Если рассмотреть график ЗТ, то он практически не отличается на рисунках 11(1 и 2), это связано с тем, величина “незнания” существенно меньше, чем для опухоли, в которой наблюдается масса аномалий. В частности, это EPR-эффект, высокий градиент pH и множество других нарушений, свойственных опухоли и опухолевым клеткам. Но при анализе кривых ПС и ВО, можно увидеть два существенных отличия. Во-первых, в расчете при помощи СДУ (см. Рисунок 11(1)) наблюдается значительное накопление препарата в опухоли, что в целом согласуется с клиническими наблюдениями, в случае ДУ (см. Рисунок 11(2)) накопления практически не происходит, что не согласуется с клиническими данными. Во-вторых, пики максимума концентрации ^{10}B находятся на 9-12 часах после начала введения, и на 5-6 часах, соответственно. Однако по вышеуказанным причинам имеющихся данных клинических наблюдений недостаточно, чтобы полноценно сравнить динамику накопления препарата в опухоли. Кроме того, анализ графиков, приведенных на рисунках 11(1 и 2), свидетельствует о том, что оценка “незнания” определяет не только величину накопления препарата, но и во многом динамику процесса, что означает, что при появлении более детальных клинических данных достаточно будет просто коррекции количественной оценки “незнания” изучаемых процессов. Другими словами, при помощи изменений в функции плотности вероятности

случайных величин можно задать численно качественную оценку неизвестного параметра в протекающих процессах. И на основе этой качественной оценки получить количественный результат.

Несмотря на то, что на данный момент доступные клинические данные могут лишь косвенно подтвердить корректность изложенного подхода к моделированию, следует отметить, что клинические данные, опровергающие предложенный подход, отсутствуют.

Сопоставим результаты расчета со свойствами исследуемого препарата.

На рисунке 9 и рисунке 11(1) отчетливо видно, что первоначальный рост концентрации агента связан с процессом введения препарата в кровь – наблюдается постепенный рост концентрации как в крови, так и в тканях. После окончания введения препарата рост концентрации препарата продолжается за счет накопления клетками в процессе эндоцитоза, при этом концентрация в крови резко падает.

Такая динамика процесса хорошо иллюстрирует принцип работы ВРА как средства доставки бора в опухоль. Этот препарат способен проникать через гематоэнцефалический барьер. Он провоцирует клетки к ускоренному поглощению фенилаланина и к накоплению через триггерное провоцирование эндоцитоза. С учетом того, что опухолевые клетки имеют более высокую скорость эндоцитоза (повышенная скорость эндоцитоза опухолевых клеток будет более явно видна на примере другого препарата), накопление происходит быстрее именно в опухолевых клетках. С другой стороны, подобный принцип доставки имеет и свои минусы, так как ВРА проходит через гематоэнцефалический барьер и накапливается в нормальных клетках [90]. Фенилаланин является незаменимой аминокислотой, используемой клетками в процессе роста и деления, и, следовательно, увеличивает темп роста опухоли [287].

Этих недостатков лишен другой препарат на основе бора - BSH. Он имеет в своей основе другой механизм нацеливания на опухолевые клетки.

Хотя BSH не способен проникать через гематоэнцефалический барьер, но, как известно, кровеносные капилляры в опухоли могут быть частично разрушены [61] и, как следствие, BSH проникает в опухолевые ткани мозга. При этом BSH несет 12 атомов бора в отличие от BPA, который имеет 1 атом бора. Следует отметить, что BSH не имеет специальных механизмов проникновения в клетки в отличие от BPA. Как отмечает Miyatake S. и др. [90], наилучший результат при нейтрон-захватной терапии может быть достигнут при применении обоих препаратов в одной схеме лечения.

Данные, полученные Miyatake S. и др [90], показали наилучшие результаты БНЗТ при совместном использовании BSH и BPA. Миатаки предложил последовательную схему введения сначала BSH и, спустя некоторое время, - BPA. Один препарат компенсирует недостатки другого.

Несмотря на то, что в рамках работы не ставилась задача проведения расчета для BSH и комбинации BSH+BPA, при анализе результатов видно, что BPA слабо проникает в места с плохим кровоснабжением. В силу своей нейтральности к клеткам BSH будет проникать глубже в опухоль, в места с ограниченным кровоснабжением, при этом не проникая через гематоэнцефалический барьер, не будет практически накапливаться в нормальных тканях. При введении BPA после BSH, причем в меньших дозах, BPA будет провоцировать ускорение эндоцитоза, тем самым в клетках будет больше накапливаться BSH, а поскольку BSH содержит значительно больше атомов бора, то и общая концентрация бора в опухолевых клетках будет значительно больше и более равномерно распределена по опухоли, чем в случае использования одного BPA. Кроме того, так как можно использовать меньшую дозу вводимого BPA, и в нормальных клетках будет накапливаться меньше бора. Что, в свою очередь, приведет к лучшему соотношение tumor-to-normal и лучшему результату нейтрон-захватной терапии.

Очевидно, что наилучшим временем облучения является период, когда в клетках опухоли будет максимальная концентрация бора, а в нормальных клетках она будет минимальной. Как видно из графиков на

рисунке 9 и рисунке 11(1), максимум концентрации в опухоли наблюдается в интервале 9-12 часов после начала введения препарата. При этом максимум концентрации в нормальной ткани наблюдается в интервале 6-9 часов после начала введения, то есть к моменту достижения максимума концентрации в опухолевой ткани, концентрация в нормальной ткани уже начинает уменьшаться. Поэтому оптимальное время для облучения будет в интервале 9-12 часов после начала введения. Однако следует отметить, что этот период оптимального облучения определен для конкретного варианта введения и дозы препарата, а также: типа, размера и структуры опухоли. Рассматриваемый в работе вариант моделирования подразумевает индивидуальную настройку под каждый случай.

Расчеты для ВРА проводились, исходя из гипотезы о том, что основным путем поступления в клетку является эндоцитоз.

Однако позднее в Японии были проведены исследования по изучению проникновения ВРА в клетку, которые показали, что, возможно, основным путем поступления является аминокислотный трансмембранный транспорт [75]. Более поздние работы [81] возвращают исследователей к гипотезе об ускоренном процессе эндоцитоза.

Таким образом, этот вопрос не получил окончательного решения. Если кинетические характеристики ферментативных реакций, происходящих при трансмембранным транспорте, будут окончательно установлены, можно перестроить предлагаемую нами модель под новые данные на основе тех же принципов построения модели.

3.2. Результаты расчетов по «Цисплатину» и их обсуждение

Другой вариант лучевой терапии использует облучение фотонами. В этом случае не требуется вводить некий дополнительный агент, как при нейтрон-захватной терапии. Однако другие препараты, в том числе препараты химиотерапии, могут усиливать эффект от такого типа лучевой

терапии, то есть речь идет о комбинированной химио- и лучевой терапии. Одним из препаратов химиотерапии, способных усиливать эффект лучевой терапии, является «Цисплатин».

Первая рассматриваемая схема введения препарата - внутривенно 100 мг/м² в течении 8 часов [21].

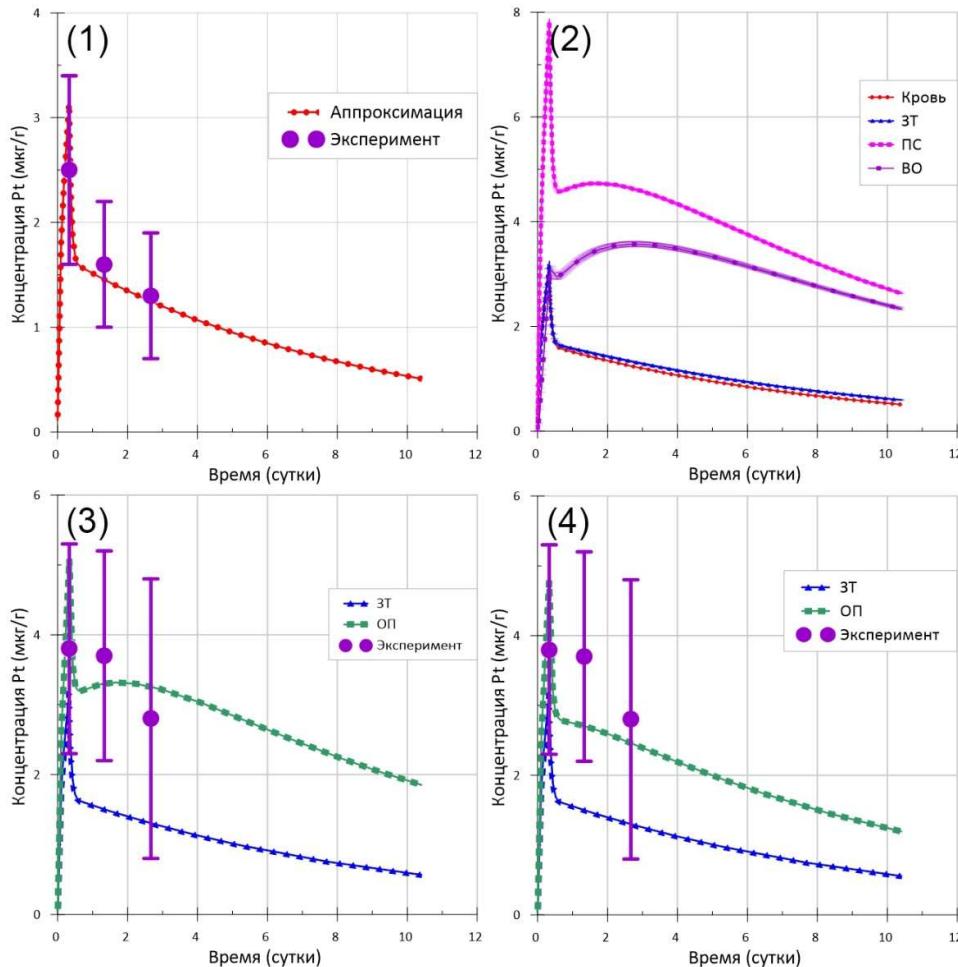


Рисунок 12 – Концентрация атомов платины (1) в крови, результат клинических наблюдений Holding J.D. и соавторов[21] и их аппроксимация,(2) средние значение в ЗТ,ПС,ВО, (3-4) средние значение в ЗТ,ОП и результаты проб биопсии Holding J.D. и соавторов[21], (3) при удельной объемной скорости эндоцитоза в 10 раз выше, чем у макрофагов, (4) при удельной объемной скорости эндоцитоза, как у макрофагов.

На рисунке 12(1) показан результаты клинических наблюдений Holding J.D. и соавторов [21] по определению концентрации платины в крови, а также аппроксимационная кривая этих результатов, которая использовалась при моделировании. На рисунке 12(3) приведен результат из

той же серии наблюдений Holding J.D. и соавторов [21] по определению концентрации платины в пробах биопсии карциномы головы и шеи. Под этот тип рака настраивалась модель. Следует отметить несколько важных моментов. Из клинических данных по крови видно, что концентрация значительно падает в первые сутки. Однако результаты, полученные исходя из данных биопсии, показывают другую динамику: за первые сутки после введения препарата концентрация в опухоли практически не меняется, уменьшение концентрации происходит только на 2-3 сутки. Такое различие в динамике изменения концентрации платины в крови и в опухоли можно объяснить лишь процессом накопления препарата в опухоли. Существует несколько механизмов накопления. Первый - накопление препарата непосредственно в межклеточном пространстве в объеме опухоли. Однако этот вариант маловероятен. С учетом результатов расчета концентрации препарата в межклеточном пространстве (см. Рисунок 13), где динамика изменения концентрации в опухоли в целом повторяет кривую концентрации атомов платины в крови. Исключением является концентрация атомов платины в ВО, где концентрация атомов платины значительно ниже, чем определено в ходе клинических наблюдений, поэтому, хотя накопление в объеме опухоли присутствует, но оно не может являться определяющим.

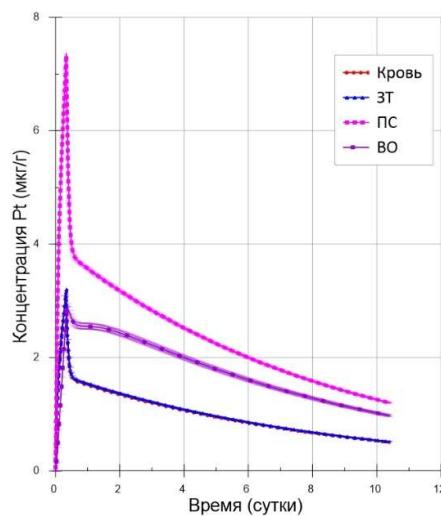


Рисунок 13 – Концентрация атомов платины в крови и межклеточном пространстве, усредненная по пространству для областей ЗТ, ПС, ВО.

Другой вариант накопления – внутриклеточный. Из всех механизмов поступления препарата внутрь клетки единственный, который имеет сопоставимые объемные скорости, - это эндоцитоз, так как проникновение через клеточную мембрану внутрь цитоплазмы происходит значительно медленнее, вне зависимости от типа транспорта.

На рисунке 12(3) изображены усредненные по пространству результаты моделирования в суммарном по всем состояниям агента виде, что необходимо для сравнения с результатами анализа проб биопсии. На рисунке 12(2) отдельно рассмотрена концентрация платины во внешнем слое опухоли и во внутренней области. Как видно из результатов моделирования, концентрация в разных местах опухоли сильно различается в течение нескольких суток, а потом концентрация по опухоли выравнивается, и скорость уменьшения концентрации препарата падает. С этим можно связать и большую погрешность при анализе проб биопсии, так как не ясно, из какой области опухоли брали биопсию, а также то, что согласно работе Holding J.D. [21], концентрация платины отличная от нуля обнаруживалась и спустя месяц после введения препарата.

На рисунках № 12(3,4) показаны результаты моделирования в пригодном для сравнения с клиническими данными виде, рассчитана усредненная концентрация платины по всему объему опухоли. Максимальной скоростью эндоцитоза из всех клеток человека обладают макрофаги [263], что определяется их функцией в организме, и именно поэтому скорость эндоцитоза остальных клеток в организме определяют относительно скорости эндоцитоза макрофагов [263]. На рисунке 12(4) приведены результаты расчета, при котором скорость эндоцитоза опухолевых клеток равна скорости эндоцитоза макрофагов. При этом очевидно, что общая картина динамики изменения концентрации атомов платины в опухоли ближе к динамике изменения концентрации в крови, чем к той, которую демонстрируют взятые пробы биопсии. Однако при увеличении удельной объемной скорости эндоцитоза для опухолевых клеток

в 10 раз по отношению к скорости эндоцитоза у макрофагов динамика изменения концентрации атомов платины в опухолевой ткани приближается к показателям, полученным в ходе клинических наблюдений. Исходя из того, что эндоцитоз является единственным процессом, подходящим по скоростным характеристикам и способным менять динамику изменения концентрации платины к виду, полученному в ходе клинических наблюдений, можно сделать вывод, что скорость эндоцитоза у опухолевых клеток приблизительно в 10 раз выше, чем у макрофагов.

На рисунке 14 приведены трехмерные результаты моделирования для платины, из которых видно, что общая концентрация (первый столбец рисунка 14) в ткани распределена по объему значительно равномернее, чем это было с ^{10}B при введении ВРА. Во втором столбце рисунка 14 показана концентрация платины внутри клеток. Видно, что и концентрация атомов платины внутри клеток тоже достаточно равномерно распределена по всей опухоли, с небольшим преобладанием в поверхностном слое. В третьем столбце рисунка 14 показано количество атомов платины, связанных с ДНК на одну клетку в привязке к пространственным координатам. Следует отметить, что данная модель является фармакокинетической, то есть не учитывает гибель клеток. Однако это упрощение позволяет утверждать, что несмотря на то, что общая концентрация платины в ткани больше вблизи поверхности опухоли, количество атомов, связавшихся с ДНК, больше во внутренней области опухоли. Для более подробного рассмотрения этого вопроса приводятся результаты на рисунке 15. Также следует отметить, что модель отражает тот факт, что существуют локальные поражения клеток и в нормальной ткани под воздействием цисплатина, что видно на приведенных графиках (см. Рисунок 14(3)).

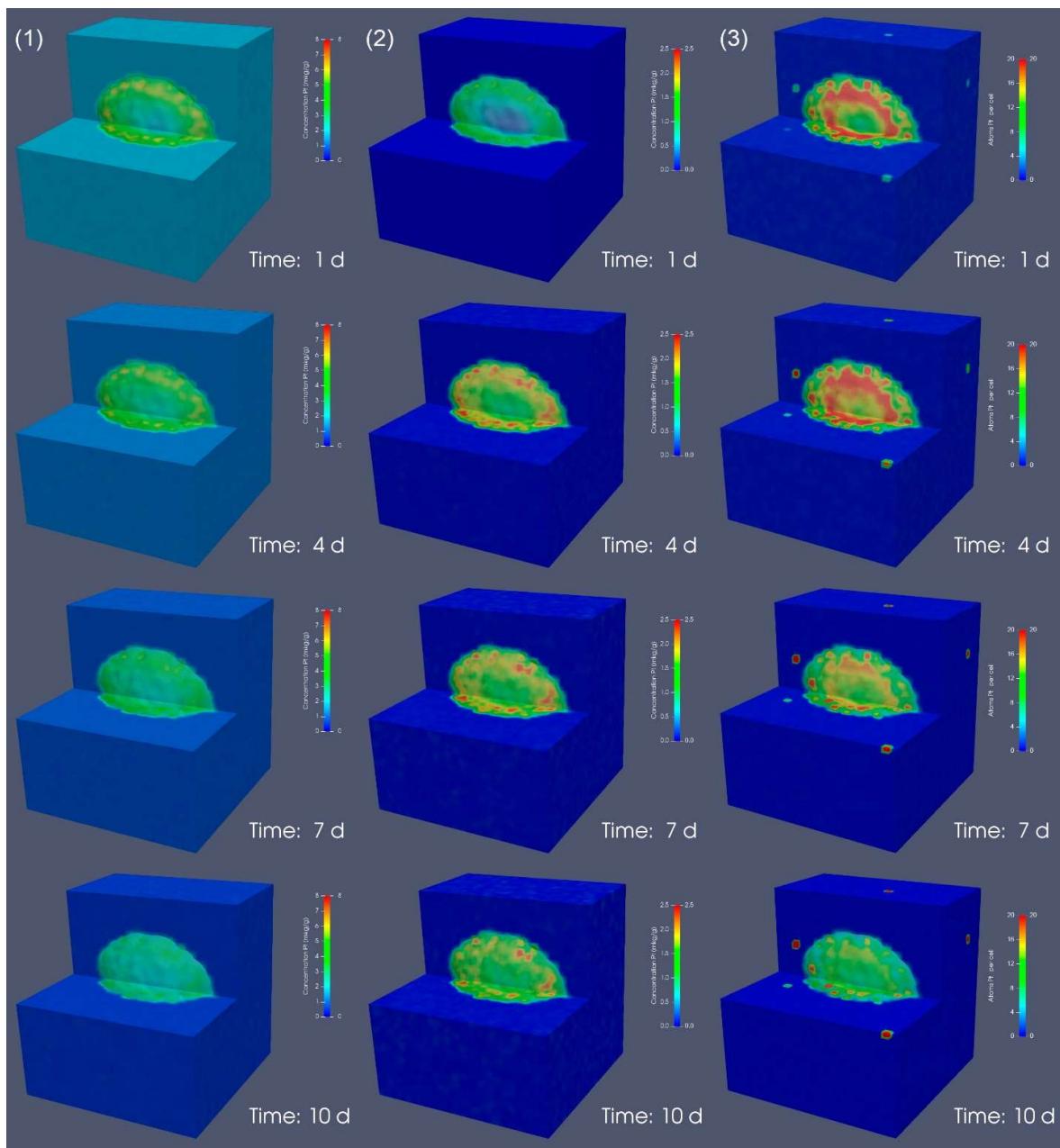


Рисунок 14 – 3D графики концентрации атомов в ткани. Для внутривенно вводимой в течение 8 часов концентрации цисплатина 100 $\text{мг}/\text{м}^2$. В первом столбце (1) общая концентрация атомов платины в ткани, во втором столбце (2) общая концентрация атомов платины в клетках, в третьем столбце (3) количество атомов платины, связанных с ДНК, в пересчете на одну клетку.

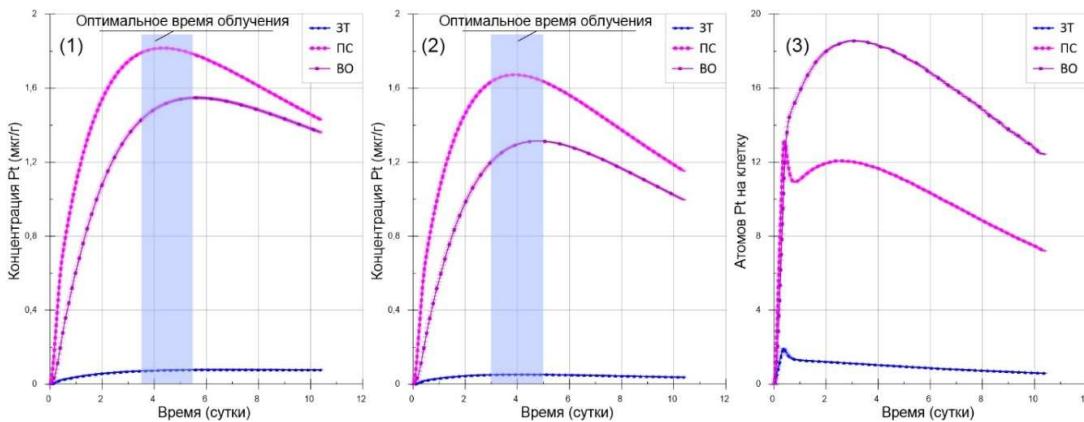


Рисунок 15 - (1) Средняя концентрация атомов платины в клетках, (2) Средняя концентрация атомов платины в эндосомах, (3) Количество атомов платины, связанных с ДНК, в пересчете на одну клетку.

На рисунке 15(1) показано оптимальное время облучения после введения цисплатина, так как, очевидно, оно должно совпадать со временем достижения максимальной концентрации платины в клетках, которое равно 3-5 суток после начала введения препарата, несмотря на то, что локальный максимум общей концентрации атомов платины в опухоли приходится на 1-2 сутки (см. Рисунок 12(3)). Следует отметить, что эта оценка справедлива только для конкретного вида рака, размера опухоли и схемы введения препарата.

Как видно из графиков на рисунках 15(1,2), основная доля платины в клетках находится в эндосомах. Часть концентрации платины, попадающая непосредственно в цитоплазму, очень мала, до ДНК доходят вообще считанные атомы (см. Рисунок 15(3)). Для эффектов химиотерапии этого достаточно, так как для достижения биологического эффекта достаточно 9 атомов платины, связавшихся с ДНК клетки [145,146]. Следует отметить, что это достаточное условие для гибели клетки, а необходимое может быть меньше.

С учетом того, что рассматривается именно фармакокинетическая модель, в которой не рассматривается гибель клеток, значимым является не абсолютное значение количества атомов, связанных с ДНК, а время наступления максимума этой кривой. Максимум достигается на 3 сутки с

начала введения препарата. То есть основное действие химиотерапии происходит в первые трое суток с начала введения препарата, далее процессы репарации ДНК начинают преобладать над воздействием препарата. В тоже время, максимум концентрации платины в эндосомах клеток достигается на 4 сутки после начала введения препарата. Воздействие излучения в этот момент времени с высокой вероятностью приведет к разрыву эндосом, что приведет значительному увеличению концентрации платины в цитоплазме и, следовательно, к новому взаимодействию атомов платины с ДНК. То есть фактически это приведет к тому, что помимо прямого воздействия излучения на клетки будет запущен вторичный процесс биологического отклика на химиотерапию по причине того, что новые атомы в значительном количестве будут связываться с ДНК.

Такой подход будет давать более значительный результат в силу того, что те клетки, которые были поражены непосредственно при химиотерапии, уже погибнут, а при воздействии излучения, помимо непосредственной гибели клеток под лучом, будет запущен новый процесс отклика на химиотерапию.

Так как курс лечения химиотерапией не ограничивается одним введением цисплатина, а включает в себя несколько введений, был проведен расчет повторного введения препарата по той же схеме, спустя неделю от первого введения (см. Рисунок 16). В общих результатах ничего неожиданного, требующего отдельного анализа, обнаружено не было.

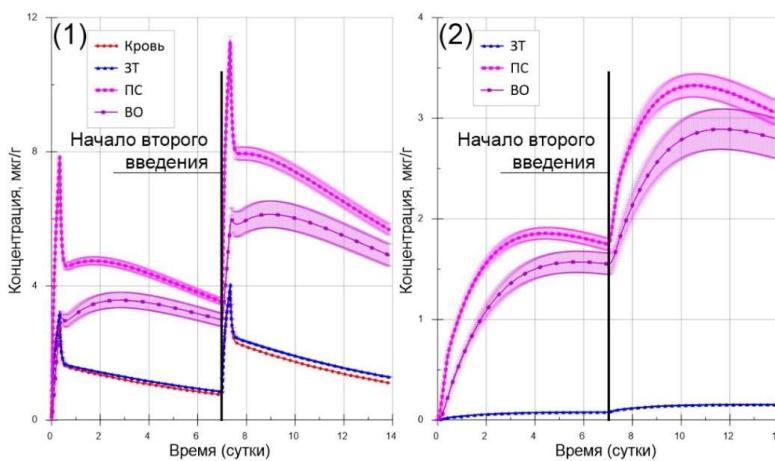


Рисунок 16 – Концентрация атомов платины для двукратного введения в крови и усредненная по области для зон ЗТ,ПС,ВО. (1) общая концентрация атомов платины (2), внутриклеточная концентрация атомов платины.

Следует отметить, что существует гипотеза о том, что платина, которая связывается с тиольными (-SH) группами в цитоплазме клетки, тем самым блокирует основных доноров протонов для нейтрализации свободных радикалов, образующихся при воздействии излучения [288]. Как показано на рисунке 17(1), концентрация тиолов в цитоплазме падает незначительно (порядка 1% от нормальной концентрации) при однократном введении цисплатина. Однако при повторном введении препарата скорость падения концентрации тиолов в клетках значительно увеличивается. Тем самым повторные введения цисплатина могут уже значительно снижать защиту от излучения путем блокировки тиольных групп в цитоплазме.

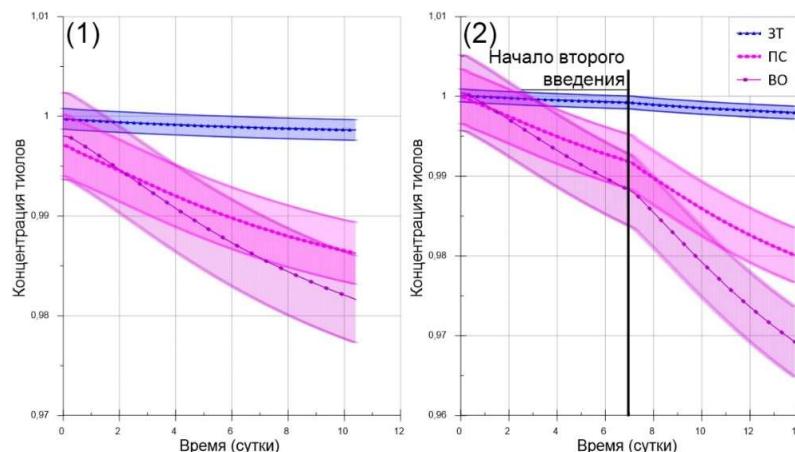


Рисунок 17 – Средняя концентрация тиолов в цитоплазме клеток нормированная на 1 (1) для однократного введения (2) для двукратного введения.

Для цисплатина применяется много различных схем введения при лечении, поэтому был проведен расчет для другой схемы введения, но с той же суммарной дозой цисплатина $100 \text{ мг}/\text{м}^2$, по $50 \text{ мг}/\text{м}^2$ в течении 6 часов, с интервалом между началом введения в 24 часа [22].

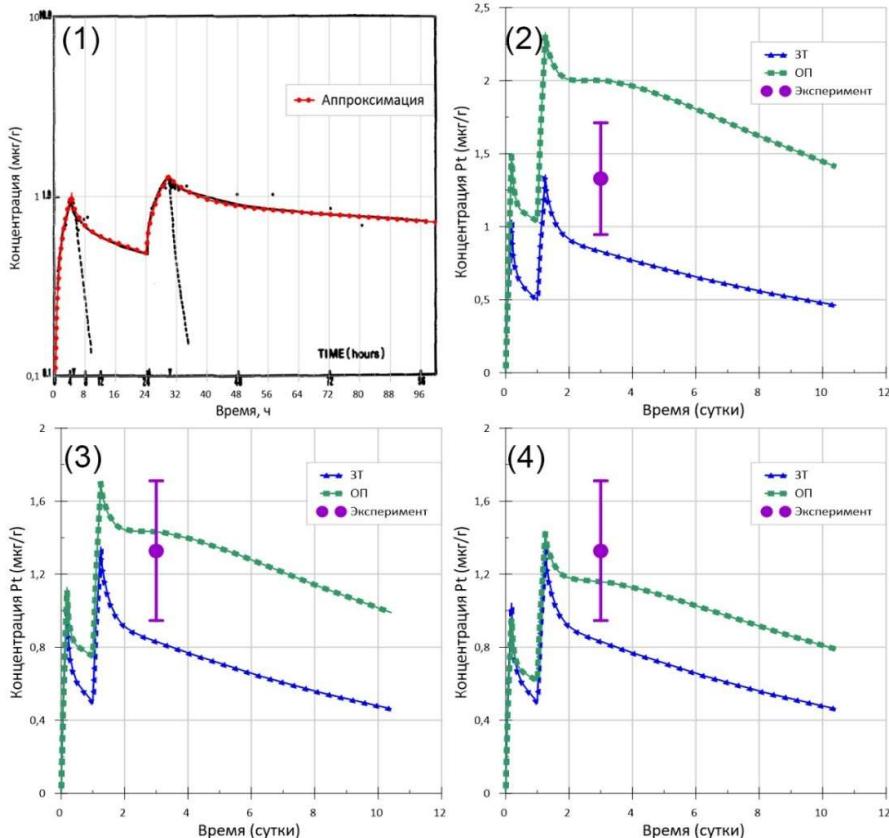


Рисунок 18 – Концентрация атомов платины (1) в крови, результаты клинических наблюдений Gouyette A. и соавторов [22] и их аппроксимация,(2-4) средние значение в ЗТ,ОП и результаты анализа проб биопсии Gouyette A. и соавторов [22], (2) результаты расчета при тех же входных параметрах, что и при предыдущих расчетах, (3) при уменьшенном в 2 раза факторе случайного распределения, отвечающего за пространственные нарушения кровеносной капиллярной сети, (4) при уменьшенном в 2 раза факторе случайного распределения, отвечающего за пространственные нарушения кровеносной капиллярной сети и лимфатических капилляров.

На рисунке 18(1) показаны результаты клинических наблюдений Gouyette A. и соавторов [22] по определению концентрации платины в крови, а также аппроксимационная кривая этих результатов, которая использовалась при моделировании. На рисунке 18(2) показаны результаты расчета при тех же входных параметрах случайных распределений, что и в предыдущих

расчетах. При этом, как видно из рисунка 18(2), результат расчета не совпадает с пробой биопсии, проведенной Gouyette A. и соавторами [22]. На рисунках 18(3,4) показаны результаты расчетов, при которых были уменьшены в 2 раза факторы случайного распределения для случайной функции, отвечающей за обмен между кровью и межклеточным пространством. При этом следует отметить, что математическое ожидание для случайного распределения одинаково во всех вариантах расчета для цисплатина, отличаются лишь факторы, отвечающие за пространственные нарушения кровеносной и лимфатической капиллярных сетей. На рисунке 18(3) уменьшен только фактор, отвечающий за кровеносные капилляры, а на рисунке 18(4) уменьшены оба фактора.

Как видно из рисунков 18(3,4), при обоих вариантах изменения случайных распределений результаты расчета совпадают с результатами биопсии, полученными Gouyette A. и соавторами [22].

Holding J.D. с соавторами в своей статье [21] рассматривает результаты разных работ, в которых анализировались пробы биопсии при карциноме головы и шеи, в том числе и работу Gouyette A. [22], при этом сообщается, что концентрация платины при одинаковой суммарной вводимой дозе очень сильно различается и находится в интервале от 0,71 до 7,9 мкг/г [21]. По мнению Holding J.D., такой большой разброс значений (на порядок) означает, что невозможно четко прогнозировать, какая концентрация будет накоплена в опухоли в зависимости от вводимой дозы, и свидетельствует о том, что подбор дозировки может быть только эмпирическим при лечении конкретного пациента.

Серия расчетов, результаты которой представлены на рисунке 18, показывает, что такой разброс концентраций у разных пациентов может объясняться пространственными нарушениями в капиллярной сети. Так как разные расчеты в рамках представленной серии получены изменением только одного или двух факторов случайного распределения для функции, отвечающей за обмен препарата с кровью, это свидетельствует о том, что у

разных пациентов существуют разные нарушения в капиллярной сети в опухоли. Следует отметить, что данные факторы случайного распределения отвечают исключительно за начальное состояние капиллярной сети в опухоли в рамках конкретной реализации случайных процессов в расчете.

Также важно то, что эта случайная функция определяется удельной объемной скоростью поступления вещества из крови в межклеточное пространство. Это означает, что при клиническом исследовании можно определить: каковы эти пространственные нарушения, и получить их количественную оценку. Так как удельная объемная скорость поступления вещества будет одинакова с учетом погрешности как для терапевтического препарата, так и для диагностического контраста. И поэтому параметры случайного распределения для данной функции могут быть определены по скорости накопления контраста в опухоли, которую можно оценить при помощи ПЭТ. Тем самым можно адаптировать расчет под конкретного пациента, и прогнозировать, какая концентрация будет накоплена при введение определённой дозы препарата для конкретного пациента, а не подбирать ее эмпирическим путем, о котором пишет Holding J.D. [21].

Результаты расчета по цисплатину показывают, что построенная для этого препарата модель (система уравнений 20) удачно сочетает в себе как данные клинических наблюдений и экспериментов *in vivo*, так и результаты экспериментов *in vitro*. Этот связано с двумя основными причинами.

Во-первых, в экспериментах *in vitro* объект изучения и условия проведения эксперимента контролируемые и не зависят от внешних или внутренних неучтенных воздействий. Такой подход позволяет добиваться хорошей повторяемости экспериментальных результатов, и делает их более достоверными. В то время как эксперименты *in vivo* позволяют рассматривать протекающие процессы с учетом внутренней самоорганизации изучаемого объекта, что, с одной стороны, дает менее надежный результат, а с другой - в результатах эксперимента учитываются те процессы самоорганизации, которые стараются исключить в экспериментах *in vitro*.

Учитывая что процессы самоорганизации живого могут влиять на изучаемый объект, получается, что сопоставление результатов, получаемых *in vivo* и *in vitro*, затруднительно, поскольку неизвестно, какой именно вклад в конечный результат вносят процессы самоорганизации изучаемого биологического объекта.

Во-вторых, большая часть математических моделей, связанных с изучением биологических систем, являются описательными. Как следствие, они замкнуты на описании конкретного эксперимента (*in vivo* или *in vitro*) или клинических данных. А существующие имитационные модели, строящиеся на базе строго определенных параметров, не могут учитывать процессы самоорганизации биологических систем.

Предложенный метод моделирования при помощи СДУ решает эти проблемы. В первую очередь, это имитационная модель, которая может учитывать процессы самоорганизации биологических систем, отражающиеся в экспериментах *in vivo*. Кроме того, метод моделирования с помощью СДУ позволяет учитывать данные, полученные в экспериментах *in vitro*. Иными словами, подход позволяет рассматривать процессы на разных масштабах и учитывать влияние таких процессов друг на друга. Тем самым предложенный метод моделирования может являться связующим звеном между результатами, полученными *in vitro* и *in vivo*, по следующей схеме: более повторяемые и достоверные результаты *in vitro* служат источником данных для описания процессов на клеточном уровне в рамках модели, а результаты моделирования уже сравниваются с результатами экспериментов *in vivo*. Тем самым решается проблема связи и сопоставления результатов, полученных в исследованиях разного уровня организации живого.

Следует отметить, что такой подход позволяет рассматривать протекающие процессы с детализацией, которая ранее не предполагалась, в том числе, и при планировании экспериментов и клинических наблюдений. Так как представленные модели являются имитационными, полученные результаты необходимо сравнить с экспериментом или клиническими

данными, но результаты уже собранных клинических наблюдений могут сравниваться с результатами расчета только путем усреднения результатов расчета или вообще косвенным путем, а иногда количественное сравнение вообще невозможно. Однако результаты расчета позволяют спланировать более детальные клинические наблюдения и эксперименты на животных, которые либо окончательно подтверждают предложенный подход, либо позволяют внести изменения в описание рассматриваемых процессов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Предложен метод математического моделирования процессов фармакокинетики радиосенсибилизирующих веществ, который обеспечивает лучшую точность определения пространственного распределения радиосенсибилизатора в опухоли по сравнению с существующими методами анализа и диагностики, и позволяет преодолеть известные недостатки традиционных моделей, использующих ДУ.

Особенностью метода является применение СДУ, позволяющее определять концентрацию препарата на уровне тканей, с учетом внутриклеточных биохимических процессов, объединяя данные полученные *in vivo* и *in vitro*. Результаты расчетов математических моделей, получаемых при применении данного метода, представляются в виде трехмерных нестационарных распределений концентрации радиосенсибилизирующих веществ.

В качестве примера применения нового метода разработаны две математические модели пространственного распределения радиосенсибилизирующего агента по тканям и клеткам опухоли.

Первая модель описывает нестационарное пространственное распределение B^{10} при в/в введении ВРА для нейтрон-захватной терапии. Полученные результаты расчета согласуются с результатами клинических наблюдений, представленными в литературе.

Второй моделью является применение разработанного метода для определения нестационарного пространственного распределения атомов платины при в/в введении химиотерапевтического препарата – «Цисплатина». Полученные результаты расчета хорошо согласуются с результатами клинических наблюдений, представленными в литературе.

Проведенные расчеты показали, что при комбинировании химиотерапии с лучевым воздействием на солидные опухоли предпочтительнее вначале вводить «Цисплатин». При этом оптимальное время начала облучения может изменяться в зависимости от схемы введения препарата, размера опухоли, ее морфологии и расположения. Предложенный метод моделирования позволяет учесть перечисленные выше факторы, и указать более точное время облучения для конкретного пациента. Результаты расчетов позволяют сделать общую рекомендацию о времени начала облучения, в среднем оно составляет от 3 до 5 суток после начала введения.

Следует отметить, что все задачи, поставленные в рамках настоящей работы, выполнены.

Разработанный метод моделирования позволяет в перспективе подойти к более глубокому изучению процессов, характерных для моделирования в рамках фармакодинамики.

В случае препаратов химиотерапии фармакокинетическая модель решает проблему лишь частично, так как неясными остаются вопросы: какая доля клеток гибнет от химиотерапии, а какая - вследствие лучевого воздействия в присутствии радиосенсибилизирующего агента, и как гибель клеток влияет на изменение фармакокинетики. Для ответа на эти вопросы необходимо построение фармакодинамической модели, которая бы учитывала гибель опухолевых клеток. Для построения такой модели необходимы три составляющих, описывающие процессы: 1) фармакокинетики, 2) роста опухоли (деление опухолевых клеток) и 3) механизмов воздействия химиотерапевтического препарата, приводящих к гибели опухолевых клеток. В данный момент сформулированная модель описывает только фармакокинетику, однако остальные две составляющие могут быть рассмотрены исключительно на клеточном уровне, так как необходимо рассмотреть противоположные процессы - образование новых клеток и их гибель, что, в принципе, можно сделать, опираясь на разработанную методологию.

Предложенный метод моделирования, можно рассматривать как инструмент для анализа существующих и разрабатываемых радиофармацевтических и химиотерапевтических препаратов.

Такой инструмент мог бы значительно упростить исследования в направлении улучшения методов доставки лекарственного агента, так как в последнее время при разработке новых препаратов на основе наночастиц [161] и вариантов триггерного нацеливания [110] оценивается не только выживаемость, токсичность, время выведения, но и глубина проникновения в опухоль. Это позволит найти оптимальные режимы совместного действия химиотерапевтического препарата и лучевой терапии.

Предложенный инструмент, в сочетании с результатами исследования ПЭТ, МРТ, КТ, при выявлении и обследовании солидной опухоли может быть настроен на конкретного пациента. Тем самым возможно персонифицировать планирование времени облучения, ориентируясь на максимумы накопления препарата в опухоли, полученные во время расчета. Результаты МРТ или КТ обеспечивают данные для построения расчетной области, а результаты ПЭТ позволяют скорректировать параметры случайных распределений, отвечающие за кровоснабжение опухолевой ткани.

Еще одним вариантом развития данной работы может быть сочетание предложенной фармакокинетической модели с моделью воздействия излучения путем рассмотрения не двух масштабов (тканевой и клеточный уровень), а трех масштабов (добавив молекулярный уровень) с целью моделирования эффекта от воздействия излучения на отдельные атомы радиосенсибилизатора, находящегося внутри клеток.

ВЫВОДЫ

В результате проделанной работы могут быть сделаны следующие выводы:

1. Разработанный метод математического моделирования на базе стохастических дифференциальных уравнений позволяет провести расчеты, результаты которых коррелируют с данными наблюдений для разных радиосенсибилизаторов (бор-10-фенилаланин, «Цисплатин»). При этом метод позволяет получить персонифицированное распределение радиосенсибилизатора на основании результатов обследования ПЭТ.
2. Предлагаемый метод математического моделирования позволяет интегрировать получаемые различными научными группами данные на различных уровнях организации живого (*in vivo, in vitro*) в единую динамическую пространственную модель.
3. Проведенные расчеты для радиосенсибилизатора - ^{10}B (бор-10-фенилаланина) показывают, что полученное пространственно-временное распределение атомов ^{10}B демонстрирует детальную динамику накопления и выведения радиосенсибилизатора в изучаемом объеме, максимум концентрации достигается спустя 8-12 часов после начала введения препарата, в зависимости от схемы введения препарата.
4. Для химиотерапевтического препарата («Цисплатин») результаты расчетов показывают, что полученное пространственно-временное распределение демонстрирует детальную динамику накопления и выведения радиосенсибилизатора в изучаемом объеме с учетом различных внутриклеточных состояний платины.

5. Результаты расчетов показывают, что при комбинировании химиотерапии с лучевым воздействием на солидные опухоли предпочтительнее вначале вводить «Цисплатин», при этом оптимальное время начала облучения составляет от 3 до 5 суток после начала введения препарата, в зависимости от схемы введения препарата.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Злокачественные новообразования в России в 2021 году (заболеваемость и смертность) / под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, А.О. Шахзадовой; М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, – 2022. – илл. – 252 с. ISBN 978-5-85502-280-3
- 2 Злокачественные новообразования в России в 2022 году (заболеваемость и смертность) / под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, А.О. Шахзадовой, И.В. Лисичниковой; М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, – 2023. илл. – 275 с. ISBN 978-5-85502-290-2
- 3 Злокачественные новообразования в России в 2023 году (заболеваемость и смертность) / под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, А.О. Шахзадовой; М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, – 2024. – илл. – 276 с. ISBN 978-5-85502-298-8
- 4 Cancer statistics 2023 / Siegel R.L., Miller K.D., Wagle N.S., Jemal A.; CA Cancer J Clin. 2023 Jan;73(1):17-48.
- 5 Martin O.A. Cancer Radiotherapy: Understanding the Price of Tumor Eradication. / Martin O.A., Martin R.F.; Front Cell Dev Biol. 2020 Apr 24;8:261. doi: 10.3389/fcell.2020.00261
- 6 Cancer treatment and survivorship statistics, 2016. / Miller K.D., Siegel R.L., Lin C.C., et al; CA Cancer J. Clin. 66 (2016) 271–289.
- 7 Characterization and adequacy of the use of radiotherapy and its trend in time. / Palacios Eito A., Cabezas S.G., Ugalde P.F. et al; Radiother. Oncol. 106 (2013) 260–265.
- 8 Анализ состояния и концепция модернизации радиационной онкологии, ядерной медицины и медицинской физики в России (Краткое изложение) / Давыдов М.И., Голанов А.В., Канаев С.В. и др; Радиационная онкология и ядерная медицина 1 (2013) с.5-17
- 9 Дворниченко В.В. Состояние и перспективы развития ядерной медицины и лучевой терапии на современном этапе. / Дворниченко В.В., Галченко Л.И.; Сибирский медицинский журнал (Иркутск), 2018, № 4 с.61-67
- 10 The role of radiotherapy in cancer treatment. / Delaney G., Jacob S., Featherstone C., Barton M.; Cancer. 104 (2005) 1129–1137.
- 11 Barcellos-Hoff M.H. Radiation and the microenvironment – tumorigenesis and therapy. / Barcellos-Hoff M.H., Park C., Wright E.G.; Nat. Rev. Cancer 5 (2005) 867–875.
- 12 Van Dyk J. The Modern Technology of Radiation Oncology, Vol 4: A Compendium for Medical Physicists and Radiation Oncologists / Van Dyk J.; Medical Physics Pub Corp. 2020, p 522.

- 13 Connell P.P. Advances in radiotherapy and implications for the next century: a historical perspective. / Connell P.P., Hellman S.; Cancer Research, 2009, v. 69, no. 2, pp. 383-392
- 14 Lehnert S. Radiosensitizers and radiochemotherapy in the treatment of cancer. / Lehnert S.; CRC Press, Taylor and Francis Group, 2015, -548 p.
- 15 Melatonin as an adjuvant in radiotherapy for radioprotection and radiosensitization. / Farhood B., Goradel N.H., Mortezaee K. et al; Clin Transl Oncol. 2019 Mar;21(3):268-279. doi: 10.1007/s12094-018-1934-0. Epub 2018 Aug 22. PMID: 30136132.
- 16 Application of Radiosensitizers in Cancer Radiotherapy. / Gong L., Zhang Y., Liu C. et al; Int J Nanomedicine. 2021 Feb 12;16:1083-1102. doi: 10.2147/IJN.S290438. PMID: 33603370; PMCID: PMC7886779
- 17 Таскаев С.Ю. Бор-нейтронозахватная терапия / С.Ю. Таскаев, Б.В. Каныгин.; Новосибирск: Издательство СО РАН, 2016. 216 с.
- 18 Radiosensitising nanoparticles as novel cancer therapeutics-pipe dream or realistic prospect / Coulter J.A., Hyland W.B., Nicol J., Currell F.J.; Clin Oncol (R Coll Radiol), 25 (2013) 593-603. 10.1016/j.clon.2013.06.011.
- 19 Biodistribution of p-boronophenylalanine (BPA) in patients with glioblastoma multiforme for use in boron neutron capture therapy / Elowitz E., Bergland R., Coderre J. et al; Neurosurgery. - 1998. - V. 42. - P. 463-469.
- 20 Biodistribution of boronophenylalanine in patients with glioblastoma multiforme: boron concentration correlates with tumor cellularity / Coderre J.A., Chanana A.D., Joel D.D. et al; Radiat. Res. - 1998. - V. 149. - P. 163-170.
- 21 Disposition and tumour concentrations of platinum in hypoalbuminaemic patients after treatment with cisplatin for cancer of the head and neck / Holding J.D., Lindup W.E., Bowdler D.A. et al; Br.J.Clin. Pharmac.-1991, v. 32, p. 173-179
- 22 Pharmacokinetics of Intra-arterial and Intravenous Cisplatin in Head and Neck Cancer Patients / Gouyette A., Apchin A., Foka M., Richards J.-M.; Eur J Cancer Clin Oncol. 1986 Mar; 22(3):257-63.
- 23 Fukumitsu N. Development of an Imaging Technique for Boron Neutron Capture Therapy / Fukumitsu N., Matsumoto Y.; Cells 2021, 10, 2135.
- 24 Kim M.J. Current advances in mathematical modeling of anti-cancer drug penetration into tumor tissues. / Kim M.J., Gillies R.J., Rejniak K.A.; Front Oncol (2013) 3:278.
- 25 Importance of Drug Pharmacokinetics at the Site of Action. / Rizk M.L., Zou L., Savic R.M., Dooley K.E.; Clinical and translational science, (2017) 10(3), 133-142
- 26 Williams K.S. Additive Damage Models for Cellular Pharmacodynamics of Radiation-Chemotherapy Combinations. / Williams K.S., Secomb T.W., El-Kareh A.W.; Bulletin of mathematical biology, 2018, Volume 80, Issue 5, pp 1236–1258
- 27 Estimation of neutron kerma in biological tissue containing boron and gadolinium compounds for neutron capture therapy / Sheino I., Khokhlov V.,

- Kulakov V., Zaitsev K.; Proc. Intern. Symp. on Boron Neutron Capture Therapy, July 7-9, 2004/ ed. S. Taskaev. - Novosibirsk, Russia, 2004. - P 99-110.
- 28 Barth R. F. Current status of Boron neutron capture therapy for high grade gliomas and recurrent head and neck cancer. / Barth R. F., Vicente M.G., Harling O.K. et al; Radiation Oncology 7, 146, <https://doi.org/10.1186/1748-717X-7-146> (2012).
- 29 Boron neutron capture therapy in the treatment of locally recurred head-and-neck cancer: final analysis of a Phase I/II trial. / Kankaanranta L., Seppala T., Koivunoro H. et al.; Int. Jour.of Rad. Onc. Biol. Phys. 82, e67–e75 (2012).
- 30 Nuclear Physics European Collaboration Committee (NuPECC), Nuclear Physics for Medicine, NuPECC Report, *European Science Foundation* (2014)
- 31 Bragg W. On the α -particles of radium and their loss of range in passing through various atoms and molecules. / Bragg W., Kleemann R.; *Phil. Mag.* 10, 318–340 (1905).
- 32 Tommasino F. Proton radiobiology. / Tommasino F., Durante M.; Cancers 2015.- 12, 7353–7381.
- 33 Proton beams in cancer treatments: Clinical outcomes and dosimetric comparisons with photon therapy. / Doyen J., Falk A.T., Floquet V. et al; Cancer Treat. Rev. 43, 104–112 (2016).
- 34 Hall E. J. Intensity-modulated radiation therapy, protons, and the risk of second cancers. / Hall E. J.; Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 65, 1–7 (2006).
- 35 Kraft G. The radiobiological and physical basis of radiotherapy with protons and heavier ions. / Kraft G.; Strahlenther. Onkol. 166, 10–13 (1990).
- 36 Schulz-Ertner D. Particle radiation therapy using proton and heavier ion beams. / Schulz-Ertner D., Tsujii H.; J. Clin. Oncol. 25, 953–964 (2007).
- 37 Uhl M. Comparing the use of protons and carbon ions for treatment. / Uhl M., Herfarth K., Debus J.; Cancer J. 20, 433–439 (2014).
- 38 Amaldi U. Radiotherapy with beams of carbon ions. / Amaldi U., Kraft G.; Rep. Prog. Phys. 68, 1861–1882 (2005).
- 39 Relative biological effectiveness for cell-killing effect on various human cell lines irradiated with heavy-ion medical accelerator in Chiba (HIMAC) carbon-ion beams. / Suzuki M., Kase Y., Yamaguchi H. et al; Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 48, 241–250 (2000).
- 40 In vivo radiobiological assessment of the new clinical carbon ion beam at CNAO. / Facoetti A., Vischioni B., Ciocca M. et al; Radiat. Prot. Dosim. 166, 379–382 (2015).
- 41 Enhancement of cell radiation sensitivity by pegylated gold nanoparticles. / Liu C.-J., Wang C.-H., Chen S.-T. et al; Phys. Med. Biol.- 2010.- 55:931–945. doi: 10.1088/0031-9155/55/4/002
- 42 Enhanced relative biological effectiveness of proton radiotherapy in tumor cells with internalized gold nanoparticles. / Polf J.C., Bronk L.F., Driessens W.H.P. et al; Appl. Phys. Lett. 2011.- 98: 1937-02. doi: 10.1063/1.3589914.

- 43 LET-dependent radiosensitization effects of gold nanoparticles for proton irradiation. / Li S., Penninckx S., Karmani L. et al; Nanotechnology. 2016.- 27 doi: 10.1088/0957-4484/27/45/455101.
- 44 Therapeutic application of metallic nanoparticles combined with particle-induced x-ray emission effect. / Kim J.-K., Seo S.-J., Kim K.-H. et al; Nanotechnology. 2010.- 21 doi: 10.1088/0957-4484/21/42/425102.
- 45 Enhanced proton treatment in mouse tumors through proton irradiated nanoradiator effects on metallic nanoparticles. / Kim J.-K., Seo S.-J., Kim H.-T. et al; Phys. Med. Biol. - 2012.- 57:8309–8323. doi: 10.1088/0031-9155/57/24/8309.
- 46 Metal-based NanoEnhancers for Future Radiotherapy: Radiosensitizing and Synergistic Effects on Tumor Cells. / Liu Y., Zhang P., Li F. et al; Theranostics, 2018, 8(7), 1824-1849. doi:10.7150/thno.22172
- 47 Gold nanoparticles, radiations and the immune system: Current insights into the physical mechanisms and the biological interactions of this new alliance towards cancer therapy. / Dimitriou N.M., Tselenis G., Balanikas E.C. et al; Pharmacol Therapeut. 2017; 178:1–17.
- 48 First experimental proof of Proton Boron Capture Therapy (PBCT) to enhance protontherapy effectiveness / Cirrone G.A.P., Manti L., Margarone D. et al; Scientific Reports.- 2018.- 8:1141 doi: 10.1038/s41598-018-19258-5 1
- 49 Способ фотон-захватной терапии опухолей. / Хохлов В.Ф., Кулаков В.Н., Шейно И.Н. и др; Патент РФ № 2270045 от 20.02.2006 г., Заявка № 2004119095 приоритет от 24.06.2004 г.
- 50 Lehnert S. Radiosensitizers and radiochemotherapy in the treatment of cancer. / Lehnert S.; CRC Press, Taylor and Francis Group, Boca Raton, FL, USA, 2015, 515 pages. ISBN 978-1-4398-2902-8
- 51 Biological consequences of nanoscale energy deposition near irradiated heavy atom nanoparticles. / McMahon S.J., Hyland W.B., Muir M.F. et al; Scientific Reports 1, Article number: 18 (2011), doi:10.1038/srep00018.
- 52 Physical basis and biological mechanisms of gold nanoparticle radiosensitization. / Butterworth K.T., McMahon S.J., Currell F.J., Prise K.M.; Nanoscale, 2012, 4, 4830-4838.
- 53 Impact of beam quality on megavoltage radiotherapy treatment techniques utilizing gold nanoparticles for dose enhancement. / Tsiamas P., Liu B., Cifter F. et al; Phys. Med. Biol. 58 (2013) 451–464. doi:10.1088/0031-9155/58/3/451.
- 54 Kwatra D. Nanoparticles in radiation therapy: a summary of various approaches to enhance radiosensitization in cancer. / Kwatra D., Venugopal A., Anant S; Translational Cancer Research, 2 (2013) 330-342.
- 55 Шейно И.Н. Обоснование принципа фотон-захватной терапии злокачественных новообразований. / Шейно И.Н., Ижевский П.В., Липенгольц А.А.; Саратовский научно-медицинский журнал. 2013.- 9(4), С. 878-881.

- 56 Sheino I.N. Development of the Binary Technologies for Radiation Therapy of Malignant Tumors. Current State and Problems. / Sheino I.N., Khokhlov V.F., Izhevskiy P.V.; Advanced Materials Research Vol. 1084 (2015) pp 369-372.
- 57 Кулиев С.И. Радиобиология. Учебно-методический комплекс. / Кулиев С.И., Радевич А.Г.; Изд-во УО ВГУ им. П.М. Машерова, 2006. – С. 83-88.
- 58 Durante M. New challenges in high-energy particle radiobiology. / Durante M.; Br. J. Radiol. 87, 20130626 (2014).
- 59 Current status of boron neutron capture therapy of high grade gliomas and recurrent head and neck cancer / Barth R., Grace M., Vicente H. et al; Rad. Oncolgy. 2012. V.7.-P.146
- 60 Fang J. The EPR effect: Unique features of tumor blood vessels for drug delivery, factors involved, and limitations and augmentation of the effect / Fang J., Nakamura H., Maeda H.; Adv. Drug. Deliv. Rev. - 2011. - V. 63, N 3. - P. 136-151.
- 61 Tumor-specific delivery of BSH-3R for boron neutron capture therapy and positron emission tomography imaging in a mouse brain tumor model / Iguchia Y., Michiuea H., Kitamatsub M. et al; Biomaterials V 56, 2015, p 10-17
- 62 Pharmacokinetics of $\text{Na}_2\text{B}_{12}\text{H}_{11}\text{SH}$ (BSH) in patients with malignant brain tumours as a prerequisite for a phase I clinical trial of boron neutron capture / Gabel D., Preusse D., Haritz D. et al; Acta Neurochir. - 1997. - V. 139. - P. 606-612.
- 63 Tissue uptake of BSH in patients with glioblastoma in the EORTC 11961 phase I BNCT trial / Hideghety K., Sauerwein W., Wittig A. et al; J. Neuro-Oncol.- 2003. - V. 62. - P. 145-156.
- 64 Pharmacokinetics of sodium borocaptate: a critical assessment of dosing paradigms for boron neutron capture therapy / Gibson C., Staubus A., Barth R. et al; J. Neuro-Oncol.- 2003. - V. 62, N 1-2. - P. 157-169.
- 65 Boron neutron capture therapy of brain tumors: biodistribution, pharmacokinetics, and radiation dosimetry sodium borocaptate in patients with gliomas / Goodman J., Yang W., Barth R. et al; Neurosurgery. - 2000. - V. 47. - P. 608-621.
- 66 Boron neutron capture therapy of a rat glioma / Clendenon N., Barth R., Gordon W. et al; Neurosurgery. - 1990. - V. 26. - P. 47-55.
- 67 Subcellular boron-10 localization in glioblastoma for boron neutron capture therapy with $\text{Na}_2\text{B}_{12}\text{H}_{11}\text{SH}$ / Haselsberger K., Radner H., Gossler W. et al; J. Neurosurg. - 1994. - V. 81. - P. 741-744.
- 68 Sodium mercaptoundecahydro-closo-dodecaborate (BSH), a boron carrier that merits more attention / Wittig A., Stecher-Rasmussen F., Hilger R. et al; Appl. Radiat. Isot. - 2011. - V. 69, N 12. - P. 1760-1764.
- 69 Biodistribution of ^{10}B for Boron Neutron Capture Therapy (BNCT) in a Mouse Model after Injection of Sodium Mercaptoundecahydro-closo-

- dodecaborate and L-para-Boronophenylalanin / Wittig A., Huiskamp R., Moss R.L. et al; Radiat. Res. - 2009. - V. 172. - P. 493-499
- 70 Experimental boron neutron capture therapy for melanoma: systemic delivery of boron to melanotic and amelanotic melanoma / Coderre J., Glass J., Packer S. et al; Pigment Cell Res. - 1990. - V. 3. - P. 310-318
- 71 Selective delivery of boron by the melanin precursor analogue p-boronophenylalanine to tumors other than melanoma / Coderre J., Glass J., Fairchild R. et al; Cancer Res. - 1990. - V. 50. - P. 138-141
- 72 Biodistribution and pharmacokinetics of p boronophenylalanine in C57BL/6 mice with GL261 intracerebral tumors, and survival following neutron capture therapy / Solares G., Zamenhof R., Saris S. et al; Progress in neutron capture therapy for cancer. - N.Y.; London: Plenum Press, 1992. - P. 475-478.
- 73 Boron neutron capture therapy of cancer: current status and future prospects / Barth R., Coderre J., Vicente M., Blue T.; Clin. Cancer. Res. - 2005. - V. 11, N 11. - P. 3987-4002.
- 74 Selective uptake of p-boronophenylalanine by undifferentiated thyroid carcinoma for boron neutron capture therapy / Dagrosa M., Viaggi M., Kreimann E. et al; Thyroid. - 2002. - V. 12, N 1. - P. 7-12.
- 75 Boronophenylalanine, a boron delivery agent for boron neutron capture therapy, is transported by ATB^{0,+}, LAT1 and LAT2 / Wongthai P., Hagiwara K., Miyoshi Y. et al; Cancer Sci 106 (2015) 279–286
- 76 Enhanced delivery of boronophenylalanine for neutron capture therapy of brain tumors using the bradykinin analog cereport (receptor-mediated permeabilizer-7) / Barth R., Yang W., Bartus R. et al; Neurosurgery (Baltimore). - 1999. - V. 44. - P. 351-359
- 77 L-DOPA Preloading increases the uptake of borophenylalanine in C6 glioma rat model: A new strategy to improve BNCT efficacy / Capuani S., Gili T., Bozzali M. et al; Intern. Journ. Rad. Oncol. Biol., Phys. -2008- V. 72, Iss. 2. - P. 562-567.
- 78 L-phenyl-alanine preloading reduces the ¹⁰B(n, α)⁷Li dose to the normal brain by inhibiting the uptake of boronophenylalanine in boron neutron capture therapy for brain tumours / Watanabe T., Tanaka H., Fukutani S. et al; Cancer Lett. - 2016. - V. 370. - P. 27-32.
- 79 Синтез и фармакокинетика меченного йодом-131 аниона - [B₁₂H₁₀(I)SH]₂ / Ядровская В.А., Ульяненко С.Е., Савина Е.П. и др; Хим.- фармацевт. журн. - 2001. - Т. 35, № 8. - С. 6-7.
- 80 Uptake of a boronated epidermal growth factor-dextran conjugate in CHO xenografts with and without human EGF-receptor expression / Olsson P., Gedda L., Goike H. et al; Anticancer Drug. Des. - 1998. - V. 13. - P. 279-289.
- 81 Antibody-Based Receptor Targeting Using an Fc-Binding Peptide-Dodecaborate Conjugate and Macropinocytosis Induction for Boron Neutron Capture Therapy / Nakase I., Aoki A., Sakai Y. et al; ACS Omega 2020 5 (36), 22731-22738 DOI: 10.1021/acsomega.0c01377

- 82 Formulation and characterization of vesicular drug delivery system for anti-HIV drug / Doijad R., Bhambere D., Manvi F., Deshmukh N.; J. Global Pharma Technol. -2008. - V. 1, N 1. - P. 94-100.
- 83 Maurer N. Developments in liposomal drug delivery systems / Maurer N., Fenske D., Cullis P.; Expert Opin. Biol. Ther. - 2001. - V. 1, N 5. - P. 1-25.
- 84 Boron neutron capture therapy of brain tumors: enhanced survival following intracarotid injection of either sodium borocaptate or boronophenylalanine with or without blood-brain barrier disruption / Barth R., Yang W., Rotaru J. et al; Cancer Res. - 1997. - V. 57, N 15. - P. 1129-1136
- 85 Permeability of the blood-brain barrier to arhenic carborane / Hawkins P., Jelliss P., Nonaka N. et al; J. Pharmacol. Exp. Ther. - 2009. - V. 329, N 2. - P. 608-614
- 86 Dodecaborate lipid liposomes as new vehicles for boron delivery system of neutron capture therapy / Ueno M., Ban H., Nakai K. et al; Bioorg. Med. Chem. - 2010. - V. 18, N 9. - P. 3059-3065.
- 87 Boron-containing folate receptor-targeted liposomes as potential delivery agents for neutron capture therapy / Pan X., Wang H., Shukla S. et al; Bioconjug. Chem. - 2002. - V. 13, N 3. - P. 435-442.
- 88 Synthesis of cetuximab-immunoliposomes via a cholesterol-based membrane anchor for targeting of EGFR / Pan X., Wang H., Shukla S. et al; Bioconjug. Chem. - 2007. - V. 18, N 1. - P. 101-108.
- 89 Effect of time period after boric acid injection on 10B absorption in different regions of adult male rat's brain / Khojasteh N., Pazirandeh A., Jameie B., Goodarzi S.; Appl. Radiat. Isot. - 2012. - V. 70. - P. 1010-1013.
- 90 Modified boron neutron capture therapy for malignant gliomas performed using epithermal neutron and two boron compounds with different accumulation mechanisms: an efficacy study based on findings on neuroimages./ Miyatake S., Kawabata S., Kajimoto Y. et al; J Neurosurg 2005.-103.- p.1000–1009
- 91 Pottier A. Metals as radio-enhancers in oncology: The industry perspective. / Pottier A., Borghi E., Levy L.; Biochem Biophys Res Co. 2015; 468: 471-5.
- 92 Metal-based NanoEnhancers for Future Radiotherapy: Radiosensitizing and Synergistic Effects on Tumor Cells / Yan L., Pengcheng Z., Feifei L. et al; Theranostics 2018; 8(7): 1824-1849. doi: 10.7150/thno.22172
- 93 Baban D.F. Control of tumour vascular permeability / Baban D.F., Seymour L.W.; Adv. Drug Delivery Rev. 34(1), 109 (1998).
- 94 Thakor A.S. Nanooncology: The future of cancer diagnosis and therapy / Thakor A.S., Gambhir S.S.; CA Cancer J. Clin. 63(6), 395 (2013).
- 95 Matsumura Y. A new concept for macromolecular therapeutics in cancer chemotherapy: Mechanism of tumorotropic accumulation of proteins and the antitumor agent smancs / Matsumura Y., Maeda H.; Cancer Res. 46(12 Pt 1), 6387 (1986)
- 96 Jain. R.K. Delivery of molecular and cellular medicine to solid tumors / Jain. R.K.; Adv. Drug Delivery Rev. 64(Suppl), 353 (2012).

- 97 Tumor vascular permeability and the EPR effect in macromolecular therapeutics: A review / Maeda H., Wu J., Sawa T. et al; *J. Controlled Release* 65(1-2), 271 (2000).
- 98 Subiel A. Standards and methodologies for characterizing radiobiological impact of high-Z nanoparticles. / Subiel A., Ashmore R., Schettino G.; *Theranostics*. 2016; 6: 1651-71.
- 99 Zhao J. Synthetic nanoparticles for delivery of radioisotopes and radiosensitizers in cancer therapy. / Zhao J., Zhou M., Li C.; *Cancer Nanotechnol*. 2016; 7: 9.
- 100 Size-tuning ionization to optimize gold nanoparticles for simultaneous enhanced CT imaging and radiotherapy. / Dou Y., Guo Y., Li X. et al; *ACS Nano*. 2016; 10: 2536-48.
- 101 Shape-Dependent Radiosensitization Effect of Gold Nanostructures in Cancer Radiotherapy: Comparison of Gold Nanoparticles, Nanospikes, and Nanorods. / Ma N., Wu F-G, Zhang X. et al; *ACS Appl Mater Interfaces*. 2017; 9: 13037-48.
- 102 Hainfeld J. F. The use of gold nanoparticles to enhance radiotherapy in mice. / Hainfeld J. F., Slatkin D.N., Smilowitz H. M.; *Phys. Med. Biol.* 2004 49, N309–N315
- 103 Cho S.H. The dosimetric feasibility of gold nanoparticle-aided radiation therapy (GNRT) via brachytherapy using low-energy gamma-/x-ray sources. / Cho S.H., Jones B.L., Krishnan S.; *Phys. Med. Biol.* 2009 54, 4889–4905
- 104 Irradiation stability and cytotoxicity of gold nanoparticles for radiotherapy. / Zhang X. D., Guo M. L., Wu H. Y. et al; *Int. J. Nanomedicine* 2009 4, 165–173.
- 105 Van den Heuvel F. Beam energy considerations for gold nano-particle enhanced radiation treatment. / Van den Heuvel F., Locquet J. P., Nuyts S.; *Phys. Med. Biol.* 2010 55, 4509–4520.
- 106 Cooper D.R. Gold nanoparticles and their alternatives for radiation therapy enhancement / Cooper D.R., Bekah D., Nadeau J.L.; *Front Chem*. 2014; 2: 86.
- 107 Enhancement of radiation cytotoxicity in breast-cancer cells by localized attachment of gold nanoparticles. / Kong T., Zeng J., Wang X.P. et al; *Small* 2008 4, 1537–1543.
- 108 Smart gold nanoparticles enhance killing effect on cancer cells. / Song K., Xu P., Meng Y.D. et al; *Int. J. Oncol.* 2013 42, 597–608.
- 109 The role of recent nanotechnology in enhancing the efficacy of radiation therapy / Bergs J.W., Wacker M.G., Hehlgans S. et al; *BBA - Reviews on Cancer* (2015), doi: 10.1016/j.bbcan.2015.06.008
- 110 Martinelli C. Nanostructured carriers as innovative tools for cancer diagnosis and therapy. / Martinelli C., Pucci C., Ciofani G.; *APL Bioengineering* 3, 011502 (2019)
- 111 Upreti M. Tumor microenvironment and nanotherapeutics/ Upreti M., Jyoti A., Sethi P.; *Transl. Cancer Res.* 2(4), 309 (2013).

- 112 Lymphatic drug delivery using engineered liposomes and solid lipid nanoparticles. / Cai S., Yang Q., Bagby T. R., Forrest M. L.; *Adv. Drug Delivery Rev.* 63(10-11), 901 (2011).
- 113 Barua S. Challenges associated with penetration of nanoparticles across cell and tissue barriers: A review of current status and future prospects / Barua S., Mitragotri S.; *Nano Today* 9(2), 223 (2014).
- 114 Targeting receptor-mediated endocytic pathways with nanoparticles: Rationale and advances / Xu S., Olenyuk B. Z., Okamoto C. T., Hamm-Alvarez S. F.; *Adv. Drug Delivery Rev.* 65(1), 121 (2013).
- 115 Hymel D. Synthetic cell surface receptors for delivery of therapeutics and probes / Hymel D., Peterson B.R.; *Adv. Drug Delivery Rev.* 64(9), 797 (2012).
- 116 Hillaireau H. Nanocarriers entry into the cell: Relevance to drug delivery / Hillaireau H., Couvreur P.; *Cell. Mol. Life Sci.* 66(17), 2873 (2009).
- 117 Vacha R. Receptor-mediated endocytosis of nanoparticles of various shapes / Vacha R., Martinez-Veracoechea F. J., Frenkel D.; *Nano Lett.* 11(12), 5391 (2011).
- 118 Perfezou M. Cancer detection using nanoparticle-based sensors / Perfezou M., Turner A., Merkoci A.; *Chem. Soc. Rev.* 41(7), 2606 (2012).
- 119 Folate receptor a expression and significance in endometrioid endometrium carcinoma and endometrial hyperplasia. / Senol S., Ceyran A. B., Aydin A. et al; *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 8(5), 5633 (2015).
- 120 Design of folic acid-conjugated nanoparticles for drug targeting. / Stella B., Arpicco S., Peracchia M.T. et al; *J. Pharm. Sci.* 89(11), 1452 (2000).
- 121 Folic acid functionalized nanoparticles for enhanced oral drug delivery. / Roger E., Kalscheuer S., Kirtane A. et al; *Mol. Pharm.* 9(7), 2103 (2012).
- 122 In vitro selection of nucleic acid aptamers that bind proteins. / Conrad R.C., Giver L., Tian Y., Ellington A. D.; *Methods Enzymol.* 267, 336 (1996).
- 123 Lakhin A.V. Aptamers: Problems, solutions and prospects. / Lakhin A.V., Tarantul V.Z., Gening L.V.; *Acta Nat.* 5(4), 34 (2013).
- 124 Bouchard P.R. Discovery and development of therapeutic aptamers. / Bouchard P.R., Hutabarat R.M., Thompson K.M.; *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 50, 237 (2010).
- 125 Jhaveri A. Stimuli-sensitive nanopreparations for combination cancer therapy. / Jhaveri A., Deshpande P., Torchilin V.; *J. Controlled Release* 190, 352 (2014).
- 126 Obata Y. Evaluation of pH-responsive liposomes containing amino acid-based zwitterionic lipids for improving intracellular drug delivery in vitro and in vivo. / Obata Y., Tajima S., Takeoka S.; *J Controlled Release* 142(2), 267 (2010).
- 127 Tannock I. F. Acid pH in tumors and its potential for therapeutic exploitation. / Tannock I. F., Rotin D.; *Cancer Res.* 49(16), 4373 (1989).
- 128 Redox-responsive nanoparticles from the single disulfide bond-bridged block copolymer as drug carriers for overcoming multidrug resistance in cancer

- cells. / Wang Y. C., Wang F., Sun T. M., Wang J.; Bioconjugate Chem. 22(10), 1939 (2011).
- 129 Torchilin V. Multifunctional and stimuli-sensitive pharmaceutical nanocarriers. / Torchilin V.; Eur. J. Pharm. Biopharm. 71(3), 431 (2009).
- 130 A new temperature-sensitive liposome for use with mild hyperthermia: Characterization and testing in a human tumor xenograft model. / Needham D., Anyarambhatla G., Kong G., Dewhirst M. W.; Cancer Res. 60(5), 1197 (2000).
- 131 Dicheva B. M. Targeted thermosensitive liposomes: An attractive novel approach for increased drug delivery to solid tumors. / Dicheva B. M., Koning G. A.; Expert Opin. Drug Delivery 11(1), 83 (2014).
- 132 UV and near-IR triggered release from polymeric nanoparticles. / Fomina N., McFearin C., Sermsakdi M. et al; J. Am. Chem. Soc. 132(28), 9540 (2010).
- 133 Ultrasound triggered release of cisplatin from liposomes in murine tumors. / Schroeder A., Honen R., Turjeman K. et al; J. Controlled Release 137(1), 63 (2009).
- 134 Ionita P. Radical mechanism of a place-exchange reaction of Au nanoparticles. / Ionita P., Gilbert B.C., Chechik V.; Angew Chem Int Ed. 2005;44:3720–2.
- 135 Catalytic activity of unsupported gold nanoparticles. / Mikami Y., Dhakshinamoorthy A., Alvaro M., García H.; Catal Sci Technol. 2012
- 136 Gold nanoparticle-initiated free radical oxidations and halogen abstractions. / Ionita P., Conte M., Gilbert B.C., Chechik V.; Org Biomol Chem. 2007;5:3504–9.
- 137 On the interactions of free radicals with gold nanoparticles. / Zhang Z., Berg A., Levanon H. et al; J Am Chem Soc. 2003;125: 7959–63.
- 138 The role of mitochondrial function in gold nanoparticle mediated radiosensitisation. / Taggart L.E., McMahon S.J., Currell F.J. et al; Cancer Nanotechnol. 2014;5(1):5.
- 139 Interplay between bax, reactive oxygen species production, and cardiolipin oxidation during apoptosis. / Jiang J., Huang Z., Zhao Q. et al; 2008 Biochem Biophys Res Commun 368(1):145 – 150.
- 140 Johnstone T.C. The Next Generation of Platinum Drugs: Targeted Pt(II) Agents, Nanoparticle Delivery, and Pt(IV) Prodrugs / Johnstone T.C., Suntharalingam K., Lippard S.J.; *Chem Rev.* 2016; 116(5): 3436–3486.
- 141 The status of platinum anticancer drugs in the clinic and in clinical trials / Wheate N.J., Walker S., Craig G. E., Oun R.; Dalton Trans 2010.- 39(35): 8113-27.
- 142 Johnstone T.C. Third row transition metals for the treatment of cancer / Johnstone T.C., Suntharalingam K., Lippard S.J.; Philos. Trans. R. Soc., A. 2015; 373:20140185.
- 143 Experimental and theoretical studies on the pharmacodynamics of cisplatin in Jurkat cells / Tacka K.A., Szalda D., Souid A.K. et al; Chem. Res. Toxicol. 17 (11), 1434–1444 (2004).

- 144 Harder H.C. Inhibitory effects of anti-tumor platinum compounds on DNA, RNA and protein syntheses in mammalian cells in vitro / Harder H.C., Rosenberg B.; Int. J. Cancer, 1970, 6(2), 207-216.
- 145 The Number of Platinum atoms binding to DNA, RNA and protein molecules of HeLa cells treated with Cisplatin at its mean lethal concentration / Akaboshi M., Kawai K., Maki H. et al; Jpn. J. Cancer Res. 83, 522-526, May 1992
- 146 Цюши Ч. Конформационные изменения молекулы ДНК при взаимодействии с координационными соединениями платины и серебра: диссертация ... кандидата физико-математических наук: 02.00.06 / Цюши Ч.; [Место защиты: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Санкт-Петербургский государственный университет"].- Санкт-Петербург, 2015.- 120 с.
- 147 Cisplatin induces mitochondrial oxidative stress with resultant energetic metabolism impairment, membrane rigidification and apoptosis in rat liver. / Martins N.M., Santos N.A., Curti C. et al; J Appl Toxicol. 2008 Apr;28(3):337-44.
- 148 Gordon J.A. Mitochondrial alterations in cisplatin-induced acute renal failure / Gordon J.A., Gattone V.H. 2nd; Am J Physiol. 1986, 250: F991–F998.
- 149 Cisplatin induces endoplasmic reticulum stress and nucleus-independent apoptotic signaling. / Mandic A., Hansson J., Linder S., Shoshan M.C.; J Biol Chem 2003, 278:9100–9106.
- 150 Reduced endocytosis and altered lysosome function in cisplatin-resistant cell lines. / Chauhan S.S., Liang X.J., Su A.W. et al; Br J Cancer 2003, 88:1327–1334.
- 151 Oncology / Watson M., Barrett A., Spence R., Twelves C.; Oxford University Press, Oxford, 2nd edn, 2006.
- 152 Piccart M. J. Current and future potential roles of the platinum drugs in the treatment of ovarian cancer / Piccart M.J., Lamb H., Vermorken J.B.; Ann. Oncol., 2001, 12, 1195–1203.
- 153 Neidle S. The structure of the antitumor complex cis-(diammino) (1,1-cyclobutanedicarboxylato)-Pt(II): X ray and nmr studies / Neidle S., Ismail I.M., Sadler P.J.; J. Inorg. Biochem., 1980, 13, 205–212
- 154 Frey U. Ring-opening reactions of the anticancer drug carboplatin: NMR characterization of cis-[Pt(NH₃)₂(CBDCA-O)(5'-GMP-N7)] in solution / Frey U., Ranford J.D., Sadler P.J.; Inorg. Chem., 1993, 32, 1333–1340
- 155 Martindale: The complete drug reference, ed. S. C. Sweetman, Pharmaceutical Press, London, 35th edn, 2007
- 156 Kelland L. The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy / Kelland L.; Nat. Rev. Cancer, 2007, 7, 573–584.
- 157 Boulikas T. Cisplatin and platinum drugs at the molecular level. / Boulikas T., Vougiouka M.; Oncol. Rep., 2003, 10, 1663–1682.
- 158 Replacement of cisplatin with nedaplatin in a definitive 5-fluorouracil/cisplatin-based chemoradiotherapy in Japanese patients with

- esophageal squamous cell carcinoma / Kuwahara A., Yamamori M., Nishiguchi K. et al; Int. J. Med. Sci., 2009, 6, 305–311.
- 159 The Second-Generation Anticancer Drug Nedaplatin: A Theoretical Investigation on the Hydrolysis Mechanism / Alberto E.M., Lucas M.F. A., Pavelka M., Russo N.; J. Phys. Chem. B, 2009, 113, 14473.
- 160 Relationship between cisplatin or nedaplatin-induced nephrotoxicity and renal accumulation / Kawai Y., Taniuchi S., Okahara S. et al; Biol. Pharm. Bull., 2005, 28, 1385–1388.
- 161 Liposomal formulations of carboplatin injected by convection-enhanced delivery increases the median survival time of F98 glioma bearing rats / Shi M., Anantha M., Wehbe M. et al; J Nanobiotechnol (2018) 16:77
- 162 Synthesis and Radiation Dosimetry of 4-Borono-2-[¹⁸F]fluoro-D,L-phenylalanine: a Target Compound for PET and Boron Neutron Capture Therapy / Ishiwata K., Ido T., Mejia A.A. et al; Appl. Rodiar. Isor. Vol. 42, No. 4, pp. 325-328, 1991
- 163 Ishiwata K. 4-Borono-2-¹⁸F-fluoro-l-phenylalanine PET for boron neutron capture therapy-oriented diagnosis: overview of a quarter century of research / Ishiwata K.; Ann Nucl Med. 2019 Apr;33(4):223-236.
- 164 Non-invasive monitoring of anticancer effects of cisplatin on lung cancer in an orthotopic SCID mouse model using [¹⁸F] FDG PET-CT / Mokhtar M., Kondo K., Takizawa H. et al; Oncol Rep . 2014 May;31(5):2007-14.
- 165 Computational oncology-mathematical modelling of drug regimens for precision medicine / Barbolosi D., Ciccolini J., Lacarelle B. et al; Nat Rev Clin Oncol. 2016.- 13(4):242-54. doi: 10.1038/nrclinonc.2015.204.
- 166 Zhan W. Effect of tissue permeability and drug diffusion anisotropy on convection-enhanced delivery. / Zhan W., Rodriguez y Baena F., Dini D.; Drug Delivery (2019), 26:1, 773-781, DOI: 10.1080/10717544.2019.1639844
- 167 Zhan W. Computational modelling of drug delivery to solid tumour: Understanding the interplay between therapeutics and biological system for optimised delivery systems. / Zhan W., Alamer M., YunXu X.; Advanced Drug Delivery Reviews Available online 2018 <https://doi.org/10.1016/j.addr.2018.07.013>
- 168 Multiscale modeling in the clinic: drug design and development. / Clancy C.E., An G., Cannon W.R. et al; Ann Biomed Eng. 2016; 44:2591-2610.
- 169 Integrated PK-PD and agent-based modeling in oncology. / Wang Z, Butner J, Cristini V, Deisboeck T.; J Pharmacokinet Pharmacodyn. 2015; 42:179-189.
- 170 Wang Z. Mathematical modeling in cancer drug discovery. / Wang Z., Deisboeck T.; Drug Discov Today. 2014; 19:145-150.
- 171 Positron Emission Tomography-based Boron Neutron Capture Therapy Using Boronophenylalanine for High-Grade Gliomas: Part II / Imahori Y., Ueda S., Ohmori Y. et al; Clinical Cancer Research Vol. 4, 1833-1 841, August 1998
- 172 Biokinetic analysis of tissue boron(¹⁰B) concentrations of glioma patients treated with BNCT in Finland / Koivunoro H., Hippeläinen E., Auterinen I. et al; Applied Radiation and Isotopes Applied Radiation and Isotopes Volume 106, December 2015, Pages 189-194

- 173 Pharmacokinetic Model for the Concentration of ^{10}B in Blood after Boronophenylalanine-Fructose Administration in Humans / Kiger W. S. III, Palmer M. R., Riley K. J. et al; Radiation Research, 2001 155(4):611-618.
- 174 Kuznetsov M.B. Analysis of anticancer efficiency of combined fractionated radiotherapy and antiangiogenic therapy via mathematical modelling / Kuznetsov M.B., Gubernov V.V., Kolobov A.V.; Russ. J. Numer. Anal. Math. Modelling 2018; 33(4):225–242
- 175 Kuznetsov M. Algorithm of optimization of fractionated radiotherapy within its combination with antiangiogenic therapy by means of mathematical modeling / Kuznetsov M., Kolobov A.; ITM Web of Conferences 31, 02001 (2020)
- 176 Каркищенко Н.Н. Альтернативы биомедицины. Том 1. Основы биомедицины и фармакомоделирования / Каркищенко Н.Н.; – М.: Изд-во ВПК, 2007. -320 с.
- 177 An Integrated Multiscale Mechanistic Model for Cancer Drug Therapy / Tang L., Su J., Huang D.-S. et al; ISRN Biomathematics 2012, p. 1- 12.
- 178 Dingemanse J. Integrated pharmacokinetics and pharmacodynamics in drug development / Dingemanse J., Appel-Dingemanse S.; Clinical Pharmacokinetics, 2007, vol. 46, no. 9, pp. 713–737.
- 179 El-Kareh A.W. A Mathematical Model for Cisplatin Cellular Pharmacodynamics. / El-Kareh A.W., Secomb T.W.; Neoplasia. 2003 Mar; 5(2): 161–169.
- 180 Minimal systems analysis of mitochondria-dependent apoptosis induced by cisplatin / Hong J.-Y., Hara K., Kim J.-W. et al; Korean J Physiol Pharmacol 2016;20(4):367-378
- 181 Towards personalized computational oncology: from spatial models of tumour spheroids, to organoids, to tissues. / Karolak A., Markov D.A., McCawley L.J., Rejniak K.A.; J R Soc Interface. 2018 Jan;15(138):20170703. doi: 10.1098/rsif.2017.0703.
- 182 Namazi H. Mathematical Modelling and Prediction of the Effect of Chemotherapy on Cancer Cells. / Namazi H., Kulish V., Wong A.; Sci. Rep. 5, 13583; doi: 10.1038/srep13583 (2015).
- 183 Mathematical Based Calculation of Drug Penetration Depth in Solid Tumors. / Namazi H., Kulish V., Wong A., Nazeri S.; BioMed Research International, Volume 2016, Article ID 8437247, 8 pages.
- 184 Mathematical modeling of intraperitoneal drug delivery: simulation of drug distribution in a single tumor nodule. / Steuperaert M., Falvo D'Urso Labate G., Debbaut C. et al; Drug Delivery, 2017 24:1, 491-501, DOI: 10.1080/10717544.2016.1269848
- 185 Kalyanasundaram S. A finite element model for predicting the distribution of drugs delivered intracranially to the brain. / Kalyanasundaram S., Calhoun V., Leong K.; Am J Physiol 1997 273:R1810–21.
- 186 Wang C.H. Three-dimensional simulation of IgG delivery to tumors. / Wang C.H., Li J.; Chem Eng Sci 1998 53:3579–600.

- 187 The delivery of BCNU to brain tumors. / Wang C.H., Li J., Teo C.S., Lee T.; J Control Release 1999 61:21–41.
- 188 Computer simulation of the delivery of etanidazole to brain tumor from PLGA wafers: Comparison between linear and double burst release systems. / Tan W., Wang F., Lee T., Wang C.H.; Biotechnol Bioeng 2003, 82:278–88.
- 189 Prediction of convection-enhanced drug delivery to the human brain. / Linninger A., Somayaji M., Mekarski M., Zhang L.; J Theor Biol 2008 250:125–38.
- 190 Chemotherapeutic drug transport to brain tumor. / Arifin D., Yiu K., Lee T., Wang C.H.; J Control Release 2009 137:203–10.
- 191 Transient interstitial fluid flow in brain tumors: effect on drug delivery. / Teo C., Tan W., Lee T., Wang C.H.; Chem Eng Sci (2005) 60:4803–21.
- 192 Pharmacokinetics/pharmacodynamics in drug development: an industrial perspective / Chaikin P., Rhodes G.R., Bruno R. et al; Journal of Clinical Pharmacology, vol. 40, no. 12, pp. 1428–1438, 2000.
- 193 Dingemanse J. Integrated pharmacokinetics and pharmacodynamics in drug development / Dingemanse J., Appel-Dingemanse S.; Clinical Pharmacokinetics, vol. 46, no. 9, pp. 713–737, 2007.
- 194 Pharmacokinetics/pharmacodynamics and the stages of drug development: role of modeling and simulation / Chien J.Y., Friedrich S., Heathman M.A. et al; AAPS Journal, vol. 7, no. 3, pp. E544–E559, 2005.
- 195 Pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling: why? / Prez-Urizar J, Granados-Soto V, Flores-Murrieta F, Castada-Hernndez G.; Arch Med Res. 2000;31:539-545.
- 196 Holford N. Understanding the dose-effect relationship: clinical application of pharmacokinetic-pharmacodynamic models. / Holford N., Sheiner L.; Clin Pharmacokinet. 1981;6:429-453
- 197 Derendorf H. Modeling of pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) relationships: concepts and perspectives. / Derendorf H., Meibohm. B.; Pharm. Res. 1999 16 : 176–185
- 198 Yates J.W. An implementation of the Expectation-Maximisation (EM) algorithm for population pharmacokinetic-pharmacodynamic modelling in ACSLXTREME. / Yates J.W.; Computer methods and programs in biomedicine 2009;96(1):49–62 doi: 10.1016/j.cmpb.2009.03.011
- 199 Preclinical pharmacokinetic/pharmacodynamic models to predict schedule-dependent interaction between erlotinib and gemcitabine. / Li M., Li H., Cheng X. et al; Pharmaceutical research 2013;30(5):1400–1408 doi: 10.1007/s11095-013-0978-7
- 200 Strogatz S.H. Nonlinear Dynamics and Chaos. / Strogatz S.H.; Published 1994 by Westview Press 512 Pages ISBN 0-201-54344-3
- 201 Блюменфельд Л.А. Решаемые и нерешаемые проблемы биологической физики. / Блюменфельд Л.А.; — М.: Едиториал УРСС, 2002. - 160 с.
- 202 Sbalzarini I.F. Spatiotemporal Modeling and Simulation in Biology / Sbalzarini I.F.; IEEE Intell. Syst.. (2002) 17, 64-71;

- 203 Computational challenges in cell simulation: a software engineering approach. / Takahashi K., Yugi K., Hashimoto K. et al; IEEE Intell. Syst. (2002) 17, 64-71;
- 204 Adaptive Response of a Gene Network to Environmental Changes by Fitness-Induced Attractor Selection. / Kashiwagi A., Urabe I., Kaneko K., Yomo T.; PLoS ONE. (2006) 1, e49;
- 205 Saxton M.J. Anomalous subdiffusion in fluorescence photobleaching recovery: a Monte Carlo study. / Saxton M.J.; Biophys J (2001) 81: 2226–40.
- 206 Saxton M.J. A biological interpretation of transient anomalous subdiffusion. I. Qualitative model. / Saxton M.J.; Biophys J (2007) 92: 1178–91.
- 207 Chauviere A Cell Mechanics: From Single Scalebased Models to Multiscale Modeling. / Chauviere A, Preziosi L, Verdier C.; Boca Raton, Florida: Chapman & Hall /CRC Press,2010 456pp. ISBN978-1-4200-9454-1
- 208 Шредингер Э. Что такое жизнь? / Шредингер Э.; ACT 2022 288 ст ISBN 978-5-17-110627-0
- 209 Больцман Л. Лекции по теории газов. / Больцман Л.; Перевод с немецкого под редакцией Б.И. Давыдова // Государственное издательство технико-теоретической литературы, Москва 1953
- 210 Эйнштейн А. Собрание научных трудов в 4 томах. / Эйнштейн А.; Том 3 под редакцией И.Е. Тамма, Я.А. Смородинского, Б.Г. Кузнецова // Издательство “Наука” Москва 1966
- 211 Bachelier L. The theory of speculation / Bachelier L.; Translated by D. May from Annales scientifiques de l’Ecole Normale Supérieure, Ser. 3, 17 (1900), p. 21-86. 2001
- 212 Ланжевен П. Избранные труды / Ланжевен П.; Издательство академии наук СССР, Москва 1960
- 213 Леваков А.А. Стохастические дифференциальные уравнения / Леваков А.А.; Минск БГУ 2009 231 с. ISBN 978-985-518-250-5
- 214 Kunita H. Stochastic flows and stochastic differential equations / Kunita H.; Kyushu University, Japan 1997 364 p. ISBN: 9780521599252
- 215 Oksendal B. Stochastic differential equations : an introduction with applications / Oksendal B.; Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2003 379 p. ISBN 978-3-540-04758-2
- 216 Kloeden P.E. The Numerical Solution of Stochastic Differential Equations / Kloeden P.E., Platen E.; Springer Corrected Third Printing 1999 ISBN: 978-3-642-08107-1
- 217 Гардинер К.В. Стохастические методы в естественных науках / Гардинер К.В.; Мир 1986 528 с
- 218 Higham D.J. An Algorithmic Introduction to Numerical Simulation of Stochastic Differential Equations / Higham D.J.; SIAM REVIEW 2001 Vol. 43, No. 3, pp. 525–546
- 219 Ferm L. An adaptive algorithm for simulation of stochastic reaction-diffusion processes. / Ferm L., Hellander A., Lotstedt P.; Journal of Computational Physics. 2010 229, 343-360;

- 220 Isaacson S.A. Incorporating Diffusion in Complex Geometries into Stochastic Chemical Kinetics Simulations. / Isaacson S.A.; Peskin C.S.; SIAM J. Sci. Comput.. 2006 28, 47-74;
- 221 Rossinelli D. Accelerated stochastic and hybrid methods for spatial simulations of reaction-diffusion systems. / Rossinelli D., Bayati B., Koumoutsakos P.; Chemical Physics Letters. 2008 451, 136-140;
- 222 Stundzia A.B. Stochastic Simulation of Coupled Reaction-Diffusion Processes. / Stundzia A.B., Lumsden C.J.; Journal of Computational Physics. 1996 127, 196-207;
- 223 Исимару А. Распространение и рассеяние волн в случайно-неоднородных средах, том 1 / Исимару А.; Мир, 1981, 280 с.
- 224 Исимару А. Распространение и рассеяние волн в случайно-неоднородных средах, том 2 / Исимару А.; Мир, 1981, 320 с.
- 225 Грибова Е.З. Диффузия лучей и частиц в случайно-неоднородных средах в Лагранжевом и Эйлеровом представлениях / Грибова Е.З.; дис. д-ра физ.-мат. наук : 01.04.03 Н. Новгород, 2006 291 с. РГБ ОД, 71:07-1/44
- 226 Кляцкин В.И. Стохастическое структурообразование в случайных средах / Кляцкин В.И.; УФН 186 75–104 (2016);
- 227 Drug-Loaded Nanocarriers: Passive Targeting and Crossing of Biological Barriers / Rabanel J.M., Aoun V., Elkin I. et al; Current Medicinal Chemistry, 2012, 19, 3070-3102
- 228 Warburg O. The Metabolism of Tumors in the Body. / Warburg O., Wind F., Negelein E.; J Gen Physiol. 1927 Mar 7; 8(6):519-30. doi: 10.1085/jgp.8.6.519. PMID: 19872213; PMCID: PMC2140820.
- 229 Crabtree H.G. Observations on the carbohydrate metabolism of tumours. / Crabtree H.G.; Biochem J. 1929; 23(3):536-45. doi: 10.1042/bj0230536. PMID: 16744238; PMCID: PMC1254097.
- 230 Warburg O. On the origin of cancer cells. / Warburg O.; Science. 1956; 123(3191):309-14. doi: 10.1126/science.123.3191.309. PMID: 13298683.
- 231 Berridge M.V. Metabolic flexibility and cell hierarchy in metastatic cancer. / Berridge M.V., Herst P.M., Tan A.S.; Mitochondrion. 2010; 10(6): 584-8. doi: 10.1016/j.mito.2010.08.002. PMID: 20709626.
- 232 Frezza C. Mitochondria in cancer: not just innocent bystanders. / Frezza C., Gottlieb E.; Semin Cancer Biol. 2009; 19(1):4-11. doi: 10.1016/j.semcaner.2008.11.008. PMID: 19101633.
- 233 Hyperactivation of oxidative mitochondrial metabolism in epithelial cancer cells *in situ*: visualizing the therapeutic effects of metformin in tumor tissue. / Whitaker-Menezes D., Martinez-Outschoorn U.E., Flomenberg N. et al; Cell Cycle. 2011; 10(23):4047-64. doi: 10.4161/cc.10.23.18151. Epub 2011 Dec 1. PMID: 22134189; PMCID: PMC3272287.
- 234 Warburg and Crabtree effects in premalignant Barrett's esophagus cell lines with active mitochondria. / Suchorolski M.T., Paulson T.G., Sanchez C.A. et al; PLoS One. 2013; 8(2): e56884. doi:10.1371/journal.pone.0056884. PMID: 23460817; PMCID: PMC3584058.

- 235 Potter M. The Warburg effect: 80 years on. / Potter M., Newport E., Morten K.J.; Biochem Soc Trans. 2016 Oct 15; 44(5):1499-1505. doi: 10.1042/BST20160094. PMID: 27911732
- 236 Flöter J. Regulation of Metabolic Activity by p53 / Flöter J., Kaymak I., Schulze A.; Metabolites. 2017 Jun; 7(2): 21.
- 237 A mitochondrial pyruvate carrier required for pyruvate uptake in yeast, Drosophila, and humans. / Bricker D.K., Taylor E.B., Schell J.C. et al; Science. 2012 6; 337(6090):96-100. doi: 10.1126/science.1218099. PMID: 22628558; PMCID: PMC3690818.
- 238 Halestrap A.P. The mitochondrial pyruvate carrier: has it been unearthed at last? / Halestrap A.P.; Cell Metab. 2012 Aug 8; 16(2):141-3. doi: 10.1016/j.cmet.2012.07.013. PMID: 22883228.
- 239 A mitochondria-K⁺ channel axis is suppressed in cancer and its normalization promotes apoptosis and inhibits cancer growth. / Bonnet S., Archer S.L., Allalunis-Turner J. et al; Cancer Cell. 2007; 11(1):37-51. doi: 10.1016/j.ccr.2006.10.020. PMID: 17222789.
- 240 Spatial Reference Memory is Associated with Modulation of Theta-Gamma Coupling in the Dentate Gyrus. / Bott J.B., Muller M.A., Jackson J. et al; Cereb Cortex. 2016 Sep;26(9):3744-3753. doi: 10.1093/cercor/bhv177. Epub 2015 Aug 6. PMID: 26250776.
- 241 Glutamine supports pancreatic cancer growth through a KRAS-regulated metabolic pathway. / Son J., Lyssiotis C.A., Ying H. et al; Nature. 2013 4; 496(7443):101-5. doi: 10.1038/nature12040. PMID: 23535601; PMCID: PMC3656466.
- 242 Bensaad K. Hypoxia and metabolism in cancer. / Bensaad K., Harris A.L.; Adv Exp Med Biol. 2014;772:1-39. doi: 10.1007/978-1-4614-5915-6_1. PMID: 24272352.
- 243 Nile A.H. Fatty acid recognition in the Frizzled receptor family. / Nile A.H., Hannoush R.N.; J Biol Chem. 2019 Jan 11; 294(2):726-736. doi: 10.1074/jbc.REV118.005205. Epub 2018 Dec 10. PMID: 30530496; PMCID: PMC6333880.
- 244 Nile A.H. Fatty acylation of Wnt proteins. / Nile A.H., Hannoush R.N.; Nat Chem Biol. 2016 Feb;12(2):60-9. doi: 10.1038/nchembio.2005. PMID: 26784846.
- 245 Cellular fatty acid metabolism and cancer. / Currie E., Schulze A., Zechner R. et al; Cell Metab. 2013; 18(2): 153-61. doi: 10.1016/j.cmet.2013.05.017. Epub 2013 Jun 20. PMID: 23791484; PMCID: PMC3742569.
- 246 The interplay between cell signalling and the mevalonate pathway in cancer. / Mullen P.J., Yu R., Longo J. et al; Nat Rev Cancer. 2016 Nov; 16(11):718-731. doi: 10.1038/nrc.2016.76. Epub 2016 Aug 26. PMID: 27562463.
- 247 Röhrlig F. The multifaceted roles of fatty acid synthesis in cancer. / Röhrlig F., Schulze A.; Nat Rev Cancer. 2016 Nov; 16(11):732-749. doi: 10.1038/nrc.2016.89. Epub 2016 Sep 23. PMID: 27658529.
- 248 Carracedo A. Cancer metabolism: fatty acid oxidation in the limelight. / Carracedo A., Cantley L.C., Pandolfi P.P.; Nat Rev Cancer. 2013 Apr;

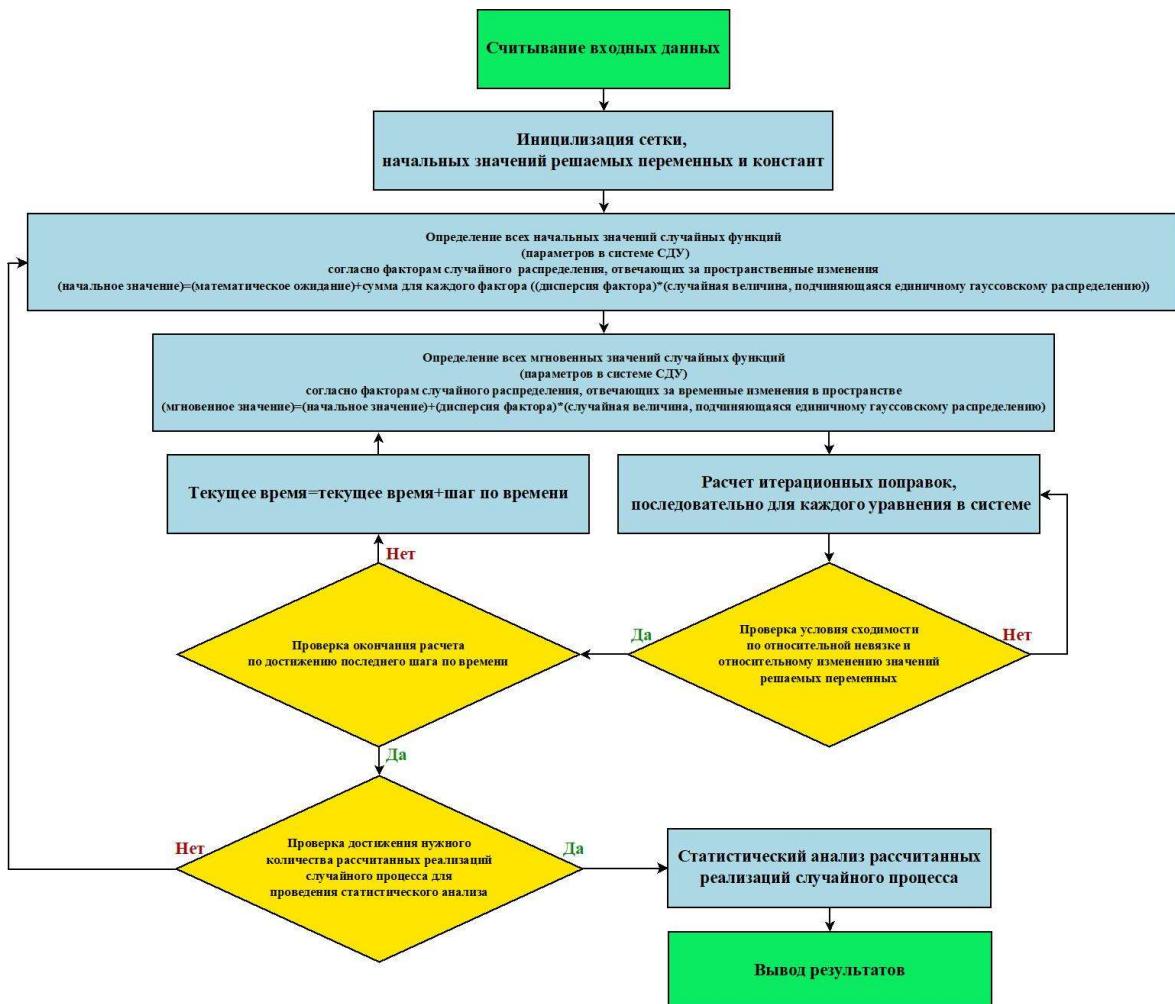
- 13(4):227-32. doi: 10.1038/nrc3483. Epub 2013 Feb 28. PMID: 23446547; PMCID: PMC3766957.
- 249 Adipocytes promote ovarian cancer metastasis and provide energy for rapid tumor growth. / Nieman K.M., Kenny H.A., Penicka C.V. et al; Nat Med. 2011 Oct 30; 17(11):1498-503. doi: 10.1038/nm.2492. PMID: 22037646; PMCID: PMC4157349.
- 250 Li Z. Lipid Metabolism Fuels Cancer's Spread. / Li Z., Kang Y.; Cell Metab. 2017 Feb 7; 25(2):228-230. doi: 10.1016/j.cmet.2017.01.016. PMID: 28178563.
- 251 Pylayeva-Gupta Y. RAS oncogenes: weaving a tumorigenic web. / Pylayeva-Gupta Y., Grabocka E., Bar-Sagi D.; Nat Rev Cancer. 2011 Oct 13; 11(11): 761-74. doi: 10.1038/nrc3106. PMID: 21993244; PMCID: PMC3632399.
- 252 Oncogenic Kras maintains pancreatic tumors through regulation of anabolic glucose metabolism. / Ying H., Kimmelman A.C., Lyssiotis C.A. et al; Cell. 2012 Apr 27;149(3):656-70. doi: 10.1016/j.cell.2012.01.058. PMID: 22541435; PMCID: PMC3472002.
- 253 Glutamine supports pancreatic cancer growth through a KRAS-regulated metabolic pathway. / Son J., Lyssiotis C.A., Ying H. et al; Nature. 2013 Apr 4; 496(7443):101-5. doi: 10.1038/nature12040. Epub 2013 Mar 27. PMID: 23535601; PMCID: PMC3656466.
- 254 Macropinocytosis of protein is an amino acid supply route in Ras-transformed cells. / Commissio C., Davidson S.M., Soydancer-Azeloglu R.G. et al; Nature. 2013 May 30; 497(7451):633-7. doi: 10.1038/nature12138. Epub 2013 May 12. PMID: 23665962; PMCID: PMC3810415.
- 255 Hypoxic and Ras-transformed cells support growth by scavenging unsaturated fatty acids from lysophospholipids. / Kamphorst J.J., Cross J.R., Fan J. et al; Proc Natl Acad Sci U S A. 2013 May 28; 110(22):8882-7. doi: 10.1073/pnas.1307237110. Epub 2013 May 13. PMID: 23671091; PMCID: PMC3670379.
- 256 Mah L.Y. Autophagy and cancer. / Mah L.Y., Ryan K.M.; Cold Spring Harb Perspect Biol. 2012 Jan 1; 4(1): a008821. doi: 10.1101/cshperspect.a008821. PMID: 22166310; PMCID: PMC3249624.
- 257 Autophagy fights disease through cellular self-digestion. / Mizushima N., Levine B., Cuervo A.M., Klionsky D.J.; Nature. 2008 Feb 28; 451(7182): 1069-75. doi: 10.1038/nature06639. PMID: 18305538; PMCID: PMC2670399.
- 258 Гайтон. А. Физиология кровообращения. Минутный объем сердца и его регуляция / Гайтон. А.;- М.:Медицина, 1969.- 472с.
- 259 Зайчик А.Ш. Основы общей патологии. Ч.1. Основы общей патофизиологии / Зайчик А.Ш., Чурилов Л.П.; ЭЛБИ 1999 624 с. ISBN: 5-7733-0060-5
- 260 Патологическая физиология / под редакцией А.Д. Адо, В.В. Новицкого.- Томск: Изд-во Том. ун-та, 1994, 468 стр.
- 261 Poly[N-(2-hydroxypropyl)methacrylamide] Polymers Diffuse in Brain Extracellular Space with Same Tortuosity as Small Molecules / Prokopova-

- Kubinova S., Vargova L., Tao L. et al; Biophysical Journal Volume 80 January 2001 542–548
- 262 Sykova E. Diffusion in Brain Extracellular Space / Sykova E., Nicholson C.; Physiol Rev 88: 1277–1340, 2008; doi:10.1152/physrev.00027.2007.
- 263 Глебов Р.Н. Биохимия мембран книга 2. Эндоцито и Экзоцитоз / Глебов Р.Н.; Москва “Высшая школа” 1987 г 95 с
- 264 Cell localisation of gadolinium-based nanoparticles and related radiosensitising efficacy in glioblastoma cells / Stefancikova L., Porcel E., Eustache P. et al; Cancer Nanotechnology 2014, 5:6
- 265 Сингин А. С. Противоопухолевые препараты группы платины : фармакокинетика, метаболизм, механизм действия / Сингин А. С.; диссертация доктора биологических наук : 14.00.14. - Москва, 1992. - 179 с. : ил.
- 266 Florea A-M. Cisplatin as an Anti-Tumor Drug: Cellular Mechanisms of Activity, Drug Resistance and Induced Side Effects / Florea A-M., Büsselberg D.; Cancers 2011, 3, 1351-1371; doi:10.3390/cancers3011351
- 267 [Pt(O,O'-acac)(γ-acac)(DMS)]: Alternative Strategies to Overcome Cisplatin-Induced Side Effects and Resistance in T98G Glioma Cells / Astesana V., Faris P., Ferrari B. et al; Cellular and Molecular Neurobiology (2021) 41:563–587
- 268 Моисеев. В.И. Философия науки. Философские проблемы биологии и медицины : учеб. пос. / Моисеев. В.И.; Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2015. - 592 с. - ISBN 978-5-9704-3359-1.
- 269 Огурцов А. Н. Самоорганизация биологических систем : учеб. пособие / Огурцов А. Н.; Х. : НТУ «ХПИ», 2013. – 158 с. – На рус. яз. ISBN 978-617-05-0125-7
- 270 Гиневский Д.А. Моделирование пространственно-временного распределения лекарственного агента в биологической ткани. / Гиневский Д.А., Гиневский А.Ф., Ижевский П.В.; Матем. моделирование, 2021, том 33, номер 11, 3–17
- 271 Мальцев А.А. Флаксман Основы теории случайных процессов для радиофизиков. / Мальцев А.А., Артюхин И.В., Болховская О.В. и др; Учебно-методические материалы для магистрантов и аспирантов Исследовательской школы «Колебательно-волновые процессы в природных и искусственных средах». – Нижний Новгород: Нижегородский госуниверситет, 2014. – 78 с.
- 272 Roadmap for metal nanoparticles in radiation therapy: current status, translational challenges, and future directions. / Schuemann J., Bagley A.F., Berbeco R. et al; Phys. Med. Biol., 2020,-65(21):21 RM02. doi:10.1088/1361-6560/ab9159.
- 273 Gaussian random number generators. / Thomas, D.B., Luk. W., Leong, P.H.W., Villasenor, J. D.; ACM Comput. Surv. 39, 4, Article 11 (October 2007), 38 p.

- 274 Marsaglia G. The Ziggurat Method for Generating Random Variables / Marsaglia G., Tsang W.W.; Journal of Statistical Software 05(i08) 2000 DOI: 10.18637/jss.v005.i08
- 275 Свидетельство о государственной регистрации программы ЭВМ №2025683087 Российская Федерация. «Компьютерное моделирование внутриклеточной фармакокинетики препаратов платины для определения динамики концентрации платины в аддуктах ДНК и других клеточных структурах» : заявл. 08.08.2025 : опубл. 29.08.2025 / Гиневский Д.А., Ижевский П.В.; заявитель Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр Российской Федерации - Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна».
- 276 Moukalled F. The Finite Volume Method in Computational FluidDynamics / Moukalled F., Mangani L., Darwish M.; Springer, 2016, 791 pp.
- 277 Saad Y. Iterative methods for sparse linear systems / Saad Y.; SIAM, 2nd Edition, 2003, 547 pp.
- 278 Sample handling for determination of free platinum in blood after cisplatin exposure / Johnsson A., Bjork H., Schutz A., Skarby T.; Cancer Chemother Pharmacol (1998) 41: 248±251
- 279 Long-term pharmacokinetic behavior of platinum after cisplatin administration / Gamelin E., Allain P., Maillart P. et al; Cancer Chemother Pharmacol (1995) 37:97-102
- 280 Pharmacokinetics of cisplatin in the absence or presence of Zengmian Yiliu granules (a traditional Chinese medicine compound) in rats determined via ICP-MS: An investigation on drug–herb interactions / Zhang Q.-H., Gong C., Yang H. et al; Pharm Biol. 2015 Feb;53(2):159-66. doi: 10.3109/13880209.2014.912241
- 281 Effects of cisplatin on mitochondrial function in Jurkat cells. / Tacka K.A, Dabrowiak J.C, Goodisman J et al; Chemical Research in Toxicology, 2004, v.17, p. 1102-1111. doi: <http://doi.org/10.1021/tx0499564>
- 282 Разработка бинарных технологий лучевой терапии злокачественных новообразований: состояние и проблемы / Шейно И.Н., Ижевский П.В., Липенгольц А.А. и др.; Бюлл. сибирской медицины–2017.–Т.16.– №3.– С.192–209.
- 283 Шайн А.А. Онкология: учебник для студентов медицинских вузов. / Шайн А.А.; Тюмень: Издат. Центр “Академия”, 2004, 544с.
- 284 Pharmacokinetic modeling for boronophenylalanine-fructose mediated neutron capture therapy: ¹⁰B concentration predictions and dosimetric consequences / Kiger W.S. III, Palmer M.R., Riley K.J. et al; Journal of Neuro-Oncology, 2003,v. 62, p.171–186.
- 285 Pharmacokinetics of ¹⁰B-p-boronophenylalanine in tumours, skin and blood of melanoma patients: a study of boron neutron capture therapy for malignant melanoma / Fukuda H., Honda C., Wadabayashi N. et al; Melanoma Research: February 1999, p. 75-84

- 286 Fukuda H. Pharmacokinetics of ^{10}B -*p*-boronophenylalanine (BPA) in the blood and tumors in human patients: A critical review with special reference to tumor-to-blood (T/B) ratios using resected tumor samples / Fukuda H., Hiratsuka J.; Applied Radiation and Isotopes 166 (2020) 109308
- 287 Боячински Р. Современные воззрения в биохимии: Пер. с англ. / Боячински Р.; М.: Мир, 1987.- Стр. 442-444
- 288 Montine T. J. Quiescent LLC-PKi Cells as a Model for cis-Diamminedichloroplatinum(II) Nephrotoxicity and Modulation by Thiol Rescue Agents / Montine T. J., Borch R. F.; CANCER RESEARCH 48. 6017-6024, November 1, 1988

ПРИЛОЖЕНИЕ 1



ПРИЛОЖЕНИЕ 2

В этом приложении приведены значения параметров случайных распределений, необходимых для расчета мгновенных значений случайных функций при моделировании пространственно-временного распределения ^{10}B

Так как в литературных источниках не приводятся погрешности определения необходимых для моделирования величин, то при вычислении мгновенных значений случайных функций фактор случайного распределения, отвечающий за экспериментальную погрешность, не учитывался.

Таблица 2 – параметры случайного распределения, необходимые для определения мгновенных значений диагональных членов тензора диффузии.

Параметр в системе уравнений (19)	Среднее значение, ($\text{м}^2/\text{с}$)	Фактор, связанный с направлением (в долях от значения)	Фактор, связанный с “извилистостью” ткани (в долях от значения)	Случайный фактор, связанный с жизнедеятельностью организма (в долях от значения)
D_{lb} , ВО	$4 \cdot 10^{-10}$	0.2	0.6	0.4
D_{lb} , ПС	$4 \cdot 10^{-10}$	0.2	0.6	0.4
D_{lb} , ЗТ	$4 \cdot 10^{-10}$	0.2	0.2	0.4
D_{fb} , ВО	$3 \cdot 10^{-9}$	0.2	0.6	0.4
D_{fb} , ПС	$3 \cdot 10^{-9}$	0.2	0.6	0.4
D_{fb} , ЗТ	$3 \cdot 10^{-9}$	0.2	0.2	0.4

Таблица 3 – параметры случайного распределения, необходимые для определения мгновенных значений случайных функций, определяющих удельные объемные скорости поступления вещества из кровеносной системы в межклеточное пространство и оттока вещества из межклеточного пространства в кровеносную и лимфатические системы.

Параметр в системе уравнений (19)	Среднее значение, ($1/\text{с}$)	Фактор, связанный с неравномерностью капиллярной сети (в долях от значения)	Фактор, связанный с дисбалансом кровеносных и лимфатических капилляров (только для k_{bbm}), (в долях от значения)	Случайный фактор, связанный с жизнедеятельностью организма (в долях от значения)
k_{bbm}, k_{bmb} , ВО	0	0	0	0
k_{bbm}, k_{bmb} , ПС	$2 \cdot 10^{-2}$	0.3	0.3	0.1
k_{bbm}, k_{bmb} , ЗТ	$8 \cdot 10^{-3}$	0.1	0	0.1

Таблица 4 – параметры случайного распределения, необходимые для определения мгновенных значений случайных функций, определяющих удельные объемные скорости эндо- и экзоцитоза.

Параметр в системе уравнений (19)	Среднее значение, (1/c)	Фактор, связанный с клеточной неоднородностью (волях от значения)	Случайный фактор, связанный с жизнедеятельностью организма (волях от значения)
k_{bcm}, k_{bmc} ,ВО	$1 \cdot 10^{-4}$	0.5	0.2
k_{bcm}, k_{bmc} ,ПС	$1 \cdot 10^{-4}$	0.5	0.2
k_{bcm}, k_{bmc} ,ЗТ	$4 \cdot 10^{-5}$	0.05	0.2

Таблица 5 – параметры случайного распределения, необходимые для определения мгновенных значений случайных функций, определяющих ферментативную химическую реакцию расщепления ВРА (максимальная скорость химической реакции (v_{max}), константа Михаэлиса (k_m)).

Параметр в системе уравнений (19)	Среднее значение, (мкг/г)	Фактор связанный с неоднородностью в метаболизме клеток, (волях от значения)	Случайный фактор связанный с жизнедеятельностью организма, (волях от значения)
v_{max} ,ВО	$1.7 \cdot 10^{-3}$	0.3	0.3
v_{max} ,ПС	$1.7 \cdot 10^{-3}$	0.3	0.3
v_{max} ,ЗТ	$1 \cdot 10^{-3}$	0.3	0.3
k_m	$9 \cdot 10^{-1}$	0.2	0

ПРИЛОЖЕНИЕ 3

В этом приложении приведены значения параметров случайных распределений, необходимых для расчета мгновенных значений случайных функций при моделировании пространственно-временного распределения платины.

Так как в литературных источниках не приводятся погрешности определения необходимых для моделирования величин, то при вычислении мгновенных значений случайных функций фактор случайного распределения, отвечающий за экспериментальную погрешность, не учитывался.

Таблица 6 – параметры случайного распределения, необходимые для определения мгновенных значений диагональных членов тензора диффузии.

Параметр в системе уравнений (20)	Среднее значение, ($\text{м}^2/\text{с}$)	Фактор, связанный с направлением (волях от значения)	Фактор, связанный с “извилистостью” ткани (волях от значения)	Случайный фактор, связанный с жизнедеятельностью организма (волях от значения)
D_{lp} , ВО	$2 \cdot 10^{-11}$	0.2	0.6	0.4
D_{lp} , ПС	$2 \cdot 10^{-11}$	0.2	0.6	0.4
D_{lp} , ЗТ	$2 \cdot 10^{-11}$	0.2	0.2	0.4
D_{fp} , ВО	$3 \cdot 10^{-10}$	0.2	0.6	0.4
D_{fp} , ПС	$3 \cdot 10^{-10}$	0.2	0.6	0.4
D_{fp} , ЗТ	$3 \cdot 10^{-10}$	0.2	0.2	0.4

Таблица 7 – параметры случайного распределения, необходимые для определения мгновенных значений случайных функций, определяющих удельные объемные скорости поступления и оттока вещества в межклеточное пространство.

Параметр в системе уравнений (20)	Среднее значение, ($1/\text{с}$)	Фактор, связанный с неравномерностью капиллярной сети (волях от значения)	Фактор, связанный с дисбалансом кровеносных и лимфатических капилляров (только для k_{pbm}), (волях от значения)	Случайный фактор, связанный с жизнедеятельностью организма (волях от значения)
k_{pbm}, k_{pmb} , ВО	0	0	0	0
k_{pbm}, k_{pmb} , ПС	$2 \cdot 10^{-2}$	0.3	0.3	0.1
k_{pbm}, k_{pmb} , ЗТ	$1.2 \cdot 10^{-2}$	0.1	0	0.1

Таблица 8 – параметры случайного распределения, необходимые для определения мгновенных значений случайных функций, определяющих удельные объемные скорости эндо- и экзоцитоза.

Параметр в системе уравнений (20)	Среднее значение, (1/c)	Фактор, связанный с клеточной неоднородностью (в долях от значения)	Случайный фактор, связанный с жизнедеятельностью организма (в долях от значения)
k_{bcm}, k_{bmc} , ВО	$3.7 \cdot 10^{-6}$	0.5	0.2
k_{bcm}, k_{bmc} , ПС	$3.7 \cdot 10^{-6}$	0.5	0.2
k_{bcm}, k_{bmc} , ЗТ	$2.6 \cdot 10^{-7}$	0.05	0.2

Таблица 9 – параметры случайного распределения, необходимые для определения мгновенных значений случайных функций, определяющих удельную объемную скорость перемещения цисплатина через клеточную мембрану (из межклеточного пространства k_{trco} , из эндосом k_{trci}) и обратно (k_{trcoo}).

Параметр в системе уравнений (20)	Среднее значение, (1/c)	Фактор, связанный с неоднородностью клеток (в долях от значения)	Случайный фактор, связанный с жизнедеятельностью организма (в долях от значения)
$k_{trco}, k_{trci}, k_{trcoo}$, ВО	$4.4 \cdot 10^{-3}$	0.5	0.1
$k_{trco}, k_{trci}, k_{trcoo}$, ПС	$4.4 \cdot 10^{-3}$	0.5	0.1
$k_{trco}, k_{trci}, k_{trcoo}$, ЗТ	$4.4 \cdot 10^{-3}$	0.5	0.1

Таблица 10 – параметры случайного распределения, необходимые для определения мгновенных значений случайных функций, определяющих скорости химических реакций по замене -Cl на -ОН в составе цисплатина k_{wp} (в процессе смачивания или акватации) и обратной реакции - k_{wm} .

Параметр в системе уравнений (20)	Среднее значение, 1/c	Фактор, связанный с неоднородностью клеток (в долях от значения)	Случайный фактор, связанный с жизнедеятельностью организма (в долях от значения)
k_{wp} , ВО	$5.7 \cdot 10^{-5}$	0.1	0.1
k_{wp} , ПС	$5.7 \cdot 10^{-5}$	0.1	0.1
k_{wp} , ЗТ	$5.7 \cdot 10^{-5}$	0.1	0.1
k_{wm} , ВО	$4 \cdot 10^{-4}$	0.1	0.1
k_{wm} , ПС	$7 \cdot 10^{-5}$	0.1	0.1
k_{wm} , ЗТ	$7 \cdot 10^{-5}$	0.1	0.1

Таблица 11 – параметры случайного распределения, необходимые для определения мгновенных значений случайных функций, определяющих химическую реакцию связывания Pt с тиольными группами в цитоплазме клеток.

Параметр в системе уравнений (20)	Среднее значение, $(1/(M \cdot c))$	Фактор, связанный с неоднородностью в метаболизме клеток (в долях от значения)	Случайный фактор, связанный с метаболизмом организма (в долях от значения)
$k_{ths,BO}$	$6.5 \cdot 10^{-1}$	0.2	0.1
$k_{ths,PC}$	$6.5 \cdot 10^{-1}$	0.2	0.1
$k_{ths,3T}$	$6.5 \cdot 10^{-1}$	0.2	0.1

Таблица 12 – параметры случайного распределения, необходимые для определения мгновенных значений случайных функций, определяющих химическую реакцию связывания Pt с ДНК с учетом длительности митоза в клеточном цикле.

Параметр в системе уравнений (20)	Среднее значение, $(1/(c \cdot (шт/мл)))$	Фактор, связанный с неоднородностью в метаболизме клеток (в долях от значения)	Случайный фактор, связанный с метаболизмом организма (в долях от значения)
$k_{thd,BO}$	$2.7 \cdot 10^{-23}$	0.3	0.2
$k_{thd,PC}$	$2.7 \cdot 10^{-23}$	0.3	0.2
$k_{thd,3T}$	$2.0 \cdot 10^{-23}$	0.3	0.2

Таблица 13 – параметры случайного распределения, необходимые для определения мгновенных значений случайных функций, определяющих скорость reparации ДНК.

Параметр в системе уравнений (20)	Среднее значение, $(1/c)$	Фактор, связанный с неоднородностью в метаболизме клеток (в долях от значения)	Случайный фактор, связанный с метаболизмом организма (в долях от значения)
$k_{rep,BO}$	$1 \cdot 10^{-4}$	0.2	0.1
$k_{rep,PC}$	$1 \cdot 10^{-4}$	0.2	0.1
$k_{rep,3T}$	$1 \cdot 10^{-4}$	0.2	0.1

Таблица 14 – параметры случайного распределения, необходимые для определения значений случайных функций, определяющих начальное значение концентрации тиолов в клетках ($C_s|_{t=0}$).

Параметр в системе уравнений (20)	Среднее значение, (M)	Фактор, связанный с неоднородностью в метаболизме клеток (в долях от значения)
$C_s _{t=0}$,BO	$3 \cdot 10^{-3}$	0.3
$C_s _{t=0}$,PC	$3 \cdot 10^{-3}$	0.3
$C_s _{t=0}$,3T	$3 \cdot 10^{-3}$	0.3

Таблица 15 – параметры случайного распределения, необходимые для определения значений случайных функций, определяющих начальное значение количества сайтов связывания с ДНК ($C_d|_{t=0}$).

Параметр в системе уравнений (20)	Среднее значение (шт/мл)	Фактор, связанный с неоднородностью в метаболизме клеток (в долях от значения)
$C_d _{t=0}$,BO	$1.1 \cdot 10^{14}$	0.3
$C_d _{t=0}$,PC	$1.1 \cdot 10^{14}$	0.3
$C_d _{t=0}$,3T	$1.1 \cdot 10^{14}$	0.3

ПРИЛОЖЕНИЕ 4

В этом приложении приведены данные клинических наблюдений при применении ВРА. Данные представлены Elowitz E.H и Coderre J.A. [19,20].

В их исследовании пациенты отбирались по следующим критериям:

- Необходимость краниотомии для резекции опухоли,
- Пациенты ранее не получали курсы лучевой или химиотерапии.

Отбор проб проводился спустя час после окончания введения ВРА.

Таблица 16 – Данные клинических наблюдений при применении ВРА.

№ пациента	Тип опухоли, (код МКБ-10)	Доза ВРА, мг/кг (время инфузии)	Количество образцов	Концентрация ^{10}B (мкг/г)
1	Глиобластома (C71)	250 (2 часа)	9	23.7 ± 7.6
2	Глиобластома (C71)	250 (2 часа)	9	21.2 ± 6.9
3	Глиобластома (C71)	250 (2 часа)	6	14.3 ± 7.9
4	Глиобластома (C71)	290 (2 часа)	6	26.1 ± 10.2
5	Глиобластома (C71)	290 (2 часа)	3	14.7 ± 9.6

ПРИЛОЖЕНИЕ 5

В этом приложении приведены данные клинических наблюдений при применении «Цисплатина».

Данные представлены Holding J.D. [21]. В исследовании принимали участие 27 пациентов, которые были отобраны по следующим критериям:

- Подтвержденная терминальная стадия рака головы и шеи (код МКБ-10 C76.0),
- Пациенты ранее не получали химиотерапию «Цисплатином»,
- Была проведена химиотерапия «Цисплатином» в дозировке 100 мг/м² с в/в введением в течении 8 часов.

Таблица 17 – данные клинических наблюдений при применении «Цисплатина» представленные Holding J.D. [21].

Время после введения, ч	Количество образцов	Концентрация Pt (мкг/г)
0	19	3.8 ± 1.5
24	12	3.7 ± 1.5
41-64	9	2.6 ± 1.8

Данные представлены Gouyette A. [22]. В исследовании принимало участие 6 пациентов, которые были отобраны по следующим критериям:

- Подтвержденная карцинома в области головы и шеи (код МКБ-10 C76.0),
 - Пол мужской,
 - Была проведена химиотерапия «Цисплатином» в дозировке 50 мг/м² в 1-й и 2-й день, с в/в введением в течении 6 часов.
- Суммарная доза «Цисплатина» составила 100 мг/м².

Таблица 18 – данные клинических наблюдений при применении «Цисплатина» представленные Gouyette A. [22].

Время после введения, ч	Количество образцов	Концентрация Pt (мкг/г)
24	12	1.4 ± 0.4