

ВИЗНАЧЕННЯ ОПТИМАЛЬНИХ КОНСТАНТ ШВИДКОСТЕЙ РЕАКЦІЙ ПЕРЕТВОРЕНЬ У СИСТЕМАХ ГЕНЕТИЧНОГО КОНТРОЛЮ КЛІТИН У СТАНІ ПРОЛІФЕРАЦІЇ ТА ДИФЕРЕНЦІАЦІЇ

І. Стадник*, Д. Санагурський

Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна

e-mail: irysjastadnyk@gmail.com

В роботі представлено сімнадцять поверхонь відклику для кожної з констант швидкостей перетворень у системах генетичного контролю клітин у стані проліферації та диференціації. На основі побудованих поверхонь відклику встановлено, які з параметрів кінетичної моделі вносять найбільший вклад у поведінку динамічної системи. Також визначено конкретні значення констант швидкостей реакцій, при яких швидкість перетворень в системах генетичного контролю клітин є максимальною. Окрім того, графічно показано зміну в часі інтенсивності параметрів кінетичної моделі систем генетичного контролю клітин у стані проліферації та диференціації

Ключові слова: поверхня відклику, константа швидкості, генетичний контроль, проліферація, диференціація

Існують різні способи регуляції життєдіяльності клітини, які умовно можна віднести до генетичного, біохімічного і фізіологічного рівнів регуляції. В межах кожного з них діють механізми, в основу яких покладено послідовність конкретних метаболічних процесів. Зрозуміти динамічні властивості цих регуляторних механізмів можна лише на основі загальносистемного підходу, який розглядає поведінку кожного з елементів складної системи як результат його взаємодії з іншими елементами. Одним з найбільш розвинутих підходів для вирішення цієї проблеми в сучасній біофізиці є математичне моделювання. У відповідних кінетичних моделях відображена динаміка змін концентрацій різних компонентів біологічних систем, яка визначається швидкостями окремих елементарних реакцій. В основі процесів обміну клітини з навколишнім середовищем і внутрішнім метаболізмом лежить складна сітка організованих, певним чином, у часі і просторі метаболічних реакцій. В результаті цих процесів змінюються концентрації різних речовин, чисельність певного типу клітин, біомаса організмів, можуть змінюватися і інші параметри, наприклад, величина трансмембранного потенціалу клітини.

Зміни всіх цих величин у часі і складають кінетику біологічних процесів. Оскільки всі живі системи далекі від термодинамічної рівноваги, тому вони є відкритими для потоків речовини і енергії, і мають складну неоднорідну структуру, ієрархічну систему управління процесами як внутрішнього, так і зовнішнього середовища [5].

У моделях використано системи диференціальних рівнянь, які описують динамічні процеси, характерні для живих систем. Дослідження об'єкту моделювання і складання його математичного опису полягають у встановленні зв'язків між характеристиками процесу, виявленні його граничних і початкових умов та формалізації процесу, у вигляді системи математичних співвідношень. Для опису детермінованих, змінних у часі явищ, частіше всього використовуються диференціальні рівняння [2, 3, 10, 11]. Основний підхід в сучасній кінетиці і математичному моделюванні біологічних процесів полягає у відмові від знаходження точних аналітичних рішень диференціальних рівнянь і застосування чисельних методів інтегрування [5]. Багатофакторність та нелінійний зв'язок між параметрами створюють чималі труднощі у математичному моделюванні біологічних процесів [1, 4, 6].

Таким чином, застосування методу математичного моделювання різних процесів дозволяє вивчити властивості об'єктів і визначити оптимальні умови їх функціонування.

Матеріали та методи

Проліферація та диференціація клітин є складними процесами, які супроводжуються значними змінами в системах генетичного контролю клітин. Раніше нами були описані такі зміни [8] і вони лягли в основу побудови кінетичної моделі змін систем генетичного контролю клітин у стані проліферації та диференціації [8]. Згодом ці кінетичні моделі були нами описані математично з допомогою системи диференціальних рівнянь, при розв'язку яких ми виявили, що зміни в системах генетичного контролю клітин відбуваються при максимальних значеннях констант швидкостей цих перетворень [9]. Проте точне значення величин цих констант досі не було встановлено.

Для визначення величин усіх констант швидкостей реакцій перетворень в системах генетичного контролю клітин у стані проліферації та диференціації, нами були побудовані для кожної з них поверхні відклику. Після оцифрування дані поверхні були лінеаризовані за методом Лайнуївера-Берка [4], що дало нам змогу знайти величину k_{\max} для кожної з сімнадцяти констант. На основі знайдених величин констант швидкостей нами показано графічно зміну в часі інтенсивності всіх параметрів кінетичної моделі систем генетичного контролю клітин як у стані проліферації, так і диференціації. Робота проводилась з використанням комп'ютерних програм MATLAB 7.0.1, Octave та Origin 9.1.

Зміни в системах генетичного контролю клітин у стані проліферації та диференціації зображені на рис. 1 і 2, відповідно.

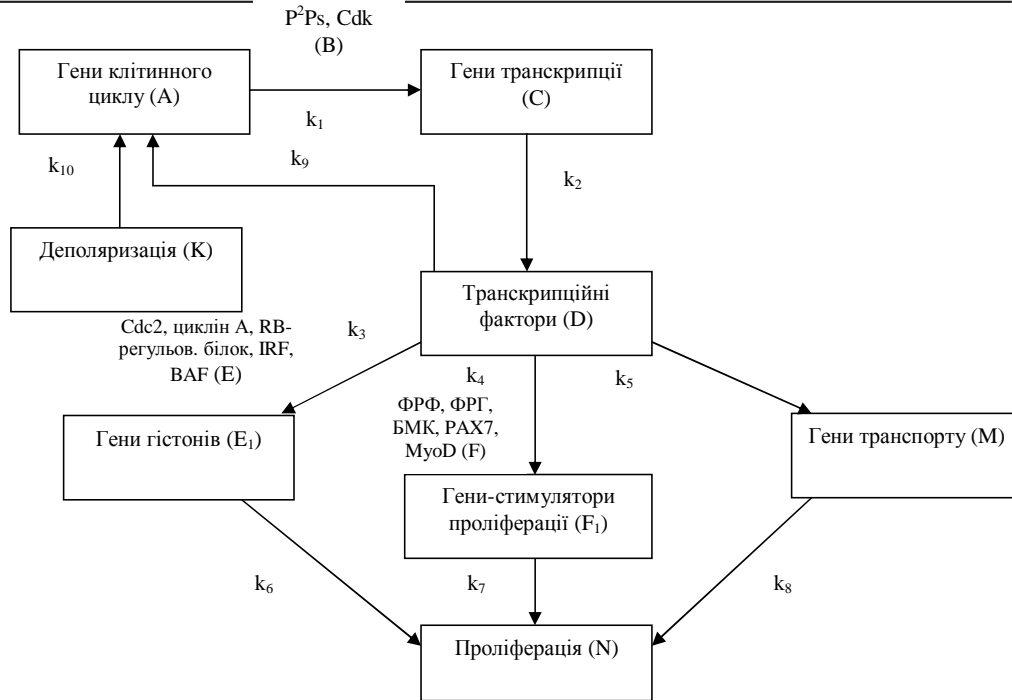


Рис. 1. Кінетична модель змін систем генетичного контролю клітин у стані проліферації.

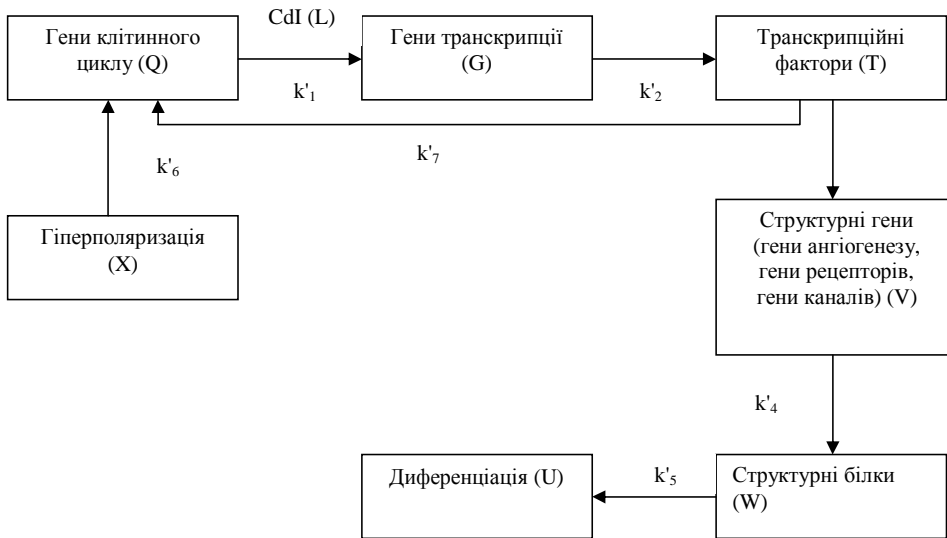


Рис. 2. Кінетична модель змін систем генетичного контролю клітин у стані диференціації.

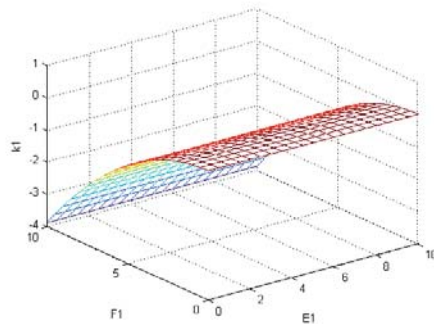
Опис даних кінетичних моделей математично у вигляді системи диференційних рівнянь зображений на рис.3.

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dA}{dt} = -k_1 A - k_9 D + k_{10} K \\ \frac{dB}{dt} = -k_1 B \\ \frac{dC}{dt} = k_1(A)(B) - k_2 C \\ \frac{dD}{dt} = k_2 C - k_3 D - k_4 D - k_5 D \\ \frac{dE}{dt} = k_3 D - k_6(E E_1) \\ \frac{dE_1}{dt} = -k_6 E_1 \\ \frac{dF}{dt} = k_4 D - k_7(F F_1) \\ \frac{dF_1}{dt} = -k_7 F_1 \\ \frac{dM}{dt} = k_5 D - k_8 M \\ \frac{dN}{dt} = k_6(E E_1) + k_7(F F_1) + k_8 M \\ \frac{dK}{dt} = -k_{10} K \end{array} \right. \quad (a)$$

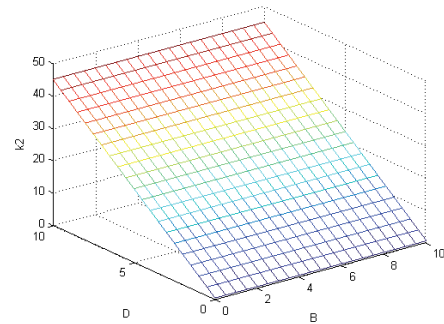
$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dQ}{dt} = -k'_1 Q + k'_6 X - k'_7 T \\ \frac{dL}{dt} = -k'_1 L \\ \frac{dG}{dt} = k'_1(Q L) - k'_2 G \\ \frac{dT}{dt} = k'_2 G - k'_3 T - k'_7 T \\ \frac{dV}{dt} = k'_3 T - k'_4 V \\ \frac{dW}{dt} = k'_4 V - k'_5 W \\ \frac{dU}{dt} = k'_5 W \\ \frac{dX}{dt} = -k'_6 X \end{array} \right. \quad (b)$$

Рис. 3. Системи диференційних рівнянь, що описують зміни у системах генетичного контролю клітин у стані проліферації (а) та диференціації (б).

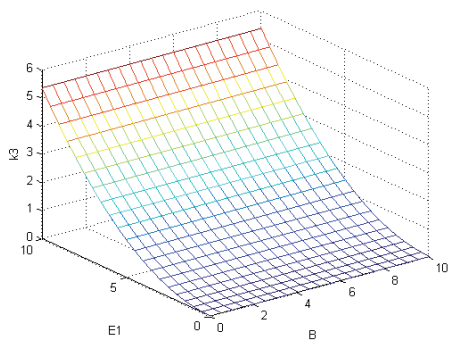
З наведених рис. 1–3 видно, що кожній реакції характерна своя константа швидкості. Для визначення конкретної величини кожної з констант, були побудовані поверхні відклику, зображені на рис. 4 та 5 (для клітин у стані проліферації та диференціації, відповідно), які відображають залежність константи швидкості реакції від параметрів, які вносять найбільший вклад у її величину. Всі поверхні відклику є багатовимірними структурами, і наведені рисунки зображають кожен з них з різних точок огляду.



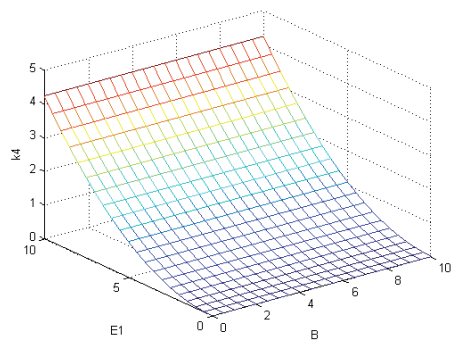
(a)



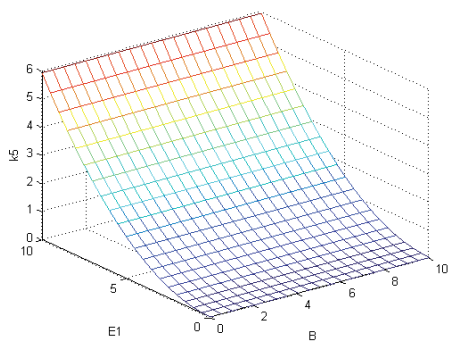
(b)



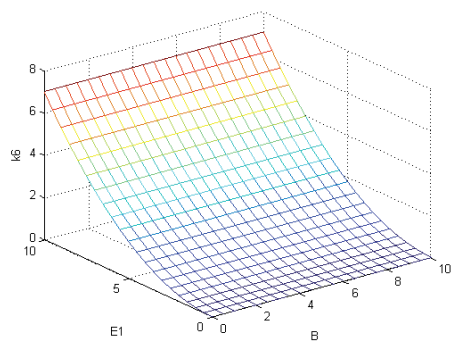
(c)



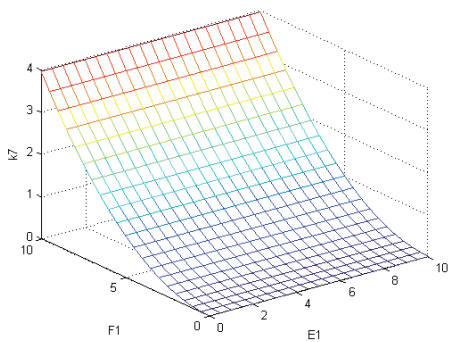
(d)



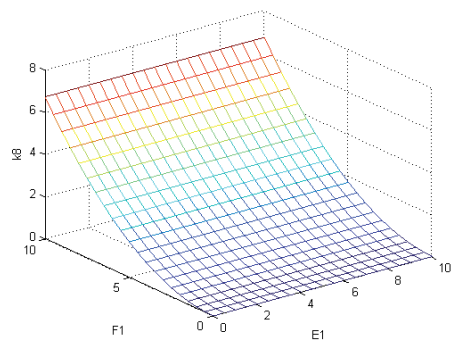
(e)



(f)



(g)



(h)

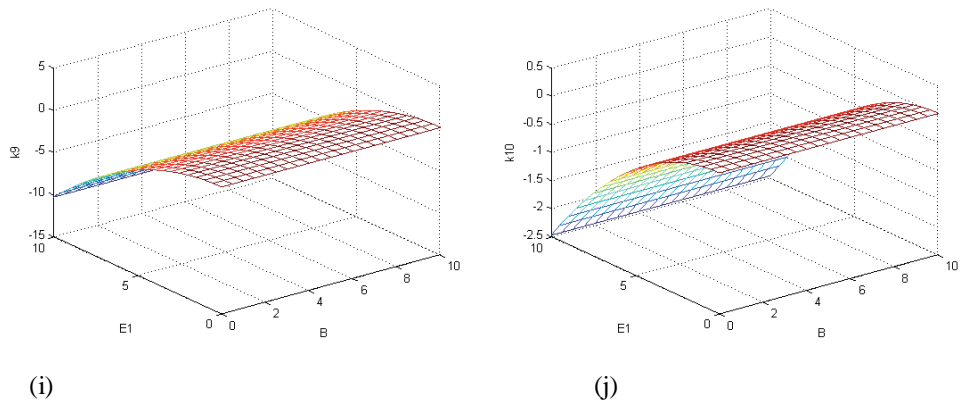
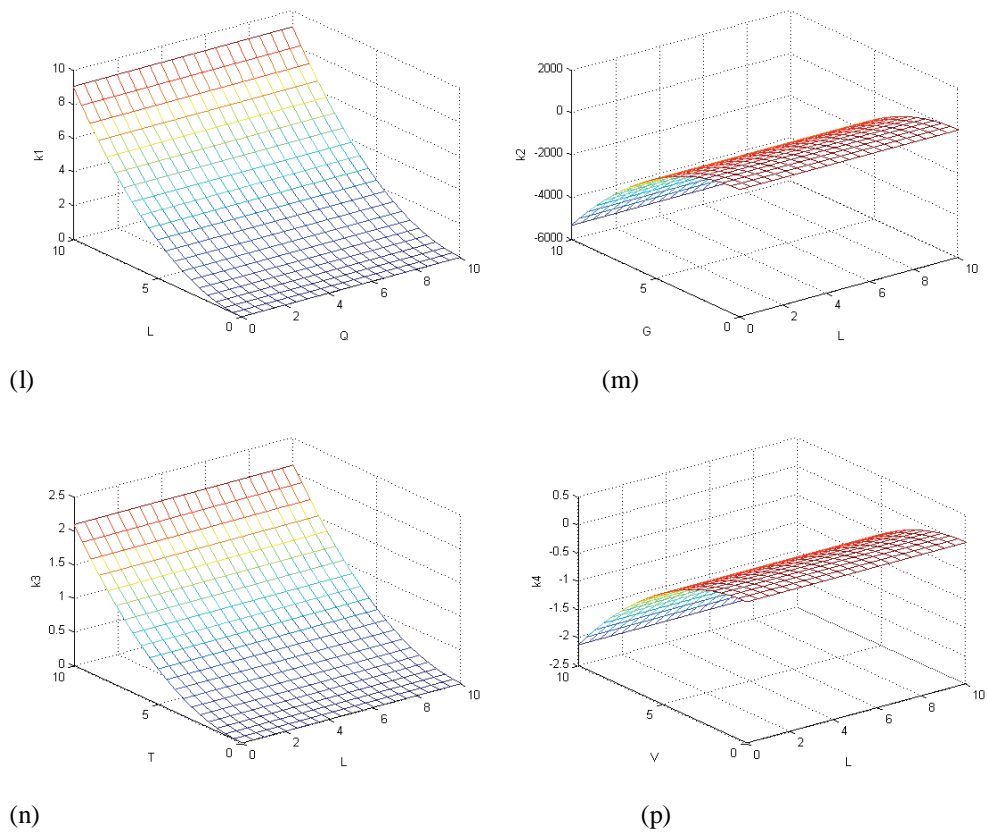
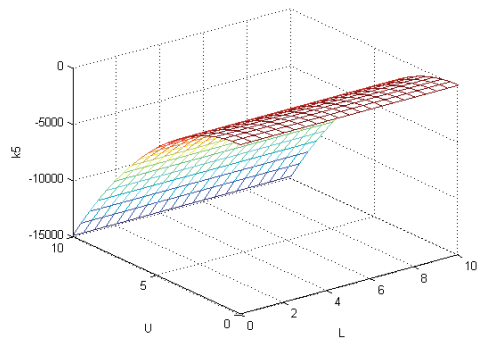
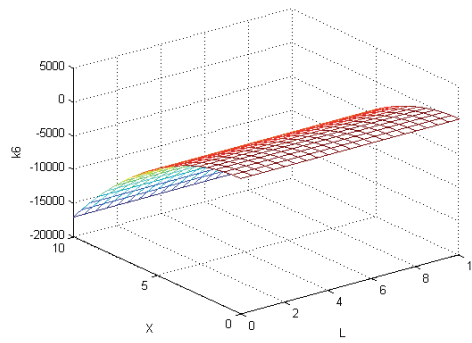


Рис. 4. Поверхні відклику для констант швидкостей реакцій перетворень у системах генетичного контролю клітин у стані проліферації: (а) – поверхня відклику для константи швидкості k_1 ; (б) – поверхня відклику для константи швидкості k_2 ; (в) – поверхня відклику для константи швидкості k_3 ; (г) – поверхня відклику для константи швидкості k_4 ; (д) – поверхня відклику для константи швидкості k_5 ; (е) – поверхня відклику для константи швидкості k_6 ; (ж) – поверхня відклику для константи швидкості k_7 ; (з) – поверхня відклику для константи швидкості k_8 ; (и) – поверхня відклику для константи швидкості k_9 ; (й) – поверхня відклику для константи швидкості k_{10} .

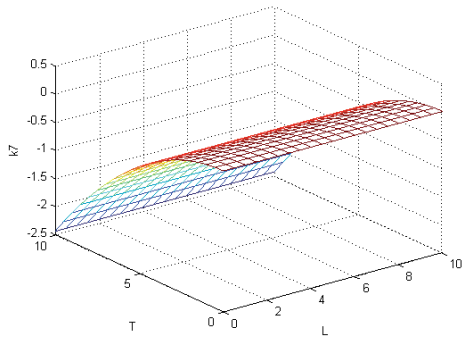




(q)



(r)



(s)

Рис. 5. Поверхні відклику для констант швидкостей реакцій перетворень у системах генетичного контролю клітин у стані диференціації: (l) – поверхня відклику для константи швидкості k'_1 ; (m) – поверхня відклику для константи швидкості k'_2 ; (n) – поверхня відклику для константи швидкості k'_3 ; (p) – поверхня відклику для константи швидкості k'_4 ; (q) – поверхня відклику для константи швидкості k'_5 ; (r) – поверхня відклику для константи швидкості k'_6 ; (s) – поверхня відклику для константи швидкості k'_7 .

Представлені на рис. 4 і 5 поверхні відклику показують, від яких параметрів найбільше залежить кожна окрема константа швидкості. Ці дані зібрані у табл. 1.

Як видно з таблиці 1, найбільший внесок системи генетичного контролю клітин у стані проліферації вносять гени гістонів і циклін-залежні кінази, а дещо менший – гени-стимулятори проліферації та транскрипційні фактори. Такі параметри як: гени клітинного циклу; гени транскрипції; білкові комплекси; гени транспорту та деполяризація клітинних мембран не мають значного впливу на швидкість перебігу реакцій. Щодо клітин у стані диференціації, то найбільший внесок мають інгібітори циклін-залежних кіназ. В однаковій мірі роблять внесок: транскрипційні фактори; гени клітинного циклу; гени транскрипції; структурні гени та гіперполяризація клітинної мембрани. Впливу структурних білків на швидкість перебігу перетворень не виявлено.

Проте представлені поверхні відклику не дають можливість візуально визначити максимальне значення константи, при якому швидкість перетворення в системі є найбільшою. Для цього нам необхідно було оцифрувати поверхню відклику, тобто знайти точні координати кожної точки. Після цього прологарифмувати одержані дані і побудувати їхню графічну залежність (метод Лайнуївера-Берка). Точка перетину утвореної прямої з віссю ординат і буде шуканим максимальним значенням константи швидкості, тобто k_{\max} .

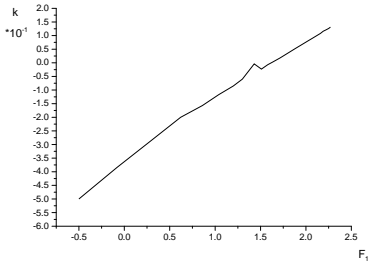
Таблиця 1

Параметри, що вносять найбільший вклад у значення констант швидкостей реакцій перетворень у клітинах у стані проліферації та диференціації

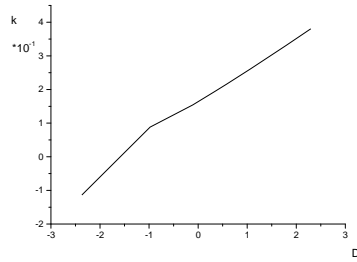
Константа швидкості (клітина у стані проліферації)	Позначення параметрів, що вносять найбільший вклад	Параметри, що вносять найбільший вклад	Константа швидкості (клітина у стані проліферації)	Позначення параметрів, що вносять найбільший вклад	Параметри, що вносять найбільший вклад
k_1	F_1, E_1	Гени-стимулятори проліферації, гени гістонів	k'_1	L, Q	Інгібітори циклін-залежних кіназ, гени клітинного циклу
k_2	D, B	Транскрипційні фактори, циклін-залежні кінази	k'_2	G, L	Гени транскрипції, Інгібітори циклін-залежних кіназ,
k_3	E_1, B	Гени гістонів, циклін-залежні кінази	k'_3	T, L	Транскрипційні фактори, інгібітори циклін-залежних кіназ
k_4	E_1, B	Гени гістонів, циклін-залежні кінази	k'_4	V, L	Структурні гени, інгібітори циклін-залежних кіназ
k_5	E_1, B	Гени гістонів, циклін-залежні кінази	k'_5	U, L	Диференціація, інгібітори циклін-залежних кіназ
k_6	E_1, B	Гени гістонів, циклін-залежні кінази	k'_6	X, L	Гіперполяризація, інгібітори циклін-залежних кіназ
k_7	F_1, E_1	Гени-стимулятори проліферації, гени гістонів	k'_7	T, L	Транскрипційні фактори, інгібітори циклін-залежних кіназ
k_8	F_1, E_1	Гени-стимулятори проліферації, гени гістонів			
k_9	E_1, B	Гени гістонів, циклін-залежні кінази			
k_{10}	E_1, B	Гени гістонів, циклін-залежні кінази			

Результати і їхнє обговорення

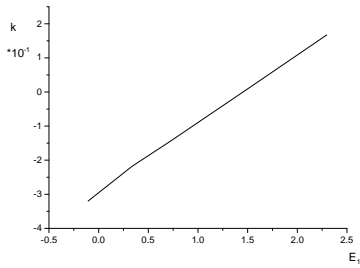
Внаслідок проведених дій ми одержали наступні графічні залежності, представлені на рис. 6 і 7.



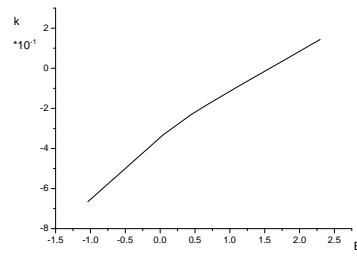
(a)



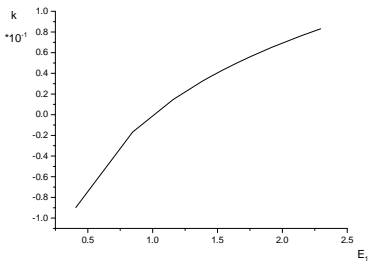
(b)



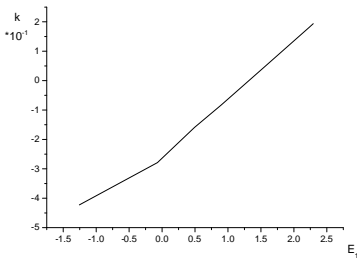
(c)



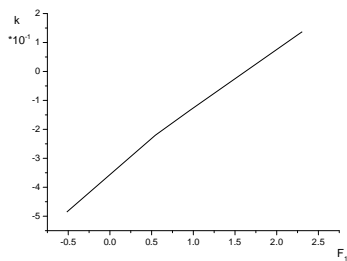
(d)



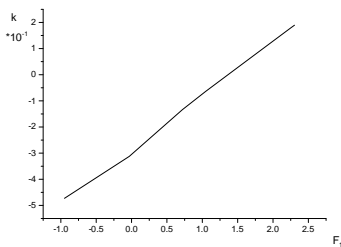
(e)



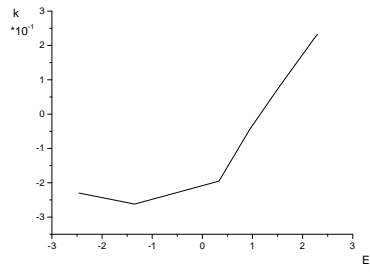
(f)



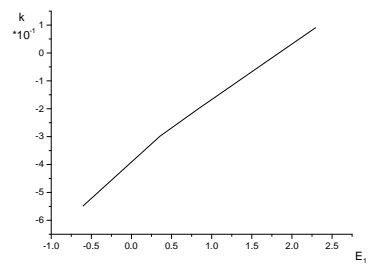
(g)



(h)

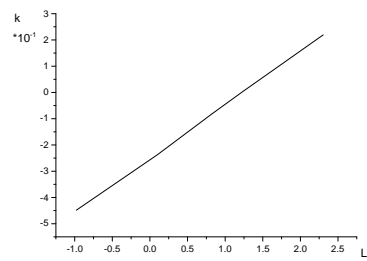


(i)

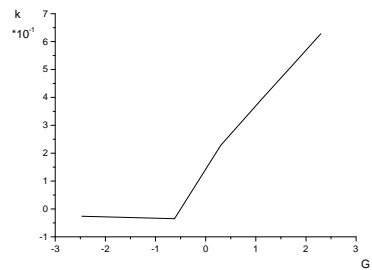


(j)

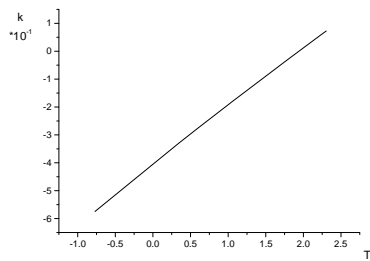
Рис. 6. Лінеаризовані поверхні відклику для констант швидкостей перетворень у системах генетичного контролю клітин у стані проліферації: k_1 (a); k_2 (b); k_3 (c); k_4 (d); k_5 (e); k_6 (f); k_7 (g); k_8 (h); k_9 (i); k_{10} (j).



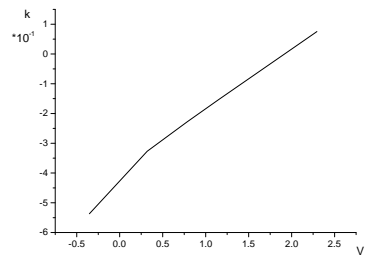
(l)



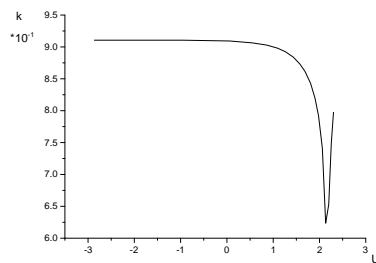
(m)



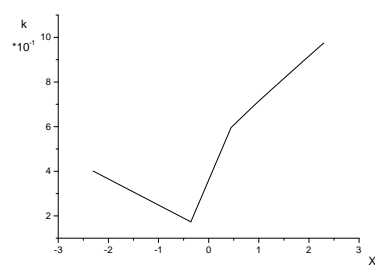
(n)



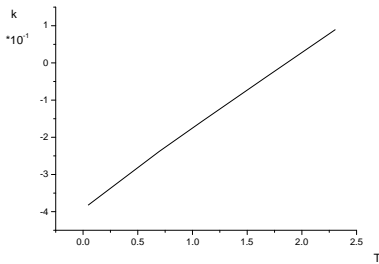
(p)



(q)



(r)



(s)

Рис.7. Лінеаризовані поверхні відклику для констант швидкостей перетворень у системах генетичного контролю клітин у стані диференціації: k'_1 (l); k'_2 (m); k'_3 (n); k'_4 (p); k'_5 (q); k'_6 (r); k'_7 (s).

Чисельні значення всіх k_{max} представлені у таблиці 2.

Таблиця 2

Значення констант швидкостей перетворень в системах генетичного контролю клітин у стані проліферації та диференціації

Константа швидкості перетворень в системах генетичного контролю клітин у стані проліферації	Величина константи швидкості перетворень в системах генетичного контролю клітин у стані проліферації	Константа швидкості перетворень в системах генетичного контролю клітин у стані диференціації	Величина константи швидкості перетворень в системах генетичного контролю клітин у стані диференціації
k_1	0,375	k'_1	0,25
k_2	0,15	k'_2	0,15
k_3	0,3	k'_3	0,4
k_4	0,375	k'_4	0,425
k_5	0	k'_5	0,9
k_6	0,3	k'_6	0,4
k_7	0,35	k'_7	0,45
k_8	0,35		
k_9	0,225		
k_{10}	0,4		

Використовуючи одержані точні значення констант швидкостей при розв'язку наших систем диференційних рівнянь, ми одержали графічно зміну інтенсивності всіх параметрів кінетичної моделі систем генетичного контролю клітини з часом. Одержані залежності для клітин у стані проліферації та диференціації зображені на рис. 8 і 9, відповідно.

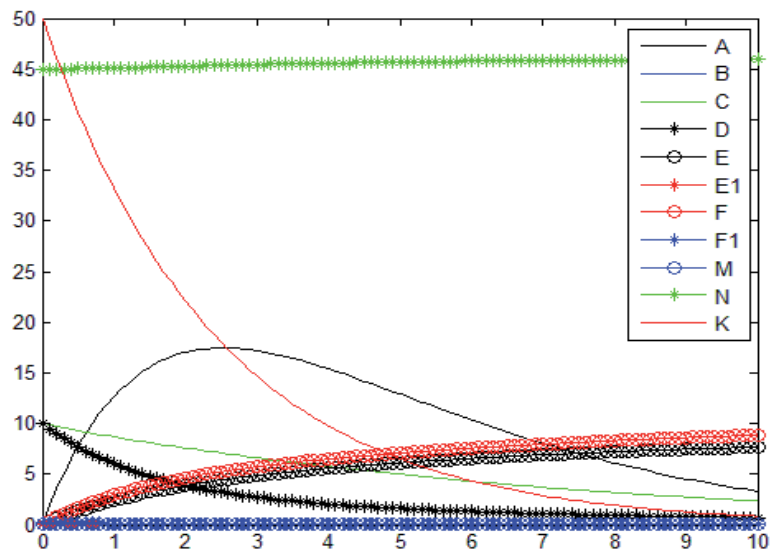


Рис. 8. Зміна з часом інтенсивності параметрів кінетичної моделі генетичного контролю клітини у стані проліферації при встановлених k_{\max} .

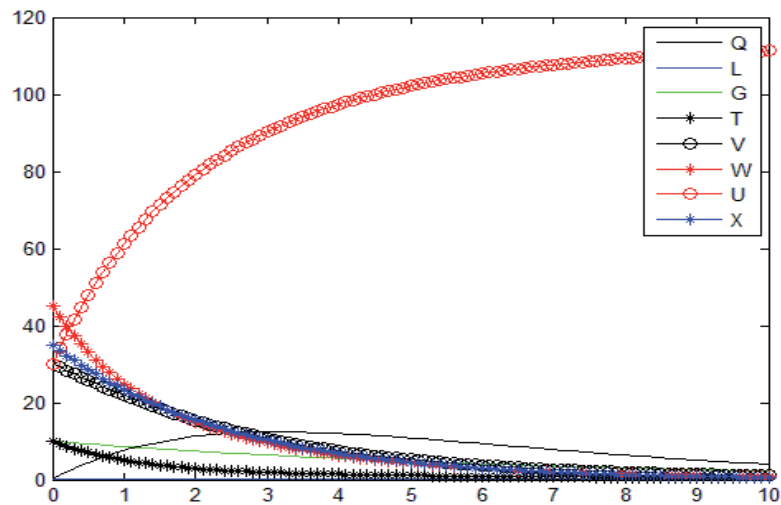


Рис. 9. Зміна з часом інтенсивності параметрів кінетичної моделі генетичного контролю клітини у стані диференціації при встановлених k_{\max} .

Як видно з рис. 8, при перебуванні клітини у стані проліферації, що супроводжується збільшенням трансмембранного потенціалу клітини, спостерігається зростання експресії генів гістонів і генів транспорту та концентрації фактору росту фібробластів (ФРФ), фактору росту гепатоцитів (ФРГ), білка морфогенезу кісток (БМК) та фактору MyoD . Крім того,

спостерігається зниження експресії генів транскрипції і, відповідно, концентрації транскрипційних факторів, а також цикліну А, RB-регульованого білка, VAF, IRF. Експресія генів-стимуляторів проліферації та концентрація циклін-залежних кіназ залишається без змін або ж ці зміни є незначними. Інтенсивність експресії генів клітинного циклу спочатку зростає, а потім спадає.

При перебуванні клітини у стані диференціації (рис. 9), що супроводжується зниженням трансмембранного потенціалу клітини, спостерігається зростання експресії генів клітинного циклу. На противагу цьому відбувається зниження експресії генів транскрипції і структурних генів, а, відповідно, і концентрації транскрипційних факторів і структурних білків. Концентрація інгібіторів циклін-залежних кіназ, як і циклін-залежних кіназ під час проліферації, залишається незмінною, чи ці зміни є незначними.

Таким чином, завдяки побудові поверхонь відклику для констант швидкостей реакцій перетворень в системах генетичного контролю клітин у стані проліферації та диференціації, було встановлено, що при перебуванні клітин у стані проліферації найбільший вплив на швидкість проходження реакцій мають експресія генів гістонів та концентрація циклін-залежних кіназ, а при перебуванні клітин у стані диференціації – інгібітори циклін-залежних кіназ. Отже, можна стверджувати, що співвідношення у клітині циклін-залежних кіназ та інгібіторів циклін-залежних кіназ є своєрідним тригерним механізмом, що запускає в клітині проліферативну чи диференційну програму, що і підтверджується теоретичними даними [7]. Окрім того, визначено конкретно значені k_{max} кожної з констант швидкостей, що дало змогу точно відобразити графічно зміну в часі всіх параметрів кінетичної моделі систем генетичного контролю клітин у стані проліферації та диференціації.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. *Зайцев Г. Н.* Математика в экспериментальной ботанике. М.: Наука, 1990. 296 с.
2. *Микшина В. С.* Математические модели управления в здравоохранении // Матем. моделирование. 2009. Т. 21. № 4. С. 111–121.
3. *Олар О. І.* Методи математичного моделювання. Чернівці: Буковинський державний медичний університет. 2012. 324 с.
4. *Плохинский Н. А.* Математические методы в биологии. М.: Изд-во Моск. ун-та. 1978. 265 с.
5. *Рубин А. Б.* Кинетика биологических процессов // Сорос. образов. журнал. 1998. Т. 10. С. 84–91.
6. *Скробала В. М., Данилик Р. М.* Моделювання біогеоценотичного покриву урбанізованих територій методами багатовимірного статистичного аналізу // Екологічний стрес і

- адаптація в біологічних системах. Тернопіль: Вид-во Терноп. держ. пед. ун-ту. 1998. С. 137–139.
7. Стадник І. Роль трансмембранного потенціалу і циклін-залежних кіназ у контролі проліферації та диференціації клітин // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2014. Вип. 64. С. 33–51.
 8. Стадник І., Санагурський Д. Кінетична модель змін генетичного контролю клітин у стані проліферації та диференціації // Біофизический вестн. 2013. Т. 1. № 29. С. 63–70.
 9. Стадник І. В., Санагурський Д. І. Опис змін генетичного контролю клітин у стані проліферації та диференціації // Біологічні студії. 2014. Т. 8. №1. С. 53–62.
 10. Ташкинов А. А. Модели классификации в задачах прогнозирования двигательного развития у детей с церебральным параличом // Системный анализ и управление в биомедицинских системах. 2010. Т. 9. № 1. С. 142–149.
 11. Shidlovskiy N. P. Theorey and methodology development of a system mobiled pharmacy – complexed // Alphabitmedical. 2005. Vol. 8. P. 24–26.

Стаття: надійшла до редакції 03.06.14

доопрацьована 02.10.14

прийнята до друку 03.10.14

DETERMINING OF THE OPTIMAL RATE CONSTANTS OF TRANSFORMATIONS IN THE GENETIC CONTROLLING SYSTEMS OF CELLS IN A STATE OF PROLIFERATION AND DIFFERENTIATION

I. Stadnyk, D. Sanagursky

Ivan Franko National University of Lviv

4, Hrushevskiy St., Lviv 79005, Ukraine

e-mail: irysjastadnyk@gmail.com

This paper presents seventeen response surfaces for each of the rate constants of changes in the genetic controlling systems of cells in a state of proliferation and differentiation. Based on the constructed response surfaces it was revealed which of the parameters of the kinetic model make the largest contribution to the behavior of dynamical system. Also it was estimated the specific values of rate constants of reactions in which the rate of changes in the genetic control of cell systems is maximal. In addition, it is graphically shown the time changes of parameter intensity of kinetic model of changes in the genetic control of cells in the state of proliferation and differentiation

Keywords: response surface, rate constant, genetic control, proliferation, differentiation.

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОПТИМАЛЬНЫХ КОНСТАНТ СКОРОСТЕЙ РЕАКЦИЙ
ПРЕОБРАЗОВАНИЙ В СИСТЕМАХ ГЕНЕТИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ КЛЕТОК В
СОСТОЯНИИ ПРОЛИФЕРАЦИИ И ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ**

И. Стадник, Д. Санагурский

Львовский национальный университет имени Ивана Франко

ул. Грушевского, 4, Львов 79005, Украина

e-mail: irysjastadnyk@gmail.com

В работе представлены семнадцать поверхностей отклика для каждой из констант скоростей преобразований в системах генетического контроля клеток в состоянии пролиферации и дифференциации. На основе построенных поверхностей отклика установлено, какие из параметров кинетической модели вносят наибольший вклад в поведение динамической системы. Также определены конкретные значения констант скоростей реакций, при которых скорость преобразований в системах генетического контроля клеток является максимальной. Кроме того, графически показано изменение во времени интенсивности параметров кинетической модели систем генетического контроля клеток в состоянии пролиферации и дифференциации

Ключевые слова: поверхность отклика, константа скорости, генетический контроль, пролиферация, дифференциация.

УДК 577.323:576.08

**СВІДЧЕННЯ ІСНУВАННЯ ХРОМАТИНУ В СТАНІ ФРАКТАЛЬНОЇ ГЛОБУЛИ ЗА
ДАНИМИ КОМЕТНОГО ЕЛЕКТРОФОРЕЗУ**

К. Афанасьєва*, М. Чопей, А. Сиволоб

Київський національний університет імені Тараса Шевченка

вул. Володимирська, 64/13, Київ 01601, Україна

e-mail: aphon@ukr.net

Дослідження просторової організації інтерфазного хроматину методом картування контактів між окремими геномними локусами з розділенням у кілька мільйонів пар нуклеотидів свідчать, що конформація хроматинової фібрили відповідає стану фрактальної глобули. Такий стан характеризується певними закономірностями щодо ймовірності утворення контактів між віддаленими локусами, а контакти, у свою чергу, приводять до появи петельних доменів. У роботі досліджуємо кінетику виходу петель ДНК при кометному електрофорезі та розмір петельних доменів, що мігрують. Отримані результати щодо розподілу довжини петельних доменів, розміром до 100 тисяч пар нуклеотидів,