



УДК 577.38:575.162

ОПИС ЗМІН ГЕНЕТИЧНОГО КОНТРОЛЮ КЛІТИН У СТАНІ ПРОЛІФЕРАЦІЇ ТА ДИФЕРЕНЦІАЦІЇ

I. В. Стадник, Д. І. Санагурський

*Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна
e-mail: irysjastadnyk@gmail.com*

На підставі побудованої кінетичної моделі змін у системах генетичного контролю клітин у стані проліферації та диференціації встановлено, що ці зміни відбуваються на генному, хромосомному, мембранному та іонному рівнях. Здійснено математичний опис кінетичної моделі змін систем генетичного контролю клітин як у стані проліферації, так і у стані диференціації. Методом чисельного інтегрування розв'язано системи диференціальних рівнянь, що відповідають таким змінам. Графічно представлено параметри кінетичної моделі змін систем генетичного контролю клітин у стані проліферації та диференціації з плином часу. Виявлено, що при мінімальних значеннях констант швидкостей реакцій ($k = 10^{-8}$ – 10^{-6}) спостерігається постійна величина параметрів кінетичної моделі впродовж усього часу, а при максимальних значеннях ($k = 0,25$ – 1) – нелінійна зміна параметрів моделі в часі, що і притаманно живим системам. Одержані результати свідчать про те, що перетворення в генетичних системах контролю, в живих клітинах відбуваються при максимальних значеннях констант швидкостей реакцій.

Ключові слова: проліферація, диференціація, чисельне інтегрування, система диференціальних рівнянь, кінетична модель.

ВСТУП

Проліферація та диференціація клітин є процесами, які контролюються складною програмою експресії генів, що утворює конкретний білок у певний момент часу. Помилки в цій програмі можуть бути критичними для розвитку клітини та її функціонування [6].

Визначено специфічні гени і транскрипційні фактори, що регулюють клітинну проліферацію та диференціацію [18]. Зокрема, виділені окремі набори генів, які беруть участь у проліферації та диференціації [12]. Виходячи з цього, до модуля проліферації належать гени транскрипції, ядерного і внутрішньоклітинного транспорту, клітинного циклу і клітинної рухливості, гени стимулятори клітинної проліферації, а до модуля диференціації – гени контролю клітинного циклу, репарації ДНК, поверхневих клітинних і стероїдних рецепторів, гени-супресори онкогенезу. Виявлено циклін-залежні кінази, необхідні для проліферації клітин, та відповідні інгібітори, які пригнічують їхню дію, що призводить до настання диференціації [29]. Також виявлено специфічні білкові комплекси, які зв'язуються з гістонами, і як

наслідок, регулюють проліферацію на хромосомному рівні [11, 21]. Виявлено низку білків (білки проліферативного потенціалу P²Ps, білки морфогенезу кісток, фактор росту фібробластів, фактор росту гепатоцитів, білки у м'язових клітинах PAX7, MyoD), які є у різних типах клітин, лише у стані проліферації [3, 8, 13, 15, 16, 19, 20, 24–26, 30], та білки (структурні білки м'язових клітин, Міогенін, Хордин – інгібітор білків морфогенезу кісток, білки матриксу остеобластів Osf 2, Omd, Ogn), притаманні клітинам лише у стані диференціації [5, 9, 10, 27–29]. Тому контроль переходу клітини зі стану проліферації у стан диференціації здійснюється на генному, хромосомному та клітинному рівнях [3–21, 24–30].

Крім того, виявлено, що перебування клітини у стані проліферації чи диференціації залежить від рівня трансмембранного потенціалу клітини [23]. Наприклад, підвищення рівня трансмембранного потенціалу характерне для клітин у стані проліферації, а зниження рівня трансмембранного потенціалу притаманне для клітин, у яких розпочалися диференційні процеси [22]. Отже, вказується на взаємопов'язаність проліферативних і диференційних процесів зі зміною трансмембранного потенціалу клітини.

Беручи до уваги окремі вищенаведені дані про контроль процесів проліферації та диференціації на генному, хромосомному, мембранному та клітинному рівнях, ми побудували кінетичну модель, яка описує зміни в генетичному контролі клітин у стані проліферації та диференціації. Проведено математичний опис даної кінетичної моделі та здійснено числовий аналіз системи диференційних рівнянь, що описують цю модель.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Систематизувавши дані щодо ролі окремих генів, білків та інших факторів у процесах проліферації та диференціації, побудували на їхній основі кінетичну модель генетичного контролю клітин у стані проліферації та диференціації.

Зміни систем генетичного контролю клітин у стані проліферації зображені на рис. 1.

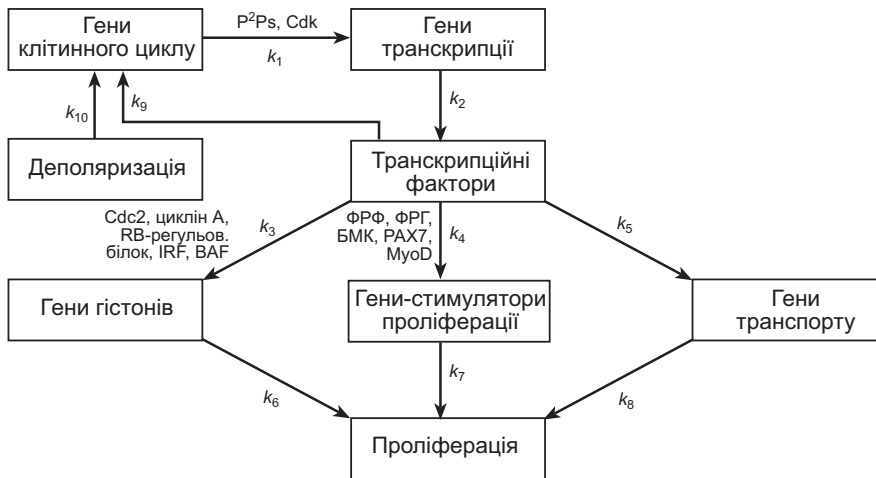


Рис. 1. Зміни систем генетичного контролю клітин у стані проліферації

Fig. 1. Changes in genetic controlling systems in proliferating cells

Як видно з рис. 1, під час проліферації зміни в клітині відбуваються на генному, хромосомному, мембранному та іонному рівнях.

Кінетична модель змін систем генетичного контролю клітин у стані проліферації зображена на рис. 2.

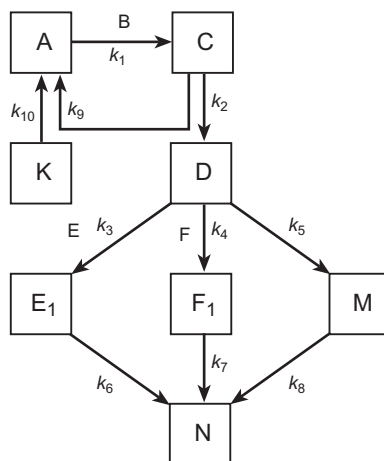


Рис. 2. Кінетична модель змін систем генетичного контролю клітин у стані проліферації

Fig. 2. Kinetic model of changes in genetic controlling systems in proliferating cells

У подальшому ми здійснили математичний опис цієї моделі, де за допомогою системи диференціальних рівнянь описали зміну кожного параметра в часі. Нижче наведена ця система диференціальних рівнянь:

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dA}{dt} = -k_1 A - k_9 D + k_{10} K \\ \frac{dB}{dt} = -k_1 B \\ \frac{dC}{dt} = k_1 (A)(B) - k_2 C \\ \frac{dD}{dt} = k_2 C - k_3 D - k_4 D - k_5 D \\ \frac{dE}{dt} = k_3 D - k_6 (EE_1) \\ \frac{dE_1}{dt} = -k_6 E_1 \\ \frac{dF}{dt} = k_4 D - k_7 (FF_1) \\ \frac{dF_1}{dt} = -k_7 F_1 \\ \frac{dM}{dt} = k_5 D - k_8 M \\ \frac{dN}{dt} = k_6 (EE_1) + k_7 (FF_1) + k_8 M \\ \frac{dK}{dt} = -k_{10} K \end{array} \right.$$

де $\frac{dA}{dt}$ – зміна експресії генів клітинного циклу в часі; $\frac{dB}{dt}$ – зміна концентрації й активності циклінзалежних кіназ у часі; $\frac{dC}{dt}$ – зміна експресії генів транскрипції в часі; $\frac{dD}{dt}$ – зміна в часі концентрації транскрипційних факторів; $\frac{dE}{dt}$ – зміна в часі концентрації комплексу cdc2, цикліну A, RB-регульованого білка, IRF та BAF; $\frac{dE_1}{dt}$ – зміна експресії генів гістонів у часі; $\frac{dF}{dt}$ – зміна в часі концентрації й активності ФРФ, ФРГ, БМК, PAX7 та MyoD; $\frac{dF_1}{dt}$ – зміна експресії генів-стимуляторів проліферації в часі; $\frac{dM}{dt}$ – зміна в часі експресії генів транспорту; $\frac{dN}{dt}$ – зміна в часі проліферації та $\frac{dK}{dt}$ – зміна в часі рівня поляризації клітинної мембрани; k_1-k_{10} – константи швидкостей реакцій.

Зміни систем генетичного контролю клітин у стані диференціації зображені на рис. 3.

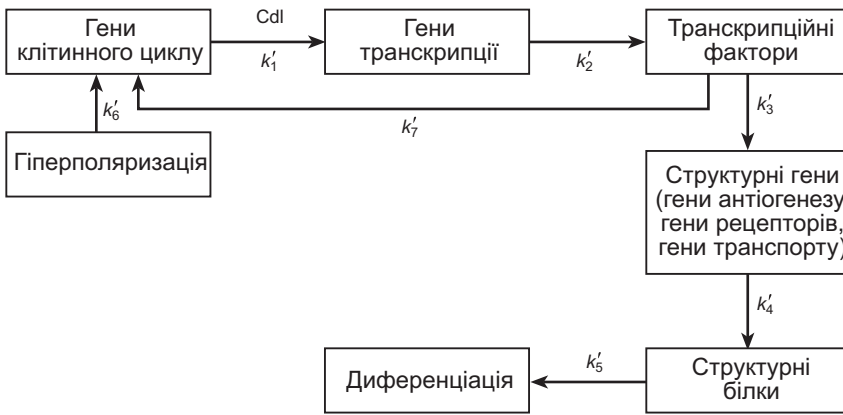


Рис. 3. Зміни систем генетичного контролю клітин у стані диференціації

Fig. 3. Changes in genetic controlling systems in differentiating cells

Кінетична модель змін систем генетичного контролю клітин у стані диференціації зображена на рис. 4.

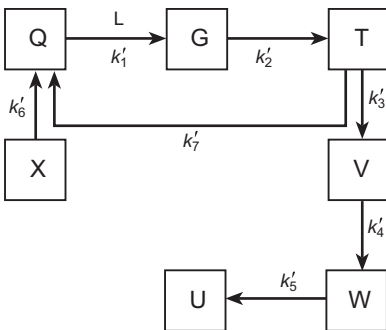


Рис. 4. Кінетична модель змін систем генетичного контролю клітин у стані диференціації

Fig. 4. Kinetic model of changes in genetic controlling systems in differentiating cells

Проведено математичний опис кінетичної моделі клітин у стані диференціації. Відповідно, нижче подана система диференційних рівнянь, яка описує цю модель:

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

де $\frac{dQ}{dt}$ – зміна експресії генів клітинного циклу в часі; $\frac{dL}{dt}$ – зміна в часі концентрації та активності інгібіторів циклінзалежних кіназ; $\frac{dG}{dt}$ – зміна в часі експресії генів транскрипції; $\frac{dT}{dt}$ – зміна концентрації транскрипційних факторів у часі; $\frac{dV}{dt}$ – зміна експресії структурних генів у часі; $\frac{dW}{dt}$ – зміна в часі концентрації структурних білків; $\frac{dU}{dt}$ – зміна в часі диференціації; $\frac{dX}{dt}$ – зміна рівня поляризації клітинної мембрани в часі; k'_1, \dots, k'_7 – константи швидкостей реакцій.

Дані системи диференційних рівнянь було розв'язано методом числового інтегрування [2] за допомогою програми MATLAB 7.0.1 [1].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ І ЇХНЄ ОБГОВОРЕННЯ

Розв'язки систем рівнянь, що описують зміни генетичного контролю клітин у стані проліферації та диференціації, подано графічно (рис. 5 і 6). Отримані результати відображають зміну початкових умов параметрів A, B, C, D, E, E1, F, F1, M, N, K (перша система) та Q, L, G, T, V, W, U, X (друга система) з плином часу, при константах швидкостей реакцій k_1, \dots, k_{10} та k'_1, \dots, k'_7 (перша та друга системи, відповідно). Для обчислення було вибрано такі значення початкових умов і констант швидкостей реакцій, представлених у табл. 1 і 2 відповідно.

У результаті бачимо таку зміну інтенсивності параметрів з часом у клітині у стані проліферації та диференціації (рис. 5).

Як видно з рис. 5, при мінімальних константах швидкостей реакцій спостерігається постійне значення інтенсивності всіх параметрів упродовж усього часу, що не є характерним для живої системи.

Випадок, коли процеси відбуваються при максимальних значеннях констант швидкостей реакцій у клітині у стані проліферації та диференціації, зображений на рис. 6.

Як видно з рис. 6, A, спостерігається нелінійна зміна інтенсивності параметрів з часом у клітині. Наприклад, за умови перебування клітини у стані проліферації,

що супроводжується підвищенням трансмембранного потенціалу клітини (деполяризація клітинної мембрани), спостерігається зростання експресії генів гістонів і генів транспорту й концентрації фактора росту фібробластів (ФРФ), фактора росту гепатоцитів (ФРГ), білка морфогенезу кісток (БМК) і фактора MyoD. Натомість спостерігається зниження експресії генів транскрипції та відповідно концентрації транскрипційних факторів, а також цикліну А, RB-регульованого білка, BAF, IRF. Експресія генів-стимуляторів проліферації та концентрація циклінзалежних кіназ залишається без змін або ж ці зміни є незначними. Інтенсивність експресії генів клітинного циклу спочатку зростає, а потім спадає. Одержані результати підтверджуються експериментальними літературними даними [3, 8, 13, 15, 16, 19, 20, 24–26, 30].

Таблиця 1. Значення початкових умов зміни інтенсивності параметрів у клітині для двох систем

Table 1. Values of primary conditions of changes of parameters' intensity in cells for two systems

Параметр I системи рівнянь	Початкові умови (вміст параметра у клітині, %)	Параметр II системи рівнянь	Початкові умови (вміст параметра у клітині, %)
A	0,2	Q	0,2
B	0,04	L	0,017
C	10	G	10
D	10	T	10
E	0,017	V	30
E1	0,02	W	45
F	0,017	U	30
F1	0,02	X	35
M	0,03		
N	45		
K	50		

Таблиця 2. Значення констант швидкостей реакцій для двох систем рівнянь

Table 2. Values of reaction rate constants for two equation systems

K, I система	Min	Max	K, II система	Min	Max
k_1	10^{-8}	0,25	k'_1	10^{-8}	0,25
k_2	10^{-6}	1	k'_2	10^{-6}	1
k_3	10^{-8}	0,3	k'_3	10^{-7}	0,6
k_4	10^{-8}	0,3	k'_4	10^{-6}	1
k_5	10^{-8}	0,3	k'_5	10^{-7}	0,6
k_6	10^{-6}	0,9	k'_6	10^{-8}	0,25
k_7	10^{-6}	0,9	k'_7	10^{-7}	0,75
k_8	10^{-6}	0,9			
k_9	10^{-8}	0,25			
k_{10}	10^{-7}	0,75			

Щодо змін з плином часу інтенсивності параметрів у клітині, яка перебуває у стані диференціації (рис. 6, Б), то вона теж є нелінійного характеру. Наприклад, у разі перебуванні клітини у стані диференціації, що супроводжується зниженням

трансмембранного потенціалу клітини (гіперполяризація клітинної мембрани), спостерігається зростання експресії генів клітинного циклу. На протипагу цьому відбувається зниження експресії генів транскрипції та структурних генів, а відповідно і концентрації транскрипційних факторів і структурних білків. Концентрація інгібіторів циклінзалежних кіназ, як і циклінзалежних кіназ під час проліферації, залишається незмінною чи ці зміни є незначними. Ці результати також підтверджуються низкою експериментальних літературних даних [5, 9, 10, 27–29].

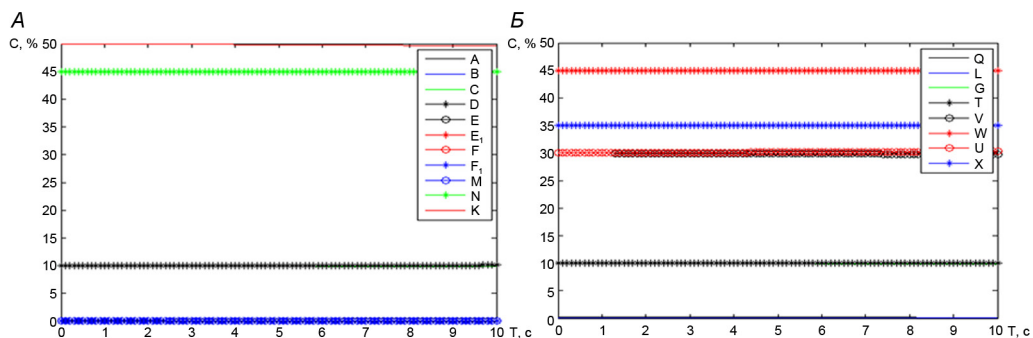


Рис. 5. Зміна інтенсивності параметрів з часом при мінімальних значеннях констант швидкостей реакцій у клітині у стані проліферації (А) та диференціації (Б)

Fig. 5. Intensity time changes of parameters at minimal values of reaction rate constants in proliferating (A) and differentiating (B) cells

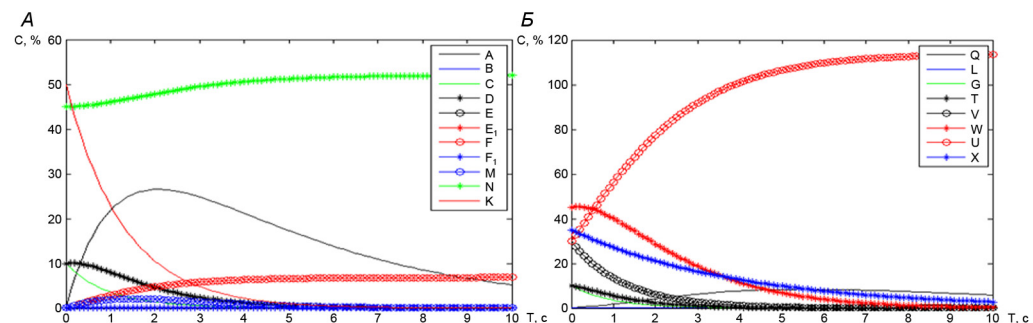


Рис. 6. Зміна інтенсивності параметрів з часом при максимальних значеннях констант швидкостей реакцій у клітині у стані проліферації (А) та диференціації (Б)

Fig. 6. Intensity time changes of parameters at maximal values of reaction rate constants in proliferating (A) and differentiating (B) cells

Отже, як видно з рис. 6, спостерігається нелінійна зміна активності генів, білків чи інших факторів з плином часу при максимальних значеннях констант швидкостей реакцій, що є ознакою живої системи. Тому можна стверджувати, що зміни в системах генетичного контролю клітин у стані проліферації та диференціації відбуваються при максимальних значеннях констант швидкостей реакцій, які відображають ці зміни.

ВИСНОВКИ

Генетичний контроль проліферації та диференціації у клітині відбувається на генному, хромосомному, мембранному та іонному рівнях. Нами була побудована кінетична модель, яка відображає зміни у генетичному контролі клітин у стані проліферації та диференціації. Системи диференційних рівнянь, які описують дані кінетичні моделі, були розв'язані методом числового інтегрування. Було виявлено, що всі процеси, задіяні тією чи іншою мірою у генетичному контролі проліферації та диференціації, відбуваються при максимальних значеннях констант швидкостей реакцій цих перетворень.

1. Дьяконов В.П. **MATLAB и SIMULINK для радиоинженеров**. Москва: ДМК-Пресс, 2011. 976 с.
2. Самарский А.А. **Введение в численные методы**. Москва: Наука, 1987. 487 с.
3. Allen R.E., Sheehan S.M., Taylor R.G. Hepatocyte growth factor activates quiescent skeletal muscle satellite cells *in vitro*. **Journal of Cellular Physiology**, 1995; 165(2): 307–312.
4. Binggeli R., Weinstein R.C. Membrane potentials and sodium channels: Hypotheses for growth regulation and cancer formation based on changes in sodium channels and gap junctions. **Journal of Theoretical Biology**, 1986; 123: 377–401.
5. Canalis E., Economides A.N., Gazzero E. Bone Morphogenetic Proteins, Their Antagonists, and the Skeleton. **Endocrinology Review**, 2003; 24(2): 218–235
6. Coila B. Cell differentiation and proliferation biology. **Biology**, 2009; 32: 241–250.
7. Cone C.D. Unified theory on the basic mechanism of normal mitotic control and oncogenesis. **Journal of Theoretical Biology**, 1971; 30: 151–181.
8. Floss T., Arnold H.H., Braun T. A role for FGF-6 in skeletal muscle regeneration. **Genes Development**, 1997; 11(16): 2040–2051
9. Füchtbauer E.M., Westphal H. MyoD and myogenin are coexpressed in regenerating skeletal muscle of the mouse. **Developmental Dynamics: An Official Publication of the American Association of Anatomists**, 1992; 193(1): 34–39.
10. Grounds M.D., Garrett K.L., Lai M.C. Identification of skeletal muscle precursor cells *in vivo* by use of MyoD1 and myogenin probes. **Cell and Tissue Research**, 1992; 267(1): 99–104.
11. Ho L., Ronan J., Wu J. An embryonic stem cell chromatin remodeling complex, esBAF, is essential for embryonic stem cell self-renewal and pluripotency. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 2009; 106(13): 5181–5186.
12. Kai X., Dong D., Shanshan Z. Identification of proliferation/differentiation switch in the cellular network of multicellular organisms. **Plos Computational Biology**, 2006; 4: 124–148.
13. Kastner S., Elias M.C., Rivera A.J. Gene Expression Patterns of the Fibroblast Growth Factors and Their Receptors During Myogenesis of Rat Satellite Cells. **Journal of Histochemistry and Cytochemistry**, 2000; 48(8): 1079–1096.
14. Kim Y., Zheng X., Zheng Y. Proliferation and differentiation of mouse embryonic stem cells lacking all lamins. **Cell Research**, 2013; 55: 213–226.
15. Lee M.H., Javed A., Kim H.J. Transient upregulation of CBFA1 in response to bone morphogenetic protein-2 and transforming growth factor β 1 in C2C12 myogenic cells coincides with suppression of the myogenic phenotype but is not sufficient for osteoblast differentiation. **Journal Cell Biochemistry**, 1999; 73: 114–125.
16. Minoo P., Sullivan W., Solomon L. Loss of Proliferative Potential during Terminal Differentiation Coincides with the Decreased Abundance of a Subset of Heterogeneous Ribonuclear Proteins. **Journal Cell Biology**, 1989; 109(5): 1937–1946
17. Putney L.K. Na-H Exchange-dependent Increase in Intracellular pH Times G2/M Entry and Transition. **Journal of Biological Chemistry**, 2003; 278: 44645–44649.
18. Ravasi T. The transcriptional network that controls growth arrest and differentiation in a human myeloid leukemia cell line. **Nature Genetics**, 2009; 41: 553–562.

19. Seale P., Sabourin L.A., Girgis-Gabardo A. Pax7 is required for the specification of myogenic satellite cells. **Cell**, 2000; 102(6): 777–786.
20. Sheehan S.M., Allen R.E. Skeletal muscle satellite cell proliferation in response to members of the fibroblast growth factor family and hepatocyte growth factor. **Journal Cell Physiology**, 1999; 181(3): 499–506
21. Stein L.J., Lian J.B., Stein J.S. Control of cell cycle regulated histone genes during proliferation and differentiation. **Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord**, 1996; 3: 84–90.
22. Sundelacruz S., Levin M., Kaplan D. Membrane Potential Controls Adipogenic and Osteogenic Differentiation of Mesenchymal Stem Cells. **PLoS ONE**, 2008; 3(11): 325–342.
23. Sundelacruz S., Levin M., Kaplan D. Role of Membrane Potential in Regulation of Cell Proliferation and Differentiation. **Stem Cell Review and Reproduction**, 2009; 5: 231–246.
24. Tatsumi R., Anderson J.E., Nevoret C.J. HGF/SF Is Present in Normal Adult Skeletal Muscle and Is Capable of Activating Satellite Cells. **Developmental Biology**, 1998; 194(1): 114–128.
25. Tatsumi R., Hattori A., Ikeuchi Y. Release of Hepatocyte Growth Factor from Mechanically Stretched Skeletal Muscle Satellite Cells and Role of pH and Nitric Oxide. **Molecular Biology of the Cell**, 2002; 13(8): 2909–2918.
26. Yablonka-Reuveni Z., Seger R., Rivera A.J. Fibroblast Growth Factor Promotes Recruitment of Skeletal Muscle Satellite Cells in Young and Old Rats. **Journal of Histochemistry and Cytochemistry**, 1999; 47(1): 23–42.
27. Yablonka-Reuveni Z., Rivera A.J. Temporal expression of regulatory and structural muscle proteins during myogenesis of satellite cells on isolated adult rat fibers. **Developmental Biology**, 1994; 164(2): 588–603.
28. Zammit P.S., Golding J.P., Nagata Y. Muscle satellite cells adopt divergent fates: a mechanism for self-renewal. **The Journal of Cell Biology**, 2004; 166(3): 347–357.
29. Zavitz K., Zipursky L. Controlling cell proliferation in differentiating tissues: genetic analysis of negative regulators of G1-S-phase progression. **Current Opinion in Cell Biology**, 1997; 9: 773–781.
30. Zhao X., Yang Z., Liang G. et al. Dual effects of isoflurane on proliferation, differentiation and survival in human neuroprogenitor cells. **Anesthesiology**, 2013; 118(3): 537–549.

DESCRIPTION OF CHANGES IN GENETIC CONTROL IN CELLS AT THEIR PROLIFERATION AND DIFFERENTIATION

I. V. Stadnyk, D. I Sanagursky

*Ivan Franko National University of Lviv, 4, Hrushevskyyi St., Lviv 79005, Ukraine
e-mail: irysjastadnyk@gmail.com*

On the basis of previously built kinetic model of changes in genetic controlling systems in cells at their proliferation and differentiation, it was held that these changes take place on gene, chromosome, membrane and ion levels. The mathematic description of kinetic model of changes in genetic controlling systems in cells either in a state of proliferation and in a state of differentiation was made. Differential equations systems which describe these changes were solved using numerical integration method. Parameters of kinetic model of changes in genetic controlling systems in proliferating and differentiating cells were presented graphically. It was found, that when reaction speed constants are minimal ($k = 10^{-8} - 10^{-6}$), concentration of kinetic model parameters is constant during the whole time, and when they are maximal ($k = 0.25 - 1$) – non-linear time changes of parameters, which characteristic for living systems. These results postulate

that changes in genetic controlling systems in living cells take place when reaction speed constants are maximal.

Keywords: proliferation, differentiation, numerical integration, differential equations system, kinetic model.

ОПИСАНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ ГЕНЕТИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ КЛЕТОК В СОСТОЯНИИ ПРОЛИФЕРАЦИИ И ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ

И. В. Стадник, Д. І. Санагурський

*Львовский национальный университет имени Ивана Франко
ул. Грушевского, 4, Львов 79005, Украина
e-mail: irysjastadnyk@gmail.com*

На основании построенной кинетической модели изменений в системах генетического контроля клеток в состоянии пролиферации и дифференциации установлено, что эти изменения происходят на генном, хромосомном, мембранном и ионном уровнях. Проведено математическое описание кинетической модели изменений систем генетического контроля клеток, как в состоянии пролиферации, так и в состоянии дифференциации. Методом численного интегрирования решены системы дифференциальных уравнений, которые отвечают таким изменениям. Графически представлены параметры кинетической модели изменений систем генетического контроля клеток в состоянии пролиферации и дифференциации в течение времени. Обнаружено, что при минимальных значениях констант скоростей реакций ($k = 10^{-8}$ – 10^{-6}) наблюдается постоянное значение параметров кинетической модели на протяжении всего времени, а при максимальных значениях ($k = 0,25$ – 1) – нелинейное изменение параметров со временем, что и характерно для живых систем. Полученные результаты свидетельствуют о том, что преобразования в генетических системах контроля в живых клетках происходят при максимальных значениях констант скоростей реакций.

Ключевые слова: пролиферация, дифференциация, численное интегрирование, система дифференциальных уравнений, кинетическая модель.

Одержано: 21.11.2013