

ИНТЕГРИРОВАННЫЕ МАТЕМАТИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ, ОПИСЫВАЮЩИЕ СЛОЖНЫЕ БИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ

© 2017 г. Е.Л. Мищенко, О.В. Петровская, А.М. Мищенко*, Е.Д. Петровский,
Н.В. Иванисенко, В.А. Иванисенко

*Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН,
630090, Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 10*

**Новосибирский национальный исследовательский государственный университет,
630090, Новосибирск, ул. Пирогова, 2*

E-mail: elmish@bionet.nsc.ru

Поступила в редакцию 17.02.17 г.

В обзоре проведено описание интегрированных математических моделей процессов гомеостаза кальция, взаимодействия патоген-хозяин (на примере вируса гепатита С), функционирования головного мозга человека в ответ на стимулирующее событие. Показано, что интегрированные математические модели могут быть использованы для более глубокого изучения механизмов и условий, ведущих к развитию заболеваний различного характера (опорно-двигательного аппарата, вирусных инфекций, различных нарушений функционирования головного мозга), идентификации ключевых мишеней и условий для направленного действия лекарств нового поколения, а также интерпретации результатов современных томографических технологий исследования заболеваний.

Ключевые слова: математическое моделирование, гомеостаз кальция, вирус гепатита С, головной мозг человека, стимулирующее событие, механизмы заболеваний, терапевтические эффекты.

Изучение взаимодействий в сложных биологических процессах является одной из центральных проблем системной биологии и помогает раскрывать механизмы многих заболеваний, их характер, течение, а также объяснять эффекты применяемой терапии [1–3]. Так, пересечение сигнальных путей рецептора эстрогена и рецептора фактора роста является одной из причин появления устойчивости к тамоксифену, селективному модулятору рецептора эстрогена и известному противоопухолевому препарату, применяемому при лечении рака груди [1]. В обзоре [2] было описано взаимодействие митоген-активируемых протеинкиназных (МАРК) сигнальных путей со Smad-сигнальным путем, активируемым трансформирующим фактором роста β (TGF- β). Индивидуальные МАРК- и Smad-пути приводят к активации

транскрипционных факторов, регулирующих клеточную пролиферацию, дифференциацию, подвижность, апоптоз, а также образование опухолей. Пересечение МАРК- и Smad-путей, реализующееся при фосфорилировании МАРК-киназами линкерных районов Smad-белков, во многих случаях влияет на способность Smad-белков транслоцироваться в ядра клеток, где они участвуют в формировании разных гетерогенных транскрипционных комплексов. Непрямое взаимодействие МАРК- и Smad-путей включает контроль экспрессии некоторых Smad-белков и их посттрансляционную модификацию МАРК-киназами. Взаимодействие МАРК- и Smad-путей оказывает, в частности, большое влияние на онкогенез: приводит к истощению антипролиферативного ответа, подавлению апоптоза, способствует трансдифференциации опухолевых клеток в метастатический высокоагрессивный фенотип, ускоряет метастазирование в кость при раке груди и простаты.

В обзоре [3] приводится описание механизма функционирования транскрипционных факторов семейства NF- κ B и их участия в регуляции экспрессии более 100 генов, большинство которых вовлечено в иммунный ответ, а также онкогенез, стрессовый ответ, регуляцию апоп-

Сокращения: МАРК – митоген-активируемая протеинкиназа, TGF- β – трансформирующий фактор роста β , ВГС – вирус гепатита С, PTH – паратиреоидный гормон, RANK – рецептор-активатор NF- κ B, RANKL – RANK-лиганд, OPG – остеопротегерин, IFN- α – интерферон- α , fMRI – магнитно-резонансная томография, MRS – магнитно-резонансная спектроскопия, BOLD-сигнал – сигнал, зависящий от уровня оксигенации крови, ANLS – лактат-челночный процесс.

тоза. Сигнальные пути, ведущие к активации NF-κB, являются привлекательной мишенью для вирусов, которые при инфицировании клеток способны индуцировать клеточные сигналы, активирующие эти пути. Кроме того, некоторые вирусные белки способны прямо взаимодействовать с сигнальными молекулами пути и стимулировать NF-κB-индукцию. В этом случае активность NF-κB может приводить наряду с транскрипцией клеточных генов к транскрипционной стимуляции вирусных генов в инфицированных вирусом клетках. Так, в клеточных линиях, инфицированных вирусом иммунодефицита человека ВИЧ-1, фактор NF-κB и вышестоящий ИКК-мультисубъединичный киназный комплекс сигнального NF-κB-пути оказываются постоянно активными. Известно, что промотер-проксимальный (энхансерный) район ВИЧ-1 содержит два рядом расположенных сайта связывания NF-κB [3], поэтому этот транскрипционный фактор играет главную роль в индукции генной экспрессии ВИЧ-1, которая дополнительно усиливается транскрипционным фактором Sp-1, взаимодействующим с несколькими сайтами, примыкающими к сайтам связывания NF-κB. Аналогичные стратегии устойчивой активации клеточного NF-κB-сигнального пути для стимуляции транскрипции своих генов используют и другие вирусы, например вирус Т-клеточного лейкоза человека, вызывающий острый Т-клеточный лейкоз, вирус γ герпеса, вызывающий лимфопролиферативные заболевания и ассоциированный с саркомой Капоши и множественной миеломой, вирусы гепатита В и С, которые могут приводить к развитию гепатокарциномы. Стратегии, которые используются вирусами для активации NF-κB-пути, приводят к усилению репликации вирусов, сохранению жизнеспособности инфицированных клеток, их неограниченной пролиферации, подавлению иммунного ответа и апоптоза.

Одним из подходов для исследования функционирования генных сетей, описывающих взаимодействия в сложных биологических процессах, может служить математическое моделирование. Главной проблемой при создании математических моделей является знание кинетических параметров, поэтому большинство уже существующих моделей получено для хорошо изученных процессов, таких как метаболизм холестерина [4], инфекция вируса гриппа А [5], репликация РНК репликона вируса гепатита С [6], развитие воспаления при ревматоидном артрите [7]. Так как сложные процессы описываются взаимодействиями генных сетей, в последнее

время появились интегрированные модели, комплексно описывающие взаимодействия как в индивидуальных генных сетях, так и между ними. Такие модели можно создать, если известны общие объекты (общие переменные), через которые осуществляются взаимодействия генных сетей или взаимодействия между разными объектами (разными переменными) сетей. Хотя информация о прямых взаимодействиях генных сетей в литературе часто отсутствует, в то же время в ней в большом количестве представлены косвенные данные о взаимном влиянии генных сетей друг на друга. Например, такой информацией могут служить данные изменения уровня экспрессии всех или части генов, функционирующих в составе генной сети, в ответ на нокаут или ингибирование специфического гена или группы генов другой генной сети [8,9]. Недавно на основе таких экспериментальных данных был предложен новый подход, позволяющий интегрировать независимые математические модели репликации субгеномного репликона вируса гепатита С в клетках и пути индукции апоптоза через введение управляющего функционала [10].

Данный обзор посвящен некоторым примерам получения интегрированных математических моделей, описывающих взаимодействия в таких сложных функционирующих системах, как гомеостаз кальция в организме, вирус гепатита С/хозяин, головной мозг человека/стимулирующее событие. Интегрированные модели в формализованном виде объясняют динамику патологических процессов в этих системах, механизмы, ведущие к развитию заболеваний, клинические и терапевтические эффекты, а анализ таких моделей служит платформой для разработки новых стратегий лечения.

ИНТЕГРИРОВАННАЯ МОДЕЛЬ СИСТЕМЫ КАЛЬЦИЕВОГО ГОМЕОСТАЗА И КОСТНОЙ РЕКОНСТРУКЦИИ ОРГАНИЗМА ЧЕЛОВЕКА

Гомеостатическая система кальция в организме человека чрезвычайно сложна и включает гормоны, большинство которых известно, однако главными ее регуляторами являются паратиреоидный гормон (PTH), кальцитриол ($1\alpha,25$ -дигидроксивитамин D_3), кальцитонин, а также свободный кальций внеклеточного компартмента организма. Паратиреоидные железы являются кальций-зависимым эндокринным органом, который через кальций-чувствительные рецепторы мгновенно отвечает увеличением секреции PTH даже на очень незначительное

снижение внеклеточной концентрации кальция. PTH характеризуется рядом функций: активирует D-1 α -гидроксилазу – фермент, гидроксилирующий 25-гидроксивитамин D₃ с образованием кальцитриола в почках, регулирует предельный уровень выведения Ca²⁺ и фосфат-ионов почками, а также обмен кальция между костной тканью и внеклеточной жидкостью. Кальцитриол ингибирует свой собственный синтез, стимулирует всасывание Ca²⁺ и фосфат-ионов в тонком кишечнике, подавляет вывод кальция и фосфат-ионов почками. В присутствии PTH кальцитриол регулирует обмен кальция между костной тканью и внеклеточным компартментом. В свою очередь, кальций и кальцитриол регулируют продукцию PTH паратиреоидными железами. Регуляция вывода кальция почками и накопления его в костной ткани осуществляется также свободным кальцием и кальцитонином [11]. Нарушение кальциевого гомеостаза приводит к таким тяжелым заболеваниям, как гипо- и гиперкальциемия, остеопороз, рахит и другие.

Минимальная модель [12] описывает динамику главных участников и регуляторов системного кальциевого гомеостаза в организме человека, включая кальций и фосфат в общем костном и межклеточном компартментах, фосфат в общем клеточном компартменте, PTH в межклеточном компартменте, 1 α -гидроксилазу в почках, кальцитриол в межклеточном компартменте, транспортеры кальция в кишечнике, транспортеры фосфата в почках и пул активных клеток, секретирующих PTH, в паратиреоидных железах. Модель представлена одиннадцатью нелинейными дифференциальными уравнениями, описывающими динамику компоненты x (кальция, фосфата, PTH, 1 α -гидроксилазы, кальцитриола, транспортеров кальция, транспортеров фосфата, активных клеток паратиреоидных желез) в компартменте y (межклеточный компартмент, костная ткань, общий пул клеток организма, кишечник, почки, паратиреоидные железы) как результат суммарного потока компоненты x в компартмент y . Модель хорошо описывала опубликованные в литературе клинические исследования влияния изменения концентрации кальция в плазме на секрецию PTH, а также корреляции концентраций кальция в плазме и моче у пациентов с гипо- и гиперфункцией паратиреоидных желез. Модель была полезна для анализа общих механизмов заболеваний, связанных с нарушением кальциевого метаболизма, а также для их детальной характеристики.

В костной ткани непрерывно происходит процесс реконструкции. Остеобласты (клетки,

продуцирующие новую костную ткань) и остеокласты (клетки, удаляющие старую костную ткань), координированно функционируют в трехмерной минеральной структуре кости. Взаимодействие между остеобластами и остеокластами обеспечивает баланс роста и потери костной массы – процессов, которые тесно взаимосвязаны. Хроническое нарушение биохимической или клеточной связи между костными клетками ведет к метаболическим заболеваниям костной ткани. Модель, учитывающая главные механизмы взаимодействия остеобластов и остеокластов, предложена в работе [13]. В модели реализована идея о том, что, с одной стороны, соотношение пулов незрелых и зрелых остеобластов контролирует степень активности остеокластов, а с другой – остеокласты способны высвобождать из костного матрикса в локальное микроокружение цитокин, регулирующий стадию дифференцировки остеобластов и, следовательно, их активность (рис. 1).

Модель учитывает, что дифференциация предшественников остеокластов и последующее формирование активных многоядерных остеокластов происходит в результате контакта предшественников остеокластов с активными остеобластами. Агентами для такого контакта являются рецептор-активатор NF- κ B (RANK), экспрессирующийся на поверхности предшественников остеокластов, и RANK-лиганд (RANKL), экспрессирующийся на поверхности остеобластов. В то же время предшественники остеобластов секретируют в межклеточное пространство растворимый рецептор остеопротегерин (OPG), который взаимодействует с RANKL и ингибирует RANK/RANKL-взаимодействие, подавляя активацию остеокластов. Модель учитывает, что активные остеокласты влияют на пул активных остеобластов, высвобождая из костного матрикса трансформирующий фактор роста TGF- β , который стимулирует отбор, миграцию и пролиферацию предшественников остеобластов, но в то же время подавляет конечную стадию дифференцировки остеобластов. В модели учтено, что PTH (совместно с витамином D) является важнейшим гормоном, регулирующим реконструкцию костной ткани. PTH в стационарной концентрации в плазме, а также при терапевтическом введении в организм связывается с PTH-рецепторами остеобластов и стимулирует продукцию RANKL, подавляя продукцию OPG. Это приводит к росту количества активных остеокластов. Таким образом, RANK/RANKL/OPG-путь, а также разное влияние TGF- β на предшественники остеобластов, находящихся на разных стадиях дифференцировки, играют ключевую роль в регуляции ко-

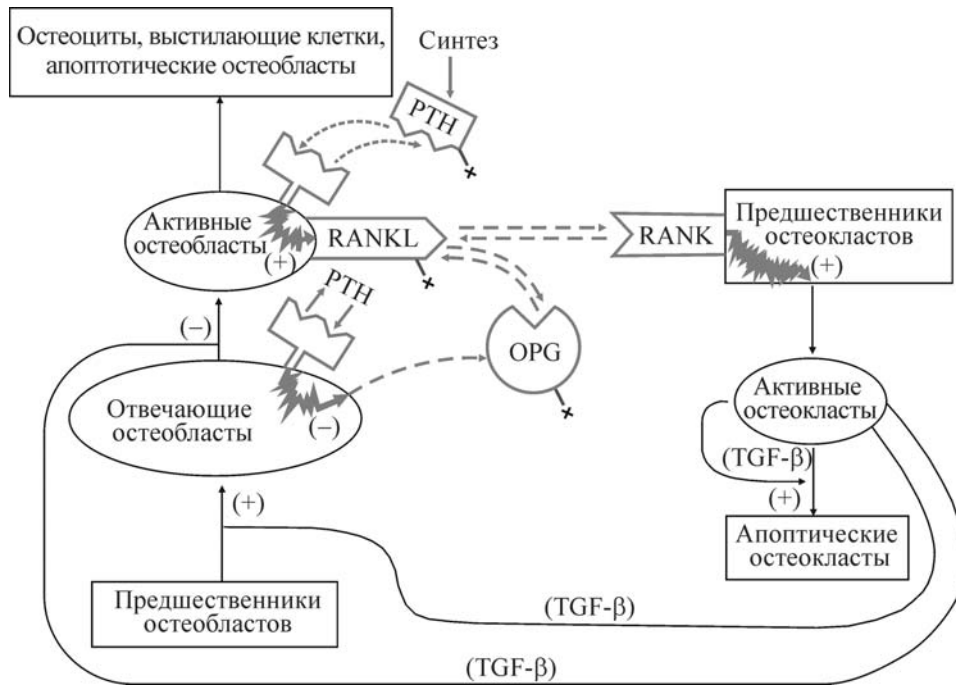


Рис. 1. Схема процессов, включенных в модель взаимодействия активных остеобластов и остеокластов [13]. Обозначения: овалы – типы клеток, включенных в модель; прямоугольники – типы клеток, не включенных в модель. Зигзагообразные стрелки обозначают сигнальные пути, ведущие к увеличению (снижению) продукции указанного агента. Рисунок адаптирован из работы [13].

стной реконструкции и являются основой модели. Модель представлена тремя дифференциальными уравнениями, описывающими динамику пулов преостеобластов, активных остеобластов и остеокластов.

С помощью модели были рассчитаны динамики концентраций костных клеток при возмущении системы добавлением или удалением с постоянной скоростью одного из типов клеток (активных остеобластов, незрелых остеобластов, активных остеокластов), а также при введении в систему PTH, RANKL и OPG в течение длительного времени (60 суток). Модель позволила выявить закономерности реконструкции костной ткани. В частности, показано, что при непрерывном введении в систему PTH или RANKL наблюдается рост концентрации остеокластов, в то время как в условиях введения OPG – быстрое снижение концентрации остеокластов при значительно более медленном снижении концентрации остеобластов. Модель также показала, что баланс формирования и деструкции кости определяется отношением RANKL/OPG, которое в итоге определяет соотношение остеокластов и остеобластов (C/B) в системе как важного показателя при терапии (например, при введении PTH или глюкокортикоидов). Оценку параметров проводили по литературным данным. Интересным оказался

результат, что расчетное отношение C/B, полученное при анализе модели, имело значение 1,25 для кости с постоянной массой (гомеостаз). В литературе это отношение приводится в диапазоне 0,28–1,47 [14,15]. Анализ модели при варьировании параметров, имитирующих условия, при которых происходят заболевания кости (дефицит эстрогена, витамина D₃ или TGF-β и другие), показал хорошее соответствие расчетных значений изменения соотношения между остеокластами и остеобластами, суммарного количества этих клеток, являющегося показателем обмена ткани кости, а также концентраций костных клеток с клиническими данными. Варьированием параметров авторы также сделали вывод, что терапия, направленная на формирование костной ткани, является более эффективной по сравнению с подавлением ее резорбции.

На основе моделей [12] и [13] в работе [16] была сконструирована интегрированная физиологически обоснованная модель кальциевого гомеостаза и костной реконструкции, включающая описание внутриклеточного антиапоптотического Runx2-CREB-Bcl-2-сигнального пути в остеобластах, индуцируемого прерывистым введением PTH [17]. Схема процессов, учтенных в модели, представлена на рис. 2. Целью работы было создание модели, позволяющей исследо-

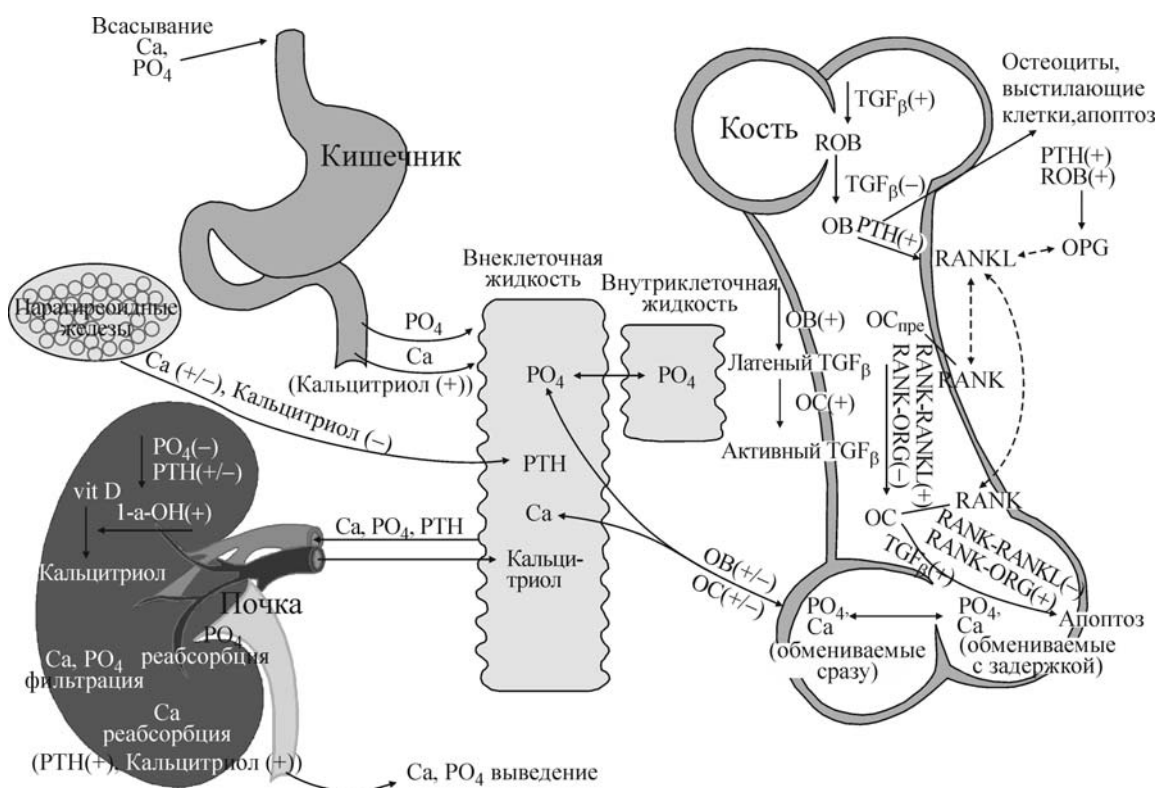


Рис. 2. Схема процессов, включенных в интегрированную модель клеточной реконструкции и системного гомеостаза. Обозначения: ОБ – остеобласты; ROB – преостеобласты, дифференцирующиеся в ОБ; ОС – остеокласты. Рисунок адаптирован из работы [16].

вать причины и состояние заболеваний, а также терапевтические эффекты у пациентов.

В отличие от моделей [12] и [13], интегрированная модель [16] позволила изучать процесс ремоделирования кости с учетом регуляции и поддержки системного кальциевого гомеостаза в организме человека. При конструировании интегрированной модели исходные минимальные модели были расширены. В частности, в интегрированной модели были более детально рассмотрены процессы обмена кальция и фосфата между костью и плазмой, процессы регуляции активности костных клеток с участием $TGF-\beta$ и PTH, апоптоза в остеобластах с участием Runx2-Vcl-2-CREB-контролирующего механизма в условиях прерывистого введения в организм PTH. Кроме того, интегрированная модель в явном виде описывала динамику RANK, RANKL и OPG, являющихся ключевыми участниками взаимодействия остеобластов и остеокластов. Рассмотрение этих молекул позволило моделировать образование комплексов RANK/RANKL и RANKL/OPG с учетом влияния на эти процессы активного $TGF-\beta$ и PTH. Интегрированная модель представлена 28-ю дифференциальными уравнениями, в которых

присутствует 49 параметров уравнений и 19 гиперболических функций, описывающих влияние одних переменных на динамику других. Пять параметров, характеризующих константы скоростей деградации PTH в плазме, обмена фосфата между плазмой и костной тканью, а также между плазмой и клетками всего организма, продукции и элиминации кальцитриола, были взяты из модели [12]. Оценку других параметров уравнений модели проводили путем подгонки решений модели к различным клиническим данным, в том числе полученным до, в течение и после терапии, направленной на рост плотности костной ткани или подавление ее резорбции, а также к данным, полученным от пациентов с нарушением функции паратиреоидных желез и разной степенью почечной недостаточности. Модель хорошо описывала опубликованные в литературе долговременные динамики изменения концентраций PTH, Ca^{2+} , биохимических маркеров функций остеобластов и остеокластов в плазме пациентов при терапии деносумабом (моноклональными антителами к RANKL) [18]. Также с помощью модели хорошо описывались долговременные динамики изменения концентраций маркеров функций остеобластов и остеокластов в плазме при терапии

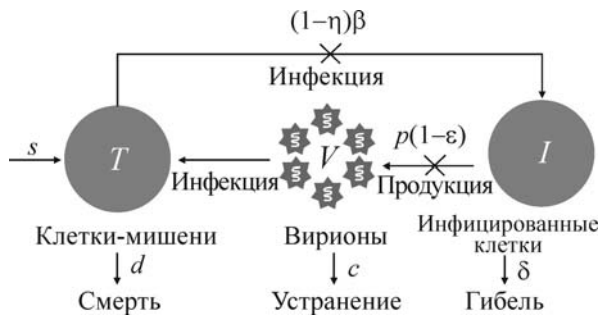


Рис. 3. Схема процессов, включенных в стандартную кинетическую модель [26]. Клетки-мишени (T) продуцируются с константой скорости s , погибают с константой скорости d и превращаются в инфицированные клетки (I) с константой скорости β свободным вирусом (V). Инфицированные гепатоциты погибают с константой скорости δ . Вирус V продуцируется клетками I с константой скорости p и устраняется из системы с константой скорости c . Предполагается, что лечение IFN- α блокирует новую инфекцию с эффективностью η и блокирует продукцию вирионов с эффективностью ϵ . Рисунок адаптирован из работы [26].

терипаратидом (РТН 1-34) [19]. При этом модель позволила предсказать динамики изменения концентраций других важных показателей в плазме (фосфата, кальцитриола и других) при терапии деносумабом и терипаратидом, которые соответствовали клиническим данным [20]. У пациентов, страдающих первичным гипертиреозом (прогрессивный рост концентрации эндогенного РТН в плазме), модель предсказывала в конце 12-месячного периода увеличение в несколько раз по сравнению с нормой концентраций РТН и биохимического маркера функции остеокластов, а также значительное увеличение концентрации Ca^{2+} и биохимического маркера функции остеобластов и повышенную концентрацию фосфата в плазме. Величина и направление каждого из предсказанных эффектов соответствовали клиническим данным [21]. В случае вторичного гипертиреоза, вызванного прогрессивной почечной недостаточностью, модель показала совсем другие динамики изменения концентраций РТН, кальцитриола, фосфата, Ca^{2+} , биохимических маркеров функций остеокластов и остеобластов в плазме. Расчет модели соответствовал клиническим данным [22]. Для первичного гипотиреоза (снижение до 50% эндогенного РТН в плазме) модель показала динамики значительного снижения концентраций Ca^{2+} , биохимических маркеров функций остеокластов и остеобластов, небольшого уменьшения концентрации кальцитриола и практически постоянной концентрации фосфата в плазме, что со-

ответствовало клиническим данным [23]. Таким образом, интегрированная модель количественно описывала клеточные аспекты и главные контролируемые механизмы реконструкции кости и гомеостаза кальция и внесла важный вклад в понимание сложных динамических процессов физиологии костной ткани и эндокринной системы, а также клинических и терапевтических эффектов.

ИНТЕГРИРОВАННЫЕ МОДЕЛИ СИСТЕМЫ «ВИРУС ГЕПАТИТА С – ХОЗЯИН»

В настоящее время инфекция вирусом гепатита С (ВГС) приобрела глобальный характер, так как более 180 миллионов людей в мире уже инфицировано этим вирусом [24]. Инфекция ВГС развивается в хроническое, часто бессимптомное заболевание печени, которое часто приводит к циррозу и раку печени [25]. Математические модели были разработаны для изучения механизмов взаимодействий в системе «ВГС–хозяин» и динамик ВГС при терапии. Наиболее активно развивались модели клеточной инфекции ВГС, описывающие инфекцию организма ВГС и эффекты терапии без учета внутриклеточных процессов репликации вируса [26–32]. В последнее время также были получены детерминистические модели, детально описывающие внутриклеточные процессы репликации РНК ВГС [33,34] и эффекты действия лекарств на эти процессы [35]. Недавно была предложена стохастическая модель внутриклеточной репликации РНК ВГС, детально описывающая репликацию РНК ВГС дикого типа, появление и наработку лекарственно-устойчивых мутантов, а также эффекты на эти процессы новых анти-ВГС-лекарств [6].

Первой моделью, описывающей инфекцию ВГС при терапии интерфероном- α (IFN- α) на уровне организма была модель, предложенная в работе [26]. Она включала три дифференциальных уравнения, описывающих динамики клеток-мишеней (T), инфицированных клеток (I) и вируса (V) с константами скоростей продукции клеток-мишеней (s); гибели клеток-мишеней (d); инфекции вирусом, циркулирующим в системе (β); гибели инфицированных клеток (δ); продукции свободных вирионов инфицированными клетками (p); удаления вирионов из циркуляции (c). Предполагалось, что IFN- α блокирует новую инфекцию клеток T и продукцию вирионов клетками I с эффективностями η и ϵ соответственно (рис. 3).

Параметры модели оценивали с использованием клинических данных по снижению РНК

ВГС в плазме пациентов при терапии IFN- α , а также литературных данных. Модель хорошо описывала двухфазные динамики снижения РНК ВГС в плазме пациентов при терапии IFN- α . Эти динамики характеризовались начальной быстрой фазой снижения РНК ВГС в первые–вторые сутки после начала терапии, затем следовала более медленная вторая фаза ее снижения. Модель показала, что эффективность снижения РНК ВГС в первой фазе определяется параметром скорости устранения вируса из циркуляции c , тогда как эффективность ее падения во второй фазе определяется параметром гибели инфицированных клеток δ , значение которого значительно варьировало для разных пациентов (для некоторых пациентов оно даже было равно нулю). Чтобы модель была более реалистичной и могла объяснять другие виды динамик РНК ВГС при терапии IFN- α , а также динамики РНК ВГС при терапии с применением новых лекарств, действующих на вирусные мишени в инфицированной клетке, модель была существенно модифицирована [27,28]. Учет пролиферации инфицированных и неинфицированных гепатоцитов в модели [27,28] путем введения нового параметра r , относящегося к максимальной скорости пролиферации гепатоцитов, позволил объяснить трехфазные кинетики снижения вирусной РНК при терапии с применением IFN- α и часто наблюдаемый ее рост после прекращения терапии, включая даже возврат к первоначальному уровню. Следует отметить, что адаптация модели [27,28] давала реалистичные значения константы скорости гибели инфицированных клеток δ . Для исследования развития лекарственной устойчивости ВГС при лечении телапревиром, специфичным ингибитором NS3 протеазы ВГС, модель [26] подверглась другой модификации, включающей введение лекарственно-чувствительного дикого (V_s) и лекарственно-устойчивого мутантного (V_r) вариантов вируса [29]. Предполагалось, что V_s и V_r инфицируют клетки T с образованием двух типов инфицированных клеток (I_s и I_r). В модель были введены новые параметры, относящиеся к скорости продукции вирионов V_s и V_r (p_s и p_r), эффективности подавления продукции вирионов V_s и V_r телапревиром (ϵ_s и ϵ_r) и вероятности продукции клетками I_s лекарственно-устойчивого вируса V_r (μ). Значения параметров оценивали с привлечением литературных и клинических данных. Модель объясняла сложные динамики РНК ВГС с начальной (быстрой), второй (медленной) фазами снижения РНК ВГС и третьей фазой роста РНК ВГС при монотерапии телапревиром. В предполо-

жении, что устойчивый к телапревиру V_r чувствителен к IFN- α , модель хорошо описала динамики РНК ВГС при комбинированной терапии пациентов телапревиром и IFN- α .

В моделях [30,36], также созданных на основе модели [26], были учтены фармакокинетики ингибиторов NS3-протеазы телапревира и боцепревира путем введения параметра ϵ как функции, меняющейся во времени. Это позволило описать долговременные динамики РНК ВГС пациентов при терапии этими ингибиторами и объяснить их более высокую эффективность по сравнению с терапией, основанной на IFN- α .

Для оценки репликационной способности *in vivo* лекарственно-устойчивых мутантов ВГС (A156V/T, V36A/M, R155K, T54A, V36M/R155K), часто встречающихся в плазме пациентов при терапии телапревиром, а также для расчета динамик РНК ВГС этих вариантов, дикого типа и суммарных динамик РНК ВГС на основе модели [26] была получена мультивариантная вирусная динамическая модель [31]. Модель учитывала инфекцию клеток-мишеней T вариантом вируса V_i с образованием вариант- i -инфицированных клеток I_i в предположении, что каждая инфицированная клетка I_i инфицирована одним вариантом, клетки T являются ограниченным репликационным пространством для всех вариантов и каждая клетка I_i продуцирует как популяцию варианта вируса i , так и фракцию мутантного вируса j . Модель строилась в предположении, что параметры мутационной скорости (m), продукции клеток-мишеней (s), гибели вируса (c), инфекционной скорости (β) и гибели клеток-мишеней (d) неизменны для разных вариантов вируса V_i , а параметры продукции вируса (pf_i) и эффективности подавления продукции вирионов (ϵ_i) зависят от типа мутанта. Также предполагали, что в условиях терапии IFN- α параметр гибели инфицированных клеток (δ_i) неизменен для разных вариантов вируса, а в условиях терапии телапревиром он зависит от типа мутанта. Этот подход был развит в работе [32], где в описание вирусной динамики была также включена фармакокинетика телапревира и IFN- α /рибавирина, что позволило предсказывать динамики вирусной РНК дикого и мутантного типов, а также суммарную РНК ВГС большой когорты пациентов при комбинированной терапии телапревиром и IFN- α /рибавирином.

Детерминистическая модель внутриклеточной репликации субгеномного репликона ВГС была впервые предложена в работе [33]. Модель описывала основные внутриклеточные процес-

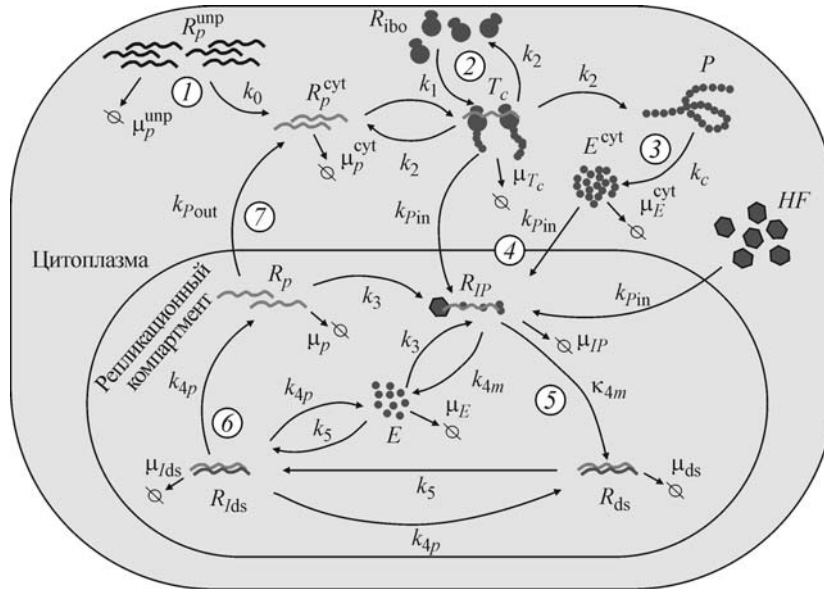


Рис. 4. Схема внутриклеточных процессов репликации РНК ВГС, включенных в модель [34]. Обозначения: (1) – Плюс-цепь РНК ВГС R_p^{unp} попадает в цитоплазму клетки в результате трансфекции и претерпевает структурные изменения с образованием трансляционно-компетентной РНК R_p^{cyt} с константой скорости k_0 . (2) – Рибосомы R_{ibo} связывают R_p^{cyt} в трансляционный комплекс T_c с константой скорости k_1 , который транслирует РНК в полипротеин P с константой скорости k_2 . (3) – Полипротеин P претерпевает процессинг, в результате которого расщепляется на зрелые вирусные белки E^{cyt} с константой скорости k_c . В присутствии вирусных белков происходит формирование внутриклеточных мембранных везикул, являющихся репликативными компартментами вирусной РНК в клетке. (4) – Вирусные белки E^{cyt} , ассоциирующие друг с другом с формированием репликазы, один или несколько хозяйских факторов HF и активно транскрибируемая плюс-цепь РНК трансляционного комплекса T_c импортируются в мембранные везикулы и образуют инициативный репликативный комплекс плюс-цепи РНК R_{IP} с константой скорости k_{pin} . (5) – В результате работы репликативного комплекса R_{IP} продуцируется комплементарная минус-цепь РНК в составе двуцепочечной РНК R_{ds} с константой скорости k_{Am} . (6) – В свою очередь, минус-цепь РНК в составе R_{ds} после формирования с участием вирусных белков E^{cyt} соответствующего инициативного комплекса R_{ids} с константой скорости k_5 служит матрицей для синтеза плюс-цепи РНК R_p с константой скорости k_{Ap} . (7) – Плюс-цепь РНК R_p экспортируется из мембранных везикул в цитоплазму с константой скорости R_{pout} , где может снова транслироваться в полипротеин или оставаться в везикулах для формирования новых инициативных репликативных комплексов плюс-цепи РНК R_{IP} с константой скорости k_3 . Рисунок адаптирован из работы [34].

сы репликации субгеномного репликона, включая синтез вирусной РНК в мембранных везикулах. В модели предполагалось, что количество рибосом, участвующих в трансляции вирусного генома, ограничено. Это позволило лимитировать неограниченный рост вирусной РНК и белков в клетке. В целом модель хорошо описывала наработку вирусной РНК, белков и достижение ими стационарных концентраций после трансфекции клеток РНК-репликоном ВГС, однако она не позволяла воспроизвести экспериментально-наблюдаемое снижение вирусных компонент в присутствии лекарств. Одновременно была предложена другая модель внутриклеточной репликации субгеномного репликона ВГС, в структуру которой в явном виде были включены механизмы действия лекарств на вирусные и клеточные мишени [35]. В отличие от модели [33], в модели [35] был введен клеточный фактор, участвующий в фор-

мировании репликативных комплексов, который лимитировал неограниченный рост количества вирусной РНК и белков. Это позволило модели [35] хорошо описывать действие лекарств на динамику внутриклеточной стационарной концентрации РНК ВГС на коротких (до трех суток) временных интервалах действия лекарств. Позже в работе [34] была предложена модель репликации субгеномного репликона РНК ВГС на основе модели [33], которая также включала клеточный фактор, аналогичный клеточному фактору в модели [35]. Схема процессов репликации РНК ВГС, учтенных в модели [34], представлена на рис. 4.

Модель [34] позволила описать особенности выхода вирусной РНК на стационарную концентрацию после трансфекции в разных клеточных линиях, различающихся начальными концентрациями клеточного фактора HF . Од-

нако эта модель, как и модель [33], не включала механизмы действия лекарств.

В последнее время в литературе были широко представлены работы по применению анти-ВГС-лекарств, прямо действующих на ферменты NS3-протеазу и NS5B-полимеразу ВГС, а также NS5A-белок ВГС, участвующих в репликации вируса [37,38]. Эти лекарства приводят к значительно более быстрому снижению РНК ВГС как в первой, так и во второй фазах ее динамики по сравнению с применением IFN- α [39–43]. Необходимость исследования эффектов таких лекарств с использованием математических моделей стимулировала разработку моделей, включающих описание специфичных внутриклеточных взаимодействий лекарств с вирусными мишенями. В связи с этим были предложены мультимасштабные модели, учитывающие взаимодействия в системе вирус-хозяин в присутствии лекарств как на клеточном, так и внутриклеточном уровнях. Первой моделью, описывающей динамику ВГС, была модель, предложенная в работе [44]. Эта модель может рассматриваться как расширение модели [26] за счет включения двух новых переменных, описывающих внутриклеточные процессы репликации вирусной РНК: $R(t)$ – количество геномных плюс-цепей РНК ВГС, доступных для транскрипции и трансляции, и $U(t)$ – количество репликационных единиц (число минус-цепей в составе двуцепочечной РНК ВГС), доступных для синтеза геномных плюс-цепей РНК ВГС. Предполагалось, что R служит матрицей для формирования репликационных единиц U , которые, в свою очередь, являются матрицей для синтеза R . Ограничение в наработке единиц U задавалось параметром U_{\max} . Связь между внутриклеточной репликационной динамикой и динамикой инфекции клеток была осуществлена заменой параметра скорости продукции вируса $\rho = \text{const}$ инфицированными клетками в модели [26] на функцию $\rho(t) = \rho R(t)$. Моделирование внутриклеточного антивирусного эффекта лекарства осуществлялось введением параметра ϵ эффективности блокирования синтеза плюс-цепей РНК ВГС (рис. 5). Учет устойчивости ВГС к лекарству осуществляли введением в модель таких переменных, как R^{wt} и R^{res} – плюс-цепи РНК дикого и лекарственно-устойчивого типов, U^{wt} и U^{res} – репликационных единиц дикого и лекарственно-устойчивого типов в пределах каждой инфицированной клетки и V^{wt} , V^{res} – вируса дикого и лекарственно-устойчивого типа соответственно.

Для описания процессов репликации вирусной РНК в модель [44] было дополнительно введено восемь параметров, включая константы

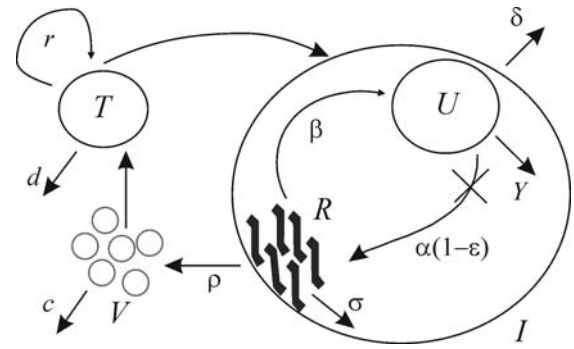


Рис. 5. Схема модели [44], учитывающей процессы внутриклеточной репликации и клеточной инфекции ВГС. Вирусная РНК R транскрибируется и транслируется в инфицированной клетке I с образованием репликационных единиц U с константой скорости β . В свою очередь, репликационные единицы U синтезируют РНК ВГС R с константой скорости α и погибают с константой скорости γ . ϵ – Эффективность блокирования синтеза R ингибиторами РНК-полимеразы NS5B ВГС. РНК R также участвует в формировании/секреции вируса V из клетки с скоростью $\rho R(t)$ на клетку. Вирус V способен инфицировать клетки T с константой скорости b . Рисунок адаптирован из работы [44].

скоростей формирования и деградации репликационных единиц (β и γ), экспорта РНК из инфицированных клеток (ρ), синтеза РНК ВГС дикого типа и мутантной РНК ВГС (α^{wt} и α^{res}) и т.д. Модель показала, что в условиях отсутствия лекарственной устойчивости вируса, т.е. доминирования его дикого типа в течение терапии и высоком антивирусном эффекте лекарства, реализуется быстрая кинетика непрерывного снижения РНК ВГС, в которой угол наклона второй фазы пропорционален внутриклеточному параметру γ (скорости гибели репликационных единиц). В условиях селекции лекарственно-устойчивых вариантов ВГС в течение терапии вид динамик РНК ВГС зависит от степени лекарственной устойчивости и репликационной способности этих вариантов. Высокая степень лекарственной устойчивости и высокая репликационная способность вариантов ВГС приводят к динамикам с начальным быстрым снижением РНК, затем происходит ее рост и выход на новый, более низкий стационар по сравнению с его уровнем до начала терапии. Средняя степень лекарственной устойчивости и средняя репликационная способность вариантов ВГС приводят к динамикам с начальным быстрым снижением РНК, затем происходит ее временный рост и далее следует непрерывное снижение РНК, эффективность которого определяется параметром δ (скоростью гибели инфицированных клеток).

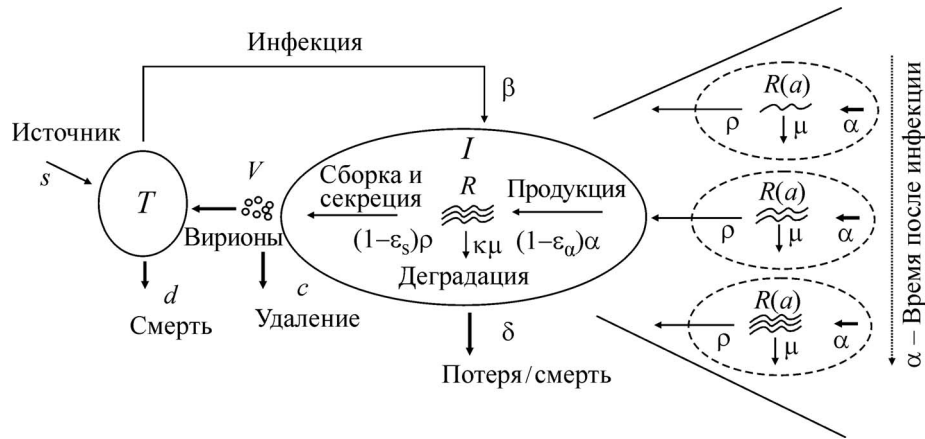


Рис. 6. Схема процессов мультимасштабной модели [45]. Обозначения: T – клетки-мишени, которые продуцируются и погибают с константами скоростей s и d соответственно; I – инфицированные клетки, которые погибают с константой скорости δ ; V – вирус, который инфицирует клетки T с константой скорости β и погибает с константой скорости c ; a – время инфекции (время, прошедшее после момента попадания первого вириона, содержащего РНК геном, в клетку T); $R(a)$ – внутриклеточная вирусная РНК, которая продуцируется в клетке со скоростью α , деградирует с константой скорости μ и вовлекается в сборку/секрецию вируса с константой скорости ρ . Эффективность блокирования лекарствами продукции РНК, сборки/секреции вируса и усиления внутриклеточной деградации РНК – ϵ_α , ϵ_s и k соответственно. Рисунок адаптирован из работы [45].

Другой мультимасштабной моделью, созданной для расчета эффектов лекарств, прямо действующих на вирусные мишени, участвующие во внутриклеточной репликации вирусной РНК, была модель, предложенная в работе [45]. Модель расширяла стандартную модель [26] включением переменной $R(t)$ – внутриклеточной геномной РНК ВГС. Предполагалось, что R нарабатывается в клетке с постоянной скоростью α , деградирует с константой скорости μ и вовлекается в сборку/секрецию вирионов с константой скорости ρ . При этом авторы предполагали, что α зависит от возраста инфекции, т.е. времени, которое прошло с момента попадания в клетку первого вириона, содержащего РНК-геном. Был рассмотрен сценарий, при котором терапия лекарствами, действующими на вирусные мишени, участвующими в репликации РНК ВГС, начинается в условиях достижения РНК ВГС внутриклеточной стационарной концентрации и блокирует наработку вирусной РНК, сборку/секрецию вируса, а также усиливает деградацию РНК ВГС с эффективностями ϵ_α , ϵ_s и k соответственно. В отличие от стандартной модели [26], которая не описывала внутриклеточные процессы РНК ВГС, данная модель позволяла различать возможные внутриклеточные эффекты терапии. Модель создавалась для детального исследования кинетик снижения РНК ВГС на ранних (до двух суток) временах действия лекарств и поэтому не учитывала появление и наработку в инфицированных клетках лекарственно-устойчивых вариан-

тов ВГС (рис. 6). По сравнению с моделью [26] (рис. 3) интегрированная модель [45] дополнительно включала параметры α , μ , ρ , ϵ_α , ϵ_s и k . Оценка параметра δ соответствовала значению этого параметра, усредненному по разным пациентам, рассмотренным в работе [26]. Оценку остальных параметров производили с использованием кинетик изменения РНК ВГС при терапии даклатасвиром, ингибитором белка NS5A ВГС.

Модель была разработана для объяснения быстрых кинетик снижения РНК ВГС у пациентов при терапии с применением только одной дозы даклатасвира (BMS-790052) (уровень РНК ВГС в сыворотке снижался приблизительно на два порядка за первые шесть часов после приема лекарства). Кинетики снижения РНК ВГС при терапии с применением только одной дозы даклатасвира (BMS-790052) характеризовались первой фазой (шесть–семь часов после приема лекарства), второй фазой (с шести–семи часов до двух суток после приема лекарства) и третьей фазой (более двух суток после приема лекарства). Модель показала, что эти фазы определяются параметрами c , $k\mu + \delta$ и δ соответственно. Оказалось, что BMS-790052 обладает двумя главными модами действия на вирус: 1) эффективно блокирует внутриклеточный синтез вирусной РНК и сборку/секрецию вирионов, 2) усиливает скорость внутриклеточной деградации РНК ВГС. Модель показала, что первая фаза кинетик снижения вирусной РНК может экспериментально наблюдаться только

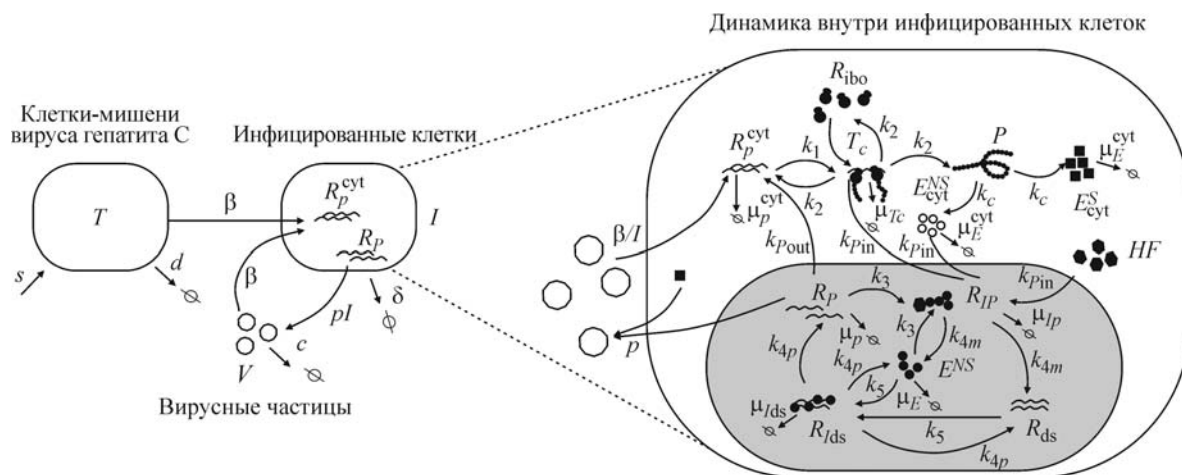


Рис. 7. Схема процессов, учтенных в интегрированной модели [47]. Клетки-мишени T продуцируются и погибают со скоростями s и d соответственно и превращаются в инфицированные клетки I при инфекции вирусом V . При инфекции вирус V проникает внутрь клетки в виде плюс-цепи РНК R_p^{cyt} . В цитоплазме R_p^{cyt} связывается с клеточными рибосомами R_{ibo} с образованием трансляционного комплекса T_c , который транслирует R_p^{cyt} в полипротеин P . Полипротеин P претерпевает процессинг расщеплением на вирусную полимеразу E_{cyt}^{NS} и структурные белки E_{cyt}^S . РНК из трансляционного комплекса T_c вместе с полимеразой E_{cyt}^{NS} и хозяйским фактором HF формируют инициативный репликативный комплекс R_{IP} в мембранном репликативном компартменте клетки (мембранных везикулах), который, в свою очередь, продуцирует двуцепочечный РНК интермедиат R_{ds} . После взаимодействия полимеразы E_{cyt}^{NS} с интермедиатом R_{ds} формируется соответствующий инициативный репликативный комплекс R_{IdS} . Данный комплекс продуцирует новую плюс-цепь РНК R_p . Синтезированные R_p снова могут вступать в репликационный цикл, а также ассоциировать с вирусными структурными белками E_{cyt}^S с образованием/экспортом вирусных частиц V . Рисунок адаптирован из работы [47].

в случае очень высокой эффективности блокирования сборки/секреции вирионов ($\epsilon_s \sim 1$), которая реализуется при применении даклатасвира. Поэтому эта фаза кинетик изменения РНК не наблюдается при терапии IFN- α , вместо нее сразу наблюдается вторая фаза. Оценка в модели среднего времени полужизни вирусных частиц ВГС в сыворотке составляет ~ 45 мин. Это соответствует значению параметра $c = 22,3 \text{ сут}^{-1}$, что приблизительно в четыре раза превышает среднюю оценку параметра c в модели [26]. Модель [45] также хорошо описывала кинетики снижения РНК ВГС при терапии теллапревиром, ингибитором NS3-протеазы, и показала, что эффективность блокирования сборки/секреции вирусных частиц даклатасвиром в 30 раз выше, чем теллапревиром. Детальный математический анализ интегрированной модели [45], а также исследование кинетик снижения РНК ВГС при терапии пациентов данопревиром, ингибитором NS3-протеазы ВГС, проведены в работе [46]. Было показано, что главными модами действия данопревира являются блокирование внутриклеточной продукции РНК ВГС и усиление ее внутриклеточной деградации, а также реализация умеренного ингибирования сборки/секреции вирусных частиц ВГС.

В отличие от описанных выше мультимасштабных моделей [44–46], которые учитывали только основные внутриклеточные процессы репликации РНК ВГС и сборку/секрецию вирусных частиц, в мультимасштабной модели [47] внутриклеточные процессы репликации РНК ВГС представлены детально. Модель [47] построена на основе интеграции моделей клеточной инфекции ВГС [26] и репликации субгеномного репликона РНК ВГС в клетках [34]. Для осуществления такой интеграции в мультимасштабную модель была дополнительно введена новая переменная, описывающая количество структурных белков в клетке (E_{cyt}^S), и описан процесс формирования/выхода вирусных частиц через взаимодействие E_{cyt}^S с плюс-цепью РНК (R_p). Включение этих процессов в интегрированную модель потребовало дополнительного использования новых констант скоростей: формирования/экспорта вирусных частиц (p), блокирования наработки плюс- и минус-цепей РНК (e_s) и сборки/секреции вируса (e_p) при терапии даклатасвиром (ингибитором NS5A белка ВГС). Схема процессов, описанных в модели, приведена на рис. 7.

Интегрированная модель [47] представлена тринадцатью обыкновенными дифференциаль-

ными уравнениями (ОДУ). Все параметры для описания внутриклеточных процессов, кроме взаимодействий с хозяйским фактором HF , были взяты из модели [34]. Концентрации HF и параметры e_s , e_p и p были оценены для каждого пациента из кинетических данных изменения вирусной РНК при лечении даклатасвиром. С помощью модели удалось хорошо описать динамику снижения вирусной РНК в течение двух суток у пациентов, получивших однократную дозу даклатасвира, ингибитора белка NS5A ВГС. Согласно литературным данным, вирусный белок NS5A участвует как в синтезе вирусной РНК [48], так и в сборке вирусной частицы [49,50]. Интегрированная модель [47] позволяет изучать эффекты лекарств, направленно действующих на специфичные внутриклеточные молекулярные процессы репликации ВГС, наблюдаемые в течение двух–трех суток. Модель полезна для оптимизации режимов терапии, предсказания эффектов комбинационной терапии, например даклатасвира в комбинации с ингибиторами NS5B полимеразы ВГС или IFN- α .

Описанные выше методы интеграции моделей требуют знаний о всех участниках, определяющих взаимодействия между подсистемами, а также численных значений параметров этих взаимодействий, что значительно затрудняет применение этих подходов. Недавно в работе [10] был предложен новый подход к интеграции моделей, описывающих динамику двух и более молекулярно-генетических сетей при условии неполноты данных о взаимодействиях между ними. Авторы ввели понятие мозаичных генных сетей для описания подобных комплексных систем. Основной идеей подхода является использование управляющего функционала, посредством которого одна подсистема мозаичной генной сети может управлять функционированием другой подсети. В работе [10] был рассмотрен случай интеграции двух подсистем при условии одностороннего управления, когда только одна подсистема влияет на динамику другой. В качестве управляющего функционала авторы использовали линейную функцию, зависящую от концентраций переменных управляющей подсистемы. Эта функция входила в правую часть системы дифференциальных уравнений, описывающей управляемую подсистему. Неожиданным оказался тот факт, что использование линейного управляющего функционала позволило достичь хорошего соответствия между динамиками полной сети и ее мозаичными аналогами. Генерация мозаичных сетей проводилась с помощью компьютерных экспериментов путем удаления из полной

сети некоторых фрагментов, обеспечивающих ее разделение на две не связанные между собой подсистемы.

С использованием данного подхода были интегрированы модели репликации субгеномного репликона вируса гепатита С [34] и TNF- α -индуцируемых сигнальных путей апоптоза и активации транскрипционного фактора NF- κ B [51] в клетках, что позволило описать управление ВГС этими сигнальными путями. Параметры управляющего функционала определялись на основе экспериментальных данных скрининга экспрессии генов одной подсети в ответ на возмущение элементов другой подсети. Под возмущением элементов подсети авторы рассматривали подавление или активацию экспрессии специфичных генов, включая как гены хозяина, так и гены патогена. Интегрированная модель [10] показала, что управление ВГС наиболее эффективно осуществляется через гены *RIP*, *TRADD*, *TRAF2*, *FADD*, *IKK*, *I κ B α* , *c-FLIP* и *BAR*. Расчет динамик экспрессии генов *RIP*, *TRADD*, *TRAF2*, *FADD*, *IKK*, *I κ B α* и *BAR* в клетках за период 72 ч после инфекции клеточной культуры ВГС показал хорошее соответствие экспериментальным динамикам экспрессии этих генов [52]. В частности, анализ модели показал, что даже небольшое увеличение экспрессии гена *c-FLIP* может значительно заблокировать индукцию апоптоза. Результаты предсказания роли генов *TRADD*, *TRAF2*, *FADD*, *IKK*, *I κ B α* и *c-FLIP* в регуляции сигнальных путей апоптоза и NF- κ B-активации вирусом ВГС хорошо согласовались с ранее опубликованными литературными данными [53,54].

ИНТЕГРИРОВАННЫЕ МОДЕЛИ, ОПИСЫВАЮЩИЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ ЧЕЛОВЕКА

Современные технологии функциональной визуализации играют важную роль в изучении активации нейронов головного мозга человека в ответ на сенсорное, двигательное или когнитивное событие. К таким технологиям относятся: функциональная магнитно-резонансная томография (fMRI), магнитно-резонансная спектроскопия (MRS), позитронно-эмиссионная томография и электромагнитоэнцефалография. fMRI используется для регистрации высокочастотных сигналов, отражающих один из параметров региональной нейронной активности мозга, например изменение регионального церебрального кровотока или изменение содержания кислорода в крови. Позитронно-эмисси-

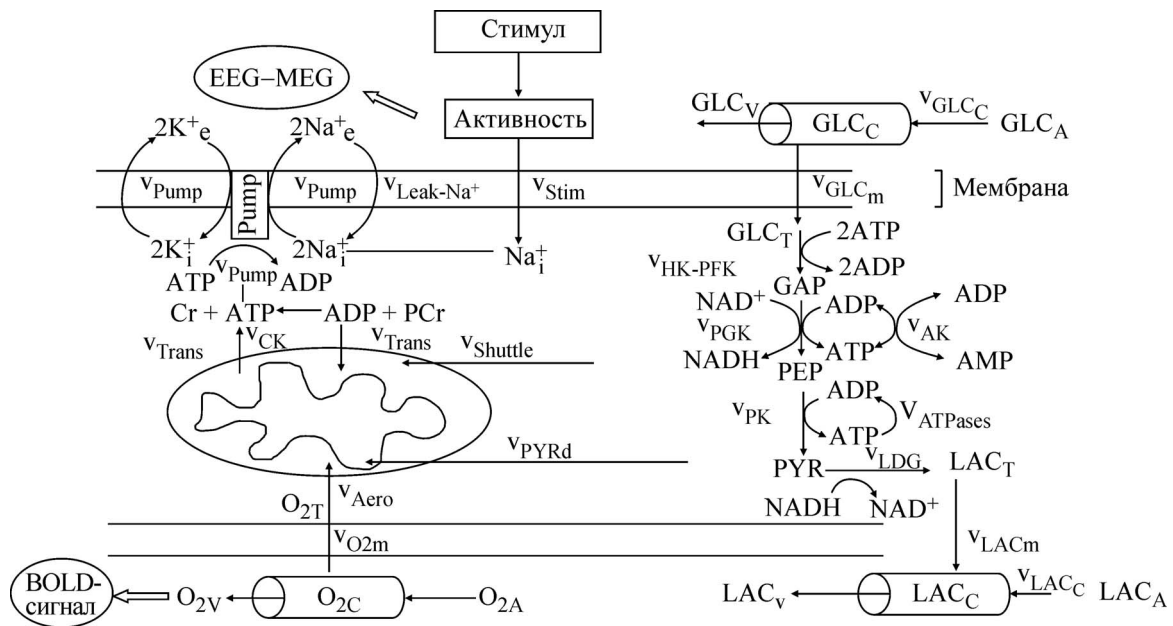


Рис. 8. Схема процессов, вовлеченных в активацию нейронов. Обозначения: GLC_T – внутриклеточная концентрация глюкозы; GLC_m – концентрация глюкозы, проникающей через гематоэнцефалический барьер; GLC_A – артериальная концентрация глюкозы; GLC_V – венозная концентрация глюкозы; GLC_C – концентрация глюкозы в капиллярах; GAP – концентрация глицеральдегид-3-фосфат; НК – гексокиназа; PFK – фосфофруктокиназа; PGK – фосфоглицераткиназа; АК – аденилаткиназа; PEP – концентрация фосфоенолпирувата; PK – пируваткиназа; PYR – концентрация пирувата; LDH – лактатдегидрогеназа; NADH – никотинамидадениндинуклеотид (восстановленная форма); NAD^+ – никотинамидадениндинуклеотид (окисленная форма); LAC_T – концентрация внутриклеточного лактата; LAC_m – концентрация лактата, проходящего гематоэнцефалический барьер; LAC_A – концентрация артериального лактата; LAC_V – концентрация венозного лактата; LAC_C – концентрация лактата в капиллярах; PUMP – Na/K АТФаза; Cr – концентрация креатина; PCr – концентрация креатинфосфата; СК – креатинкиназа; O_{2T} – внутриклеточная концентрация кислорода; O_{2m} – концентрация кислорода в гематоэнцефалическом барьере; O_{2A} – концентрация кислорода в артериях; O_{2V} – концентрация кислорода в венах; O_{2C} – концентрация кислорода в капиллярах. Рисунок адаптирован из работы [55].

онная томография, в частности, регистрирует γ -излучение, отражающее интенсивность потребления нейронами глюкозы. Электромагнитноэнцефалография позволяет регистрировать очень слабые электрические и магнитные поля и их градиенты, генерированные согласованной активностью популяции нейронов. MRS может быть использована для регистрации концентрации метаболитов нейронов – *N*-ацетиласпартата, холина, креатина, фосфокреатина, лактата, АТФ и др. Однако физиологическая интерпретация результатов, получаемых с помощью этих методов, до сих пор остается сложной задачей.

В работе [55] разработана интегрированная математическая модель для интерпретации данных fMRI и MRS, описывающая динамики синхронно протекающих процессов в нейронах в ответ на стимулирующее событие, включая гемодинамические, метаболические и электрофизиологические процессы. Авторы интегрировали модель гликолиза в эритроцитах [56,57] и модель переноса кислорода через гематоэнцефалический барьер [58] путем введения связей

между электрической активностью постсинаптической мембраны нейронов, нейрональным энергетическим метаболизмом и гемодинамикой. Схема процессов, учтенных в модели, приведена на рис. 8. Модель базируется на предположении, что при стимуляции мозга увеличивается мембранный транспорт ионов Na^+ внутрь нейронов. Увеличение внутриклеточной концентрации Na^+ активирует Na-насос или Na/K-АТФазу, которая, восстанавливая исходный мембранный потенциал, выводит три иона Na^+ из клетки и вводит в клетку два иона K^+ , используя энергию одной молекулы АТФ. В свою очередь, изменение внутриклеточного отношения АТФ/АДФ стимулирует регенерацию АТФ через три основных процесса – буферный эффект фосфокреатина (реакция фосфокреатина и АДФ с образованием АТФ и креатина), гликолиз (ферментативные реакции превращения внутриклеточной глюкозы в пируват и лактат с выходом АТФ) и митохондриальное окисление пирувата внутриклеточным кислородом с образованием АТФ. Обеспечение клеток энергетическими субстратами (глюкозой, кислоро-

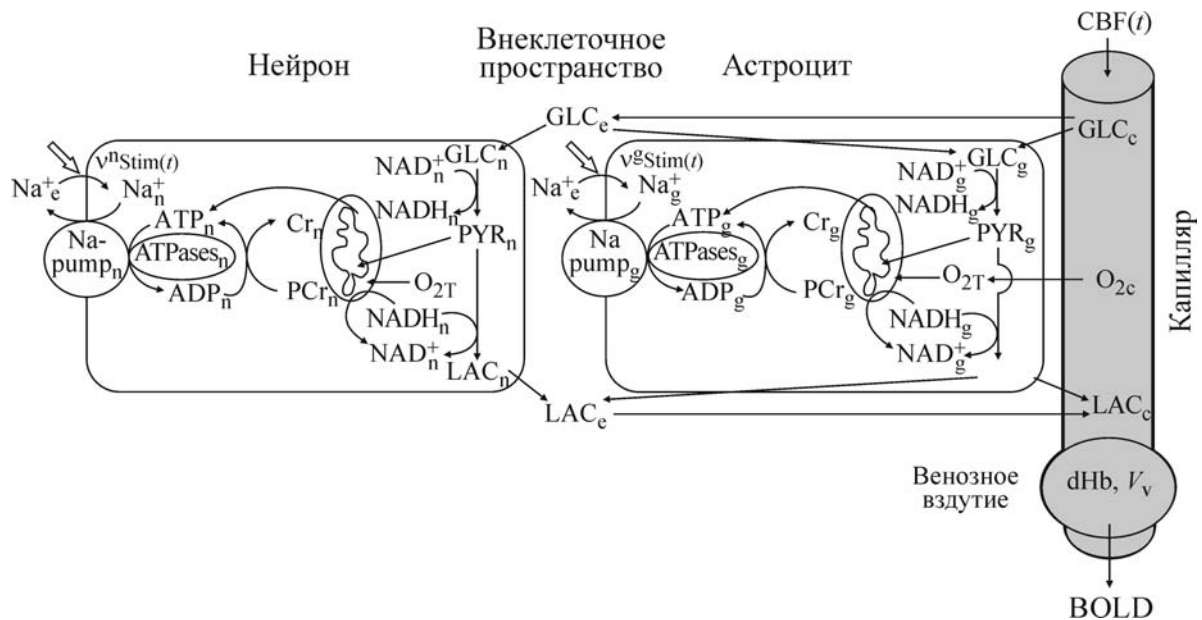


Рис. 10. Схема процессов модели компартиментализованного энергетического метаболизма между астроцитами и нейронами [65]. Каждый клеточный компартимент содержит все соответствующие элементы гомогенной модели [59]. Межклеточное пространство является пространством обмена между нейронами и астроцитами. Региональный церебральный поток крови через капилляры обозначен как $CBF(t)$; dHb – дезоксигемоглобин; V_v – объем венозного вздутия; GLC_c – концентрация глюкозы в капиллярах; GLC_g – концентрация глюкозы в астроцитах; GLC_n – концентрация глюкозы в нейронах; GLC_e – концентрация внеклеточной глюкозы; PYR_g – концентрация пирувата в астроцитах; PYR_n – концентрация пирувата в нейронах; LAC_c – концентрация лактата в капиллярах; LAC_e – внеклеточная концентрация лактата; LAC_g – концентрация лактата в астроцитах; LAC_n – концентрация лактата в нейронах; O_{2c} – концентрация кислорода в капиллярах; O_{2T} – концентрация кислорода в астроцитах и нейронах; Cr_g – концентрация креатина в астроцитах; Cr_n – концентрация креатина в нейронах; PCr_g – концентрация креатинфосфата в астроцитах; PCr_n – концентрация креатинфосфата в нейронах; $NaPUMP_g$ – глиальная Na/K-АТФаза; $NaPUMP_n$ – нейрональная Na/K-АТФаза; ATP_g – концентрация АТФ в астроцитах; ADP_g – концентрация АДФ в астроцитах; ATP_n – концентрация АТФ в нейронах; ADP_n – концентрация АДФ в нейронах; $NADH_g$ – концентрация никотинамидадениндинуклеотида (восстановленная форма) в астроцитах; $NADH_n$ – концентрация никотинамидадениндинуклеотида (восстановленная форма) в нейронах; NAD_g^+ – концентрация никотинамидадениндинуклеотида (окисленная форма) в астроцитах; NAD_n^+ – концентрация никотинамидадениндинуклеотида (окисленная форма) в нейронах; Na_e^+ – внеклеточная концентрация Na^+ ; Na_g^+ – концентрация Na^+ в астроцитах; Na_n^+ – концентрация Na^+ в нейронах. Рисунок адаптирован из работы [65].

энергетического метаболизма головного мозга, включающей, кроме кровеносных сосудов, три компартамента: астроциты, нейроны и межклеточное пространство [65]. Модель построена в предположении, что в обоих типах клеток – астроцитах и нейронах – стимуляция мозга приводит к увеличению потока ионов Na^+ внутрь клеток, а последующая активация Na-насоса приводит к активации регенерации АТФ через фосфокреатиновый буфер, гликолиз и митохондриальное окисление. Клетки обмениваются кислородом, глюкозой и лактатом с церебральным потоком крови через гематоэнцефалический барьер. Более того, модель описывает обмен глюкозы и лактата между межклеточным пространством, нейронами и астроцитами. Схема процессов, описанных в модели, приведена на рис. 10.

В частности, модель [65] показала, что процесс ANLS идет наряду с ростом нейронального гликолиза и зависит от относительной интенсивности стимуляции нейронов и астроцитов. Так, при низкой относительной стимуляции нейронов процесс ANLS идет в течение всего времени стимуляции и после ее окончания, а при высокой относительной стимуляции нейронов ANLS происходит только в начале стимуляции и после ее окончания. Расчетные динамики изменения концентрации внеклеточного лактата в условиях как однократной, так и периодически повторяющейся стимуляции хорошо соответствовали экспериментальным динамикам изменения внеклеточного лактата гиппокампа мозга крыс в аналогичных условиях, что свидетельствует в пользу того, что лактат, продуцирующийся астроцитами мозга, может

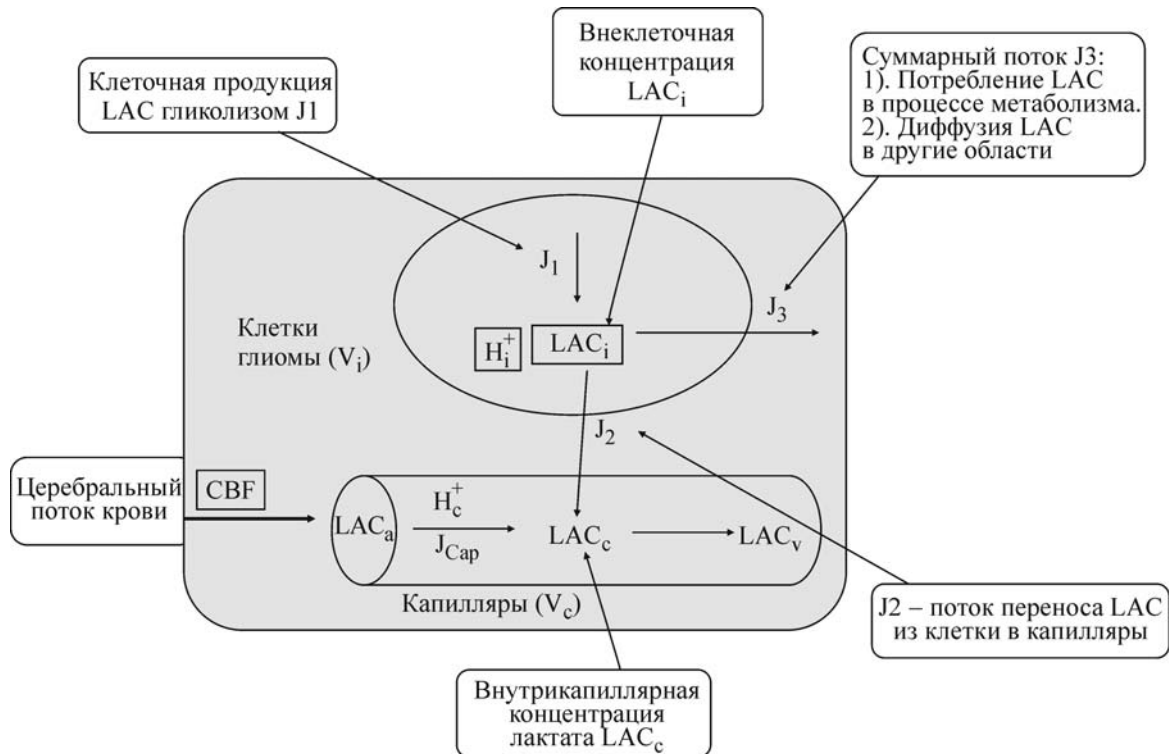


Рис. 11. Схема процессов модели гемодинамики и метаболизма лактата в глиомах низкой степени злокачественности [67–69]. Обозначения: H_i^+ – концентрация протонов в клетках; LAC_i – концентрация лактата в клетках; LAC_c – концентрация лактата в капиллярах; LAC_a – концентрация лактата в артериях; LAC_v – концентрация лактата в венах. Рисунок адаптирован из работы [67].

захватываться нейронами и метаболизироваться в них, служа энергетическим топливом [66].

На основе модели [65] была получена модель энергетического метаболизма и гемодинамики глиом (первичных опухолей головного мозга) II (низкой) степени злокачественности [67–69]. Известно, что глиомы низкой степени злокачественности претерпевают анапластическую трансформацию с неудовлетворительным прогнозом, однако время, когда такая трансформация начинается, для пациентов различно. Поэтому для своевременной терапии важно исследование эволюции глиом. Мониторинг объема опухоли с помощью fMRI позволяет наблюдать ее развитие, однако знания о метаболических и гемодинамических изменениях, лежащих в основе патофизиологических механизмов трансформации глиом, могут дать существенно более раннюю и ценную информацию в этой области. Модель [67–69] описывает гемодинамику и метаболизм лактата (раннего маркера изменения метаболизма в клетках опухоли) в глиомах низкой степени злокачественности. В качестве главных переменных присутствуют внутриклеточная и внутрикапиллярная концентрации лактата, а также такие характеристики, как церебральный поток крови, внутриартериальная концентра-

ция лактата, внутриклеточная и внутрикапиллярная концентрация H^+ , внутриклеточный и внутрикапиллярный объем, максимальная скорость транспорта лактат- H^+ через гематоэнцефалический барьер (рис. 11).

Значения параметров модели были определены с помощью MRS- и MRI-кровотока, а также найдены в литературе. Модель полезна для изучения метаболизма и гемодинамики глиом, а также для поиска новых терапевтических стратегий. Например, анализ чувствительности модели предсказал, что изменение параметров, включая уменьшение регионального церебрального потока крови и скорости транспорта лактата через гематоэнцефалический барьер, а также рост концентрации внутриартериального лактата и уменьшение внутриклеточного pH выводят клетки глиомы из их домена жизнеспособности, т.е. могут приводить к смерти.

Модель базального физиологического взаимодействия нейронов и астроцитов в состоянии покоя была сконструирована в работе [70]. Модель описывала в обоих типах клеток центральный метаболизм (гликолиз, пентозофосфатный путь, цикл трикарбоновых кислот), окислительное фосфорилирование, липидный метаболизм,

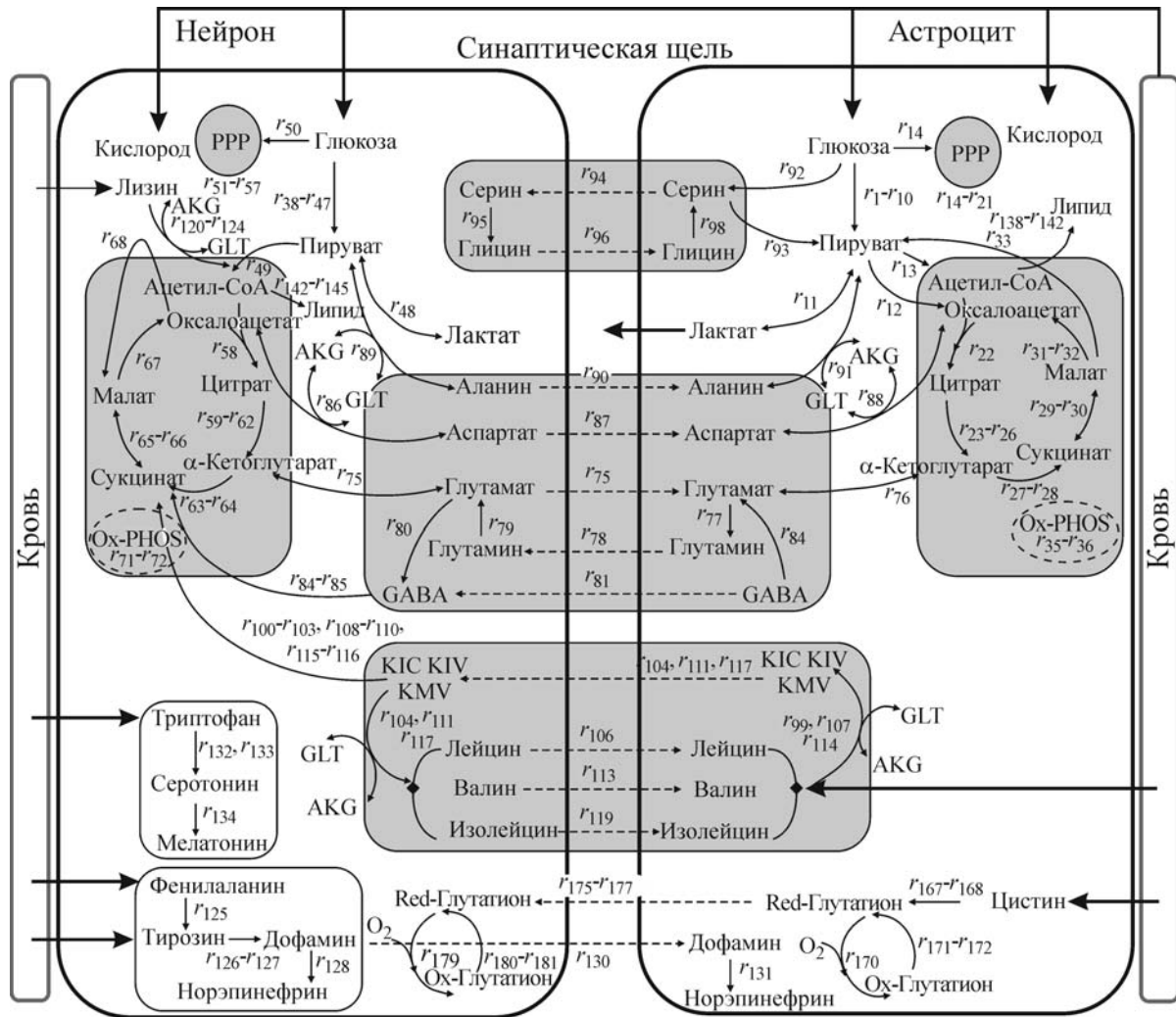


Рис. 12. Схема основных метаболических и обменных процессов при взаимодействии нейронов и астроцитов в условиях покоя, учтенных в модели [70]. Стрелки, реакции захвата и вывода метаболитов; пунктирные стрелки, обменный транспорт метаболитов между двумя типами клеток. Для простоты показаны только основные потоки. Рисунок адаптирован из работы [70].

нейтрализацию активных форм кислорода, аминокислотный метаболизм, метаболизм нейротрансмиттеров (дофамина, ацетилхолина, норадреналина, адреналина, серотонина), а также обменный метаболизм между нейронами и астроцитами (цикл глутамат/глутамин, цикл серин/глицин и другие). Модель включала 184 реакции в нейронах и астроцитах, 33 обменных межклеточных процесса и 216 метаболитов. Транспорт лактата в направлении астроцит-нейрон (ANLS) не учитывался в предположении, что все реакции идут в условиях покоя. Схема учтенных в модели процессов приведена на рис. 12.

Применение модели для расчетов распределения потоков метаболитов между нейронами и астроцитами в условиях покоя показали хорошее соответствие опубликованным экспери-

ментальным данным [71,72]. Модель также была использована для исследования динамик потоков метаболитов в условиях гипоксии, т.е. в условиях постепенного снижения поступления кислорода в клетки. Известно, что многие заболевания головного мозга связаны с нервно-сосудистыми расстройствами, вызванными дефицитом кислорода. Известно, что снижение церебрального кровоснабжения приводит к формированию в мозге областей гипоксии, которые вызывают основные нарушения в электрической активности мозга (это происходит, например, при эпилепсии), или приводят к таким прогрессирующим заболеваниям, как слабоумие, болезнь Альцгеймера, а также к эмоциональным нарушениям. В частности, модель показала, что снижение потока кислорода в нейроны (условия гипоксии) приводят к резко-

му росту скорости поступления в них глюкозы, что соответствует экспериментальным данным [73,74]. Рост скорости захвата глюкозы нейронами в условиях кислородного голодания является также механизмом противодействия развитию болезни Альцгеймера [75].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Интеграция математических моделей, описывающих специфические биологические и патофизиологические процессы, является мощным инструментом для изучения комплексных молекулярных механизмов, лежащих в основе формирования сложных фенотипических признаков и развития различных заболеваний. Можно ожидать, что развитие подходов для моделирования таких сложных биологических систем будет идти именно по пути интеграции более простых моделей, описывающих их составные части. Создание интегрированных моделей, описывающих различные особенности функционирования таких сложных систем, как гомеостаз кальция в организме, взаимодействия вирус-хозяин, головной мозг человека послужило первыми шагами в этом направлении. С помощью таких моделей были изучены новые механизмы и условия, ведущие к развитию тяжелых заболеваний различного характера, включая нарушения опорно-двигательного аппарата, инфекцию ВГС как на уровне внутриклеточных процессов, так и на уровне взаимодействия вируса с гепатоцитами, различных нарушений функционирования головного мозга. Использование интегрированных моделей помогло идентифицировать ключевые мишени и условия для направленного действия лекарств нового поколения, а также интерпретировать результаты современных томографических технологий исследования головного мозга при различных патологиях. Однако при интеграции математических моделей исследователи неизбежно сталкиваются с проблемой описания молекулярных механизмов взаимодействия между биологическими процессами, что ведет к стремительному усложнению моделей и необходимости определения большого числа новых параметров. Существующие в настоящее время данные о взаимодействиях между биологическими макромолекулами, как правило, носят непрямой, опосредованный характер. В таких взаимодействиях могут участвовать множество неизвестных посредников. Даже в случае, когда все участники взаимодействий известны, бывает сложно экспериментально определить константы скоростей реакций и допустимые диапазоны их величин. Все эти проблемы в совокупности ставят

вызов перед математическими биологами, работающими в области создания интегрированных моделей. Одним из перспективных путей решения проблемы снижения количества оцениваемых параметров, которые возникают при интеграции моделей, несомненно, может рассматриваться моделирование мозаичных генных сетей с использованием функции управления. Этот способ интеграции, основанный на функции управления, во-первых, не требует введения большого количества новых параметров, а во-вторых, такие параметры могут быть оценены с использованием широко распространенных транскриптомных экспериментальных данных по изменению уровня экспрессии генов в одной генной сети при нокауте/нокдауне генов в другой генной сети, участвующих в комплексном биологическом процессе.

Работа осуществлялась при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 14-44-00011 «Программируемая клеточная гибель, индуцируемая через рецепторы смерти: идентификация молекулярных механизмов инициации апоптоза с помощью молекулярного моделирования»).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. C. K. Osborne, J. Shou, S. Massarweh, et al., *Clin. Cancer Res.* **11**, 865s (2005).
2. D. Javelaud and A. Mauviel, *Oncogene* **24**, 5742 (2005).
3. J. Hiscott, H. Kwon, and P. Génin, *J. Clin. Invest.* **107**, 143 (2001).
4. M. T. Mc Auley, D. J. Wilkinson, J. J. Jones, et al., *BMC Syst. Biol.* **6**, 130 (2012).
5. M. Fribourg, B. Hartmann, M. Schmolke, et al., *J. Theor. Biol.* **351**, 47 (2014).
6. N. V. Ivanisenko, E. L. Mishchenko, I. R. Akberdin, et al., *PLoS One* **9**, e91502 (2014).
7. M. Baker, S. Denman-Johnson, B. S. Brook, et al., *Math. Med. Biol.* **30**, 311 (2013).
8. M. Krupp, J. U. Marquardt, U. Sahin, et al., *Bioinformatics* **28**, 1184 (2012).
9. R. Leinonen, H. Sugawara, and M. Shumway, *Nucl. Acids Res.* **39**, D19 (2011).
10. O. V. Popik, E. D. Petrovskiy, E. L. Mishchenko, et al., *Virus Res.* **218**, 71 (2016).
11. G. Jones, S. A. Strugnell, and H. F. DeLuca, *Physiol. Rev.* **78**, 1193 (1998).
12. J. F. Raposo, L. G. Sobrinho, and H. G. Ferreira, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **87**, 4330 (2002).
13. V. Lemaire, F. L. Tobin, L. D. Greller, et al., *J. Theor. Biol.* **229**, 293 (2004).
14. S. Pozzi, M. Fulcinitti, H. Yan, et al., *Bone* **53**(2), 487 (2013).

15. A. A. Ali, R. S. Weinstein, S. A. Stewart, et al., *Endocrinology* **146**(3), 1226 (2005).
16. M. C. Peterson and M. M. Riggs, *Bone* **46**, 49 (2010).
17. T. Bellido, A. A. Ali, L. I. Plotkin, et al., *J. Biol. Chem.* **278**, 50259 (2003).
18. M. R. McClung, E. M. Lewiecki, S. B. Cohen, et al., *N. Engl. J. Med.* **354**, 821 (2006).
19. P. Chen, J. H. Satterwhite, A. A. Licata, et al., *J. Bone Miner. Res.* **20**, 962 (2005).
20. D. M. Slovik, R. M. Neer, and J. T. Potts, *J. Clin. Invest.* **68**, 1261 (1981).
21. S. J. Silverberg, E. Shane, T. P. Jacobs, et al., *N. Engl. J. Med.* **341**, 1249 (1999).
22. M. Rix, H. Andreassen, P. Eskildsen, et al., *Kidney Int.* **56**, 1084 (1999).
23. K. Kruse, U. Kracht, K. Wohlfart, et al., *Eur. J. Pediatr.* **148**, 535 (1989).
24. J. P. Messina, I. Humphreys, A. Flaxman, et al., *Hepatology* **61**, 77 (2015).
25. J. F. Perz, G. L. Armstrong, L. A. Farrington, et al., *J. Hepatol.* **45**, 529 (2006).
26. A. U. Neumann, N. P. Lam, H. Dahari, et al., *Science* **282**, 103 (1998).
27. H. Dahari, A. Lo, R. M. Ribeiro, et al., *J. Theor. Biol.* **247**, 371 (2007).
28. H. Dahari, R. M. Ribeiro, and A. S. Perelson, *Hepatology* **46**, 16 (2007).
29. L. Rong, H. Dahari, R. M. Ribeiro, et al., *Sci. Transl. Med.* **2**, 30ra32 (2010).
30. J. Guedj and A. S. Perelson, *Hepatology* **53**, 1801 (2011).
31. B. S. Adiwijaya, E. Herrmann, B. Hare, et al., *PLoS Comput. Biol.* **6**, e1000745 (2010).
32. B. S. Adiwijaya, T. L. Kieffer, J. Henshaw, et al., *PLoS Comput. Biol.* **8**, e1002339 (2012).
33. H. Dahari, R. M. Ribeiro, C. M. Rice, et al., *J. Virol.* **81**, 750 (2007).
34. M. Binder, N. Sulaimanov, D. Clausznitzer, et al., *PLoS Pathog.* **9**, e1003561 (2013).
35. E. L. Mishchenko, K. D. Bezmaternykh, V. A. Likhoshvai, et al., *J. Bioinform. Comput. Biol.* **5**, 593 (2007).
36. C. Laouénan, P. Marcellin, M. Lapalus, et al., *Antimicrob. Agents Ch.* **58**, 5332 (2014).
37. B. Roche, A. Coilly, A. M. Roque-Afonso, et al., *Viruses* **7**, 5155 (2015).
38. V. Belousova, A. A. Abd-Rabou, and S. A. Mousa, *Pharmacol. Ther.* **145**, 92 (2015).
39. B. S. Adiwijaya, B. Hare, P. R. Caron, et al., *Antivir. Ther.* **14**, 591 (2009).
40. H. W. Reesink, G. C. Fanning, and K. A. Farha, *Gastroenterology* **138**, 913 (2010).
41. M. Gao, R. E. Nettles, M. Belega, et al., *Nature* **465**, 96 (2010).
42. N. Forestier, D. Larrey, D. Guyader, et al., *J. Hepatol.* **54**, 1130 (2011).
43. J. de Bruijne, A. van Vliet, C. J. Weegink, et al., *Antivir. Ther.* **17**, 633 (2012).
44. J. Guedj and A. U. Neumann, *J. Theor. Biol.* **267**, 330 (2010).
45. J. Guedj, H. Dahari, L. Rong, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **110**, 3991 (2013).
46. L. Rong, J. Guedj, H. Dahari, et al., *PLoS Comput. Biol.* **9**, e1002959 (2013).
47. D. Clausznitzer, J. Harnisch, and L. Kaderali, *Virus Res.* **218**, 96 (2016).
48. N. David, Y. Yaffe, L. Hagoel, et al., *Virology* **475**, 139 (2015).
49. N. Appel, M. Zayas, S. Miller, et al., *PLoS Pathog.* **4**, e1000035 (2008).
50. S. Yamauchi, K. Takeuchi, K. Chihara, et al., *J. Biol. Chem.* **290**, 21857 (2015).
51. M. Schliemann, E. Bullinger, S. Borchers, et al., *BMC Syst. Biol.* **5**, 204 (2011).
52. N. Papic, C. I. Maxwell, D. A. Delker, et al., *Viruses* **4**, 581 (2012).
53. N. Zhu, C. F. Ware, and M. M. Lai, *Virology* **283**, 178 (2001).
54. Y. M. Chung, K. J. Park, S. Y. Choi, et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **284**, 15 (2001).
55. A. Aubert, R. Costalat, and R. Valabrègue, *Acta Biotheor.* **49**, 301 (2001).
56. T. A. Rapoport and R. Heinrich, *Biosystems* **7**, 120 (1975).
57. R. Heinrich and S. Schuster, *The regulation of Cellular Systems* (ITP Chapman & Hall, New York, 1996).
58. M. S. Vafaei and A. Gjedde, *J. Cereb. Blood Flow Metab.* **20**, 747 (2000).
59. A. Aubert and R. Costalat, *Neuroimage* **17**, 1162 (2002).
60. R. B. Buxton, E. C. Wong, and L.R. Frank, *Magn. Reson. Med.* **39**, 855 (1998).
61. J. Frahm, G. Krüger, K. D. Merboldt, et al., *Magn. Reson. Med.* **35**, 143 (1996).
62. G. Krüger, A. Kastrup, A. Takahashi, et al., *Neuroreport* **10**, 2939 (1999).
63. A. Togliola, J. M. Kittelson, R. B. Roemer, et al., *Int. J. Hyperthermia* **2**, 461 (1996).
64. A. Aubert, R. Costalat, H. Duffau, et al., *Acta Biotheor.* **50**, 281 (2002).
65. A. Aubert and R. Costalat, *J. Cereb. Blood Flow Metab.* **25**, 1476 (2005).
66. A. Aubert, R. Costalat, P. J. Magistretti, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **102**, 16448 (2005).
67. R. Guillemin, C. Menuel, J. N. Vallée, et al., *Compt. Rend. Biol.* **334**, 31 (2011).
68. R. Costalat, J. P. Françoise, C. Menuel, et al., *Acta Biotheor.* **60**, 99 (2012).
69. M. Lahutte-Auboin, R. Guillemin, J. P. Françoise, et al., *Acta Biotheor.* **61**, 79 (2013).
70. T. Cakir, S. Alsan, H. Saybaşili, et al., *Theor. Biol. Med. Model.* **4**, 48 (2007).
71. L. Hertz, *Neurochem. Int.* **45**, 285 (2004).

72. J. Shen, K. F. Petersen, K. L. Behar, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA **96**, 8235 (1999).
73. L. R. Drewes and D. D. Gilboe, J. Biol. Chem. **248**, 2489 (1973).
74. S. I. Harik, R. A. Behmand, and J. C. LaManna, J. Appl. Physiol. **77**, 896 (1994).
75. N. J. Allen, R. Káradóttir, and D. Attwell, J. Neurosci. **25**, 848 (2005).

Integrated Mathematical Models for Describing Complex Biological Processes

E.L. Mishchenko*, O.V. Petrovskaya*, A.M. Mishchenko, E.D. Petrovskiy*,
N.V. Ivanisenko and V.A. Ivanisenko***

**Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences,
prosp. Akademika Lavrentyeva 10, Novosibirsk, 630090 Russia*

***Novosibirsk National Research State University, ul. Pirogova 2, Novosibirsk, 630090 Russia*

In this review, we described integrated mathematical models of such processes as calcium homeostasis, pathogen-host interaction (hepatitis C virus was a pathogen), and human brain function in response to a stimulating event. It is shown that integrated mathematical models can be used for comprehensive study of the mechanisms and conditions that lead to the development of diseases of different nature (disorders of the musculoskeletal system, viral infections, various disturbances in brain function), identification of key targets and conditions for the directed effect of the new generation drugs as well as the interpretation of the results of modern technology of tomographic studies of diseases.

Keywords: mathematical modeling, calcium homeostasis, hepatitis C virus, human brain, stimulating event, mechanisms of diseases, therapeutic effects