

АНАЛИЗ УСТОЙЧИВОСТИ СИСТЕМЫ ВНУТРИКЛЕТОЧНОЙ СИГНАЛИЗАЦИИ PI3K–Akt–mTOR

© 2020 г. Т.С. Сапега*, **, Г.Т. Гурия*, **

*Национальный медицинский исследовательский центр гематологии Минздрава России
125167, Москва, Новый Зыковский проезд, 4

**Московский физико-технический институт,
141700, Долгопрудный Московской обл., Институтский пер., 9

E-mail: guria@blood.ru

Поступила в редакцию 20.11.2019 г.

После доработки 11.12.2019 г.

Принята к публикации 24.12.2019 г.

Каскады системы внутриклеточной сигнализации MAPK и PI3K–Akt–mTOR регулируют важнейшие клеточные процессы. В рамках текущих представлений о взаимодействии данных каскадов сформулирована и исследована математическая модель. Анализ устойчивости модели сигнального пути PI3K–Akt–mTOR позволил установить, что основное состояние сигнальной системы является метастабильным, оно может быть пороговым образом активировано при закритической экзогенной стимуляции. Для величины порогового уровня внешней стимуляции получено явное выражение. Показано, что триггерные явления в динамике сигнальной системы описываются элементарной катастрофой типа «складка». Обсуждается возможное значение полученных результатов для молекулярной гематологии и гемостазиологии.

Ключевые слова: PI3K–Akt–mTOR, MAPK, внутриклеточная сигнализация, анализ устойчивости, активация тромбоцитов.

DOI: 10.31857/S0006302920020118

Каскад внутриклеточной сигнализации PI3K–Akt–mTOR (PI3K – фосфоинозитид 3-киназа; Akt – белки семейства протеинкиназ В, кодируемые генами АКТ, mTOR – мишень рапамицина млекопитающих) играет важную роль в регуляции жизненного цикла клетки в норме [1, 2] и при ряде патологий [3, 4]. Наиболее часто нарушения передачи сигнала по данному сигнальному пути обсуждаются в контексте злокачественного перерождения клетки [3–6]. По последним сообщениям, PI3K–Akt–mTOR путь участвует в процессах активации тромбоцитов, а также при развитии сосудистых мальформаций [7–9].

Совокупность реакций, обеспечивающих функционирование сигнальных каскадов, принято схематически изображать в виде ориентированных графов [10, 11]. Такой способ представления данных позволяет составить наглядное пред-

ставление о ключевых веществах, участвующих в передаче сигнала.

Авторы исходили из того, что метаболические сигнальные сети должны отвечать той же совокупности априорных требований, которые принято предъявлять ко всем иным сигнальным сетям, в частности электрическим. С этой точки зрения метаболические сети, находясь в ждущем режиме, должны быть готовы к срабатыванию при поступлении извне в должной степени выраженного сигнала и должны быть способны игнорировать недостаточно выраженные по амплитуде внешние сигналы. Именно такого рода пороговые свойства метаболических сетей, по существующим представлениям, ответственны за их срабатывание в ситуациях, когда это действительно необходимо [12]. Такое поведение позволяет клеткам экономить ресурсы, игнорируя фоновые и случайные сигналы [13]. Другими словами, основное – «ждущее» – состояние всякой метаболической системы должно быть устойчивым к достаточно широкому кругу внешних сигналов, амплитуда которых ниже некоторого порогового уровня. В этой связи анализ устойчивости основных состояний каждой конкретной

Сокращения: PI3K – фосфоинозитид-3-киназа (phosphatidylinositol-3 kinase), Akt – белки семейства протеинкиназ В, кодируемые генами АКТ, mTOR – мишень рапамицина млекопитающих (mammalian target of rapamycin), MAPK – митоген-активируемые протеинкиназы (mitogen-activated protein kinase).

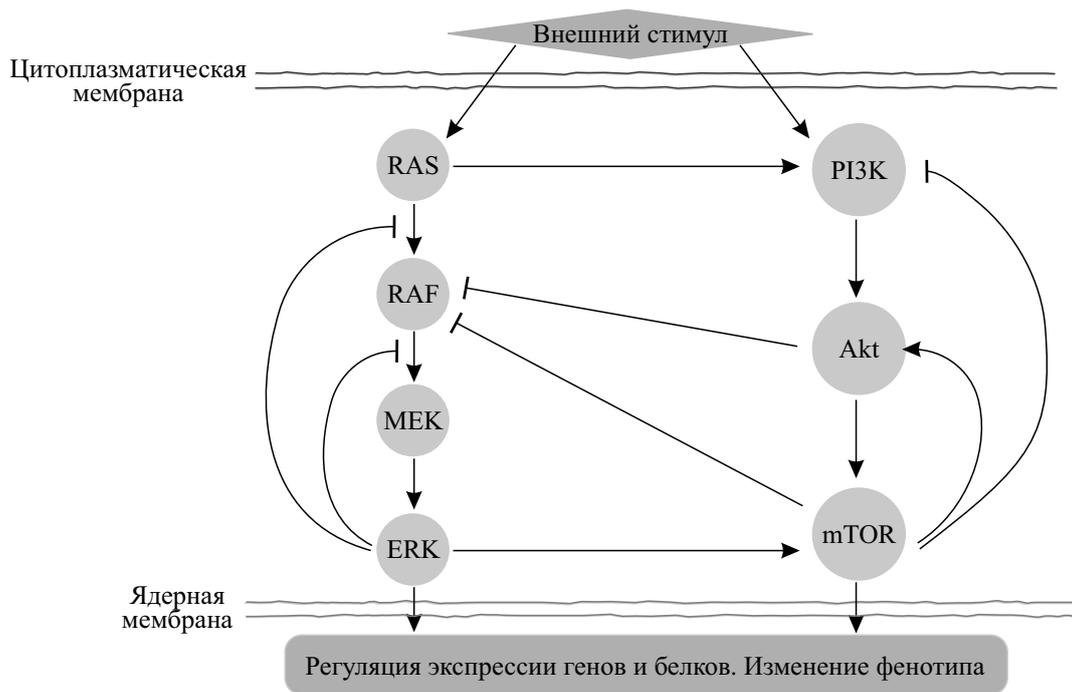


Рис. 1. Схема взаимодействия между сигнальными путями MAPK (белки RAS, RAF, MEK, ERK) и PI3K–Akt–mTOR (белки PI3K, Akt, mTOR) (адаптировано из [18]). Стрелки отображают стимулирующую передачу сигнала, а линии с тупым концом соответствуют негативной регуляции, ингибирующей прохождение сигнала.

метаболической сигнальной сети представляет большой интерес. Данный круг вопросов рассматривается в концептуальном плане в рамках теории метаболического контроля, являющейся сердцевиной современной системной биологии [14, 15].

В настоящей работе авторы ограничились анализом устойчивости каскада внутриклеточной сигнализации PI3K–Akt–mTOR, играющего важную роль в активации тромбоцитов и целого ряда иных клеток. Количественная оценка изменения функциональных свойств сигнальной системы клетки при вариации кинетических параметров ее отдельных элементов изучалась с использованием методов математического моделирования [16, 17].

МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ

Система внутриклеточной сигнализации была исследована на основе диаграммы взаимодействия каскадов MAPK и PI3K–Akt–mTOR, предложенной в работе [18] (см. рис. 1).

Стоит отметить, что правая ветвь, содержащая петлю положительной обратной связи на диаграмме (Akt–mTOR–Akt), является важным маркером динамических свойств системы. Это свойство указывает на принципиальную возможность возбуждения данного контура. В результате становится возможным переключение сигнального

пути на автономное поддержание сигнала. Потому условия активации сигнального пути PI3K–Akt–mTOR представляют большой интерес.

В соответствии со схемой, представленной на рис. 1, характер взаимодействия основных элементов сигнального пути PI3K–Akt–mTOR можно представить в сокращенном виде (рис. 2а). При анализе кинетики процессов в данном каскаде концентрации основных белков [PI3K], [Akt] и [mTOR] были обозначены как $Y_1(t)$, $Y_2(t)$ и $Y_3(t)$ соответственно. Предполагалось, что концентрации можно рассматривать как динамические переменные, а константы скорости соответствующих реакций – k_1 , k_2 , k_{31} и k_{32} – в качестве параметров. Для обозначения констант скоростей пассивных утечек были введены параметры κ_1 , κ_2 , κ_3 . Величина экзогенного стимула была обозначена как S и рассматривалась как параметр. Учитывая введенные обозначения, диаграмма принимает вид, представленный на рис. 2б.

Динамика процессов, схематично представленных на рис. 2б, описывалась следующей системой обыкновенных дифференциальных уравнений:

$$\dot{Y}_1 = k_0 S - k_{31} Y_1 Y_3 - \kappa_1 Y_1, \tag{1}$$

$$\dot{Y}_2 = k_1 Y_1 - \kappa_2 Y_2 + k_{32} Y_3, \tag{2}$$

$$\dot{Y}_3 = k_2 Y_2 - \frac{\kappa_3 Y_3}{(1 + Y_3 / K_M)}, \tag{3}$$

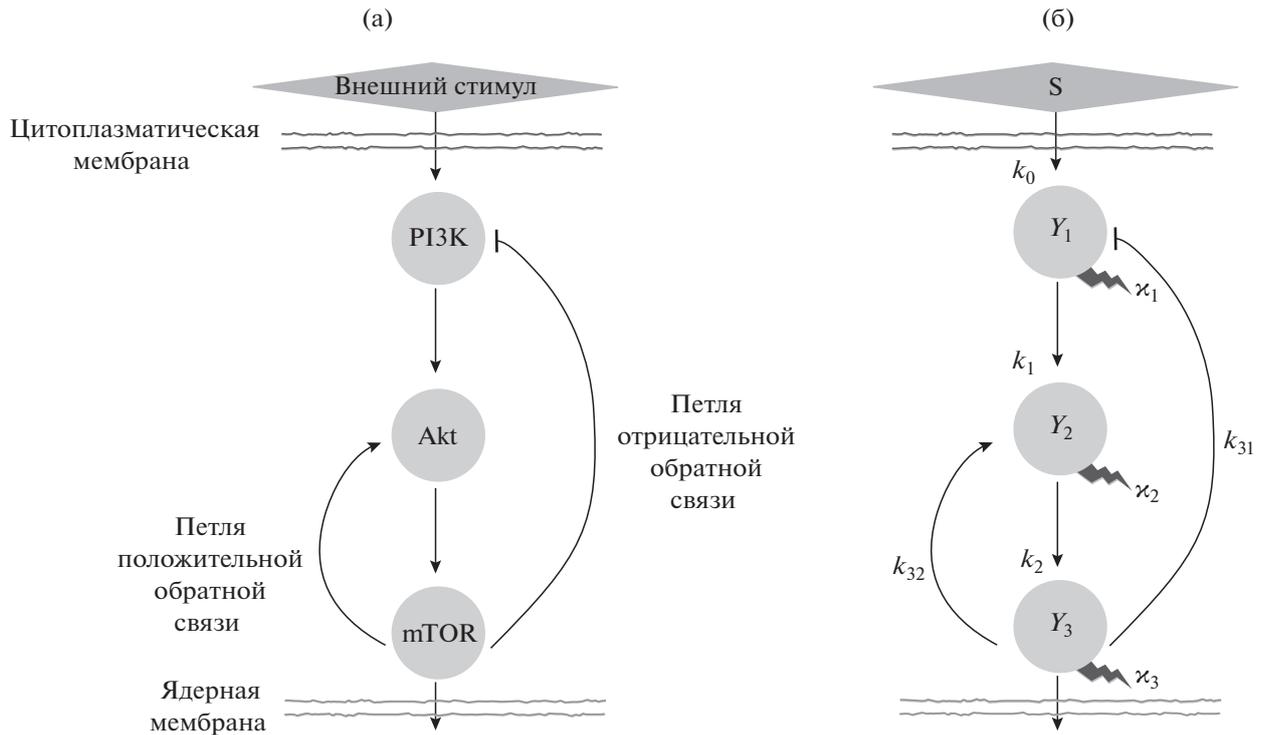


Рис. 2. Схематическая диаграмма каскада PI3K–Akt–mTOR, содержащая названия участвующих белков и обозначения петель обратных связей (а) и введённые символьные обозначения (б).

где символом КМ обозначена константа Михаэлиса.

Случай нулевой внешней стимуляции. Детальный анализ модели (см. Приложение) показывает, что в отсутствии внешних стимулов — $S \equiv 0$ — динамика рассматриваемой системы (уравнения (1)–(3)) может быть сведена к случаю $Y_1 \equiv 0$. Система становится двумерной и фактически определяется парой уравнений:

$$\dot{Y}_2 = -\kappa_2 Y_2 + k_{32} Y_3, \quad (4)$$

$$\dot{Y}_3 = k_2 Y_2 - \frac{\kappa_3 Y_3}{(1 + Y_3 / K_M)}. \quad (5)$$

Эволюция такой подсистемы была рассмотрена с помощью фазового портрета.

Если условие $\frac{\kappa_2 \kappa_3}{k_2 k_3} \geq 1$ выполняется, нуль-изолины пересекаются ровно в двух точках, обозначенных на рисунке символами N и S . По характеру прилегающих к этим особым точкам траекторий видно, что точка N является устойчивым узлом, а точка S — седлом, в которое входят две особые линии — AS и BS . Иными словами, область притяжения состояния, которому соответствует точка N , ограничивается сепаратрисой ASB . При попадании изображающей точки с координатами (Y_2, Y_3) в любую точку области вне этого «бассейна» притяжения соответствующая

фазовая кривая после некоторого приближения к одной из нуль-изоклин будет демонстрировать тенденцию к неограниченному росту обеих переменных во времени.

Случай ненулевой внешней стимуляции. Для анализа ситуации в общем случае были введены безразмерные переменные:

$$y_1 = \frac{k_1 k_2}{K_M} Y_1, \quad (6)$$

$$y_2 = \frac{k_2}{K_M} Y_2, \quad (7)$$

$$y_3 = \frac{1}{K_M} Y_3. \quad (8)$$

Уровень внешней стимуляции отображен величиной параметра Ω :

$$\Omega = \frac{k_0 k_1 k_2 S}{K_M}. \quad (9)$$

В безразмерных переменных система уравнений (1)–(3) принимает следующий вид:

$$\dot{y}_1 = \Omega - y_1 (\kappa_1 + k_{31} K_M y_3), \quad (10)$$

$$\dot{y}_2 = y_1 - \kappa_2 y_2 + k_2 k_{32} y_3, \quad (11)$$

$$\dot{y}_3 = y_2 - \frac{\kappa_3 y_3}{1 + y_3}. \quad (12)$$

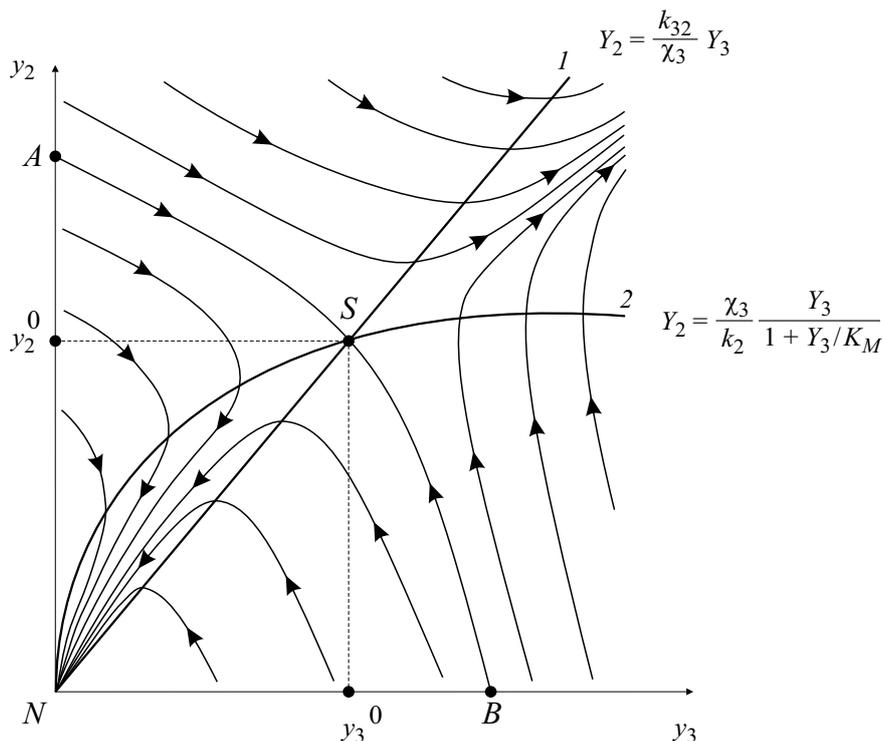


Рис. 3. Фазовый портрет динамической системы (4)–(5). Линии 1 и 2 – нуль-изоклины. Особые точки: N – устойчивый узел, S – седло. Сепаратриса ASB разделяет два динамических режима в фазовом пространстве системы: релаксация к устойчивому исходному состоянию и передача сигнала с нарастанием динамических переменных.

Стационарные состояния системы определяются следующей системой уравнений:

$$0 = \Omega - y_1^0 (\kappa_1 + k_{31}K_M y_3^0), \tag{13}$$

$$0 = y_1^0 - \kappa_2 y_2^0 + k_2 k_{32} y_3^0, \tag{14}$$

$$0 = y_2^0 - \frac{\kappa_3 y_3^0}{1 + y_3^0}. \tag{15}$$

Легко показать, что у системы уравнений (13)–(15) существует единственное нетривиальное решение, только если выполнено следующее условие:

$$\frac{\Omega}{(\kappa_1 + k_{31}K_M y_3^0)} - \frac{\kappa_2 \kappa_3 y_3^0}{1 + y_3^0} + k_2 k_{32} y_3^0 = 0. \tag{16}$$

Условие (16) является основополагающим для дальнейшего анализа. Оно, по сути, является условием разрешимости системы уравнений (13)–(15). Оно может быть представлено в следующем виде:

$$\sigma (1 + y_3^0) = y_3^0 (\varepsilon + y_3^0) (\delta - y_3^0), \tag{17}$$

где использованы следующие обозначения:

$$\sigma = \frac{\Omega}{k_2 k_{31} k_{32} K_M}, \tag{18}$$

$$\varepsilon = \frac{\kappa_1}{k_{31} K_M}, \tag{19}$$

$$\delta = \frac{\kappa_2 \kappa_3}{k_2 k_3} - 1 > 0. \tag{20}$$

При величине σ меньше определенного уровня $\sigma^\#$, соответствующее значение y_3^0 принадлежит интервалу $[0, \delta]$. Выражение для $\sigma^\#$ может быть найдено из уравнения (17) и принимает следующий вид:

$$\sigma^\# = \max_{0 < x < \delta} \left[\frac{x(x + \varepsilon)(\delta - x)}{1 + x} \right]. \tag{21}$$

В случае гиперстимуляции ($\sigma > \sigma^\#$) система не имеет положительных стационарных состояний. Это означает, что если уровень внешней стимуляции превышает критическое значение $\sigma^\#$, имеет место место триггерная активация сигнального пути и запуск передачи сигнала.

При любых значениях параметров $\delta, \varepsilon, \sigma$ уравнение (17) задает кубический полином относительно переменной y_3^0 . Его решение дает возможность отыскать y_3^0 , а затем y_1^0 и y_2^0 через уравнения (14) и (15). Таким образом, перечень всех возможных стационарных решений системы уравне-

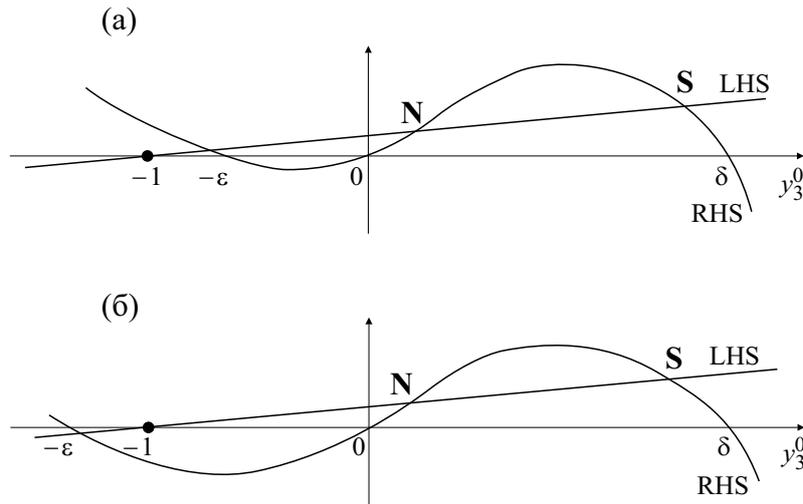


Рис. 4. Графическое представление решений уравнения (17). Рассмотрены два варианта расположения точек пересечения: а) $\varepsilon < 1$ и б) $\varepsilon > 1$. В обоих случаях один из корней нефизичен (отрицательное значение концентрации). Далее при рассмотрении ограничение на параметр $\varepsilon > 0$.

ний (10)–(12) определяется ровно тремя параметрами – δ , ε и σ (уравнения (18)–(20)).

Левая часть уравнения (17) по отношению к y_3^0 геометрически представляет собой прямую с коэффициентом наклона σ , проходящую через ось абсцисс при $y_3^0 = -1$. А правая часть – кубическую параболу с корнями $y_3^0 = -\varepsilon$, $y_3^0 = 0$, $y_3^0 = \delta$. Решениям уравнения (17) будут отвечать точки пересечения прямой и кубической параболы (рис. 4):

Поскольку величина y_3^0 , согласно уравнению (8), соответствует перенормированной концентрации белка mTOR, она по смыслу не может принимать отрицательные значения. Из рис. 4 видно, что уравнение (17) может иметь не более двух неотрицательных решений (отмечены на рисунке символами N и S). Так, например, при $\sigma = 0$ корнями являются $y_3^0 = 0$ и $y_3^0 = \delta$.

При увеличении значения σ до момента касания прямой с дугой кубической параболы при $\sigma = \sigma^\#$ уравнение (17) будет иметь ровно один неотрицательный корень. Также ясно, что при значении параметра $\sigma > \sigma^\#$ прямая на рис. 4 будет проходить выше дуги параболы, следовательно, уравнение (17) не будет иметь решений всюду при $y_3^0 > 0$, т. е. у системы уравнений (10)–(12) не будет стационарных состояний с неотрицательным значением y_3^0 .

Прямое исследование устойчивости стационарных состояний, которым отвечают точки пересечения прямой с кубической параболой, показало, что для всякого σ из интервала $0 < \sigma < \sigma^\#$ из двух точек пересечения прямой и параболы в неотрицательной области (см. рис. 4) левая – N – всегда отвечает устойчивому узлу, а правая – S – седлу. Это значит, что при допороговых уровнях внешней стимуляции ($\sigma < \sigma^\#$) система внутриклеточной сигнализации может находиться в ждущем режиме, в котором значению нормированной концентрации белка mTOR отвечает младший из положительных корней уравнения (17).

Поскольку расстояние между корнями уравнения (17) может рассматриваться как мера величины порога динамической активации, самое высокое значение порога достигается при $\sigma = 0$. И напротив, при повышении значения σ до предельного $\sigma^\#$ величина порога динамической потери устойчивости падает до нуля. Стационарные состояния системы уравнений (10)–(12) сближаются при увеличении параметра σ . Ветви решений, представляющие собой нормированные устойчивые (N) и неустойчивые (S) стационарные концентрации белка mTOR, сливаются при $\sigma = \sigma^\#$. Бифуркационная диаграмма выглядит следующим образом (см. рис. 5).

Для заданных параметров δ и ε можно получить числовое значение $\sigma^\#$. Зависимость уровня критической стимуляции $\sigma^\#$ от двух других параметров модели может быть представлена в виде графика в трехмерном пространстве (рис. 6).

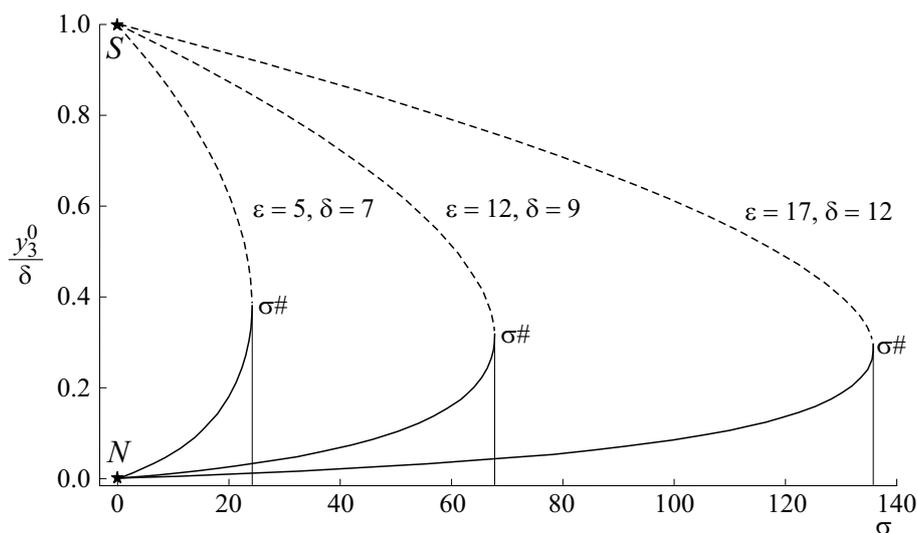


Рис. 5. Бифуркационная диаграмма катастрофы типа складка. Ветвь решений, соответствующая траектории устойчивого узла N , отображена сплошной линией, а седловой точки S – штриховкой. Решения, отображающие нормированные устойчивую (N) и неустойчивую (S) стационарные концентрации белка mTOR, сливаются при критическом значении $\sigma = \sigma^\#$.

РЕЗУЛЬТАТЫ МАТЕМАТИЧЕСКОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ

Из проведенного анализа следует, что система, описываемая уравнениями (10)–(12), демонстрирует отчетливое триггерное поведение. Действительно, представим себе, что подсистема (11)–(12) находится в своем основном невозмущенном состоянии $y_2^0 = 0$, $y_3^0 = 0$. Если в некий момент времени одна из ее динамических переменных (возьмем, для определенности, y_3) будет импульсно увели-

чена сверх определенного предела (станет больше значения y_3 в точке B , показанной на рис. 3), тогда дальнейшая эволюция системы во времени не будет представлять собой релаксацию в исходное состояние. Напротив, обе динамические переменные y_3 и y_2 будут демонстрировать асимптотическое стремление к неограниченному росту. С точки зрения теории управления, это означает, что рассматриваемая система демонстрирует способность к триггерной динамической активации.

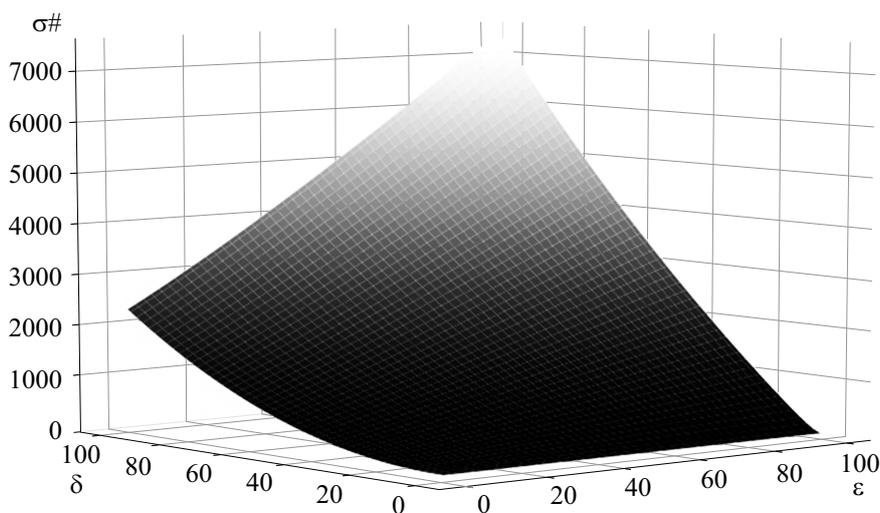


Рис. 6. Зависимость критической величины пороговой стимуляции $\sigma^\#$ от кинетических параметров модели δ и ϵ .

При этом из рис. 3 видно, что импульсная стимуляция по любой из переменных, не выводящая изображающую точку за пределы бассейна притяжения, завершится асимптотической релаксацией в исходное стационарное состояние N . Можно сказать, что область динамической устойчивости основного состояния фактически определяется размером прилегающего к точке N бассейна притяжения. Его размер характеризуется расстоянием между особыми точками N и S (длинной отрезка NS). При изменении кинетических параметров системы ($\kappa_2, \kappa_3, k_2, k_3, K_M$) длина NS будет меняться, так что при определенных условиях два корня могут выродиться в один. В таких случаях основное состояние системы испытывает параметрическую дестабилизацию, становится абсолютно неустойчивым, как следствие, при сколь угодно малом возмущении каскад активируется.

Порог динамической дестабилизации — величина внешнего импульса, необходимого для триггерной активации сигнального пути, — снижается по мере увеличения параметра σ до предельного значения $\sigma^\#$: уменьшается расстояние между точками пересечения прямой и параболы на рис. 4. Это указывает на то, что бассейн притяжения устойчивого стационарного состояния сужается.

ДИСКУССИЯ

В настоящей работе анализ устойчивости стационарных состояний сигнального пути PI3K—Akt—mTOR основывался на ориентированных графах, которые используют специалисты по молекулярной гематологии [18]. С математической точки зрения, анализ устойчивости проводился в соответствии со стандартными процедурами, восходящими к работам А.М. Ляпунова [19]. Полученные результаты поддаются рациональной интерпретации: в частности, заключение о том, что только три истинных параметра ($\delta, \varepsilon, \sigma$) описывают пороговые явления в сложной регуляторной системе, динамика которой зависит от девяти параметров, представляется очень важным. Найденное выражение для величины порога активации, а также оценки размеров области притяжения на фазовой плоскости открывают новые возможности для интерпретации данных, представляющих клинический интерес. Можно предположить, что аналогичные подходы, не перегруженные деталями, могут быть полезны и для изучения взаимодействия между другими сигнальными путями, интегрированными во внутриклеточную сигнальную сеть [15, 20].

В данной работе авторы сконцентрировались на анализе поведения изолированного пути PI3K—Akt—mTOR, оставив за рамками рассмот-

рения MAPK-каскад. При анализе диаграммы взаимодействия между сигнальными путями (см. рис. 1) с точки зрения теории управления легко понять, что ведущая роль принадлежит каскаду PI3K—Akt—mTOR. Контур самоусиления между Akt и mTOR образует автокаталитическое ядро, которое отвечает за фундаментальную возможность порогового возбуждения рассматриваемой системы, в то время как MAPK играет роль дополнительного стимулятора. Авторы исходили из следующего: при недостаточно выраженной стимуляции (по амплитуде или длительности воздействия) сигнал может затухнуть вследствие ограниченного времени жизни белков, диффундирующих к ядру клетки через насыщенный цитозоль. При прекращении внешней стимуляции процессы передачи сигнала определяются кинетикой автокаталитического ядра. Все остальные элементы, обозначенные на диаграмме, не могут работать автономно — их активация зависит от экзогенных стимулов. При допороговом уровне внешней стимуляции каскада PI3K—Akt—mTOR возможна динамическая потеря устойчивости. При этом величина динамического порога активации зависит от стимулирующего действия со стороны сигнального пути MAPK: генерируемый им импульс, может вызывать пороговое возбуждение автокаталитической петли Akt—mTOR. Анализ дополнительной стимуляции сигнального пути PI3K—Akt—mTOR посредством MAPK-каскад приведен в Приложении.

Сигнальная система PI3K—Akt—mTOR способна находиться в метастабильном стационарном состоянии: при превышении уровнем внешней стимуляции порогового значения происходит запуск автокаталитического ядра каскада и становится возможной автоволновая передача сигнала от внешней мембраны к ядру клетки. В основном, «ждущем» режиме отфильтровываются шумовые сигналы, стационарные концентрации белков автокаталитического ядра релаксируют к нулю. Из приведенного в работе анализа ясно, что основное состояние предоставленной себе системы ($S = 0$) может испытывать как динамическую, так и параметрическую потерю устойчивости. В отличие от динамических неустойчивостей, развивающихся в ответ на мгновенные импульсные изменения динамических переменных, как в случае стимуляции MAPK-каскадом, параметрические неустойчивости могут быть следствием плавных и медленных изменений во времени каких-либо кинетических параметров системы. Такие изменения, по мнению авторов, могут иметь место при генетических мутациях, сопровождающихся изменением активности белков, что ведет к количественному изменению соответствующих кинетических параметров системы. Это отображается в рамках модели изменением бассейна притяжения к основному состоянию

системы. Таким образом, клетки с мутациями в определенных генах могут стать более чувствительными к экзогенным стимулам, запускающим каскад: они оказываются способными порогово реагировать на возмущения, которые в норме игнорируются.

В последнее время число публикаций, касающихся сигнального пути PI3K–Akt–mTOR в связи с процессами активации тромбоцитов, быстро растет [21, 22]. Опубликованы новые данные об ингибировании элементов каскада, подавляющего адгезию тромбоцитов и образование тромба [23]. Таким образом, потеря устойчивости сигнального каскада PI3K–Akt–mTOR может играть важную роль в процессах тромбообразования.

Стоит отметить, что при активации тромбоцитов, наряду с подробно проанализированной в данной работе кинетической системой внутренней сигнализации с участием PI3K–Akt–mTOR, важную роль играет и межклеточная сигнализация. Ниже описаны два механизма активации тромбоцитов, задействующие рассмотренный сигнальный путь.

Одним из этих механизмов является прямая стимуляция тромбоцитов протромботическим агентом: взаимодействие рецептора тромбосана с тромбосаном A2 приводит к активации рецептора, связанного с G-белком. Его димерный комплекс Gβγ передает сигнал, вызывая активацию субъединиц PI3K и p44 / 42 MAPK (ERK1/2) [24]. При этом сигнальные пути MAPK и PI3K–Akt–mTOR участвуют в процессах секреции гранул тромбоцитов, которые выбрасываются с тромбосаном A2 [7, 25].

Другим механизмом является активация «изнутри наружу»: связывание коллагена с GPVI рецепторами тромбоцитов стимулирует фосфорилирование специфических остатков тирозина на внутренней стороне мембраны, которые в свою очередь рекрутируют сигнальные белки, в том числе PI3K [26], что ведет к высвобождению тромбосана A2 во внеклеточную среду [7]. Далее, будучи сильным протромботическим веществом, продуцируемым активированными тромбоцитами, тромбосан A2 стимулирует активацию и агрегацию новых тромбоцитов.

Инициирование тромбосана A2, образующимся в ходе реакции по второму механизму, ведет к реализации первого механизма, который сам по себе является автокаталитическим. Такое поведение аналогично проанализированному поведению каскадов MAPK и PI3K–Akt–mTOR. Таким образом, активация тромбоцитов существенно зависит от самоподдерживающихся процессов, в которых важную роль играет динамическая дестабилизация системы внутриклеточной сигнализации PI3K–Akt–mTOR.

ПРИЛОЖЕНИЕ

I. Отсутствие внешней стимуляции. Анализ системы уравнений (1)–(3) показывает, что при отсутствии сигнала извне ($S \equiv 0$) рассматриваемая система имеет два стационарных состояния. Одно из них выглядит как

$$Y_1^0 = 0, \tag{S1}$$

$$Y_2^0 = 0, \tag{S2}$$

$$Y_3^0 = 0. \tag{S3}$$

а второе –

$$Y_1^0 = 0,$$

$$Y_2^0 = \frac{k_{32}K_M}{\kappa_2} \left[\frac{\kappa_2\kappa_3}{k_2k_3} - 1 \right], \tag{S5}$$

$$Y_3^0 = K_M \left[\frac{\kappa_2\kappa_3}{k_2k_3} - 1 \right]. \tag{S6}$$

Легко видеть, что второе решение принадлежит области $Y_1^0 \geq 0$, $Y_2^0 \geq 0$, и $Y_3^0 \geq 0$ лишь при выполнении условия

$$\mu \equiv \frac{\kappa_2\kappa_3}{k_2k_3} \geq 1. \tag{S7}$$

Тогда в отсутствие внешнего стимула рассматриваемая сигнальная система формально может находиться в одном из двух стационарных состояний: либо в состоянии (S1)–(S3), либо в состоянии (S4)–(S6). Для того чтобы ответить, в каком именно состоянии способна реально находиться система, надлежит исследовать оба стационарных состояния на устойчивость.

Прямое исследование по первой «методе» А.М. Ляпунова [19] при выполнении условия (S7) позволяет найти, что стационарное состояние (S1)–(S3) является асимптотически устойчивым по отношению к малым отклонениям: все три ляпуновских показателя отрицательны. Таким образом, решение (S1)–(S3) является узлом в фазовом пространстве рассматриваемой системы уравнений (1)–(3). Аналогичное исследование стационарного решения (S4)–(S6) показывает, что из трех показателей Ляпунова один является положительным, а два других отрицательны. Это значит, что данное решение является седлом в фазовом пространстве, т.е. оно неустойчиво к сколь угодно малым возмущениям, а потому не может быть физически реализовано.

Кроме того, из анализа изложенного следует, что при полном отсутствии внешней стимуляции (случай $S \equiv 0$) динамика рассматриваемого сиг-

нального пути фактически определяется парой уравнений на Y_2 и Y_3 :

$$\dot{Y}_2 = -\kappa_2 Y_2 + k_{32} Y_3, \quad (S8)$$

$$\dot{Y}_3 = k_2 Y_2 - \frac{\kappa_3 Y_3}{(1 + Y_3 / K_M)}. \quad (S9)$$

II. Стимуляция mTOR посредством ERK. Как видно из рис. 1, белок ERK способен напрямую активировать mTOR. Этот эффект может быть формально учтен, если добавить дополнительный член в уравнение (12). Тогда система (10)–(12) принимает следующий вид:

$$\dot{y}_1 = \Omega - y_1(\kappa_1 + k_{31} K_M y_3), \quad (S10)$$

$$y_2 = y_1 - \kappa_2 y_2 + k_2 k_{32} y_3, \quad (S11)$$

$$y_3 = \Lambda + y_2 \frac{\kappa_3 y_3}{1 + y_3}, \quad (S12)$$

где Λ – величина, пропорциональная концентрации белка ERK.

С учетом Λ -члена при поиске стационарного состояния одна из нуль-изоклин сместится вниз на величину Λ :

$$y_2 = \frac{\kappa_3 y_3}{1 + y_3} - \Lambda. \quad (S13)$$

Выражение для σ принимает следующий вид:

$$\begin{aligned} \sigma &= \frac{y_3(\varepsilon + y_3)(\delta - y_3)}{1 + y_3} - \frac{\kappa_2}{k_2 k_{32}} \Lambda(\varepsilon + y_3) = \\ &= \frac{y_3(\varepsilon + y_3)(\delta - y_3)}{1 + y_3} - \lambda(\varepsilon + y_3), \end{aligned} \quad (S14)$$

где введен безразмерный параметр

$$\lambda = \frac{\kappa_2}{k_2 k_{32}} \Lambda. \quad (S15)$$

Условие разрешимости принимает следующий вид:

$$\sigma(1 + y_3^0) = y_3^0(\varepsilon + y_3^0)(\delta - y_3^0) - \lambda(\varepsilon + y_3^0)(1 + y_3^0). \quad (S16)$$

Тогда выражение для значения пороговой стимуляции с учетом λ -члена принимает вид:

$$\sigma^\lambda = \max_{0 < x < \delta} \left[\frac{x(x + \varepsilon)(\delta - x)}{1 + x} - \lambda(\varepsilon + x) \right]. \quad (S17)$$

Сравнение выражений (21) и (S17) показывает, что в присутствии λ -члена ($\lambda > 0$) амплитуда критического уровня стимуляции σ^λ меньше $\sigma^\#$. Чем больше значение λ , тем меньше значение σ^λ . Следовательно, MAPK-каскад способен обеспечить параметрическую дестабилизацию сигнального пути PI3K–Akt–mTOR.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 19-11-00260).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая работа не содержит описания каких-либо исследований с использованием людей и животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. B. Alberts, A. Johnson, J. Lewis, et al., *Molecular Biology of the Cell* (Garland, NY, 2002).
2. M. J. Berridge, *Cell Signalling Biology* (2012). DOI:10.1042/csb0001012
3. *Molecular Oncology*, Ed. by M. Bishop and R. A. Weinberg (Mosby, 1996).
4. N. Dey, P. De, B. Leyland-Jones, *PI3K-mTOR in Cancer and Cancer Therapy* (Humana Press, NY, 2016).
5. J. Bertacchini, N. Heidari, L. Mediani, et al., *Cell. Mol. Life Sci.* **72** (12), 2337 (2015).
6. M. Compagno, Q. Wang, C. Pighi, et al., *Nature* **542** (7642), 489 (2017).
7. Z. Li, M. K. Delaney, K. A. O'Brien, and X. Du, *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* **30** (12), 2341 (2010).
8. G. F. Guidetti, I. Canobbio, and M. Torti. *Adv. Biol. Regul.* **59**, 36 (2015).
9. A. Martinez-Lopez, L. Salvador-Rodriguez, T. Montero-Vilchez, et al., *Curr. Opin. Pediatrics* **31** (6), 747 (2019).
10. https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?map=hsa04151&show_description=show.
11. <http://public.ndexbio.org/#/network/4bb7e76c-1e5f-11e8-b939-0ac135e8bacf>.
12. B. Pfeuty and K. Kaneko. *Phys. Rev. E* **89** (2), 022707 (2014).
13. М. Ичас, *О природе живого: механизмы и смысл* (Мир, М., 1994).
14. В. Ø. Palsson, *Systems biology: properties of reconstructed networks* (Cambridge University Press, Cambridge, 2006).

15. В. N. Kholodenko, A. Kiyatkin, F. J. Bruggeman, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA **99** (20), 12841 (2002).
16. Ю. М. Романовский, Н. В. Степанова и Д. С. Чернавский, *Математическая биофизика* (Наука, М., 1975).
17. Г. Ю. Ризниченко, *Лекции по математическим моделям в биологии*, изд. 2-е, испр. и дополн. (РХД, М., 2011).
18. И. А. Якутик, Л. С. Аль-Ради, Б. В. Бидерман и др., *Гематология и трансфузиология* **63**, 112 (2018).
19. А. М. Ляпунов, *Общая задача об устойчивости движения* (АН СССР, М., 1948).
20. A. Nair, P. Chauhan, B. Saha, and K. F. Kubatzky, Int. J. Mol. Sci. **20** (13), 3292 (2019).
21. D. S. Shen, Y. J. Yang, X. J. Kong, et al., Eur. J. Pharmacol. **852**, 1 (2019).
22. Z. Chen, T. Li, K. Kareem, et al., Artificial organs **43** (9), 897 (2019).
23. T. Später, I. Müller, H. Eichler, et al., Platelets **29** (3), 277 (2018).
24. J. M. Gibbins, S. Briddon, A. Shutes, et al., J. Biol. Chem. **273** (51), 34437 (1998).
25. P. Flevaris, Z. Li, G. Zhang, et al., Blood **113** (4), 893 (2009).
26. N. Nakahata, Pharmacol. Therap. **118** (1), 18 (2008).

Stability Analysis of PI3K–Akt–mTOR Intracellular Signaling Pathway

T.S. Sapega*, ** and G.Th. Guria*, **

*National Research Center for Hematology, Novozykovskii proezd 4, Moscow, 125167 Russia

**Moscow Institute of Physics and Technology, Institutskiy per. 9, Dolgoprudny, Moscow Region, 141700 Russia

The MAPK and PI3K–Akt–mTOR intracellular signaling cascades regulate important cellular processes. A mathematical model was designed and used for the analysis based on current knowledge of the interactions that occur within these cascades. Stability analysis of the PI3K–Akt–mTOR signaling pathway model showed that the ground state of the signaling pathway is metastable and signal transduction can be activated by overcritical exogenous stimulation. An explicit expression was obtained for the threshold level of external stimuli. It was shown that triggering events in the dynamics of the signaling pathway are described by the Fold catastrophe of the Elementary theory. A discussion about whether the results obtained are significant for molecular hematology and hemostasiology is presented.

Keywords: PI3K–Akt–mTOR, MAPK, intracellular signaling, stability analysis, platelet activation