

УДК 612.119:51-76

Р. В. Бойко, Н. М. Білько, Д. І. Білько

МАТЕМАТИЧНА МОДЕЛЬ ФУНКЦІОНУВАННЯ СИСТЕМИ КРОВОТВОРЕННЯ

Анотація: Авторами статті було зроблено спробу проаналізувати кровотворення як стаціонарний процес проліферації і диференціювання кровотворних клітин і, використовуючи закономірності тих чи тих його етапів, перетворити їх на математичні формули. Отримані результати, підтверджені експериментально, можуть у подальшому слугувати основою для розрахунків числових показників популяції клітин, необхідних для відновлення гемопоєзу.

Ключові слова: гемопоєз, математичні моделі, стовбутова клітина.

Вступ

Механізм підтримування кровотворення в організмі забезпечує продукування 300 млн клітин крові на хвилину, принаймні за п'ятьма напрямками диференціювання. При стабільному кровотворенні співвідношення між ними пропорційно приблизно однакове. Водночас при збурювальних впливах продукція тих чи тих клітин різко змінюється.

Обсяг клітинної продукції у кровотвірній системі наштовхує на думку про існування клітин-попередників кровотвірних клітин, здатних у результаті поділу утворювати «дочірні» клітини, повністю ідентичні материнській клітині, та клітин, які диференціюються за всіма напрямками кровотворення. Ці попередники були названі стовбуровими кровотвірними клітинами (СКК).

Нині можна вважати доведеним те, що СКК вирізняються високим, але не безмежним проліферативним потенціалом, тобто СКК здатні мати скінченне число поколінь нащадків, вони не безсмертні, не можуть «самопідтримуватися» нескінченно довго. СКК закладаються лише в ембріогенезі й витрачаються послідовно, утворюючи, як правило, короткоіснуючі локально розташовані клітинні клони, які замінюють один одного [6, с. 7], аналогічно до того як це відбувається у яєчнику. Разом із тим останні дослідження дають підстави припускати, що самооновлення і диференціювання стовбурових клітин підтримується асиметричним поділом, за допомогою якого стовбутова клітина дає початок двом неоднаковим дочірнім клітинам: одна займає ту

саму нішу, що й батьківська стовбутова клітина, друга починає диференціювання [10]. СКК принципово не відрізняються від більш зрілих членів кровотвірної ієрархії і всі без винятку кровотвірні клітини являють собою транзитні популяції, які безперервно або з перервами просуваються до кінцевих стадій дозрівання. Саме тому всі відділи попередників гетерогенні та містять численні клітинні форми, які поступово переходять одна в одну.

Першою ознакою ранніх стадій дозрівання СКК є поступове зниження проліферативного потенціалу. При подальшому дозріванні клітини залишають стовбуровий відділ і переходять у відділ комітованих попередників. Поступово комітовані клітини втрачають поліпотентність і переходять у відділ уніпотентних клітин. Існує думка, що той чи той напрямок диференціювання спричиняє внутрішні стохастичні зміни клітин-попередників, які індукують дозрівання і комітування. Останнє може бути визначено як шлях майбутнього клітинного продукування нащадків певної лінії.

Стовбурові кровотвірні клітини морфологічно неможливо відрізнити від клітин-попередників, однак їх можна кількісно визначити при клонуванні у напівтвердих середовищах (агар, метилцелюлоза, згусток плазми крові, колагеновий гель). Водночас популяція СКК неоднорідна. Наприклад, клітини, що утворюють колонії в селезінці, перебувають у кінці ієрархії СКК; у різних експериментальних системах може бути виявлено популяції значно примітивніших

стовбурових клітин. За допомогою різних методів (морфологічних, цитохімічних, із використанням моноклональних антитіл, цитогенетичних, біохімічних та ін.), можна відокремити СКК від кровотвірних клітин-попередників [23].

Комітовані СКК являють собою поступове стохастичне обмеження диференціувальних потенцій, складний багатадійний процес перетворення поліпотентної стовбурової клітини на монопотентний попередник. Комітовані клітини набувають чутливості до гуморальних регуляторів кровотворення. Культивування їх у напіврідкому середовищі (агар, метилцелюлоза) за наявності цих факторів дає змогу отримувати колонії термінально диференційованих клітин [8].

Останніми роками традиційне уявлення про необмежене самопідтримання СКК змінюється. Свідченням тому є дані, що у більшості, якщо не у всіх, СКК відбувається скорочення теломеразної ДНК, утім, відповідно до дорослішання організму чи їхньої проліферації у культурі. Це вказує на обмеженість їхнього проліферативного потенціалу і зменшення його з віком [14].

Слід зазначити, що ще у 60-х рр. ХХ ст. було висловлено гіпотезу щодо клональної сукцесії, згідно з якою наявні в організмі СКК по чергово беруть участь у гемопоезі, даючи клони, що починають диференціюватися [12]. Й. Л. Чертков і Н. І. Дрідзе підтвердили цю гіпотезу, використовуючи розроблений ними метод вивчення динаміки індивідуальних клонів СКК протягом життя миші [5]. За їхніми даними, в опромінених мишей, яким ввели генетично марковані донорські стовбурові клітини, кровотворення забезпечується значною кількістю невеликих локальних одночасно нетривало існуючих клонів. Клони змінюють один одного і ніколи не з'являються знову після зникнення. На думку цих авторів, СКК не самопідтримуються, а являють собою закладену в ембріогенезі популяцію клітин із обмеженою здатністю до проліферації, що витрачаються поступово і змінюють одна одну відповідно до виснаження проліферативного потенціалу.

Кровотвірна тканина є самооновним клітинним комплексом, в якому смерть клітин збалансована продукцією нових клітин. Рівновага між системою крові, цілісним організмом і навколишнім середовищем регулюється нейрогуморальною системою через спеціальний апарат, що складається із внутрішньоклітинних сигнальних молекул і ферментів (інгібіторів та індукторів процесів диференціювання і проліферації), гормонів, мікроелементів і т. д. На різних етапах онтогенетичного розвитку, як у пренатальний період, так і в постнатальному житті, механізм цієї регуляції, очевидно, різний. Однак принципова його суть полягає у репресії чи дерепресії

ділянок молекули ДНК відповідних геному кровотвірних клітин. Загальні схеми ембріонального і постембріонального кровотворення не рівноцінні. Ця обставина підтверджує положення про специфіку регуляції кровотворення на різних стадіях розвитку організму [6].

У науковій літературі немає сьогодні розуміння того, як регулюється складний процес вступання стовбурової клітини у цикл і як вона вибирає напрям диференціювання, хоча припускається стохастичність цих процесів.

Відповідно до просування вздовж дерева кровотвірних диференціювань, стохастична проліферація СКК, не чутлива до запиту, змінюється на регульовану сироватковим рівнем ростових факторів, що і зумовлює можливість кількісної регуляції кровотворення.

Наявність двох фаз регуляції кровотворення: незалежної від запитів на рівні СКК і чутливої до запиту на рівні всіх більш зрілих попередників, разом із тими, які морфологічно розпізнаються, – забезпечуються дві основні властивості процесу кровотворення. По-перше, його невичерпність незалежно від інтенсивності запиту за рахунок збереження СКК, які є цитокінонезалежними, виходять зі стану спокою стохастично і здатні відновлювати всю кровотвірну систему після її загибелі чи втрати зрілих клітин. По-друге, можливість швидкої відповіді на запит, що здійснюється зрілішими, ніж СКК, попередниками і забезпечується відповідною продукцією зрілих клітин певного типу. При стабільному стані у кровотвірній системі у кожний момент часу наявні численні кровотвірні попередники, які ще не вичерпали свій проліферативний потенціал і здатні до негайної й інтенсивної відповіді на запит.

Дж. Спангруде (G. J. Spangrude) зі співавт. запропонували такий можливий механізм регуляції кровотворення. Більш зрілі кровотвірні попередники потребують менше стимулів для проліферації, ніж менш зрілі. За умов незначного ослаблення кровотворення вивільнюються один або й кілька факторів, які активують достатньо зрілих попередників, що веде до швидкого відновлення відповідних клітинних типів. При вищому запиті на кровотворенні проявляються додаткові фактори, що запускають проліферацію і диференціювання стовбурових клітин. Кількість активованих СКК визначається різноманітністю, і, можливо, кількістю вивільнюваних факторів [22].

Відомо, що молоді (менш зрілі) СКК нечутливі до факторів росту. Е. Голдвассер (E. Goldwasser) зі співавт. [9] висунули гіпотезу щодо регуляції СКК шляхом аутокринної продукції цитокінів. Вчені припускають наявність мультипотентних гемопоетичних клітин внутрішньо-

клітинних рецепторів цитокінів, стимуляція яких веде до їхньої проліферації. Комітування пов'язане із припиненням функціонування внутрішнього аутокринного механізму, а також з експресією специфічних мембранних рецепторів для тих чи тих факторів, у результаті чого клітина стає залежною від зовнішнього сигналу за подібного шляху диференціювання. На підтвердження цієї гіпотези можна навести дані про аутокринну продукцію факторів росту трансформованими кровотвірними клітинами, що дає їм змогу проліферувати в культурі за відсутності строму і незалежно від додавання екзогенних цитокінів [15, с. 21]. Однак стосовно стовбурових клітин ця модель ще слабо розроблена і потребує перевірки й уточнення.

Перша стохастична модель кровотворення та відповідна математична модель були запропоновані у 1964 р. на основі вивчення вмісту стовбурових кровотвірних клітин в окремих селезінкових колоніях [24]. Описана стохастична модель проліферації стовбурових клітин полягає, поперше, у тому, що кожна колонієтвірна клітина може ділитися й утворювати дві нові клітини зі здатністю формувати колонії.

Водночас клітина може диференціюватися, відповідно втративши можливість до формування колоній, але зберігаючи можливість продукувати кілька поколінь клітин, здатних до диференціювання. Друга риса моделі характерна тим, що ці два процеси відбуваються випадково у популяції колонієтвірних клітин.

Таким чином, за цією стохастичною моделлю припускається, що колонієтвірна клітина (стовбура клітина) після завершення періоду розвитку з імовірністю P_2 ділиться на дві колонієтвірні клітини і з імовірністю P_0 втрачає можливість формувати колонії, причому $P_2 + P_0 = 1$. Відповідна математична модель, що описує запропоновану стохастичну модель проліферації стовбурових клітин, називається процесом «народження» і «смерті», у якому акт самопідтримання стовбурової клітини з імовірністю P_2 трактується як «народження», а акт її диференціювання сприймається як «смерть».

Отже, наведена стохастична модель та відповідна математична модель описують процес кровотворення лише стосовно відділу стовбурових клітин.

Ця модель набула подальшого розвитку у дослідженнях А. Корна (Korn) зі співавт. [13]. Була запропонована стохастична модель кровотворення, яка описує процес кровотворення у селезінці летально опромінених мишей після введення їм донорських стовбурових клітин. За цією стохастичною моделлю було припущено, що плюрипотентна стовбура клітина може самовідновитися чи диференціюватися у клітини-

попередники еритроїдної або гранулоцитарної гілки; усі ці події є випадковими. Тому щоразу, коли стовбура клітина завершує один цикл розвитку за певний проміжок часу і ділиться, дочірні клітини випадково обирають один із трьох наведених вище шляхів розвитку з відповідними ймовірностями. У процесі комітування нащадки стовбурової клітини при диференціюванні в еритроїдну чи гранулоцитарну гілки втрачають плюрипотентність та можливість самовідновлення. Кожна дочірня клітина після певної кількості поділів через визначені проміжки часу породжує зрілі еритроцити чи гранулоцити, які мігрують із колоній. Автори зазначають, що існують інші гілки кровотворення, але для спрощення у схему введено лише дві названі.

Таким чином, у стохастичній моделі Корна припускається, що кожна стовбура клітина після завершення періоду свого розвитку з імовірністю P_S ділиться на дві такі ж стовбурові клітини, з імовірністю P_E ділиться на дві клітини типу E_1 (клітина типу E_1 – перше покоління еритроїдної гілки, найбільш ранній попередник еритроїдної гілки), чи з імовірністю P_G ділиться на дві клітини типу G_1 (клітина типу G_1 – перше покоління гранулоцитарної гілки, найбільш ранній попередник гранулоцитарної гілки). У цій ситуації $P_S + P_E + P_G = 1$.

Кожна клітина типу E_1 після завершення періоду свого розвитку не може самовідновлюватися і, диференціюючись із ймовірністю 1, ділиться на дві клітини типу E_2 . Клітина типу E_2 – клітина другого покоління еритроїдної гілки. Тільки клітини еритроїдної гілки із номером покоління N_E дають початок дозріваючим еритроїдним клітинам, які мігрують із колонії.

Гранулоцитарна гілка утворюється з клітин типу G , що мають аналогічний процес розвитку, а клітини з номером покоління N_G дають початок гранулоцитам.

З викладеного випливає, що стохастична модель, запропонована Тіллем (Till) та ін., є моделлю першого етапу кровотворення у стохастичній моделі Корна.

Перевірка адекватності запропонованих стохастичних моделей реальним процесам кровотворення проводилась авторами при порівнянні результатів моделювання та експериментальних даних спостереження процесів відтворення кровотворення в умовах гемопоетичного стресу, тобто після летального опромінення.

Недоліки обох запропонованих стохастичних моделей виявляються у спробі їх використання для моделювання стабільного процесу кровотворення, коли середнє число всіх типів клітин не змінюється у часі.

Із досліджень стохастичних процесів «народження» і «смерті» відомо [3], що запропонована

стохастична модель Тілля може описувати процес стабільного кровотворення, лише якщо ймовірність самовідновлення стовбурової клітини при проліферації P_S дорівнюватиме 0,5. За умови $P_S > 0,5$, середнє число стовбурових клітин у моделі, що описується процесом «народження» і «смерті», експоненціально зростатиме, а при $P_S < 0,5$ експоненціально спадатиме зі збільшенням часу функціонування системи кровотворення. З іншого боку [3], незважаючи на стабільність середнього числа стовбурових клітин, значна частина траєкторії процесу «народження» та «смерті» при $P_S = 0,5$, які описують кількість стовбурових клітин у системі кровотворення, обривається в певні моменти часу. Це означає «смерть» усіх стовбурових клітин у системі у ці моменти часу та припинення функціонування кровотвірної системи, що не відповідає дійсності.

Цей недолік стохастичної моделі міг би бути усунутий, якби у моделі Тілля було враховано припущення про можливість асиметричного поділу стовбурової клітини, але це припущення теоретично не може бути враховано у цій математичній моделі.

До наведених вище аргументів слід додати, що припущення у стохастичній моделі Корна стосовно втрати можливості самовідновлення клітин гранулоцитарної та еритроїдної гілок кровотворення при моделюванні процесів відновлення кровотворення після летального опромінення не може бути прийнятним при моделюванні стабільного процесу кровотворення з певних причин.

Припущення, що при стабільному кровотворенні клітини еритроїдної чи гранулоцитарної гілок кровотворення не можуть з певною ймовірністю поділитися на дві клітини, ідентичні материнській, а лише з ймовірністю «одиниця» діляться на дві клітини наступного, більш диференційованого покоління, означає, що при стабільному кровотворенні у показниках мієлограми клітинного складу кісткового мозку в нормі проноцитів має бути вдвічі менше від нормоцитів базофільних, а нормоцитів базофільних удвічі менше від нормоцитів поліхроматофільних, що суперечить експериментальним даним [6].

Роедер (Roeder I.) зі співавт. запропонували і дослідили іншу стохастичну модель організації гемопоетичних стовбурових клітин [18–20]. Було припущено, що властивості клітин можуть змінюватися у певних діапазонах можливих варіантів. Напрямок розвитку клітин і вибір клітиною певної властивості залежить від внутрішнього стану клітини і від сигналів з її ростового середовища. Так, наприклад, кожна клітина належить до одного з двох середовищ A чи P і характеризується параметром a , який визначає її можливість належати до середовища A . У середовищі P клітини втрачають можливість нале-

жати середовищу A , а у середовищі A поступово її відновлюють. Клітини в середовищі A не проліферують, натомість у середовищі P проліферують.

Перехід клітин з одного середовища в інше моделюється як стохастичний процес. Інтенсивності відповідного переходу клітин залежать від величин параметру a клітин та від числа стовбурових клітин, що перебувають відповідно у середовищах N та P . Якщо параметр a окремої клітини став нижчим певного рівня, така клітина залишає відділ стовбурових клітин і починає формування клону диференційованих клітин.

Слід зазначити, що така стохастична модель організації стовбурових клітин не може бути математично проаналізована. Її властивості можуть бути визначені лише за допомогою комп'ютерного моделювання, а модельні параметри можуть бути підбрані на основі аналізу результатів комп'ютерної імітації описаної стохастичної моделі.

Запропонована Корном (1973) модель є найближчою до стохастичної моделі функціонування кровотвірної системи, що пропонується нами.

Методика

Основа нашої стохастичної моделі становитиме схема кровотворення, запропонована І. Л. Чертковим та ін. (1976, 2002), з урахуванням того, що відділення мегакаріоцитопоезу й еритропоезу від СКК відбувається, імовірно, через стадію біпотентних еритроїдно-тромбоцитарних попередників [1, 16, 17, 25].

Враховуючи викладене вище і зауваження до раніше розглянутих моделей, пропонується стохастична модель кровотворення, що базується на твердженні про те, що кровотворення в організмі підтримують СКК, закладені в ембріогенезі у m_0 джерелах і витрачаються із цих джерел послідовно.

Для спрощення моделі обмежимося розглядом кровотворення як процесу утворення лімфоцитів, гранулоцитів, моноцитів, тромбоцитів і еритроцитів. З кожного джерела, незалежно один від одного, через випадкові проміжки часу з показниковим розподілом до кровотвірної системи надходять СКК (називатимемо їх клітинами типу C_1), готові до виконання функцій кровотворення.

Цікаво, що сформульована раніше стохастична модель надходження клітин типу C_1 (стовбурових кровотвірних клітин, СКК) до кровотвірної системи еквівалентна, з точки зору математичного моделювання, схемі підтримування самооновлення та диференціювання стовбурових клітин асиметричним поділом [10], внаслідок якого стовбурова клітина дає початок двом неоднаковим клітинам: одна займає ту саму нішу, що й батьківська стовбурова клітина, друга починає диференціювання. Відповідна стохас-

тична модель надходження СКК до кровотвірної системи має такий вигляд.

Середню тривалість інтервалів, через які СКК надходять у систему кровотворення з кожного джерела, позначатимемо через τ_0 . Одиницею виміру τ_0 вважатиметься доба. Джерела надходжень СКК до кровотвірної системи будемо ототожнювати із клітинами типу C_0 . Клітину типу C_0 назвемо ембріональною стовбуровою клітиною (ЕСК). Кожна з m_0 клітин типу C_0 , незалежно від інших клітин у кінці свого генераційного циклу, тривалість якого є випадковою величиною з показниковим розподілом, здійснює асиметричний поділ на дві клітини. Одна з клітин є клітиною типу C_0 , друга клітина – клітиною типу C_1 . При цьому середня тривалість генераційного циклу клітини типу C_0 дорівнює τ_0 . Як далі буде показано, така схема надходження клітин типу C_1 до кровотвірної системи забезпечує існування стаціонарного режиму кровотворення у математичній моделі кровотворення без припущення рівності ймовірностей самовідновлення та диференціювання у стохастичній моделі кровотворення. До речі, така можливість асиметричного поділу стовбурової клітини при побудові стохастичної моделі кровотворення у роботі Корна (1973) не була врахована.

Кожна з клітин типу C_1 у кінці свого генераційного циклу, незалежно від інших клітин, з ймовірністю p самовідновлюється, ділячись на дві клітини типу C_1 , а з ймовірністю $d = 1 - p$ диференціюється, ділячись на дві клітини типу C_2 , які вже зробили перший крок комітування.

Виходячи з того, що далі припускати будемо існування ймовірнісного механізму вибору клітинами-попередниками різних гілок кровотворення, природно говорити про існування кількох стадій диференціювання клітин-попередників. Будемо виходити з того, що є r стадій диференціювання. Завдяки самовідновленню на кожній стадії чисельність клітин-попередників зростає, а при великій їх кількості ймовірнісний механізм диференціювання клітин у різні гілки кровотворення забезпечуватиме з певною точністю практично детермінований їх розподіл. Тому далі вважатимемо, що кожна клітина типу C_p , $i = 2, 3, \dots, r - 1$ у кінці свого генераційного циклу, незалежно від інших клітин, з ймовірністю p самовідновлюється, ділячись на дві клітини того ж типу C_p , а з ймовірністю $d = 1 - p$ диференціюється, ділячись на дві клітини типу C_{i+1} (див. рис. 1).

Також припускати будемо, що подія диференціювання клітини і подія вибору клітиною певної гілки кровотворення при диференціюванні є стохастично незалежними подіями, тому, за визначенням, ймовірність одночасного здійснення подій диференціювання і вибору певної гілки кро-

вотворення дорівнює добутку ймовірностей відповідних подій [4].

Виходячи з цього, клітина типу C_p , незалежно від інших клітин, у кінці свого генераційного циклу з ймовірністю p самовідновлюється, ділячись на дві клітини типу C_p , і з ймовірністю $d = 1 - p$ диференціюється, ділячись на дві клітини, вибираючи лімфоїдну гілку кровотворення з ймовірністю α або з ймовірністю $1 - \alpha$, вибираючи мієлоїдну гілку кровотворення. Тобто, клітина типу C_p з ймовірністю $d(1 - \alpha)$ ділиться на дві клітини типу N (клітина типу N є клітиною-попередником мієлопоезу) або з ймовірністю $d\alpha$ ділиться на дві клітини типу L_1 (клітина типу L_1 є клітиною-попередником лімфопоезу).

Таким чином, у нашій схемі кровотворення клітини типу C_r є клітинами-попередниками гемопоезу.

Надалі для спрощення моделі вважатимемо, що тривалість генераційного циклу усіх типів клітин, які розглядаються, є випадковою величиною з показниковим розподілом. Також вважатимемо, що середня тривалість генераційних циклів усіх типів клітин, які розглядатимуться у схемі, є однаковою і дорівнює τ_1 . Одиницею вимірювання τ_1 є доба. Відхилення від цього припущення зазначатимемо окремо.

Вважатимемо, що стохастична модель функціонування мієлоїдної гілки кровотворення має такий вигляд (див. рис. 1).

Стохастична модель еритропоезу така: кожна клітина типу E_p , де $i = 1, 2, \dots, m - 1$ у кінці свого генераційного циклу, незалежно від інших клітин, з ймовірністю p самовідновлюється, ділячись на дві клітини типу E_p , а з ймовірністю $d = 1 - p$ диференціюється, ділячись на дві клітини типу E_{i+1} . Клітини типу E_{m_i} , які за нашою моделлю є еритроцитами, живуть випадковий період часу з показниковим розподілом, середня тривалість якого дорівнює $\tau_E = 120$ діб.

Зазначимо, що припущення у схемі кровотворення про рівність середніх тривалостей генераційних циклів кровотвірних клітин є не принциповим і прийняте для спрощення стохастичної моделі функціонування кровотвірної системи.

Принциповими у запропонованій моделі стаціонарного кровотворення є припущення про незмінність у часі середніх тривалостей генераційних циклів усіх типів клітин, ймовірностей диференціювання d і самовідновлення $p = 1 - d$, а також ймовірностей $\alpha, \beta, \gamma, \delta$ вибору клітинами гілок кровотворення при диференціюванні. Такі припущення визначають модель кровотворення на тих проміжках часу функціонування системи кровотворення, на яких регуляторні механізми забезпечують незмінність згаданих параметрів. Припущення про рівність ймовірностей самовідновлення p і диференціювання клітин $d = 1 - p$

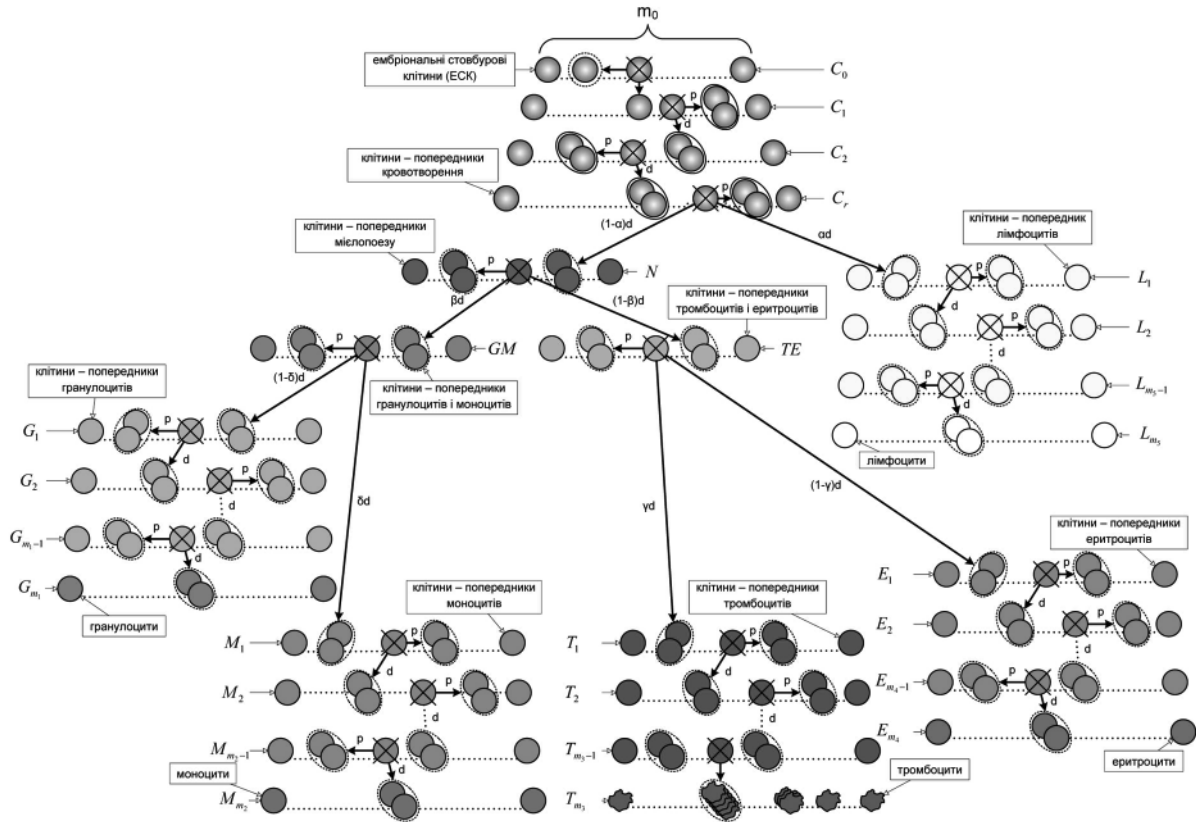


Рис. 1. Стохастична модель функціонування системи кровотворення: m_0 – число ембріональних стовбурових клітин (ЕСК), що беруть участь у системі кровотворення; τ_0 – середня тривалість генераційного циклу ЕСК; τ_L – середня тривалість життя лімфоцита; τ_G – середня тривалість життя гранулоцита; τ_M – середня тривалість життя моноцита; τ_T – середня тривалість життя тромбоцита; τ_E – середня тривалість життя еритроцита; τ_1 – середня тривалість життя усіх проміжних типів клітин; p – ймовірність самовідновлення клітини; $d = 1 - p$ – ймовірність диференціювання клітини; α – ймовірність вибору клітиною лімфоїдної гілки кровотворення; $1 - \alpha$ – ймовірність вибору клітиною мієлоїдної гілки кровотворення; β – ймовірність вибору клітиною гранулоцитарно-моноцитарної гілки кровотворення; $1 - \beta$ – ймовірність вибору клітиною еритроїдно-мегакаріоцитарної гілки кровотворення; γ – ймовірність вибору клітиною мегакаріоцитарної гілки кровотворення; $1 - \gamma$ – ймовірність вибору клітиною еритроїдної гілки кровотворення; b – середня чисельність тромбоцитів, що утворюються з одного мегакаріоцита; δ – ймовірність вибору клітиною моноцитарної гілки кровотворення; $1 - \delta$ – ймовірність вибору клітиною гранулоцитарної гілки кровотворення; ad – ймовірність диференціювання клітин-попередників кровотворення з вибором лімфоїдної гілки кровотворення; $(1 - \alpha)d$ – ймовірність диференціювання клітин-попередників кровотворення з вибором мієлоїдної гілки кровотворення; βd – ймовірність диференціювання клітин-попередників мієлопоєзу з вибором гранулоцитарно-моноцитарної гілки кровотворення; $(1 - \beta)d$ – ймовірність диференціювання клітин-попередників мієлопоєзу з вибором еритроїдно-мегакаріоцитарної гілки кровотворення; γd – ймовірність диференціювання клітин-попередників еритроїдно-мегакаріоцитарної гілки кровотворення з вибором мегакаріоцитарної гілки кровотворення; $(1 - \gamma)d$ – ймовірність диференціювання клітин-попередників еритроїдно-мегакаріоцитарної гілки кровотворення з вибором еритроїдної гілки кровотворення; δd – ймовірність диференціювання клітин-попередників гранулоцитарно-моноцитарної гілки кровотворення з вибором моноцитарної гілки кровотворення; $(1 - \delta)d$ – ймовірність диференціювання клітин-попередників гранулоцитарно-моноцитарної гілки кровотворення з вибором гранулоцитарної гілки кровотворення.

на всіх стадіях є теж певним спрощенням моделі кровотворення, а їх значення можна розглядати як усереднені за усіма рівнями системи кровотворення значень реальних величин ймовірностей самовідтворення і диференціювання.

Результати та їх обговорення

1. Система кровотворення у світлі теорії гіллястих процесів

Загальний вигляд запропонованої нами стохастичної моделі функціонування системи кровотворення наведено на рис. 1.

Зауважимо, що у нашій стохастичній моделі кровотворення ймовірнісні механізми вибору напрямку диференціювання та величини ймовірностей виходу клітин з відділу стовбурових клітин певною мірою відповідають механізмам самоорганізації відділу стовбурових клітин, його якісного та кількісного складу в стохастичних моделях організації стовбурових клітин, які запропонували І. Роедер зі співавторами [18–20].

Випадковий процес, що визначає у кожний момент часу кількість клітин усіх типів, які самопідтримуються і диференціюються за описа-

ною вище стохастичною моделлю функціонування системи кровотворення, є випадковим марківським гіллястим процесом [3] із $r + m_1 + m_2 + m_3 + m_4 + m_5 + 4$ типами клітин, тобто цей процес описує чисельність усіх гілок гемопоєзу: стовбурових клітин (клітин типів C_1, C_2, \dots, C_r), мультипотентних клітин (клітин типу N), біпотентних клітин (клітин типів GE і ET) та клітин гранулоцитарної (клітин типів G_1, G_2, \dots, G_{m_1}), моноцитарної (клітин типів M_1, M_2, \dots, M_{m_2}), тромбоцитарної (клітин типів T_1, T_2, \dots, T_{m_3}), еритроїдної (клітин типів E_1, E_2, \dots, E_{m_4}) та лімфоїдної (клітин типів L_1, L_2, \dots, L_{m_5}) гілок кровотворення (див. рис. 1).

Користуючись теорією випадкових марківських гіллястих процесів зі скінченним числом типів клітин [3] при аналізі випадкового процесу, що описує запропоновану стохастичну модель функціонування системи кровотворення, доходимо висновку, що стаціонарний (стабільний) режим кровотворення, який характеризується незмінністю у часі середньої чисельності клітин усіх типів, можливий при сформульованих вище припущеннях за умови, коли ймовірність диференціювання клітини більша за ймовірність її самовідновлення, тобто коли виконується умова

$$d > p, d + p = 1. \quad (1)$$

У випадку, коли не виконується умова (1) і $p = d = 1/2$ середня чисельність клітин кожного типу з часом зростає зі степеневою швидкістю, а при $p > d$ середня чисельність кожного типу клітин зростає із показниковою швидкістю і ця швидкість буде максимальною при $p = 1, d = 0$. Такі режими функціонування кровотвірної системи можуть реалізовуватися при відновленні її нормальної роботи після опромінювання організму з наступним переходом до стаціонарного (стабільного) режиму.

Запровадимо такі позначення: $MC_i, i = 1, 2, \dots, r$ – середнє число клітин типу C_i , MN – середнє число клітин типу N , MTE – середнє число клітин типу TE , ML_i – середнє число клітин типу $L_i, i = 1, 2, \dots, m_5$, MGM – середнє число клітин типу GM , MG_i – середнє число клітин типу $G_i, i = 1, 2, \dots, m_1$, MM_i – середнє число клітин типу $M_i, i = 1, 2, \dots, m_2$, MT_i – середнє число клітин типу $T_i, i = 1, 2, \dots, m_3$, ME_i – середнє число клітин типу $E_i, i = 1, 2, \dots, m_4$.

При виконанні умови (1) на основі розвинутої теорії гіллястих випадкових процесів [3] отримуємо співвідношення між середніми числами клітин найближчих типів і відповідні формули для їх обчислення через модельні параметри стохастичної моделі системи кровотворення.

Спочатку, відповідно до описаної вище стохастичної моделі функціонування системи кро-

вотворення, виписується система диференційних рівнянь для середніх чисел кожного типу клітин у системі кровотворення. Із отриманої системи диференційних рівнянь за умови рівності нулеві похідних від середнього числа кожного типу клітин отримуємо систему алгебраїчних рівнянь для середнього числа кожного з типів клітин при стаціонарному режимі кровотворення, коли $d > p$. Отримані рівняння визначають кількісні залежності між середніми чисельностями клітин найближчих типів. Розв'язуючи отриману систему алгебраїчних рівнянь, отримуємо формули для обчислення середнього числа клітин усіх типів через модельні параметри стохастичної моделі системи кровотворення.

Зупинимось на формулах для середніх величин, що описують еритроїдну гілку кровотворення. Для середнього числа клітин-попередників кровотворення $MC_i, i = 1, 2, \dots, r$, отримаємо такі формули:

$$MC_1 = \frac{\tau_1 \cdot m_0}{\tau_0 \cdot d - p}, \quad (1)$$

$$MC_i = \frac{2d}{d - p} MC_{i-1} = \frac{\tau_1 \cdot m_0}{\tau_0 \cdot d - p} \left(\frac{2d}{d - p} \right)^{i-1}, \quad i = 2, 3, \dots, r. \quad (2)$$

Середнє число клітин-попередників мієлопоєзу MN обчислюється такою формулою:

$$MN = (1 - \alpha) \frac{2d}{d - p} MC_r = (1 - \alpha) \frac{\tau_1 \cdot m_0}{\tau_0 \cdot d - p} \left(\frac{2d}{d - p} \right)^r. \quad (3)$$

Середнє число клітин-попередників еритроцитів і тромбоцитів MTE обчислюється за формулою:

$$MTE = (1 - \beta) \frac{2d}{d - p} MN = (1 - \alpha) (1 - \beta) \frac{\tau_1 \cdot m_0}{\tau_0 \cdot d - p} \left(\frac{2d}{d - p} \right)^{r+1}. \quad (4)$$

Середнє число клітин еритропоєзу $ME_i, i = 1, 2, \dots, m$, визначимо з таких формул:

$$ME_1 = (1 - \gamma) \frac{2d}{d - p} MTE = (1 - \alpha)(1 - \beta)(1 - \gamma) \frac{\tau_1 \cdot m_0}{\tau_0 \cdot d - p} \left(\frac{2d}{d - p} \right)^{r+2}, \quad (5)$$

$$ME_i = \frac{2d}{d - p} ME_{i-1} = (1 - \alpha)(1 - \beta)(1 - \gamma) \times \frac{\tau_1 \cdot m_0}{\tau_0 \cdot d - p} \left(\frac{2d}{d - p} \right)^{r+i+1}, \quad i = 2, \dots, m_4 - 1, \quad (6)$$

$$ME_{m_4} = \frac{2d\tau_N}{\tau_1} ME_{m_4-1} = (1-\alpha)(1-\beta)(1-\gamma) \frac{\tau_E}{\tau_0} m_0 \left(\frac{2d}{d-p} \right)^{r+m_4+1}. \quad (7)$$

Формули (2)–(8) ілюструють кількісні взаємозв'язки різних гілок кровотворення та їхніх стадій диференціювання. Кількісні показники еритроїдної гілки кровотворення виражені через параметри стохастичної моделі кровотворення, які мають конкретне біологічне трактування. Формули для середніх величин інших гілок кровотворення отримуються аналогічно.

2. Аналіз еритроїдної гілки кровотворення в межах понять запропонованої стохастичної моделі

Система еритрону має велике значення для системи кровотворення. Вона характерна найбільшим проліферативним потенціалом. Стадії розвитку клітин, їх проліферації і диференціювання описані достатньо детально [13, 17].

Теоретично процес еритропоезу визначається ймовірністю вибору гілок кровотворення, середньою тривалістю життя еритроцитів (τ_0) та співвідношенням між ймовірністю самовідновлення та диференціювання клітин p і d , що впливає із формул (3), (5)–(8). На середню кількість клітин різних гілок периферійної крові і клітин проміжних стадій найсуттєвіше впливають співвідношення ймовірностей самопідтримання і диференціювання.

Експериментальні дані дають можливість приблизно визначити параметри d , p та $m_4 + r$ стохастичної моделі кровотворення при стабільному режимі кровотворення (в нормі). Як відомо, у кістковому мозку при кровотворенні у нормі базофільні еритробласти типу E_{m_4-2} становлять приблизно 25 % від поліхроматофільних еритробластів типу E_{m_4-1} [6]. Враховуючи це, із формули (7) отримуємо, що

$$\frac{ME_{m_4-2}}{ME_{m_4-1}} = \frac{d-p}{2d} = \frac{1}{4}. \quad (8)$$

Із співвідношення (9) впливає, що $p = 1/3$, $d = 2/3$. Тому формулу (8) можна записати так:

$$ME_{m_4} = (1-\alpha)(1-\beta)(1-\gamma) \frac{\tau_E}{\tau_0} m_0 4^{r+m_4+1}. \quad (9)$$

Виходячи з того, що кровотворення було виявлено у 206 кістках дорослої людини [2], можна припустити, що число ЕСК в організмі людини не менше ніж 200, тому для визначеності вважаємо, що $m_0 = 200$.

Будемо вважати, що тривалість генераційного циклу ЕСК $\tau_0 = 1$ (доба), а $\tau_E = 120$ (діб). Оскільки в організмі дорослої людини в середньому нараховується $25 \cdot 10^{12}$ еритроцитів, тоді, враховуючи наведені вище припущення, з формули (10) отримуємо таку приблизну рівність:

$$(1-\alpha)(1-\beta)(1-\gamma)200 \cdot 120 \cdot 4^{r+m_4+1} \approx 25 \cdot 10^{12}. \quad (10)$$

Виходячи з пріоритетності еритроїдної гілки кровотворення, припускаємо, що ймовірність вибору попередників еритропоезу на порядок вища, ніж ймовірність вибору інших гілок. Тому будемо вважати, що ймовірності α , β , γ дорівнюють 0,1. Тоді з формули (11) впливає така рівність:

$$4^{r+m_4+1} = 2^{2m+2r+2} \approx 10^9 \approx 2^{30}.$$

З останнього співвідношення зрозуміло, що $r + m_4 + 1 = 15$. Це означає, що у межах зроблених припущень число стадій процесу кровотворення у нашій моделі дорівнює $r + m_4 + 2 = 16$.

Зазначимо, що отримане число стадій процесу кровотворення майже збігається із загальною кількістю поколінь еритроїдного відгалуження до настання зрілості і міграції з колоній та із загальною кількістю поколінь гранулоцитарного відгалуження до настання зрілості і міграції з колоній, отриманих Корном та ін.

Аналіз стохастичної моделі функціонування еритроїдної гілки кровотворення в нормі із визначеними параметрами дає підстави стверджувати, що двадцять поколінь першого нащадка ЕСК у середньому є клітиною типу E_{m_4} (еритроцитом).

Принагідно зазначимо, що Д. Вільямс (D. Williams) (1993) дає широкий огляд досліджень, у яких вивчається роль гемопоетичного оточення у самовідновленні, проліферації та диференціюванні стовбурових клітин і плюрипотентних гемопоетичних попередників [26]. За термінологією запропонованої стохастичної моделі функціонування системи кровотворення, можна сказати, що Вільямс аналізує дослідження, у яких вивчається вплив гемопоетичного мікрооточення, факторів росту на ймовірності самопідтримання p та диференціювання $q = 1 - p$ клітин типу C_i , $i = 1, 2, \dots, r$; типу N і типів TE й GM .

Із формул (6)–(8) впливає, що у випадку певного запиту збільшення ймовірності самовідновлення та середньої тривалості життя клітин відповідної гілки кровотворення забезпечує перехід системи кровотворення в інший режим кровотворення, де забезпечується збільшення продукції клітин зазначеного типу.

Із формул (6)–(8) також впливає, що при стабільному кровотворенні у кровотвірній системі у кожний момент часу наявні численні кро-

вотвірні попередники, які не вичерпали свій проліферативний потенціал і здатні до негайної та інтенсивної реакції на відповідний запит.

3. Тлумачення явища неефективного гемопоезу з позиції стохастичної моделі

Користуючись моделлю, можна зробити аналіз явищ, які відбуваються у процесі кровотворення. Наприклад, запропонована нами стохастична модель процесу кровотворення дає змогу сформулювати гіпотезу щодо явища «неефективного гемопоезу».

У кровотвірній системі поширене явище загибелі до досягнення стадії остаточної зрілості клітин різних гілок кровотворення. Таке явище трактується як загибель надлишкової продукції системи кровотворення і назване «неефективним гемопоезом».

З позиції запропонованої стохастичної моделі функціонування системи кровотворення можна припустити, що «неефективний гемопоез» – процес передчасної загибелі клітин різних гілок кровотворення, що не досягли стадії остаточної зрілості через втрату ними (за принципом Хейфліка [11]) проліферативного потенціалу у зв'язку з його виснаженням.

Відповідно до запропонованої стохастичної моделі функціонування системи кровотворення, явище «неефективного гемопоезу» спостерігатиметься переважно за умов стабільного режиму кровотворення у тій гілці кровотворення, у якій зросла ймовірність самовідновлення клітин p . Наприклад, при збільшенні ймовірності самовідновлення клітин і відповідному зменшенні ймовірності диференціювання в еритроїдній гілці кровотворення кожна клітина типу E_{m_i-2} імовірніше поділиться на дві клітини типу E_{m_i-2} , які не наблизились до стадії дозрівання, причому їхній проліферативний потенціал зменшиться на одиницю. За таких умов зростає частота випадків, коли клітини типу E_{m_i-2} характеризуватимуться нульовим проліферативним потенціалом.

За формулами (6)–(8), при збільшенні ймовірності самовідновлення клітин зростає середня чисельність еритроїдної гілки кровотворення. Разом з тим у науковій літературі зауважується

[2], що при розширенні еритроїдного відгалуження кровотворення у кістковому мозку у периферичній крові можна з упевненістю констатувати виражений «неефективний еритропоез». Отже, отримані за допомогою запропонованої стохастичної моделі функціонування системи кровотворення висновки щодо збільшення частоти спостереження неефективного еритропоезу з одночасним розширенням еритроїдної гілки кровотворення мають експериментальне підтвердження. Виходячи з викладеного, можна припустити, що явище «неефективного гемопоезу» слід розглядати швидше як плату за стохастичність системи кровотворення.

Нами запропоновано математичну модель функціонування кровотвірної системи, яка базується на сучасних позиціях клітинних основ кровотворення та на відповідній стохастичній моделі гемопоезу. Запропонована стохастична модель та її математична інтерпретація стала черговим кроком до створення детальної та реальної схеми і моделі кровотворення. Вона ілюструє закономірності співвідношення процесів проліферації і диференціювання на кожному етапі кровотворення і може стати підґрунтям для прогнозування змін щодо кількості клітин при стаціонарному режимі та при певних впливах на систему гемопоезу.

Дослідження такої моделі сприятиме глибшому розумінню процесів проліферації та диференціювання у кровотвірній тканині і тих програм, що забезпечують збалансовану проліферацію та диференціювання кровотвірних клітин при стабільному стані та під час регенерації після збурюючих впливів.

Описана математична модель деталізує уявлення про роботу системи крові та може ініціювати нові напрями досліджень в експериментальній гематології.

Дослідження підтримане грантом 25.5/109 «Розробка методу культурального аналізу та контролю якості трансплантаційного матеріалу в онкогематології» (Державний фонд фундаментальних досліджень).

- [1] Дыгай А. М. Роль межклеточных взаимодействий в регуляции гемопоэза / А. М. Дыгай, В. П. Шахов. – Томск : Изд-во ТГУ, 1989. – 224 с.
- [2] Козинец Г. И. Кинетические аспекты гемопоэза / Г. И. Козинец, Е. Д. Гольдберг. – Томск : Изд-во ТГУ, 1982. – 310 с.
- [3] Севастьянов Б. А. Ветвящиеся процессы / Б. А. Севастьянов. – М. : Наука, 1971. – 436 с.
- [4] Феллер В. Введение в теорию вероятностей и ее приложения : в 2 т. / В. Феллер ; Пер. с англ. – М. : Мир, 1984. – Т. 1. – 528 с.
- [5] Чертков И. Л. Дифференцировочный потенциал стволовых клеток (проблема пластичности) / И. Л. Чертков, Н. И. Дризе // Вестн. РАМН. – 2005. – № 10. – С. 37–44.
- [6] Чертков И. Л. Кровотворение / И. Л. Чертков, Н. Н. Дризе, А. И. Воробьев, М. Д. Бриллиант // Руководство по гематологии : в 3 т. / Под ред. А. И. Воробьева. – М. : Ньюдиамед, 2002. – Т. 1. – 280 с.
- [7] Чертков И. Л. Клеточные основы кровотворения / И. Л. Чертков, А. Я. Фриденштейн. – М. : Медицина, 1977. – 274 с.
- [8] Wynter E. de. Assays for the assessment of human hematopoietic stem cells / E. de Wynter, R. E. Ploemacher // J. Biol. Regul. Homeost. Agents. – 2001. – Vol. 15. – № 1. – P. 23–27.
- [9] Goldwasser E. Internal autocrine regulation of early stages of hemopoiesis / E. Goldwasser, O. Hermine, N. Pach, B. Stage-Morroquin // Annals of the New York Academy of Sciences /

- ed. by Rich I. N., Lappin T. R. I. – New York. – 1994. – Vol. 718. – P. 326–330.
- [10] Guo W. Cancer stem cells / W. Guo, J. L. Lasky, H. Wu // *Pediatric research*. – 2006. – Т. 59, № 4. – P. 59–64.
- [11] Hayflick L. The limited in vitro lifetime of human diploid cell strains / L. Hayflick // *Experimental cell research*. – 1965. – № 37. – P. 614–636.
- [12] Kay H. E. How many cell generations? / E. H. Kay // *Lancet*. – 1965. – Vol. 2. – P. 418–419.
- [13] Korn A. P. Investigation of a stochastic model of haemopoiesis / A. P. Korn, R. M. Henkelman, F. P. Ottensmeyer, J. E. Till // *Experimental hematology*. – 1973. – Vol. 1, № 6. – P. 362–375.
- [14] Lansdorp P. M. Telomeres, stem cells, and hematology P. M. Lansdorp // *Blood*. – 2008. – Vol. 111 (4). – P. 1759–66.
- [15] Lemoine F. M. Autocrine production of pre-B-cell stimulating activity by a variety of transformed murine pre-B-cell lines / F. M. Lemoine, G. Krystal, R. K. Humphries, C. J. Eaves // *Cancer Res*. – 1988. – Vol. 48. – № 22. – P. 6438–6443.
- [16] Metcalf D. Growth of mouse megakaryocyte colonies in vitro / D. Metcalf, H. R. MacDonald, N. Odartchenko, B. Sordat // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. – 1975. – Vol. 72, № 5. – P. 1744–1748.
- [17] Ogawa M. Origin of hematopoietic progenitors during embryogenesis / M. Ogawa, S. Fraser, T. Fujimoto, M. Endoh, S. Nishikawa, S. I. Nishikawa // *International reviews of immunology*. – 2001. – Т. 20, № 1. – P. 21–44.
- [18] Roeder I. Competitive clonal hematopoiesis in mouse chimeras explained by a stochastic model of stem cell organization / I. Roeder, L. M. Kamminga, K. Braesel, B. Dontje, G. de Haan, M. Loeffler // *Blood*. – 2005. – Vol. 105, № 2. – P. 609–616.
- [19] Roeder I. A novel dynamic model of hematopoietic stem cell organization based on the concept of within-tissue plasticity / I. Roeder, M. Loeffler // *Experimental hematology*. – 2002. – Vol. 30. – P. 853–961.
- [20] Roeder I. Quantitative tissue stem cell modeling / I. Roeder, M. Loeffler, P. J. Quesenberry, G. A. Colvin, J. F. Lambert // *Blood*. – 2003. – Vol. 102. – P. 1143–1144.
- [21] Russell N. H. Autocrine growth factors and leukaemic haemopoiesis / N. H. Russell // *Blood Rev*. – 1992. – Vol. 6. – № 3. – P. 149–156.
- [22] Spangrude G. J. Mouse hematopoietic stem cells / G. J. Spangrude, L. Smith, N. Uchida // *Blood*. – 1991. – Vol. 78. – № 6. – P. 1395–1402.
- [23] Sutherland H. J. Characterization, quantitation and mobilization of early hematopoietic progenitors : implications for transplantation / H. J. Sutherland, D. E. Hogge, C. J. Eaves // *Bone Marrow Transplant*. – 1996. – Vol. 18, Suppl. 1. – P. 1–4.
- [24] Till J. E. A stochastic model of stem cell proliferation, based on the growth of spleen colony-forming cells / J. E. Till, E. A. McCulloch, L. Siminovitch // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. – 1964. – Vol. 51, № 1. – P. 29–36.
- [25] Vainchenker W. Megakaryocyte colony formation from human bone marrow precursors / W. Vainchenker, J. Bouguet, J. Guichard, J. Breton-Gorius // *Blood*. – 1979. – Vol. 54, № 4. – P. 940–945.
- [26] Williams D. A. Molecular analysis of the hematopoietic microenvironment / D. A. Williams // *Pediatric research*. – 1994. – Vol. 36, № 5. – P. 557–560.

R. V. Boyko, N. M. Bilko, D. I. Bilko

MATHEMATICAL MODEL OF THE HEMOPOIETIC SYSTEM FUNCTION

Abstract: *Current research investigated a novel mathematical model of the hemopoietic system function that is based on the modern understanding of the cell-based hemopoiesis and respective stochastic mathematical model. Suggested model is another step towards determination of the true and detailed scheme and model of hemopoiesis.*

Current model will improve understanding of the proliferation and differentiation processes in the hemopoietic tissue and regulatory mechanisms that sustain balanced proliferation and differentiation of the hemopoietic cells in the steady-state and during regeneration. Suggested mathematical model can detalize understanding about hemopoietic system function and can initiate new trends in modern experimental hematology.

Keywords: hematopoiesis, mathematical models, stem cell.