

ДИСКРЕТНЫЕ МОДЕЛИ РЕАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ

DOI 10.17223/20710410/22/11

УДК 519.710.22

МОДЕЛИРОВАНИЕ РОСТА ТКАНИ С УЧЁТОМ ВОЗМОЖНОСТИ
ВНЕШНЕГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА ЕЁ ФОРМУ

М. Н. Назаров

*Национальный исследовательский университет «МИЭТ», г. Москва, Россия***E-mail:** Nazarov-Maximilian@yandex.ru

Построена имитационная модель морфогенеза, которая включает в свой формализм внешнее управляющее воздействие на форму скоплений клеток в виде потока сигнальных молекул через границу этих скоплений. Данная модель использует только универсальные параметры, для которых гарантируется наличие биологического смысла, а также возможность использования их значений в моделях морфогенеза на основе дифференциальных уравнений.

Ключевые слова: *многоклеточные организмы, морфогенез, дискретные модели, управляемый синтез ткани.*

Введение

Благодаря прогрессу в технологии трёхмерной печати на текущий момент стало возможным печатать трёхмерные конфигурации из живых клеток с помощью специализированного 3D-принтера. Данная технология открывает большие возможности для таких дисциплин, как регенеративная медицина и трансплантология, а также может послужить источником живых моделей тканей и органов для фармакологии. С примером реализации технологии трёхмерной печати для эмбриональных стволовых клеток можно ознакомиться в работе [1].

Однако на пути широкого внедрения данной технологии для массового производства органов и тканей встанет сразу несколько серьёзных проблем. Во-первых, для любых более или менее развитых органов высших животных характерно использование клеток разных типов, организованных в комплексные трёхмерные структуры, которые исключительно сложно воспроизвести с помощью 3D-печати (например, любые из перечисленных органов пронзает множество тонких капиллярных сосудов, и воспроизвести их с помощью принтера практически невозможно). Во-вторых, клетки в настоящих организмах при формировании тканей и органов поддерживают механические связи с соседями, тем самым препятствуя распаду скопления и стабилизируя его форму. Однако клеточная конфигурация, которая получается в результате 3D-печати, будет сразу после окончания печати практически полностью лишена подобных связей, и на создание устойчивых связей друг с другом клеткам потребуется время, за которое распечатанное скопление может потерять свою форму.

Одно из возможных решений обозначенных проблем заключается в печати «заготовки для органа» из менее специализированных клеток, которые имеют гораздо более простую трёхмерную структуру, а также не сильно чувствительны к небольшим смещениям клеток сразу после печати. При этом, чтобы данные заготовки выросли

в полноценный орган, для них нужно будет воспроизвести условия, в которых они развиваются в настоящем организме.

Ключевым процессом, который позволяет регулировать развитие тканей, является межклеточный сигнальный обмен; таким образом, воспроизведение условий роста тканей и органов сводится в первую очередь к внесению внешнего сигнального воздействия на скопления клеток (подробнее об этом см. [2–4]).

Нужно отметить, что сама задача воспроизведения условий, в которых существуют отдельные органы и ткани в организме, не ограничивается только 3D-печатью заготовок для органов, но и может быть напрямую использована в фармакологии для создания моделей определённых тканей для последующего тестирования лекарств. Так, например, в работе [5] рассматривается построение «клеточных популяций на чипе» — специальной программируемой подложке, которая способна воспроизводить механические напряжения для клеток.

В работе [6] рассмотрен набор универсальных параметров для моделей морфогенеза и на его основе построены две демонстрационные модели: имитационная клеточно-автоматная и количественная модель на базе дифференциальных уравнений. Напомним, что под универсальными параметрами в [6] подразумевается такой набор параметров, для которого требуется:

- 1) наличие биологического смысла для всех параметров;
- 2) возможность оценки значений параметров на базе биохимических моделей;
- 3) переносимость значений параметров между моделями разных классов.

Для решения задачи о воспроизведении условий развития ткани в искусственных условиях построим новую имитационную модель на базе демонстрационной модели из работы [6], а именно обобщим имитационную модель из [6] на случай асимметричного деления и миграции клеток, а также внешнего управляющего воздействия на скопление клеток.

1. Описание модели

В качестве основного механизма, управляющего активностью клеток, в [6] выбран обмен химическими сигналами. При этом эффекты от сигналов для упрощения были ограничены запуском программируемой смерти, ускорением или замедлением скорости наступления фазы деления, а также выбором типов для новых клеток. Для этого случая в работе [6] были выбраны следующие параметры:

- $T = \{\tau_1, \dots, \tau_n\}$ — типы клеток;
- $I_S(\tau_1), \dots, I_S(\tau_n)$ — интенсивности синтеза сигналов;
- $Pe(\tau_1, \tau_1), \dots, Pe(\tau_n, \tau_n)$ — вероятности передачи сигнального воздействия внутрь клетки при столкновении с сигналом ($0 \leq Pe \leq 1$);
- $Pr(\tau_1, \tau_1), \dots, Pr(\tau_n, \tau_n)$ — приоритеты сигналов ($Pr \geq 0$);
- $D(\tau_1, \tau_1), \dots, D(\tau_n, \tau_n)$ — новые типы для дочерних клеток;
- $K(\tau_1, \tau_1), \dots, K(\tau_n, \tau_n)$ — элементарные приращения скорости наступления деления или программируемой смерти;
- $V(\tau_1), \dots, V(\tau_n)$ — объёмы клеток ($V_{\max} = \max_{\tau} V(\tau)$).

Пусть клетка типа τ способна создавать k видов различных химических сигнальных веществ $S_1(\tau), \dots, S_k(\tau)$. Для определённости положим, что в единицу времени клетка выделяет в среднем $I_j(\tau)$ химических веществ $S_j(\tau)$, где $j = 1, \dots, k$. Тогда в качестве параметра интенсивности $I_S(\tau)$, согласно [6], будет выбрано $I_S(\tau) = \min_j I_j(\tau)$.

В результате усреднённые сигналы S в моделях из [6] однозначно описываются типом

клетки τ , которая этот сигнал создаёт ($S = S(\tau)$):

$$S(\tau) = \left(\frac{I_1(\tau)}{I_S(\tau)} S_1(\tau), \dots, \frac{I_k(\tau)}{I_S(\tau)} S_k(\tau) \right). \quad (1)$$

В данной работе также будем использовать усреднённые сигналы $S(\tau)$ и набор параметров из [6]. Для искомой имитационной модели требуется дополнительно описывать асимметричное деление и миграцию клеток. Поэтому, учитывая, что пространство и время у имитационной модели дискретны, получаем, что базовый набор параметров из [6] необходимо дополнить следующими величинами:

- a — ребро куба идеализированной клетки;
- L, H, W — размеры пространства в элементарных кубах;
- Δt — время, для которого рассчитываются радиусы миграции, и одновременно элементарный такт времени в модели;
- $O(\tau_1), \dots, O(\tau_n)$ — тип деления. При $O(\tau) = 1$ деление асимметричное и клетка сохраняет свой тип после деления с образованием дочерней клетки типа τ_{new} . При $O(\tau) = 0$ деление симметричное и клетка после него меняет свой тип на τ_{new} ;
- $K_M(\tau_1, \tau_1), \dots, K_M(\tau_n, \tau_n)$ — элементарные приращения радиуса r_c свободной миграции для клеток под действием сигналов от других клеток;
- $r_C^{\max}(\tau_1), \dots, r_C^{\max}(\tau_n)$ — максимальные радиусы миграции для клеток, которые достижимы за время Δt ; потребуем, чтобы выполнялось $r_C(\tau) \leq a$ для всех τ ;
- $v_d^{\max}(\tau_1), \dots, v_d^{\max}(\tau_n)$ — максимальные интенсивности деления/смерти для клеток. Для определённости потребуем $v_d^{\max}(\tau) \leq 1$ для всех типов τ .

Замечание 1. Дополнительно к этому введём в множество типов клеток T специальный тип τ_0 , который будет отвечать за моделирование мёртвых клеток. Для τ_0 условимся считать объём $V(\tau_0) = a^3$ и $Pe(\tau_0, \tau) = 0$ для любых $\tau \in T$, а все остальные параметры $I_S, Pr, K, \dots$ для τ_0 определять не нужно, так как мёртвые клетки не делятся и не синтезируют сигналов.

Переменными обобщённой имитационной модели являются:

- 1) $Injection_{(z,x,y)}(t)$ — семейство сигналов, которые поступают извне модели в момент времени t в отдельную элементарную ячейку (z, x, y) пространства;
- 2) $Cell_{(z,x,y)}(t) = (\tau, v_d, r_c, \varphi_d, \varphi_m, \varphi_s, \text{Sin}, \text{Sig}, \text{Sout}, \text{Plan})$ — идеализированная клетка, которая расположена в ячейке (z, x, y) в момент времени t , где
 - τ — тип клетки (включая τ_0 для мёртвых клеток);
 - v_d — интенсивность наступления деления/смерти;
 - r_c — радиус свободной миграции клетки;
 - φ_d — фаза деления/смерти;
 - φ_m — фаза миграции;
 - φ_s — фаза синтеза сигналов;
 - Sin — семейство сигналов из ближайшего окружения клетки;
 - Sig — семейство сигналов, которые были приняты клеткой;
 - Sout — семейство сигналов, ожидающих ретрансляции;
 - $\text{Plan} = (\tau_{\text{new}}, Pr_{\text{new}})$ — план деления, который задаёт, какой тип (τ_{new}) получат дочерние клетки после деления и насколько приоритетным (Pr_{new}) будет такое деление.

При таком подходе пространство модели является дискретным и его можно однозначно описать с помощью следующего отображения:

$$\text{Cell}(t) : \{1, \dots, H\} \times \{1, \dots, L\} \times \{1, \dots, W\} \longrightarrow C \cup \{\emptyset\},$$

где C — это множество всех клеток. Отображение $\text{Cell}(t)$ ставит в однозначное соответствие тройке дискретных координат (z, x, y) , $z = 1, \dots, H$, $x = 1, \dots, L$, $y = 1, \dots, W$, содержимое ячейки в момент времени t ; для пустой ячейки $\text{Cell}_{(z,x,y)}(t) = \emptyset$ (см. пример на рис. 1).

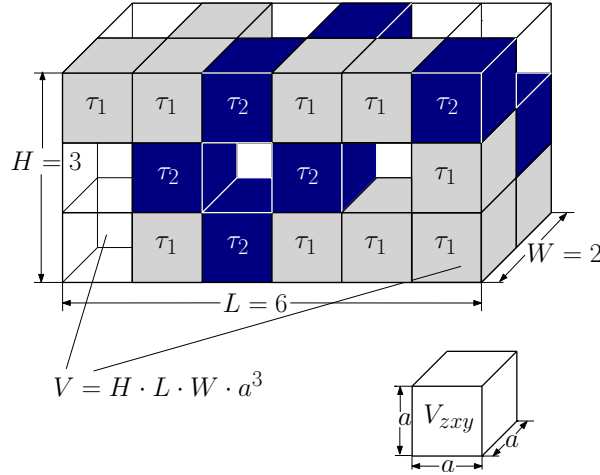


Рис. 1. Пример пространства модели для случая $L = 6$, $W = 2$, $H = 3$

Для упрощения работы с дискретным пространством кубов введём специальные обозначения:

- $d \in \text{Directions} = \{\uparrow, \downarrow, \rightarrow, \leftarrow, \odot, \otimes\}$ — направления;
- $\bar{d} \in \text{Directions}$ — противоположное направление для d ;
- $d(z, x, y)$ — соседний куб с (z, x, y) по направлению d ;
- $\text{Dir}_{\text{sig}}(z, x, y)(t)$ — допустимые направления для передачи сигнала. В множество $\text{Dir}_{\text{sig}}(z, x, y)$ входят все направления d , по которым с клеткой (z, x, y) соседствует любая непустая ячейка $d(z, x, y)$; ячейки с мёртвыми клетками τ_0 также считаются заполненными;
- $\text{Dir}_{\text{div}}(z, x, y)(t)$ — допустимые направления для деления клетки. В это множество входят все направления d , по которым с клеткой (z, x, y) соседствуют либо пустые, либо заполненные мёртвыми клетками ячейки $d(z, x, y)$.

Динамику обобщённой модели будем описывать с помощью набора правил для изменения содержимого $\text{Cell}_{(z,x,y)}(t) = (\tau, v_d, r_c, \varphi_d, \varphi_m, \varphi_s, \text{Sin}, \text{Sig}, \text{Sout}, \text{Plan})$. Выделим семь этапов, которые будут выполняться последовательно для вычисления нового состояния модели для момента времени $t + 1$.

Э т а п 1. Приём сигналов.

Для всех сигналов из входных семейств $S \in \text{Sin}(t) \cup \text{Injection}_{(z,x,y)}(t)$ разыгрывается случайное событие приёма сигнала. С вероятностью $Pe(\tau, \tau_S)$ сигнал $S = (\tau_S)$ будет перемещён в семейство $\text{Sig}(t)$, и с вероятностью $1 - Pe(\tau, \tau_S)$ сигнал считается прошедшим мимо клетки и попадает в семейство $\text{Sout}(t)$.

Э т а п 2. Корректировка интенсивности деления/смерти v_d .

Сначала рассчитывается суммарный приоритет всех поступивших сигналов:

$$\text{SumInf}(t) = \sum_{S \in \text{Sig}(t)} Pr(\tau, \tau_S). \quad (2)$$

Приращение интенсивности v_d вычисляется с учётом насыщения при стремлении v_d к максимальной интенсивности деления/смерти $v_d^{\max}(\tau)$:

$$\begin{aligned} \Delta v_d(t) = & \left(1 - \frac{v_d(t)}{v_d^{\max}(\tau)}\right) \sum_{\substack{S \in \text{Sig}(t): \\ K(\tau, \tau_S) \geq 0}} \frac{Pr(\tau, \tau_S)}{\text{SumInf}(t)} K(\tau, \tau_S) \Delta t \frac{V(\tau)}{a^3} + \\ & + \left(\frac{v_d(t)}{v_d^{\max}(\tau)}\right) \sum_{\substack{S \in \text{Sig}(t): \\ K(\tau, \tau_S) < 0}} \frac{Pr(\tau, \tau_S)}{\text{SumInf}(t)} K(\tau, \tau_S) \Delta t \frac{V(\tau)}{a^3}. \end{aligned} \quad (3)$$

Корректировка интенсивности v_d осуществляется с учётом того, что v_d не должно становиться отрицательным, а также большим, чем $v_d^{\max}(\tau)$:

$$v_d(t+1) = \begin{cases} v_d^{\max}(\tau), & \text{если } v_d(t) + \Delta v_d(t) \geq v_d^{\max}(\tau), \\ v_d(t) + \Delta v_d(t), & \text{если } 0 \leq v_d(t) + \Delta v_d(t) < v_d^{\max}(\tau), \\ 0, & \text{если } v_d(t) + \Delta v_d(t) < 0. \end{cases} \quad (4)$$

Э т а п 3. Корректировка радиуса r_c .

Потенциальное изменение радиуса r_c можно посчитать по формуле, которая полностью аналогична формуле для приращения v_d :

$$\begin{aligned} \Delta r_c(t) = & \left(1 - \frac{r_c(t)}{r_c^{\max}(\tau)}\right) \sum_{\substack{S \in \text{Sig}(t): \\ K_M(\tau, \tau_S) \geq 0}} \frac{Pr(\tau, \tau_S)}{\text{SumInf}(t)} K_M(\tau, \tau_S) \Delta t \frac{V(\tau)}{a^3} + \\ & + \left(\frac{r_c(t)}{r_c^{\max}(\tau)}\right) \sum_{\substack{S \in \text{Sig}(t): \\ K_M(\tau, \tau_S) < 0}} \frac{Pr(\tau, \tau_S)}{\text{SumInf}(t)} K_M(\tau, \tau_S) \Delta t \frac{V(\tau)}{a^3}. \end{aligned} \quad (5)$$

Изменение радиуса r_c осуществляется с учётом того, что радиус r_c не должен становиться отрицательным, а также большим, чем $r_c^{\max}(\tau)$:

$$r_c(t+1) = \begin{cases} r_c^{\max}(\tau), & \text{если } r_c(t) + \Delta r_c(t) \geq r_c^{\max}(\tau), \\ r_c(t) + \Delta r_c(t), & \text{если } 0 \leq r_c(t) + \Delta r_c(t) < r_c^{\max}(\tau), \\ 0, & \text{если } r_c(t) + \Delta r_c(t) < 0. \end{cases} \quad (6)$$

Э т а п 4. Корректировка плана деления.

Для всех возможных новых типов τ_d вычисляется суммарный приоритет (в том числе и для $\tau_d = \tau_0$, который моделирует стандартную программируемую смерть, а также $\tau_d = \emptyset$, который моделирует смерть с поглощением остатков клетки):

$$\text{SumPr}(\tau_d, t) = \sum_{\substack{S \in \text{Sig}(t), \\ D(\tau, \tau_S) = \tau_d}} Pr(\tau, \tau_S). \quad (7)$$

Осуществляется поиск типа $\bar{\tau}_d$, для которого суммарный приоритет максимальный:

$$\text{MaxPr}(t) = \max_{\tau_d} (\text{SumPr}(\tau_d, t)), \quad \bar{\tau}_d(t) : \text{SumPr}(\bar{\tau}_d, t) = \text{MaxPr}(t). \quad (8)$$

В случае, если максимальный приоритет $\text{MaxPr}(t)$ превосходит $Pr_{\text{new}}(t)$, то происходит обновление плана деления:

$$\begin{cases} \tau_{\text{new}}(t+1) = \bar{\tau}_d(t), \\ Pr_{\text{new}}(t+1) = \text{MaxPr}(t), \end{cases} \quad \text{если } \text{MaxPr}(t) > Pr_{\text{new}}(t). \quad (9)$$

В противном же случае сохраняется старый план деления $\text{Plan}(t+1) = \text{Plan}(t)$. При этом переход к новому этапу для отдельной клетки $\text{Cell}_{(z,x,y)}(t)$ возможен только в том случае, если для всех клеток в модели закончена работа по реализации этапа 4.

Э т а п 5. Синтез и передача сигналов.

Добавляем в семейство $\text{Sout}(t)$ сигналы $S(\tau)$, количество которых задаётся параметром $I = I_S(\tau) \cdot \Delta t \cdot a^3 / V(\tau)$. Пусть для определённости $I = m + k/n$, где $m, k, n \in \mathbb{N}$. Тогда количество сигналов $S(\tau)$ может быть вычислено по формуле

$$\overline{m}(t) = m + \sigma(\varphi_s(t) - 1 + k/n),$$

где σ — функция Хевисайда. Далее для каждого сигнала из семейства $\text{Sout}(t)$ разыгрывается случайное событие передачи: с равными вероятностями сигнал передаётся любой из клеток ближайшего окружения и помещается в семейство Sin этой клетки (ближайшим окружением клетки $\text{Cell}_{(z,x,y)}$ будем считать саму клетку $\text{Cell}_{(z,x,y)}$, а также все клетки из множества $\text{Dir}_{\text{sig}}(z, x, y)(t)$). После завершения передачи всех сигналов пересчитываем фазу синтеза сигналов по формуле

$$\varphi_s(t+1) = \begin{cases} \varphi_s(t) + k/n, & \text{если } \varphi_s(t) + k/n < 1, \\ \varphi_s(t) - 1 + k/n, & \text{если } \varphi_s(t) + k/n \geq 1. \end{cases} \quad (10)$$

Переход к следующему этапу для отдельной клетки $\text{Cell}_{(z,x,y)}(t)$ возможен только в том случае, если для всех клеток в модели закончена работа по реализации этапа 5.

Э т а п 6. Миграция.

Перед началом данного этапа все клетки упорядочиваются в случайную последовательность $\alpha = (\text{Cell}_1, \text{Cell}_2, \dots)$. Реализация этапа миграции проводится по очереди для всех клеток в соответствии с их номерами в случайной последовательности α . В случае $(\varphi_m(t) + r_c(t)/a) \geq 1$ разыгрывается случайное событие миграции — обмен значений $\text{Cell}_{(z,x,y)}(t)$ с произвольной соседней клеткой из $\text{Dir}_{\text{sig}}(z, x, y)(t)$, которая пока не подвергалась миграции на текущем этапе. При этом обмену не подвержены семейства сигналов Sin , которые считаются привязанными к ячейке пространства (z, x, y) . Это обусловлено тем фактом, что для описания миграции сигналов в модели используется этап 5. Можно считать, что два других семейства сигналов Sig , Sout также не подвержены обмену, так как они будут пустыми для всех клеток на начало этапа миграции.

Когда обмен завершён, то обе переставленные клетки считаются мигрировавшими на данный момент времени. Отметим, что если клетка окружена уже мигрировавшими клетками, то она не меняет своего положения. После завершения этапа осуществляем пересчёт фазы миграции φ_m по правилу

$$\varphi_m(t+1) = \begin{cases} \varphi_m(t) + \frac{r_c(t)}{a}, & \text{если } \varphi_m(t) + \frac{r_c(t)}{a} < 1, \\ \varphi_m(t) - 1 + \frac{r_c(t)}{a}, & \text{если } \varphi_m(t) + \frac{r_c(t)}{a} \geq 1. \end{cases} \quad (11)$$

При этом переход к новому этапу для отдельной клетки $\text{Cell}_{(z,x,y)}(t)$ возможен только в том случае, если для всех клеток в модели закончена работа по реализации этапа 6.

Э т а п 7. Деление/программируемая смерть.

Перед началом данного этапа все клетки упорядочиваются в случайную последовательность $\beta = (\text{Cell}_1, \text{Cell}_2, \dots)$. Реализация этапа деления проводится по очереди для всех клеток в соответствии с их номерами в последовательности β .

В случае, если запланировано деление ($\tau_{\text{new}} \neq \emptyset$ и $\tau_{\text{new}} \neq \tau_0$), то клетка создаёт новую клетку в одной из соседних ячеек по направлениям $\text{Dir}_{\text{div}}(z, x, y)(t)$. (Под пустой соседней ячейкой подразумевается такая ячейка окружения, в которую не разделились клетки, предшествующие Cell в последовательности β .) Дополнительно к этому, если деление симметричное ($O(\tau) = 0$), то клетка меняет тип на τ_{new} .

- 1) Если в качестве соседней ячейки выбрана мёртвая клетка τ_0 , то все сигналы, которые были в этой ячейке, переносятся в семейство Sin новой клетки.
- 2) Если в окружении клетки отсутствуют свободные ячейки, то для деления выбирается такое направление d , вдоль которого минимально расстояние ρ от делящейся клетки до пустой ячейки либо ячейки с клетками типа τ_0 . Данное направление должно рассчитываться с учётом новых клеток, которые создали предшествующие в последовательности β клетки.
- 3) Если такое направление найти удалось, то клетка делится в этом направлении, сдвигая параллельным переносом клетки по направлению d на ρ с замещением граничной пустой ячейки (либо граничной ячейки с клетками τ_0).

При этом во время сдвига клеток обмену не подлежат семейства сигналов Sin, которые считаются привязанными к своим ячейкам пространства. Если два и больше направления являются минимальными, то среди них выбирается произвольное. Если по всем потенциальным направлениям деления клетки плотно упираются в границу модели, то фаза деления принудительно обнуляется.

Пусть для определённости $v_d(\tau) = k/n$, где $k, n \in \mathbb{N}$. Тогда количество актов деления можно вычислить как $\overline{m}(t) = \sigma(\varphi_d(t) - 1 + k/n)$. Для новых клеток используются параметры $(\tau_{\text{new}}, v_d, 0, 0, 0, 0, \emptyset, \emptyset, \emptyset, (\tau_{\text{new}}, 0))$, где v_d берётся от материнской клетки. После завершения этапа деления осуществляем пересчёт фазы деления по формуле

$$\varphi_d(t+1) = \begin{cases} \varphi_d(t) + k/n, & \text{если } \varphi_d(t) + k/n < 1, \\ \varphi_d(t) - 1 + k/n, & \text{если } \varphi_d(t) + k/n \geq 1. \end{cases} \quad (12)$$

В случае, если клетка была запрограммирована на апоптоз ($\tau_{\text{new}} = \tau_0$), то её ячейка получает этот тип после конца фазы. Если же клетка была настроена на смерть с поглощением ($\tau_{\text{new}} = \emptyset$), то её ячейка считается пустой, начиная со следующей итерации.

Переход от этапа 7 к новому отсчёту времени $t+1$ и соответственно к этапу 1 проводится строго синхронно для всех клеток $\text{Cell}_{(z,x,y)}(t)$ в скоплении.

2. Специфика практического применения модели

Введение внешнего управляющего воздействия в рамках рассмотренной имитационной модели осуществляется за счёт усреднённого потока сигналов $\text{Injection}_S^{(z,x,y)}(t)$ к отдельной идеализированной клетке (z, x, y) . На практике вместо идеализированных сигналов $S(\tau)$ в скопление клеток нужно будет вводить реальные химические вещества $S_1(\tau), \dots, S_k(\tau)$ в пропорции, которая задаётся формулой (1).

Замечание 2. Реализовать подобный поток сигналов $S(\tau)$ для внутренних клеток скопления будет достаточно сложно, поскольку потребует введения шприцев глубоко внутрь скопления, что потенциально может привести к повреждению клеток. Поэтому основной вариант сводится к реализации потока сигналов $\text{Injection}_S^{(z,x,y)}(t)$ через границу всего пространства модели: $z = 1 \vee z = H; x = 1 \vee x = L; y = 1 \vee y = W$.

Найти искомые потоки сигналов $\text{Injection}_S^{(z,x,y)}(t)$ для исследуемого скопления клеток $\mathcal{C}_o$ можно, если предварительно формализовать модель для более крупного скопления $\mathcal{C}$, которое содержит в себе скопление $\mathcal{C}_o$ (см. рис. 2). Затем для более крупного

скопления $\mathcal{C}$ по ходу эмуляции динамики клеток вычислить потоки сигналов через границу $\mathcal{C}_o$ как функции от времени t и потом применить их в качестве начальных приближений для потоков сигналов $Injection_S^{(z,x,y)}(t)$.

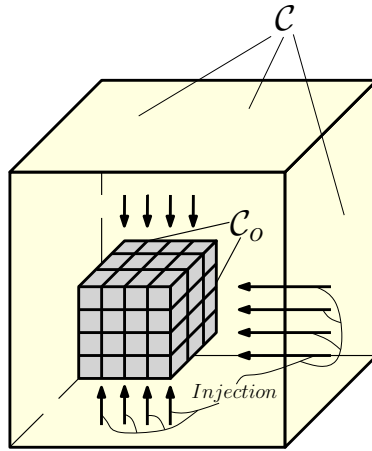


Рис. 2. Выделение потоков сигналов внутри $\mathcal{C}$ через границу меньшего скопления $\mathcal{C}_o$

Замечание 3. Если на практике ставится задача поиска $Injection_S^{(z,x,y)}(t)$ — оптимальных потоков для некоторого скопления клеток, то совсем не обязательно решать её сразу с помощью обобщённой имитационной модели (2)–(12). Более эффективным представляется сначала формализовать базовые модели из работы [6], а затем найти с их помощью первые приближения для универсальных параметров и экспортировать их значения в обобщённую имитационную модель.

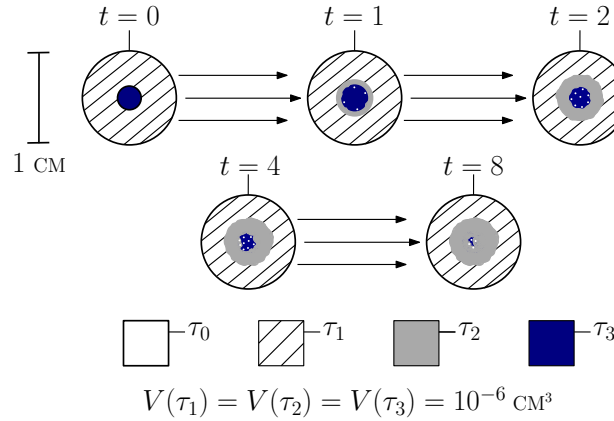
В [6] рассмотрены общие алгоритмы для оценки значений универсальных параметров $Pe, Pr, D, K, \dots$ на основе данных о внутриклеточной биохимии, а также о строении мембран клеток. Однако одним из главных ограничивающих факторов для данной процедуры является определение множества типов клеток T . Так, если для поиска множества T выбрать в качестве основного критерия различие форм клеток, то это может привести к объединению большого количества похожих, но функционально различных типов клеток в крупные фиктивные типы.

Таким образом, для получения начальных приближений для типов клеток T и универсальных параметров $Pe, D, \dots$ при работе с реальными многоклеточными организмами потребуется прибегнуть к помощи модели внутриклеточной биохимии.

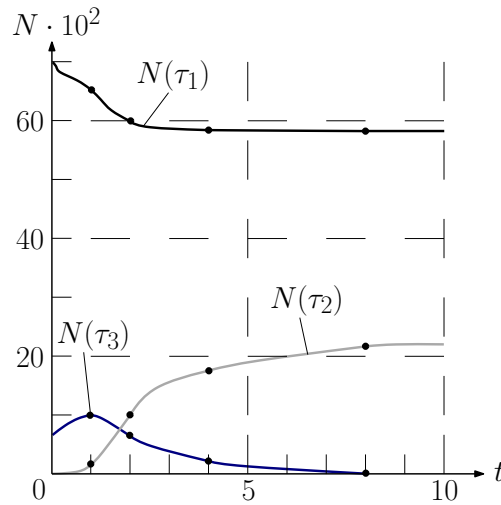
На данный момент построение модели внутриклеточной биохимии для поиска множества типов T и оценки универсальных параметров является актуальной задачей. Поэтому для демонстрации работы модели (2)–(12) прибегнем к абстрактным клеточным скоплениям, лишённым непосредственного биологического прототипа.

Рассмотрим работу алгоритма, который предложен в замечании 3, на примере абстрактного скопления клеток четырёх типов $T = \{\tau_0, \tau_1, \tau_2, \tau_3\}$, где τ_0 — это мёртвые клетки. Пусть на рис. 3 представлена динамика развития данного скопления для некоторых тестовых отсчётов времени $t = 0, 1, 2, 4, 8$.

Элементарный такт времени в модели положим равным $\Delta t = 0,01$. Остальные базовые параметры H, L, W, a можно рассчитать на основе рис. 3. В частности, ребро элементарного куба $a = \sqrt[3]{V(\tau)} = 0,01$, а размеры пространства $L = W = 101$ и $H = 1$, так как скопление задано на плоскости.


 Рис. 3. Развитие абстрактного скопления клеток $T = \{\tau_0, \tau_1, \tau_2, \tau_3\}$

Первичная задача состоит в том, чтобы найти значения основных параметров модели $I_S, Pr, Pe, D, K, O, K_M, r_C^{\max}, v_d^{\max}$ для описания динамики скопления на рис. 3. Часть из этих параметров можно оценить с помощью базовой количественной модели из работы [6], которая описывает усреднённую динамику численностей клеток $N(\tau)$ с помощью дифференциальных уравнений. Для того чтобы воспользоваться количественной моделью, осуществим преобразование данных о конфигурациях клеток с учётом масштаба и объёмов $V(\tau)$ в графики для численностей $N(\tau)$ (рис. 4).


 Рис. 4. Зависимости численностей клеток $N(\tau_1), N(\tau_2), N(\tau_3)$ от времени

После того как установлены зависимости $N(\tau, t)$, можно найти первое приближение для параметров I_S, Pr, Pe, D, K с помощью количественной модели из [6]. Затем итоговые значения параметров находятся уже с привлечением имитационной модели (2)–(12). Полученные для данного примера значения приведены на рис. 5.

Остальные значения параметров модели сохранили значения по умолчанию при формализации: $O(\tau) = 1$, $K_M(\tau, \tau^*) = 0$ и $r_C^{\max}(\tau) = 0$ для всех типов $\tau, \tau^* \in T$. После того как параметры модели (2)–(12) найдены, можно воспроизвести развитие исследуемого скопления в ограниченном объёме и с меньшим числом клеток. Для этого по ходу реализации динамики модели для большего скопления на рис. 3 регистрируем потоки сигналов через интересующую нас границу. Затем данные потоки используются

Pe	τ_1	τ_2	τ_3
τ_1	0.001	0.01	0.2
τ_2	0.01	0.001	0.01
τ_3	0.01	0.04	0.001

Pr	τ_1	τ_2	τ_3
τ_1	20	1	2
τ_2	2	30	2
τ_3	4	90	30

D	τ_1	τ_2	τ_3
τ_1	τ_2	τ_1	τ_0
τ_2	τ_3	τ_2	τ_2
τ_3	τ_3	τ_0	τ_3

K	τ_1	τ_2	τ_3
τ_1	-0.002	-0.84	0.55
τ_2	0.4	-1.8	1.3
τ_3	950	600	850

$I_S(\tau_1) = I_S(\tau_2) = I_S(\tau_3) = 150$
 $V(\tau_1) = V(\tau_2) = V(\tau_3) = 10^{-6} \text{ см}^3$
 $H = 1, L = W = 101, a = 10^{-2}$
 $v_d^{\max}(\tau_1) = v_d^{\max}(\tau_2) = v_d^{\max}(\tau_3) = 1$

Рис. 5. Значения универсальных параметров для примера абстрактного скопления клеток

для воспроизведения динамики клеток в замкнутом объёме за счёт введения этих сигналов через его границу (рис. 6).

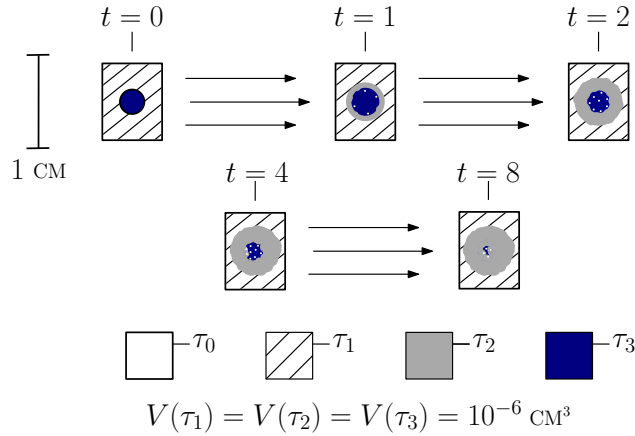


Рис. 6. Развитие абстрактного скопления клеток $T = \{\tau_0, \tau_1, \tau_2, \tau_3\}$

Заключение

Основная задача работы — построение модели, которая позволит воспроизводить условия развития ткани вне исходного организма. Данная задача решена для случая обмена химическими межклеточными сигналами, а искомое воспроизведение условий реализовано в имитационной модели в виде потока сигнальных молекул $\text{Injection}_S^{(z,x,y)}(t)$ через границу скоплений. Полученную имитационную модель можно потенциально использовать на практике для производства органов и тканей с помощью клеточной печати. Фактически алгоритм воспроизведения нужной ткани сведётся к выполнению четырёх шагов:

- 1) экспериментальное установление распределения слабо специализированных клеток на начальный момент развития ткани;
- 2) вычисление с помощью имитационной модели (2)–(12) потоков $\text{Injection}_S^{(z,x,y)}(t)$, которые необходимы для формирования требуемого сегмента ткани;
- 3) распечатка начальной заготовки ткани из стволовых клеток на 3D-принтере;
- 4) воспроизведение во времени потоков $\text{Injection}_S^{(z,x,y)}(t)$ через границу скопления.

Нужно отметить, что построенная имитационная модель (2)–(12) имеет существенные ограничения для применения на практике. Как уже было отмечено, для облегче-

ния поиска первых приближений значений универсальных параметров необходимо построить модель внутриклеточной биохимии. Искомая биохимическая модель должна иметь возможность оценить, как воздействие химических сигналов будет проявляться на макроуровне: ускоряется или замедляется наступление деления/смерти, происходит ли принудительный запуск программируемой смерти и будет ли влияние оказано на выбор новых типов для дочерних клеток. Дополнительно к этому требуется реализовать алгоритм распознавания типов клеток на трёхмерных томограммах. Без этих инструментов использование имитационной модели (2)–(12) для описания реальных скоплений клеток будет существенно затруднено.

Для повышения предсказательных возможностей построенной имитационной модели (2)–(12) можно предложить как минимум три варианта её обобщения.

В первую очередь, можно получить более точную модель, если отказаться от усреднённых сигналов $S(\tau)$ и ввести реальные химические сигналы в формализм модели.

Второй вариант обобщения сводится к более точному описанию миграции клеток, в частности, к учёту вынужденной миграции клеток и хемотаксиса (движения клеток вдоль градиента концентрации определённого вещества) [7].

Третье обобщение заключается в моделировании альтернативных путей передачи данных между клетками. Например, можно учесть два типа механических напряжений между клетками: пассивные и активные напряжения. При этом под пассивным напряжением обычно подразумевается межклеточное давление и растяжение ткани под действием гравитации, а под активным — растяжение ткани в результате роста, деления и миграции клеток (подробнее о роли этих напряжений см. в [8]).

Автор выражает благодарность Н. В. Суворовой и А. В. Решетникову за критические замечания и помощь в корректировке статьи.

ЛИТЕРАТУРА

1. Xu F., Sridharan B., et al. Embryonic stem cell bioprinting for uniform and controlled size embryoid body formation // *Biomicrofluidics*. 2011. V. 5. No. 2. P. 022207.
2. Белоусов Л. В. Основы общей эмбриологии. М.: Изд-во Моск. ун-та, 2005. 368 с.
3. Корочкин Л. И. Биология индивидуального развития (генетический аспект). М.: Изд-во Моск. ун-та, 2003. 400 с.
4. Быков В. Л. Цитология и общая гистология (функциональная морфология клеток и тканей человека). СПб.: СОТИС, 2002. 520 с.
5. Baker M. Tissue models: A living system on a chip // *Nature*. 2011. V. 471. No. 7340. P. 661–665.
6. Назаров М. Н. О поиске универсальных параметров для моделей морфогенеза // *Владикавказский математический журнал*. 2013. Т. 15. № 3. С. 41–49.
7. Bagorda A. and Parent C. A. Eukaryotic chemotaxis at a glance // *J. Cell Sci.* 2008. V. 121. P. 2621–2624.
8. Belousov L. V. Morphomechanics: goals, basic experiments and models // *Int. J. Dev. Biol.* 2006. V. 50. No. 2. P. 81–92.