

Математическое моделирование функционирования сигнального пути p53 при повреждении ДНК.

I. Модель активации системы p53–Mdm2–Wip1

О. Ф. ВОРОПАЕВА^{1,*}, К. С. ГАВРИЛОВА^{1,2}

¹Федеральный исследовательский центр информационных и вычислительных технологий, 630090, Новосибирск, Россия

²Новосибирский государственный университет, 630090, Новосибирск, Россия

*Контактный автор: Воропаева Ольга Фалалеевна, e-mail: vorop@ict.nsc.ru

Поступила 25 августа 2021 г., принята в печать 21 октября 2021 г.

Работа посвящена численному исследованию известной математической модели динамики системы p53–Mdm2–Wip1 при различных воздействиях, приводящих к повреждениям ДНК. Главное внимание уделено ранее не рассматривавшимся методическим аспектам — оценке чувствительности модели, качественному анализу свойств решения в биологически адекватном диапазоне значений параметров, анализу применимости модели к описанию критических состояний системы, связанных с известными дегенеративными заболеваниями. Показано, что простейшая модификация исходной модели делает ее существенно более эффективным инструментом для численного анализа широкого диапазона состояний системы p53–Mdm2–Wip1.

Ключевые слова: p53–Mdm2–Wip1, отрицательная обратная связь, математическая модель, дифференциальные уравнения с запаздыванием, валидация, чувствительность, область применимости модели, бифуркация, сравнение с лабораторным экспериментом.

Цитирование: Воропаева О.Ф., Гаврилова К.С. Математическое моделирование функционирования сигнального пути p53 при повреждении ДНК. I. Модель активации системы p53–Mdm2–Wip1. Вычислительные технологии. 2021; 26(6):33–53. DOI:10.25743/ICT.2021.26.6.004.

Введение

Известно, что патогенез многих опасных заболеваний человека связан с накоплением в клетках дефектов ДНК, дисбалансом в процессах размножения и гибели клеток, постепенной деградацией структуры и функций отдельных клеток, состоящих из них тканей и органов. Поиски глубинных причин таких нарушений привели к обнаружению в патологически измененных клетках сбоев в функционировании сложных молекулярно-генетических систем, которые осуществляют контроль и обмен информацией (сигналами) о внутри- и межклеточных процессах и предотвращают накопление отклонений, в том числе через решение судьбы этих клеток.

В контексте выживания и гибели клеток с дефектами ДНК особая роль отводится белку р53. Согласно известным представлениям [1–4], р53 получает сигналы о превышении пороговых величин в каждом клеточном процессе и реагирует на них через систему больших и малых белковых молекул, образуя сигнальный путь для обеспечения необходимой корректировки и восстановления нормы. В случае достаточно сильного неустраняемого нарушения р53 способен активировать генетическую программу самоликвидации поврежденной клетки — апоптоз. Утрата этой функции р53 обнаруживается в 20–80 % случаев разных видов онкологических заболеваний. Получены также доказательства того, что избыточность или гиперактивация р53 могут вызывать массовую гибель здоровых или слабо поврежденных клеток, что приводит к деменции, сердечной недостаточности и потере иных жизнеобеспечивающих функций разных органов.

р53 находится под сложным контролем со стороны целого ряда позитивных и негативных регуляторов (см., например, [5–7]). В частности, к важнейшим ингибиторам р53 относятся белки Mdm2 и Wip1. Активность некоторых регуляторов р53, в свою очередь, изменяется через р53-зависимые механизмы, что приводит к формированию сложной системы положительных и отрицательных обратных связей. В норме в неповрежденных клетках низкий уровень р53 поддерживается благодаря Mdm2 — ключевому отрицательному регулятору р53: в ответ на сигнал о повреждении ДНК уровень Mdm2 снижается, что приводит к росту уровня р53 и тем самым к активизации программ клеточного ответа на повреждение. Если уровень р53 поднимается слишком высоко, это вызывает увеличение уровня Mdm2, который сдерживает р53 через механизм убиквитинирования. Таким образом, возникает петля отрицательной обратной связи р53–Mdm2. Другой регулятор р53 — белок Wip1 — образует с р53 еще одну петлю отрицательной обратной связи и, согласно данным лабораторных исследований, непосредственно влияет на выживаемость клеток, участвуя в регуляции активности р53.

Достаточно высокий уровень повреждения ДНК может вызвать нарушение обратной связи р53 и его регуляторов. В этих условиях согласно исследованиям возможны два сценария функционирования сигнального пути р53: уровень р53 и его активность могут стать избыточными для клетки и живого организма в целом, вызывая массовую гибель не только больных, но и здоровых клеток, или, напротив, слишком высокая активность Mdm2 или Wip1 по сдерживанию р53 может приводить к выживанию поврежденных клеток и тем самым накоплению повреждений ДНК в организме. Так, сверхэкспрессия Wip1 обнаруживается в клетках рака молочной железы, рака яичников и нейробластомы и обычно связывается с худшим прогнозом [2, 9]. Все эти наблюдения привели к пониманию, что управление р53 и его ингибиторами может дать нужный защитный эффект при самом широком круге заболеваний. Поэтому исследованию механизма функционирования сигнального пути, ключевым звеном которого являются р53 и его ингибиторы, уделяется повышенное внимание (см. обзоры [1–4] и библиографию к ним).

Математические модели, позволяющие лучше понять принципы функционирования сигнальных путей и лежащие в их основе биохимические взаимодействия молекул сигнального пути, качественно и количественно оценивать их поведение в заданных условиях, являются ценным инструментом исследования многих сложных биологических процессов. Обзоры математических моделей, предназначенных для описания (с разной степенью детализации) функционирования сигнального пути р53, представлены в [11–15]. Можно отметить, что большая часть известных математических моделей динамики сигнального пути р53, использующих классический биокинетический подход, сконструирована на основе избирательного учета известных биологических данных о

составе, пространственной локализации, характере связей и/или активностей белковых молекул в сложной сигнальной системе p53 (см., например, работы [16–30]). Как правило, модели детально проанализированы с точки зрения качественных свойств решений, для которых найдены аналогии с лабораторными наблюдениями. Исходя из этого можно рассчитывать, что каждая из моделей обладает определенной прогностической ценностью и, вполне вероятно, может быть востребована в лабораторной практике как один из инструментов анализа результатов наблюдений и планирования будущих исследований. В связи с этим, однако, возникает потребность в создании математических моделей на основе не только качественного, но и количественного сопоставления с экспериментальными данными и, что не менее важно, в проведении исследований, направленных на определение границ применимости моделей — все это помогло бы повысить уровень доверия к результатам моделирования.

Разнообразие существующих математических моделей динамики сигнального пути p53 с очевидностью ставит также задачу их сравнения. Одной из ранних попыток представляется работа [20], в которой рассматривались сразу шесть простейших минимальных моделей динамики p53–ингибитор, среди которых авторами были особо выделены модели, обладающие способностью описывать колебательные режимы функционирования, важные с биологической точки зрения. В работе [24] рассматриваются четыре достаточно интересные математические модели, каждая из которых представляет определенную биологическую идеализацию механизма двойной обратной связи в сигнальной сети p53, действующей при кратковременных сигналах о повреждении ДНК. Авторами настоящей работы в [31, 32] рассматривались три известные модели из работ [7, 24, 27], в основе которых лежат различающиеся по уровню сложности и, что особенно важно, по своей функциональной направленности биологические представления о механизме действия сигнального пути p53. Эти различия послужили поводом для постановки задачи о сравнении моделей с точки зрения их способности описать достаточно широкий спектр возможных, в том числе критических, состояний ключевого звена сигнального пути p53, которые наблюдаются при разных видах рака, деменций и других тяжелых дегенеративных заболеваний.

В [31, 32] сопоставление моделей из работ [7, 24, 27] проводилось на примере лабораторного эксперимента [6], в котором при облучении раковых клеток с p53 дикого типа был продемонстрирован наиболее полный набор наблюдаемых *in vitro* и *in vivo* состояний системы p53–Wip1. В [31, 32] было показано, что все три модели удовлетворительно описывают динамику системы p53–Mdm2 и p53–Wip1 в окрестности нормального состояния, т. е. при относительно слабом стрессовом сигнале, когда в ответ на достаточно слабое изменение уровня p53 следует малое изменение ингибитора и наоборот. Вместе с тем ответ на вопрос о моделировании более широкого спектра состояний системы оказался неочевидным. Численный анализ показал, что модель [27] дает удовлетворительное описание всех наблюдавшихся в экспериментах [6] состояний системы p53–Wip1. В то же время модели [7, 24] не могут быть использованы в качестве инструмента для изучения критических состояний p53 из-за несовершенства аппроксимации отрицательной обратной связи p53–Wip1, т. е. имеют недостаточно широкую область применимости. Этот результат послужил стимулом для более пристального рассмотрения по крайней мере одной из этих моделей — модели [7], которую ее авторы предложили для количественного описания экспериментально наблюдаемой динамики p53 и прогнозирования оптимальной последовательности добавок нутлина, необходимой для получения устойчивой реакции p53 после γ -облучения, предоставляя тем самым доводы

в пользу адекватности принятых биологических и математических гипотез и предложенной модели в целом.

В настоящей работе, являющейся продолжением исследований [31, 32], представлены новые более подробные данные о свойствах модели [7], а для расширения границ ее применимости предложена несложная модификация, затрагивающая связь p53–Wip1. Приводятся данные, иллюстрирующие важные с биологической точки зрения качественные свойства решений модели до и после модификации, выполнен анализ чувствительности моделей. Представлены результаты численного моделирования динамики системы p53–Mdm2–Wip1 под влиянием облучения и химиотерапевтического воздействия нутлином на раковую клетку. Сравнение с экспериментальными данными позволило сделать заключение о предпочтительности модифицированной модели.

1. Постановка задачи

Диаграмма, отражающая общепринятые представления о связях в ключевом сегменте p53–Mdm2–Wip1 сигнального пути p53 при повреждении ДНК, представлена на рис. 1. При анализе результатов лабораторных наблюдений в работе [7] рассматривается модельная схема функционирования данного сегмента пути p53 под воздействием активного сигнала о повреждении. Согласно предложенной схеме при отсутствии повреждения p53 находится под контролем Mdm2 (отрицательная обратная связь), а ролью Wip1 как непосредственного отрицательного регулятора p53 можно пренебречь. Сигнал о повреждении активирует p53 и сдерживает Mdm2, тем самым инициируя активацию петли отрицательной обратной связи p53–Mdm2. Одновременно сигнал приводит и к активации петли отрицательной обратной связи p53–Wip1, которая действует благодаря тому, что Wip1 является отрицательным регулятором этого сигнала.

Соответствующая математическая модель составлена из балансных соотношений, в которых вклады механизмов генерации и деградации белков (за счет конститутивных, и не описанных явно моделью процессов) и их взаимодействий аппроксимируются законом действующих масс, в том числе с учетом времени запаздывания некоторых ре-

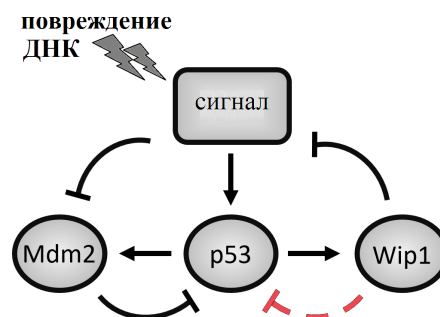


Рис. 1. Диаграмма, отражающая основные виды взаимосвязей в принятых моделях ключевого сегмента сигнального пути p53 после повреждения ДНК. Заостренные стрелки указывают на наличие положительного воздействия, тупые — отрицательного; сплошные линии — модель 1, штриховая — дополнительная связь в модели 2

Fig. 1. A diagram capturing the main types of relationships in the accepted models of the key segment of the signal path p53 following DNA damage. Pointed arrows indicate the presence of a positive impact, blunt arrows indicate a negative one; solid lines indicate interactions in the model 1, dashed lines indicate additional connection in the model 2

акций на сигналы, и кинетической моделью Хилла. Отметим, что эти аппроксимации обычно используются как основа для описания кинетики большинства наиболее распространенных вариантов кинетики простых и сложных, в том числе кооперативных и аллостерических ферментативных, биохимических реакций. Таким образом, модель 1 представляет собой нелинейную систему дифференциальных уравнений с запаздывающими аргументами, которая имеет следующий вид [7]:

$$\frac{dP_i}{dt} = \beta_P - \alpha_{MP_i}MP_i - \beta_{SP}\frac{S^\sigma}{S^\sigma + T_S^\sigma}P_i - \alpha_{P_i}P_i, \quad (1)$$

$$\frac{dP_a}{dt} = \beta_{SP}\frac{S^\sigma}{S^\sigma + T_S^\sigma}P_i - \alpha_{MP_a}MP_a, \quad (2)$$

$$\frac{dM}{dt} = \beta_{M_i} + \beta_M P_a(t - \tau_M) - \alpha_{SM}SM - \alpha_M M, \quad (3)$$

$$\frac{dW}{dt} = \beta_W P_a(t - \tau_W) - \alpha_W W, \quad (4)$$

$$\frac{dS}{dt} = \beta_S - \alpha_{WS}\frac{W^\nu}{W^\nu + T_W^\nu}S - \alpha_S S. \quad (5)$$

Здесь и ниже P_i , P_a — уровни неактивного и активного белка р53 соответственно; M , W — уровни белков Mdm2 и Wip1; S — уровень активного сигнала о повреждении ДНК; параметры τ_M , τ_W определяют время запаздывания реакции Mdm2 и Wip1 на изменение р53; β_P , β_{M_i} , β_S — константы скорости генерации белков р53, Mdm2 и сигнала; β_M и β_W — константы скорости р53-зависимой генерации Mdm2 и Wip1; β_{SP} — константа скорости генерации р53, обусловленной сигналом; α_{MP_i} , α_{MP_a} — константы скорости деградации неактивного и активного р53 под влиянием Mdm2; α_{P_i} , α_M , α_W , α_S — константы скорости деградации р53, Mdm2, Wip1 и сигнала соответственно; α_{SM} — константа скорости деградации Mdm2 под влиянием сигнала; α_{WS} — константа скорости деградации сигнала под влиянием Wip1; T_W , T_S — кинетические параметры; σ , ν — параметры Хилла. Особенностью модели 1 является то, что ингибирующее воздействие Wip1 на р53 реализуется не напрямую, а главным образом через активный сигнал. Следует отметить, что подобный вариант описания отрицательной обратной связи р53–Wip1 представляется биологически корректным. Однако окончательный вывод об успешности математической формализации биологического процесса должен быть основан на сопоставлении результатов моделирования с конкретными экспериментальными данными.

Дополнительно рассмотрим модель 2. Основное отличие модели 2 от модели 1 состоит во введении в уравнения (1) и (2) слагаемых, которые отражают функцию Wip1 как непосредственного ингибитора р53 (на рис. 1 соответствующая связь помечена штрихами; α_{WP_i} , α_{WP_a} — константы скорости деградации р53):

$$\frac{dP_i}{dt} = \beta_P - \alpha_{MP_i}MP_i - \beta_{SP}\frac{S^\sigma}{S^\sigma + T_S^\sigma}P_i - \alpha_{P_i}P_i - \alpha_{WP_i}WP_i,$$

$$\frac{dP_a}{dt} = \beta_{SP}\frac{S^\sigma}{S^\sigma + T_S^\sigma}P_i - \alpha_{MP_a}MP_a - \alpha_{WP_a}WP_a.$$

Далее будет показано, что потребность в данной модификации обусловлена результатами численных экспериментов, в которых на основе известных экспериментальных данных оценивалась способность модели 1 описать весь достаточно широкий спектр состояний системы р53–ингибитор, наблюдаемых в лабораторной и клинической практике.

Уравнения моделей обезразмеривались с использованием следующих представлений переменных задачи: $t = t^*T$, $\tau = \tau^*T$, $y_i = y_i^*D_i$, где $*$ — знак обезразмеривания, D_i — характерные масштабы основных переменных задачи — компонент вектора решения $\mathbf{y} = (y_1, \dots, y_n)$, T — масштаб времени. В дальнейшем знак обезразмеривания будет опускаться, а об использовании размерных величин будет сообщаться дополнительно.

Здесь и ниже, если не оговорено иное, $\sigma = 1$, $\nu = 4$ (в случае модели 2 лучшее согласие с представленным ниже комплексом лабораторных экспериментов получено при $\sigma = 2$); обезразмеренные значения остальных параметров моделей 1 и 2 полагались следующими:

$$\begin{aligned} \beta_P &= 0.9, & \alpha_{MP_i} &= 5, & \beta_{SP} &= 10, & T_S &= 1, & \alpha_{P_i} &= 2, & \alpha_{MP_a} &= 1.4, \\ \beta_{M_i} &= 0.2, & \beta_M &= 0.9, & \alpha_{SM} &= 0.5, & \alpha_M &= 1, & \beta_W &= 0.25, & \alpha_W &= 0.7, \\ \beta_S &= 10, & \alpha_{WS} &= 50, & T_W &= 0.2, & \alpha_S &= 7.5, & \alpha_{WP_i} &= 5, & \alpha_{WP_a} &= 1.4. \end{aligned} \quad (6)$$

Важно отметить, что значения параметров модели 1 были предложены в [7] как оптимальные для описания наблюдаемой в лабораторном эксперименте динамики сигнального пути р53 при γ -облучении раковых клеток, которое приводит к повреждению ДНК и активации пути р53. Значения параметров σ в моделях 1 и 2, а также α_{WP_i} и α_{WP_a} в модели 2 выбирались в настоящей работе из тех же соображений, при этом полагалось $\tau_M = 0.7$, $\tau_W = 1.25$, $T = 1$ ч. Начальные данные для компонент вектора решений $\mathbf{y} = (P_i, P_a, M, W, S)$ задавались согласованными с экспериментальными данными [7]:

$$\mathbf{y}(\theta) = (0.1, 0, 0.2, 0, 0), \quad \theta \in [-\tau, 0], \quad \tau = \max(\tau_M, \tau_W). \quad (7)$$

2. Численный алгоритм и методические расчеты

Алгоритм решения задачи и анализ погрешностей. Математические модели 1 и 2 могут быть представлены в виде системы дифференциальных уравнений следующего общего вида

$$\frac{d\mathbf{y}}{dt} = \mathbf{F}(t, \mathbf{y}(t), \mathbf{y}(t - \tau_1), \mathbf{y}(t - \tau_2), \dots, \Theta), \quad (8)$$

с начальным условием

$$\mathbf{y}(\theta) = \Phi(\theta), \quad t_0 - \tau \leq \theta \leq t_0, \quad \tau = \max(\tau_1, \tau_2, \dots), \quad (9)$$

где $\Theta = (k_1, \dots, k_p)$ — набор параметров. В основе алгоритма решения основной начальной задачи вида (8), (9) лежит метод последовательного интегрирования (метод шагов), который позволяет рассматривать задачу как задачу Коши [33]. При численной реализации шаг по времени h выбирался достаточно малым и кратным значениям параметров запаздывания τ_M , τ_W , для того чтобы исключить необходимость интерполяции при определении значений функций с запаздывающими аргументами в точках $t_i - \tau_M$, $t_i - \tau_W$, не совпадающих с узлами сетки. При решении нелинейных систем использовалась идея метода Зейделя: при вычислении каждой компоненты решения на новом временном слое используются уже вычисленные на этом слое значения других компонент, а остальные берутся с предыдущего слоя по времени. Следует отметить, что такой подход дает, помимо прочего, преимущество с точки зрения более эффективной организации компьютерных вычислений.

В рамках разработанного алгоритма выбор оптимального по точности и эффективности численного метода может быть основан на анализе достаточно широкого круга численных методов решения задачи Коши для ОДУ 1-го порядка. В методических целях для решения задачи привлекались следующие численные методы: явный метод Эйлера, метод предиктор-корректор второго порядка, явный метод Адамса, метод Адамса – Бэшфорта – Моултона (АБМ) и метод Гира. Здесь метод Эйлера, наиболее простой в численной реализации, используется как вспомогательный, в том числе на начальных этапах моделирования. Метод предиктор-корректор, в котором предиктор — это метод Эйлера, а корректор — модифицированный метод Эйлера, показал себя как существенно более точный и надежный для данного класса нелинейных систем дифференциальных уравнений. Многошаговые методы четвертого порядка из семейств Адамса и Гира привлекаются из тех соображений, что они теоретически могут обеспечить высокую точность, особенно необходимую при проведении качественного анализа решений, а также потому, что известны как достаточно эффективные методы решения жестких систем (в этих методах решение в первых точках вычислялось либо с продолжением начального условия на нужное число точек влево, либо с привлечением модификации [34] метода Рунге – Кутты четвертого порядка). Отметим, что метод Гира реализовывался с использованием программного инструментария Python.

Результаты анализа погрешности решения задачи (1)–(7) (модели 1), полученного с привлечением этих методов, представлены в табл. 1 (погрешность вычислялась в матричной норме $|A|_\infty = \max_{1 \leq i \leq m} \sum_{j=1}^n |a_{ij}|$). Численный анализ показал, что реализация всех методов оказалась достаточно эффективной, так что фактический порядок точности совпадает с теоретическим, при этом метод АБМ дает наименьшую погрешность решения задачи. Аналогичные результаты были получены и при решении начальной задачи для модели 2. На основании этих данных для проведения больших серий численных экспериментов, в особенности связанных с исследованием качественных свойств решений, привлекался метод АБМ с шагом $h = 0.00625$. Отметим, что на этой наиболее грубой из представленных здесь расчетных сеток каждый из методов дает погрешность менее 1%.

Оценка роли активного сигнала. Нетрудно заметить, что при отсутствии сигнала о повреждении ($\beta_{SP} = 0$) стационарное решение $\mathbf{y}^0 = (P_i^0, P_a^0, M^0, W^0, S^0)$ моделей 1 и 2 имеет вид

$$S^0 = 0, \quad P_i^0 = \frac{\beta_P}{\alpha_{MP_i} M^0 + \alpha_{P_i}}, \quad M^0 = \frac{\beta_{M_i}}{\alpha_M}, \quad P_a^0 = 0, \quad W^0 = 0. \quad (10)$$

Т а б л и ц а 1. Относительные погрешности решения задачи (1)–(7), %
 Table 1. Relative errors of the solution of the problem (1)–(7), %

h	Метод Эйлера	Метод предиктор-корректор 2-го порядка	Метод Адамса	Метод Адамса – Бэшфорта – Моултона	Метод Гира
$6.25 \cdot 10^{-3}$	$2.38 \cdot 10^{-1}$	$6.99 \cdot 10^{-3}$	$1.35 \cdot 10^{-4}$	$3.52 \cdot 10^{-5}$	$8.32 \cdot 10^{-5}$
$3.125 \cdot 10^{-3}$	$1.17 \cdot 10^{-1}$	$1.71 \cdot 10^{-3}$	$7.11 \cdot 10^{-6}$	$2.32 \cdot 10^{-6}$	$4.32 \cdot 10^{-6}$
$1.5625 \cdot 10^{-3}$	$5.81 \cdot 10^{-2}$	$4.21 \cdot 10^{-4}$	$4.35 \cdot 10^{-7}$	$1.49 \cdot 10^{-7}$	$2.36 \cdot 10^{-7}$
$7.8125 \cdot 10^{-4}$	$2.89 \cdot 10^{-2}$	$1.05 \cdot 10^{-4}$	$3 \cdot 10^{-8}$	$9.49 \cdot 10^{-9}$	$1.68 \cdot 10^{-8}$
$3.90625 \cdot 10^{-4}$	$1.44 \cdot 10^{-2}$	$2.61 \cdot 10^{-5}$	$1.96 \cdot 10^{-9}$	$5.98 \cdot 10^{-10}$	$1.11 \cdot 10^{-9}$
$1.953125 \cdot 10^{-4}$	$7.21 \cdot 10^{-3}$	$6.51 \cdot 10^{-6}$	$1.26 \cdot 10^{-10}$	$3.76 \cdot 10^{-11}$	$7.16 \cdot 10^{-11}$

Из (10) следует, что при значениях параметров (6) $\mathbf{y}^0 = (0.3, 0, 0.2, 0, 0)$. Полученное в численных экспериментах стационарное решение совпадает с этим результатом. Таким образом, простейшая оценка (10) показывает, что в рамках моделей 1 и 2 при отсутствии сигнала биологическая система действительно находится в неактивном состоянии, ее ключевой белок р53 контролируется Mdm2, причем эти белки стабилизируются на достаточно низком уровне, что соответствует устоявшимся представлениям о функционировании данной биологической системы.

Активацию системы белков под влиянием сигнала можно проиллюстрировать, в частности, стационарными решениями моделей 1 и 2 при значениях параметров (6). Для вычисления стационарного решения использовалась как реализованная в Python функция `fsolve` решения системы нелинейных алгебраических уравнений, так и метод АБМ, с привлечением которого численно решалась задача с начальным условием. В обоих случаях были получены решения $\mathbf{y}^0 = (0.12, 0.47524, 0.5216, 0.16973, 0.40688)$ модели 1 и $\mathbf{y}^0 = (0.12195, 0.39114, 0.4272, 0.13969, 0.58437)$ модели 2. Эти данные служат, прежде всего, иллюстрацией качества разработанного численного алгоритма решения задачи, они также представляются разумными с точки зрения соответствия известным представлениям об исследуемом процессе.

Выполнен численный анализ зависимости численных решений от начальных данных и от значений запаздывания. В ходе численных экспериментов начальные условия (7) варьировались в достаточно широком диапазоне при параметрах (6). Варьирование значений параметров запаздывания осуществлялось на интервалах $\tau_M \in [0.1, 10]$ и $\tau_W \in [0.5, 15]$. Численный анализ показал, что изменение начальных данных и параметров запаздывания не влияет на стационарное решение задачи, определенное параметрами (6).

Численное моделирование динамики пути р53 в раковых клетках под влиянием облучения и химиотерапии. Для сопоставления моделей 1 и 2 привлекались экспериментальные данные, полученные в [7] и использованные в этой работе при разработке модели 1. Суть лабораторного эксперимента [7] состояла в следующем. Для демонстрации активации сигнального пути р53 раковая клетка с р53 дикого типа подвергалась γ -облучению, которое способно вызывать повреждение ДНК. При относительно небольшом повреждении ответ пути р53 состоит в активации программы репарации ДНК, о чем свидетельствуют наблюдаемые *in vitro* колебания уровня р53 (рис. 2). Следующий этап лабораторного эксперимента состоял в том, чтобы дополнительно воздействовать на клетку нутлином (Nutlin-3 — это широко известное химиотерапевтическое средство). Это воздействие (при определенном выборе сценария воздействия) приводит *in vitro* к еще большему повреждению ДНК, о чем свидетельствуют прекращение колебаний и стабилизация р53 на более высоком, чем при облучении, уровне. Отметим, что в рамках принятых математических моделей воздействие облучением описывается набором параметров (6), а для моделирования влияния нутлина в уравнения моделей 1 и 2 вводился дополнительный множитель (функция Хилла), регулирующий связь р53–Mdm2. При этом в модели 1 полагалось

$$\begin{aligned} \frac{dP_i}{dt} &= \beta_P - \alpha_{MP_i} \frac{K_1^\lambda}{K_1^\lambda + N^\lambda(t - \tau_N)} MP_i - \beta_{SP} \frac{S^\sigma}{S^\sigma + T_S^\sigma} P_i - \alpha_{P_i} P_i, \\ \frac{dP_a}{dt} &= \beta_{SP} \frac{S^\sigma}{S^\sigma + T_S^\sigma} P_i - \alpha_{MP_a} \frac{K_1^\lambda}{K_1^\lambda + N^\lambda(t - \tau_N)} MP_a, \end{aligned}$$

в модели 2 использовался аналогичный подход:

$$\frac{dP_i}{dt} = \beta_P - \alpha_{MP_i} \frac{K_2^\mu}{K_2^\mu + N^\mu(t - \tau_N)} MP_i - \beta_{SP} \frac{S^\sigma}{S^\sigma + T_S^\sigma} - \alpha_{P_i} P_i - \alpha_{WP_i} WP_i,$$

$$\frac{dP_a}{dt} = \beta_{SP} \frac{S^\sigma}{S^\sigma + T_S^\sigma} P_i - \alpha_{MP_a} \frac{K_2^\mu}{K_2^\mu + N^\mu(t - \tau_N)} MP_a - \alpha_{WP_a} WP_a.$$

Здесь N — обезразмеренный уровень нутлина; по результатам численных экспериментов обезразмеренные параметры полагались равными $K_1 = 0.45$, $K_2 = 0.25$, $\tau_N = 0.4$, $\lambda = 0.9$, $\mu = 0.65$; характерный масштаб времени, как и прежде, равен $T = 1$ ч.

На рис. 2 можно видеть изменение во времени уровня р53 в системе р53–Mdm2–Wip1, полученное в лабораторном эксперименте [7] с помощью метода вестерн-блоттинга (маркеры на рис. 2) и в численных экспериментах с использованием моделей 1 (сплошные линии) и 2 (штриховые). На рис. 2, а сопоставляются данные о динамике р53 (подсчитывается суммарный уровень активной и неактивированной форм белка) под влиянием только облучения и с учетом дополнительного введения нутлина, которое в лабораторном эксперименте [7] осуществлялось поэтапно — через 2 ч после облучения, а еще через 2 ч — повышение дозы и поддержание этого уровня нутлина до конца эксперимента. На рис. 2, б приведена динамика уровня р53 при изменении сценария введения нутлина (значения параметров остаются прежними). Видно, что обе модели дают весьма близкие результаты. Следует отметить, что для данной серии экспериментов в [7] реальное изменение уровня нутлина не указано точно, в связи с чем речь идет, в значительной мере, о приближенном воспроизведении условий эксперимента и, соответственно, динамики р53. Таким образом, результаты данного численного эксперимента свидетельствуют о том, что предложенная модификация модели [7], т. е. модель 2, сохраняет важное для практики свойство исходной модели 1 — ее способность адекватно описывать динамику р53, наблюдаемую в лабораторных экспериментах [7].

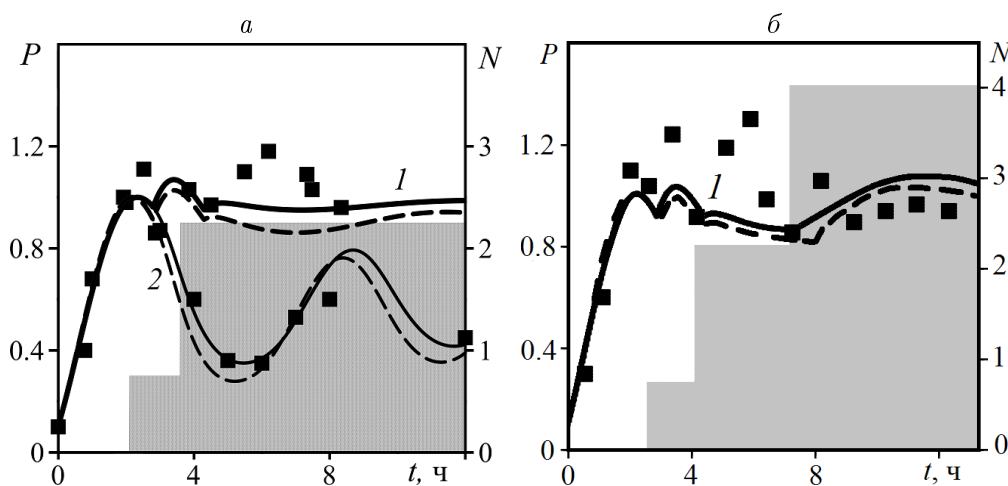


Рис. 2. Динамика уровня р53: 1 — под воздействием нутлина, 2 — без воздействия нутлина; маркеры — эксперимент [7], сплошные линии — модель 1, штриховые линии — модель 2; серым отмечен уровень нутлина

Fig. 2. Dynamics of p53 level: 1 — under the influence of nutlin, 2 — without the influence of nutlin; markers — experiment [7], solid lines — model 1, dashed lines — model 2; gray indicates the level of nutlin

3. Анализ чувствительности моделей

Использовался “прямой” локальный метод [35], который дает приближенную количественную оценку чувствительности моделей к малому поочередному изменению значений параметров. При его реализации начальная задача типа (8), (9) дополняется системой дифференциальных уравнений

$$\frac{d\beta_{ij}}{dt} = \frac{\partial f_i}{\partial k_j} + \sum_{l=1}^n \left(\beta_{lj} \frac{\partial f_l}{\partial y_l} \right) \quad (11)$$

с нулевыми начальными условиями, где $\beta_{ij}(t)$ — коэффициенты чувствительности первого порядка, индекс $i = 1, \dots, n$ — номер компоненты решения задачи (8), индекс $j = 1, \dots, p$ — порядковый номер параметра k_j ($p = 16$ или 18 для моделей 1 или 2 соответственно, причем нумерация параметров соответствует порядку их следования в системе уравнений); производные в правой части (11) вычисляются аналитически. Для окончательной оценки влияния каждого параметра используется величина относительной чувствительности:

$$B_{ij} = \frac{1}{M} \left(\sum_{l=1}^M \left(\beta_{ij}(t_l) \frac{k_j^c}{y_i^c} \right)^2 \right)^{1/2},$$

где характерные значения параметров k_j^c (значения из (6)) и компонент решения y_i^c играют роль нормирующих множителей.

Результаты анализа свидетельствуют о том, что в моделях 1 и 2 отсутствуют параметры, чувствительность системы к которым можно считать избыточной. Обе модели наиболее чувствительны к параметрам, ответственным за описание прироста и деградации уровней белков p53, Mdm2, Wip1 за счет конститутивных и явно не учтенных

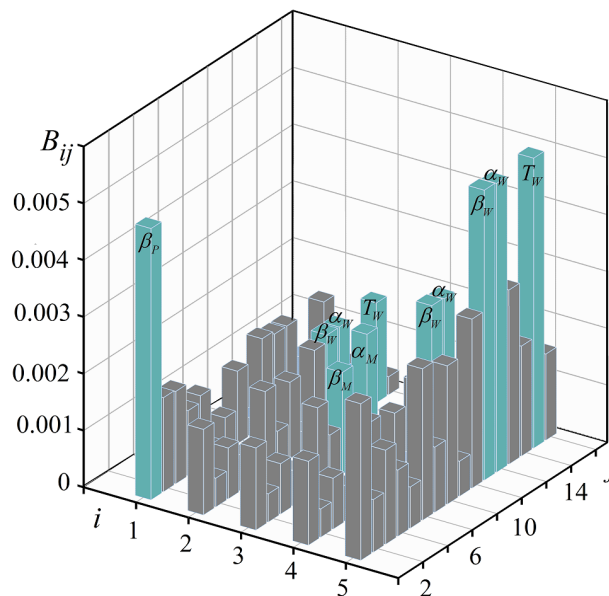


Рис. 3. Коэффициенты относительной чувствительности модели 1 к малому изменению значений параметров

Fig. 3. Coefficients of relative sensitivity of the model 1 to small changes in parameter values

процессов, в особенности к параметру β_P (константе скорости генерации p53). Следует отметить также чувствительность к параметру T_W , который участвует в регуляции ответа системы на сигнал. В качестве примера на рис. 3 представлены значения коэффициентов относительной чувствительности модели к 10 %-му изменению параметров. Численный анализ показал, что введение относительно простой модификации, реализованной в модели 2, приводит к тому, что система уравнений становится несколько чувствительнее, чем модель 1 (разница в значениях, однако, не превышает 5–10 %).

4. Численный анализ качественных свойств решений

Модель 1. Выполнен численный анализ решений модели (1)–(5) в окрестности набора параметров (6). При поочередном варьировании параметров обнаружено, что система имеет в основном стационарные решения. Наиболее интересные свойства решения получены при увеличении константы β_P (константы скорости генерации p53 за счет конститутивных и неучтенных внешних по отношению к системе p53–Mdm2–Wip1 факторов и процессов), когда одновременно увеличивается параметр τ_M (время запаздывания реакции Mdm2 на изменение p53). Отметим, что эти условия могут рассматриваться как имитация запаздывающей реакции биологической системы на усиливающееся стрессовое воздействие, не связанное с сигналом. Численные эксперименты показывают, что с ростом β_P при всех $\tau_M \in [0, 30]$ состояние системы (1)–(5) характеризуется ее стационарным решением. Однако это состояние может оказаться неустойчивым к пренебрежимо малым изменениям начальных условий, так что система при тех же самых значениях параметров может функционировать и по другому сценарию — со сложными динамическими режимами, причем параметры β_P и τ_M являются в этом случае бифуркационными.

В качестве примера на рис. 4 показана неподвижная предельная точка в пространстве состояний (P_a, M, W) , а также представлены полученные в численных экспериментах метаморфозы фазовых траекторий решения задачи, в которой $\beta_P = 9$, и варьируется только параметр τ_M . На фазовых портретах при достаточно малых значениях τ_M можно видеть сначала только неподвижную предельную точку (рис. 4, $\tau_M = 1.5$), которая при увеличении параметра запаздывания τ_M может терять устойчивость через бифуркацию Андронова–Хопфа рождения предельного цикла. Деформация предельного цикла приводит к рождению тороидальной траектории, из которого вновь возникает предельный цикл, а затем — вновь тор. И далее с ростом τ_M периодические колебания чередуются с квазипериодическими. Важно отметить, что эти перемены сопровождаются сменой ориентации “главной оси” аттрактора. Сначала в процессе колебаний наблюдаются два “предельных” состояния: “высокий уровень p53 — низкие уровни Mdm2 и Wip1” или “низкий уровень p53 — высокие уровни Mdm2 и Wip1”. Затем один из ингибиторов начинает доминировать, в результате “предельными” оказываются следующие состояния: “высокий уровень p53 и Wip1 — низкий уровень Mdm2” или “низкий уровень p53 и Wip1 — высокий уровень Mdm2”. Такое поведение системы является свидетельством того, что отрицательная обратная связь p53–Wip1 при определенных условиях может нарушаться, и, по-видимому, это (в рамках принятой модели 1) служит триггером для возникновения сложных динамических режимов функционирования системы p53–Mdm2–Wip1.

Модель 2. Представляет интерес анализ качественных свойств решений модели 2 — системы с уточненной связью p53–Wip1 (рис. 1, 5). Численный анализ показал, что

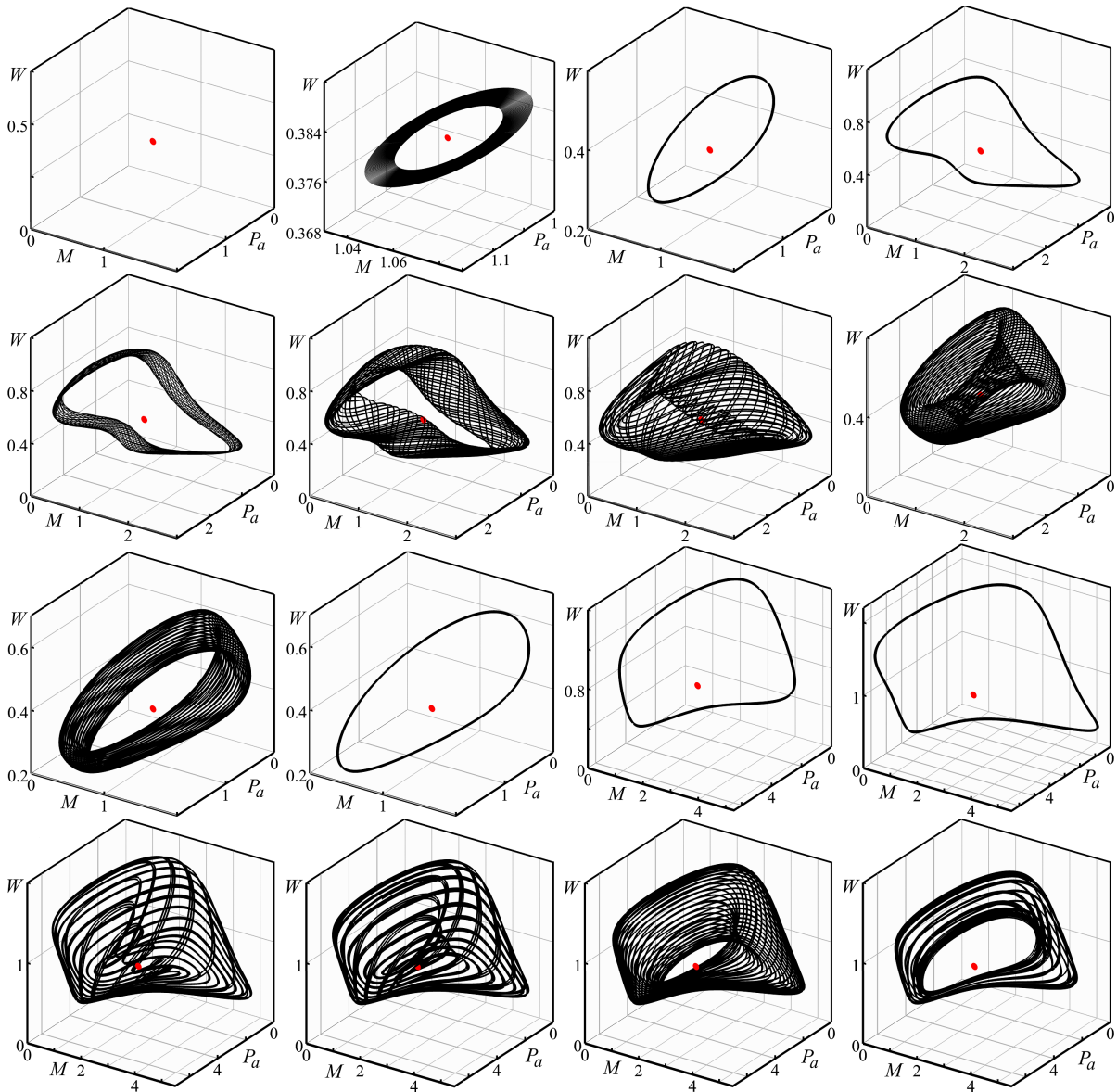


Рис. 4. Метаморфозы фазовых портретов модели 1. Слева направо, сверху вниз: $\tau_M = 1.5, 2.4, 2.5, 8.0, 8.5, 8.6, 9.0, 10.0, 10.3, 10.5, 14.0, 20.0, 21.0, 22.0, 22.5, 23.0$

Fig. 4. Metamorphoses of phase portraits of the model 1. From left to right, from top to bottom: $\tau_M = 1.5, 2.4, 2.5, 8.0, 8.5, 8.6, 9.0, 10.0, 10.3, 10.5, 14.0, 20.0, 21.0, 22.0, 22.5, 23.0$

модели 1 и 2 в окрестности значений параметров (6) обладают достаточно близкими качественными свойствами решений. В первую очередь, речь идет о стационарных решениях, полученных при фиксированных значениях запаздывания и поочередном варьировании параметров из набора (6). Кроме того, как и в случае модели 1, обнаружена неустойчивость решения модели 2 по отношению к малым возмущениям начальных данных и возможность существования двух решений (т.е. сценариев функционирования системы) при одних и тех же значениях параметров. Вместе с тем решения модели 2 демонстрируют и новые свойства, которые не наблюдались (в этом диапазоне параметров) у решений модели 1.

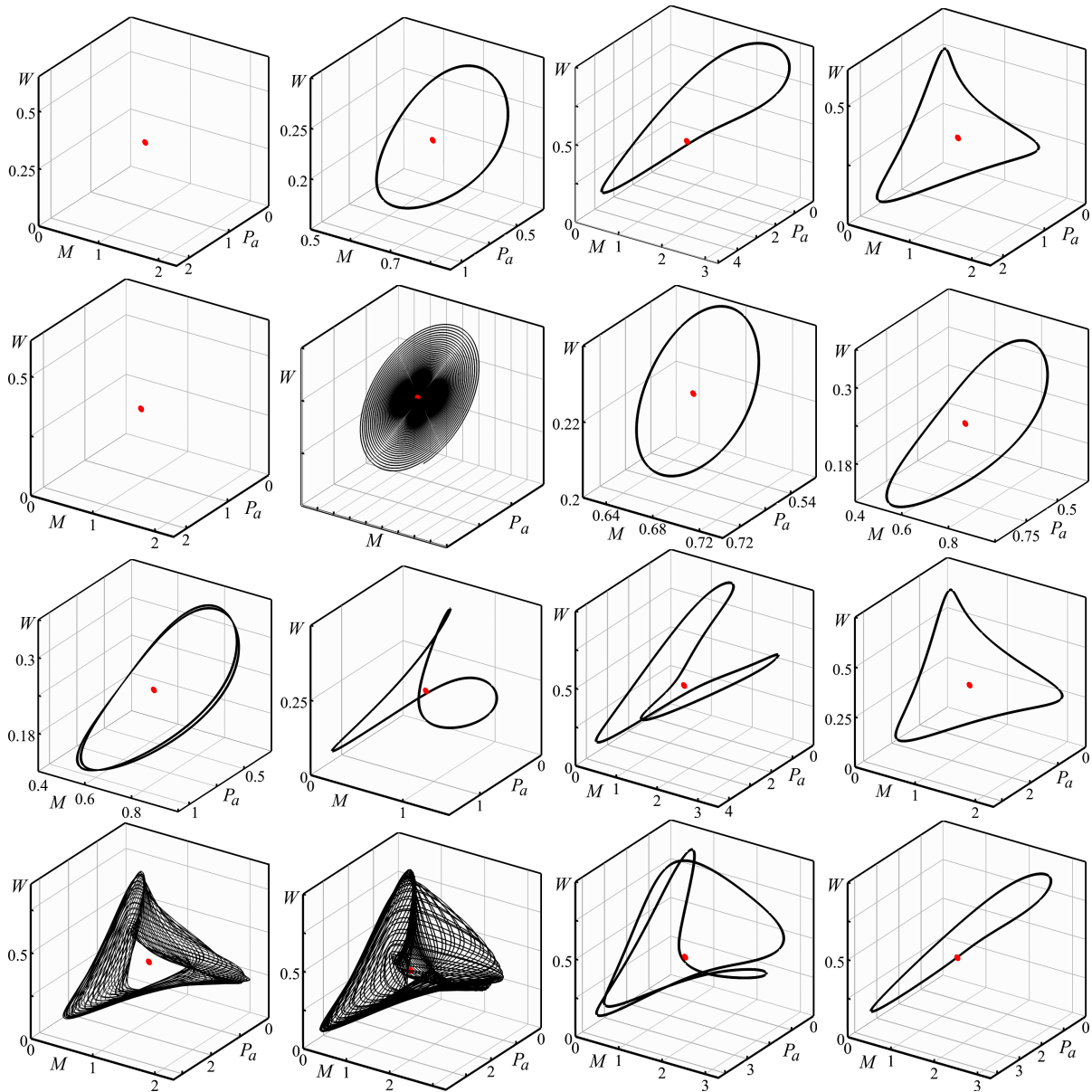


Рис. 5. Метаморфозы фазовых портретов модели 2. Слева направо, сверху вниз: $\tau_M = 0.2, 0.4, 2.0, 4.67, 4.69, 5.1, 5.17, 5.4, 5.42, 5.7, 7.4, 12.4, 12.7, 13.0, 14.0, 14.5$

Fig. 5. Metamorphoses of phase portraits of the model 2. From left to right, from top to bottom: $\tau_M = 0.2, 0.4, 2.0, 4.67, 4.69, 5.1, 5.17, 5.4, 5.42, 5.7, 7.4, 12.4, 12.7, 13.0, 14.0, 14.5$

Так, по результатам численных расчетов при $\beta_P = 9$ наряду с неподвижной точкой (стационарным решением) обнаружены сложные динамические режимы, связанные с изменением параметра запаздывания τ_M . На рис. 5 при увеличении параметра $\tau_M \in [0, 15]$ можно проследить существенно более сложный, чем в случае модели 1, каскад бифуркаций, включающий не только бифуркации Андронова – Хопфа, но и бифуркации удвоения и утроения периода. Анализ полученных состояний системы показывает, что при относительно малых $\tau_M < 5.7$ фазовые портреты при каждом фиксированном τ_M характеризуются двумя “предельными” состояниями системы: “высокий уровень р53 – низкие уровни Mdm2 и Wip1” или “низкий уровень р53 – высокие уровни Mdm2 и Wip1”. Затем на интервале $\tau_M \in [5.7, 14]$ система при каждом

фиксированном τ_M последовательно чередует три состояния: “высокий уровень р53 — низкие уровни Mdm2 и Wip1”, “высокий уровень Wip1 — низкий уровень р53 и Mdm2” или “высокий уровень Mdm2 — низкий уровень р53 и Wip1”, причем переход между двумя последними состояниями может происходить либо относительно плавно, либо через состояние, в котором уровни всех трех белков оказываются крайне низкими. Это указывает на то, что в данной модели обе петли отрицательной обратной связи можно считать относительно “равноправными”, и это согласуется с общими представлениями об их функционировании в разных процессах *in vivo* и *in vitro* (см., например, [5, 30]).

Карта динамических режимов. В продолжение этих исследований была поставлена задача для каждой из моделей “просканировать” всю интересующую область значений параметров β_P и τ_M с целью анализа возможных режимов функционирования этих систем. Полученные численно карты динамических режимов показаны на рис. 6 в виде диаграмм на плоскости параметров (β_P, τ_M) , где области 1–5 различных динамических режимов разделены линиями нейтральности. Полученные данные дают более полное представление о возможных фазовых состояниях биологической системы в широком диапазоне значений β_P и τ_M . Эти диаграммы согласуются с фазовыми состояниями, которые были представлены на рис. 4, 5.

Стоит отметить, что полученные качественные свойства решений двух достаточно близких систем дифференциальных уравнений с двумя запаздывающими аргументами представляют собой прежде всего крайне интересный математический факт, безусловно, требующий более тщательного целенаправленного исследования. Для настоящего исследования важно то, что математические условия, при которых множественность решений и сложные динамические режимы были обнаружены, допускают определенную биологическую интерпретацию, так как колебания в сигнальном пути р53 являются нормальной наблюдаемой в большинстве лабораторных исследований реакцией системы на эндогенное или экзогенное стрессовое воздействие. Она, как правило, свидетельствует о стремлении системы устранить повреждение ДНК без инициации программы гибели клетки-мишени.

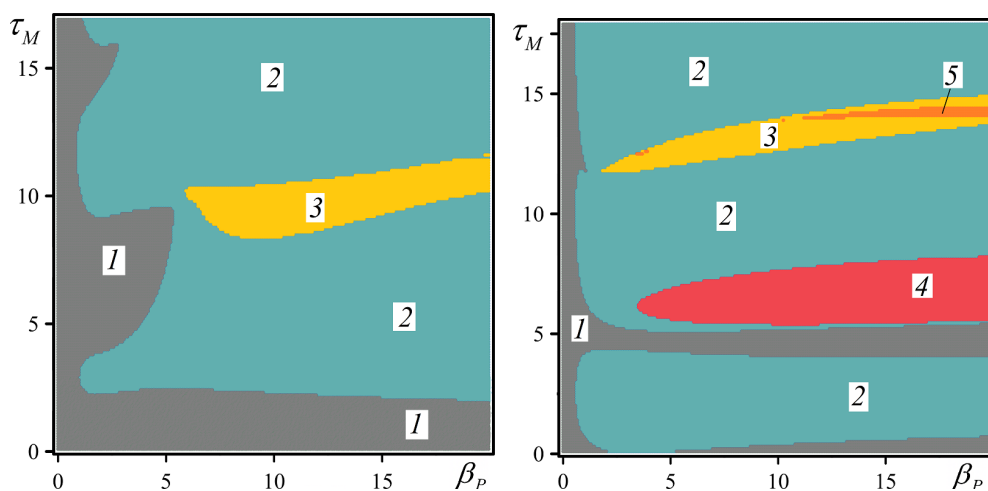


Рис. 6. Карты динамических режимов в плоскости (β_P, τ_M) : 1 — стационарные решения, 2 — периодические решения, 3 — квазипериодические, 4 — удвоение периода, 5 — утроение периода
Fig. 6. Maps of dynamic modes in the plane (β_P, τ_M) : 1 — stationary solutions, 2 — periodic solutions, 3 — quasi-periodic, 4 — period doubling, 5 — period tripling

5. Численный анализ области применимости моделей

Выше отмечалось, что сигнальный путь p53 контролирует запуск ряда генетических программ, в том числе программы апоптоза (клеточной смерти) поврежденных, лишних или ненужных клеток. Сбои в программе апоптоза — гиперактивация апоптоза здоровых клеток или, наоборот, его отсутствие для клеток с сильным неустранимым повреждением ДНК — часто связываются с установлением предельных состояний p53 дикого типа. Речь идет, соответственно, об избыточно высоком или, наоборот, слишком низком уровне активности p53, которые возникают, как правило, при нарушении регуляторной функции белков-ингибиторов и являются критичными для клеток и органов [1–10]. Выше отмечалось, что в современной биомедицине эти сбои рассматриваются как один из главных механизмов патогенеза множества дегенеративных заболеваний. И именно эти два состояния позволяют рассматривать p53 и его ингибиторы как биомаркеры и важные терапевтические мишени при наиболее опасных дегенеративных заболеваниях, включая рак, ишемические инфаркты сердца и мозга, болезни Альцгеймера и Паркинсона [1–10]. Исходя из этого наибольший интерес представляют именно те модели, которые могут быть применены к описанию не только состояний, близких к условной норме (как, например, в [7]), но и этих критических состояний. Таким образом, ставится вопрос об оценке области применимости моделей 1 и 2. Следует отметить, что экспериментальных данных, на которых можно было бы проверить это свойство математических моделей, как минимум, недостаточно.

Полагаем, что в настоящее время этой цели соответствуют известные лабораторные данные [6], представленные в виде совокупности характерных фазовых состояний системы p53–Wip1, наблюдаемых *in vitro* при облучении раковых клеток с p53 дикого типа. В этих экспериментах клетки одной и той же клеточной линии демонстрируют существенно разную реакцию системы p53–Wip1 на облучение. При этом значительная часть клеток после облучения характеризуется слабо выраженной реакцией, т. е. относительно низким уровнем p53 и его отрицательного регулятора Wip1, что следует рассматривать, по-видимому, как нормальную реакцию системы на достаточно слабое повреждение, приводящее к приостановке клеточного цикла для репарации поврежденной ДНК в такой клетке. Из анализа этих экспериментальных данных (рис. 7) следует также, что имеются и еще две достаточно представительные группы клеток, в которых обнаруживаются критические состояния системы p53–Wip1: одна — с относительно низким уровнем p53 при весьма высоких уровнях Wip1, другая — с чрезмерно высоким уровнем p53 при низком уровне Wip1.

В рамках численных экспериментов для согласования результатов предыдущих исследований с данными [6] производилось ремасштабирование моделей 1 и 2. Использовались “масштабы”, согласованные с данными лабораторных экспериментов [6] (см. также [10]), при этом принимались во внимание биологические соображения, согласно которым в эксперименте [7], как и для значительной части клеток в [6], облучение раковых клеток с p53 дикого типа, очевидно, имело целью лишь выраженную активацию пути p53 в этих клетках, но не приводило к их неотвратимой гибели.

На рис. 7 представлены фазовые состояния системы p53–Wip1, наблюдаемые в лабораторных экспериментах [6], а также неподвижные точки численных решений, полученных при поочередном варьировании параметров из набора (6). Можно видеть, что все стационарные решения моделей 1 и 2 находятся в тех интервалах значений уровней p53 и Wip1, которые были получены в результате обработки данных в лаборатор-

ных экспериментах [6]. Дополнительно отметим, что модели 1 и 2 демонстрируют (для стационарных решений, полученных в окрестности набора параметров (6)) адекватное описание функционирования отрицательной обратной связи p53–Mdm2, которая может быть охарактеризована приближенной зависимостью вида $P \sim M^{-1}$ в достаточно широком диапазоне состояний системы p53–Mdm2. Однако выявились и существенные различия моделей 1 и 2. На рис. 7, а показано, что, согласно результатам численных экспериментов, в рамках модели 1 отрицательная обратная связь p53–Wip1 действует лишь в крайне узком диапазоне значений уровней белков. При этом достаточно сильное изменение уровня Wip1 ($W \in [200, 800]$) не вызывает сколько-нибудь значимого изменения уровня p53, и точно так же изменение уровня p53 практически не вызвало заметного отклика Wip1, соответствующего заявленному типу связи p53 и Wip1. В то же время, как показано на рис. 7, б, варьирование параметров уравнения динамики уровня Wip1 в модели 2 может приводить как к фазовым состояниям с высоким уровнем Wip1 при низком уровне p53, так и к состояниям с достаточно высоким уровнем p53 при низком уровне Wip1. Полученные в численном эксперименте неподвижные точки решений модели 2, как и экспериментальные данные, демонстрируют на фазовой плоскости (P, W) зависимость вида $P \sim W^{-1}$. Напомним, что решения модели 2 воспроизводят колебательные режимы функционирования системы (характерные для низкого уровня повреждения ДНК), которые регулируются петлями отрицательной обратной связи p53–Wip1 и p53–Mdm2.

Таким образом, результаты численных экспериментов свидетельствуют в пользу того, что модели 2 следует отдавать предпочтение как инструменту для исследования динамики системы p53–Mdm2–Wip1 в условиях стресса, поскольку она обладает в биологически адекватном диапазоне параметров и значений уровней белков более широкой областью применимости, чем исходная модель 1 [7]. Ранее было показано [13, 30], что столь же широкой областью применимости обладает минимальная математическая модель динамики системы p53–ингибитор–микроРНК, основанная на кинетике Гольдбетера – Кошланда (эти данные представлены на рис. 7, а). Рассмотрение достаточно широкого круга дополнительных модификаций моделей 1 и 2 не привело к существенному изменению свойств решений, уточняющих описание взаимодействий или активацию системы p53–Mdm2–Wip1.

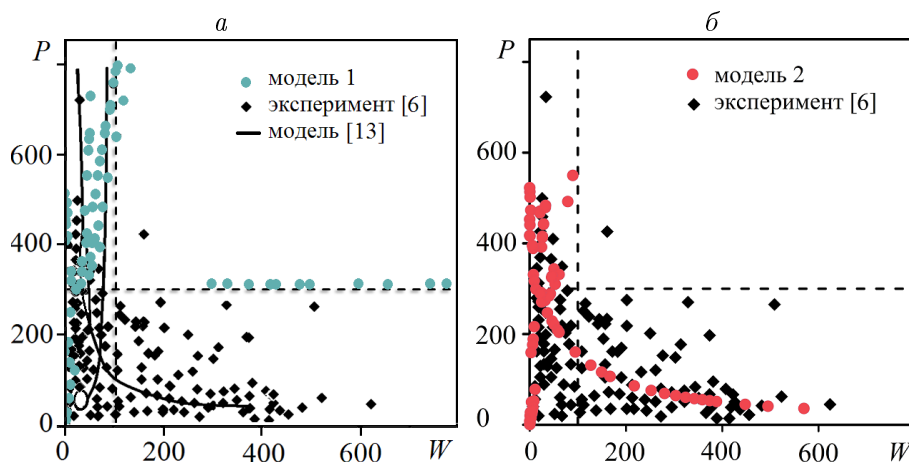


Рис. 7. Фазовый портрет состояний системы p53–Wip1 в условиях стресса: сопоставление экспериментальных данных и результатов моделирования

Fig. 7. Phase portrait of the states of the p53–Wip1 system under stress: comparison of experimental data and simulation results

Заключение

В настоящей работе представлены результаты численного исследования известной математической модели, которая была предложена авторами [7] для описания наблюдаемой *in vitro* динамики системы p53–Mdm2–Wip1 при различных воздействиях, приводящих к повреждениям ДНК. Главное внимание уделено ранее не рассматривавшимся методическим аспектам — оценке чувствительности модели, качественному анализу свойств решения в биологически адекватном диапазоне значений параметров и состояний системы, анализу применимости модели к описанию предельных состояний системы, связанных с известными дегенеративными заболеваниями. Показано, что простейшая модификация исходной модели делает ее более чувствительным инструментом для численного анализа широкого диапазона состояний ключевых участников сигнального пути белка p53. Дальнейшие исследования будут направлены на расширение модифицированной модели за счет описания активации белков-мишеней p53, участвующих в определении судьбы клетки при повреждении ДНК.

Список литературы

- [1] **Чумаков П.М.** Белок p53 и его универсальные функции в многоклеточном организме. Успехи биологической химии. 2007; 47:3–52.
- [2] **Алмазов В.П., Кочетков Д.В., Чумаков П.М.** p53 — инструмент для терапии злокачественных заболеваний человека. Молекулярная биология. 2007; 41(6):947–963.
- [3] **Желтухин А.О., Чумаков П.М.** Повседневные и индуцируемые функции гена p53. Успехи биологической химии. 2010; 50:447–516.
- [4] **Lane D., Levine A.** p53 research: The past thirty years and the next thirty years. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology. 2010; 2(12):10. Article No. a000893.
- [5] **Lu X.** Tied up in loops: Positive and negative autoregulation of p53. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology. 2010; 2. Article No. a000984. DOI:10.1101/cshperspect.a000984.
- [6] **Batchelor E., Mock C.S., Bhan I., Loewer A., Lahav G.** Recurrent initiation: A mechanism for triggering p53 pulses in response to DNA damage. Molecular Cell. 2008; 30(3):277–289.
- [7] **Purvis J.E., Mock C.S., Batchelor E., Loewer A., Lahav G.** p53 dynamics control cell fate. Science. 2012; 336(6087):1440–1444.
- [8] **Stewart-Ornstein J., Cheng H.W., Lahav G.** Conservation and divergence of p53 oscillation dynamics across species. Cell Systems. 2017; (5):410–417.
- [9] **Wang Z.-P., Tian Y., Lin J.** Role of wild-type p53-induced phosphatase 1 in cancer. Oncology Letters. 2017; 14(4):3893–3898.
- [10] **Wu M., Ye H., Tang Z., Shao C., Lu G., Chen B., Yang Y., Wang G., Hao H.** p53 dynamics orchestrates with binding affinity to target genes for cell fate decision. Cell Death and Disease. 2017; 8(e3130). DOI:10.1038/cddis.2017.492.
- [11] **Batchelor E., Loewer A.** Recent progress and open challenges in modelling p53 dynamics in single cells. Current Opinion in Systems Biology. 2017; (3):54–59. DOI:10.1016/j.coisb.2017.04.007.
- [12] **Воропаева О.Ф., Сенотрусова С.Д., Шокин Ю.И.** Дерегуляция p53-зависимых микроРНК: Результаты математического моделирования. Математическая биология и биоинформатика. 2017; 12(1):151–175.

- [13] **Воропаева О.Ф., Лисачев П.Д., Сенотрусова С.Д., Шокин Ю.И.** Гиперактивация сигнального пути p53–микроРНК: Математическое моделирование вариантов противоопухолевой терапии. *Математическая биология и биоинформатика*. 2019; 14(1):355–372.
- [14] **Сенотрусова С.Д., Воропаева О.Ф.** Математическое моделирование функционирования положительной связи в системе онкомаркеров p53–микроРНК. *СибЖВМ*. 2019; 22(3):325–344.
- [15] **Kim E., Kim J.-Y., Lee J.-Y.** Mathematical modelling of p53 pathways. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019; 20(20):5179.
- [16] **Lev Bar-Or R., Maya R., Segel L.A., Alon U., Levine A.J., Oren M.** Generation of oscillations by the p53–Mdm2 feedback loop: A theoretical and experimental study. *PNAS*. 2000; 97(21):11250–11255.
- [17] **Tiana G., Jensen M.H., Sneppen K.** Time delay as a key to apoptosis induction in the p53 network. *The European Physical Journal B*. 2002; 29:135–140.
- [18] **Воропаева О.Ф., Шокин Ю.И., Непомнящих Л.М., Сенчукова С.Р.** Математическое моделирование функционирования и регуляции биологической системы p53–Mdm2. М.: Изд-во РАМН; 2014: 176.
- [19] **Ciliberto A., Novak B., Tyson J.J.** Steady states and oscillations in the p53–Mdm2 network. *Cell Cycle*. 2005; 4(3):488–493. DOI:10.4161/cc.4.3.1548.
- [20] **Geva-Zatorsky N., Rosenfeld N., Itzkovitz Sh., Milo R., Sigal A., Dekel F., Yarnitzky T., Liron Yu., Polak P., Lahav G., Alon U.** Oscillations and variability in the p53 system. *Molecular Systems Biology*. 2006; 2(1):2006.0033.
- [21] **Chickarmane V., Ray A., Sauro H.M., Nadim A.** A model for p53 dynamics triggered by damage. *SIAM J. Applied Dynamical Systems*. 2007; 6(1):61–78.
- [22] **Hamada H., Tashima Y., Kisaka Y., Iwamoto K., Hanai T., Eguchi Y., Okamoto M.** Sophisticated framework between cell cycle arrest and apoptosis induction based on p53 dynamics. *PLOS ONE*. 2009; 4(3):e4795. 7 p.
- [23] **Sun T., Chen C., Shen P.** Modelling the role of p53 pulses in DNA damage-induced cell death decision. *BMC Bioinformatics*. 2009; (10):190.
- [24] **Zhang T., Brazhnik P., Tyson J.** Exploring mechanisms of the DNA-damage response: p53 pulses and their possible relevance to apoptosis. *Cell Cycle*. 2007; (6):85–94.
- [25] **Jolma I.W., Ni X.Y., Rensing L., Ruoff P.** Harmonic oscillations in homeostatic controllers: Dynamics of the p53 regulatory system. *Biophysical Journal*. 2010; (98):743–752.
- [26] **Lai X., Wolkenhauer O., Vera Ju.** Modelling miRNA regulation in cancer signaling systems: miR-34a regulation of the p53/Sirt1 signaling module. *Computational Modeling of Signaling Networks. Methods in Molecular Biology*. 2012; (880):87–108.
- [27] **Sun T., Cui J.** A plausible model for bimodal p53 switch in DNA damage response. *FEBS Letters*. 2014; (588):815–821.
- [28] **Moore R., Ooi H.K., Kang T., Bleris L., Ma L.** MiR-192-mediated positive feedback loop controls the robustness of stress-induced p53 oscillations in breast cancer cells. *PLoS Computational Biology*. 2015; 11(12):e1004653.
- [29] **Jonak K., Kurpas M., Szoltysek K., Janus P., Abramowicz A., Puszynski K.** A novel mathematical model of ATM/p53/NF- κ B pathways points to the importance of the DDR switch-off mechanisms. *BMC Systems Biology*. 2016; 10(75):12.
- [30] **Сенотрусова С.Д., Воропаева О.Ф., Шокин Ю.И.** Применение минимальных математических моделей динамики сигнального пути белка p53–микроРНК к анализу лабораторных данных. *Вычислительные технологии*. 2020; 25(6):4–49. DOI:10.25743/ICT.2020.25.6.002.

- [31] **Воропаева О.Ф., Гаврилова К.С., Сенотрусова С.Д.** Минимальные математические модели функционирования белковой сети p53–mdm2–wip1–p21. Актуальные проблемы прикладной математики, информатики и механики: сборник трудов Международной научно-технической конференции (Воронеж, 3–5 декабря 2018 г.). Воронеж: Издательство “Научно-исследовательские публикации”; 2019: 672–679.
- [32] **Воропаева О.Ф., Гаврилова К.С., Сенотрусова С.Д.** Математическое моделирование динамики сети биомаркеров дегенеративных заболеваний. Распределенные информационно-вычислительные ресурсы. Цифровые двойники и большие данные (DICR-2019): Труды XVII Международной конференции (Новосибирск, 03.12–06.12.2019). Новосибирск: ИВТ СО РАН; 2019: 185–190.
- [33] **Мышкис А.Д.** Общая теория дифференциальных уравнений с запаздывающим аргументом. Успехи математических наук. 1949; 4:99–141.
- [34] **Белых Л.Н.** Анализ математических моделей в иммунологии. М.: Наука. Гл. ред. физ.-мат. лит.; 1988: 192.
- [35] **Оран Э., Борис Дж.** Численное моделирование реагирующих потоков: Пер.с англ. М.: Мир; 1990: 660.

Вычислительные технологии, 2021, том 26, № 6, с. 33–53. © ФИЦ ИВТ, 2021
Computational Technologies, 2021, vol. 26, no. 6, pp. 33–53. © FRC ICT, 2021

ISSN 1560-7534
eISSN 2313-691X

MATHEMATICAL MODELLING

DOI:10.25743/ICT.2021.26.6.004

Mathematical modelling for the functioning of the p53 signaling pathway following DNA damage. I. The model of activation of the p53–Mdm2–Wip1 system

VOROPAeva OLGA F.^{1,*}, GAVRILOVA KSENIA S.^{1,2}

¹Federal Research Center for Information and Computing Technologies, Novosibirsk, 630090, Russia

²Novosibirsk State University, Novosibirsk, 630090, Russia

*Corresponding author: Voropaeva Olga F., e-mail: vorop@ict.nsc.ru

Received August 25, 2021, accepted October 21, 2021.

Abstract

In the context of the survival and death of cells with DNA damage, a special role is assigned to the p53 protein. The management of p53 and its inhibitors can provide a protective effect in a wide range of degenerative diseases, such as cancer, infarctions, and dementia. Therefore, there are increased requirements for mathematical models designed to study the mechanism of functioning of the p53 signaling pathway.

Our work is devoted to the study of the properties of the well-known mathematical model of the dynamics of the p53–Mdm2–Wip1 system under various influences leading to DNA damage. A simple modification of the model is proposed. The main attention is paid to the analysis of the sensitivity and qualitative properties of solutions, as well as the validation of the model before and after its modification.

In numerical experiments, it was found that within the framework of the accepted models, the stationary state of the p53–Mdm2–Wip1 system can be unstable to negligible changes in the initial conditions, so that the system can function under the same parameter values according to the bifurcation scenario with a doubling of the period. The mathematical conditions under which the multiplicity of solutions and complex dynamic modes were detected allow for a biological

interpretation as a reflection of the variability in the response of the p53 protein pathway to the damage signal. The range of applicability of the models was compared using the example of a well-known laboratory experiment, in which the most complete set of observed *in vitro* and *in vivo* states of the p53–Wip1 system was demonstrated when irradiating cancer cells with wild-type p53. It is shown that the simplest modification of the original model significantly expands the scope of its applicability, allows describing the transition from normal to critical states of the system associated with known degenerative diseases. Thus, the modified model is a more effective tool for numerical analysis of a wide range of states of the p53–Mdm2–Wip1 system.

Keywords: p53–Mdm2–Wip1, negative feedback, mathematical model, differential equation with delay, validation, sensitivity, scope of the model applicability, bifurcation, comparison with a laboratory experiment.

Citation: Voropaeva O.F., Gavrilova K.S. Mathematical modelling for the functioning of the p53 signaling pathway following DNA damage. I. The model of activation of the p53–Mdm2–Wip1 system. Computational Technologies. 2021; 26(6):33–53. DOI:10.25743/ICT.2021.26.6.004. (In Russ.)

References

1. **Chumakov P.M.** Versatile functions of p53 protein in multicellular organisms. *Biochemistry (Moscow)*. 2007; 72(13):1399–421.
2. **Almazov V.P., Kochetkov D.V., Chumakov P.M.** Use of p53 for therapy of human cancer. *Molecular Biology*. 2007; 41(6):863–877.
3. **Zheltukhin A.O., Chumakov P.M.** Constitutive and induced functions of the p53 gene. *Biochemistry (Moscow)*. 2010; 75(13):1692–1721.
4. **Lane D., Levine A.** p53 research: The past thirty years and the next thirty years. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 2010; 2(12):10. Article No. a000893.
5. **Lu X.** Tied up in loops: Positive and negative autoregulation of p53. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 2010; 2. Article No. a000984. DOI:10.1101/cshperspect.a000984.
6. **Batchelor E., Mock C.S., Bhan I., Loewer A., Lahav G.** Recurrent initiation: A mechanism for triggering p53 pulses in response to DNA damage. *Molecular Cell*. 2008; 30(3):277–289.
7. **Purvis J.E., Mock C.S., Batchelor E., Loewer A., Lahav G.** p53 dynamics control cell fate. *Science*. 2012; 336(6087):1440–1444.
8. **Stewart-Ornstein J., Cheng H.W., Lahav G.** Conservation and divergence of p53 oscillation dynamics across species. *Cell Systems*. 2017; (5):410–417.
9. **Wang Z.-P., Tian Y., Lin J.** Role of wild-type p53-induced phosphatase 1 in cancer. *Oncology Letters*. 2017; 14(4):3893–3898.
10. **Wu M., Ye H., Tang Z., Shao C., Lu G., Chen B., Yang Y., Wang G., Hao H.** p53 dynamics orchestrates with binding affinity to target genes for cell fate decision. *Cell Death and Disease*. 2017; 8(e3130). DOI:10.1038/cddis.2017.492.
11. **Batchelor E., Loewer A.** Recent progress and open challenges in modelling p53 dynamics in single cells. *Current Opinion in Systems Biology*. 2017; (3):54–59. DOI:10.1016/j.coisb.2017.04.007.
12. **Voropaeva O.F., Senotrusova S.D., Shokin Yu.I.** Deregulation of p53-dependent microRNAs: The results of mathematical modelling. *Mathematical Biology and Bioinformatics*. 2017; 12(1):151–175. (In Russ.)
13. **Voropaeva O.F., Lisachev P.D., Senotrusova S.D., Shokin Yu.I.** Hyperactivation of the p53–microRNA signaling pathway: Mathematical modelling of antitumor therapy options. *Mathematical Biology and Bioinformatics*. 2019; 14(1):355–372. (In Russ.)
14. **Senotrusova S.D., Voropaeva O.F.** Mathematical modelling of a positive connection in the p53–microRNA tumor marker system. *Numerical Analysis and Applications*. 2019; 12(3):270–283. (In Russ.)
15. **Kim E., Kim J.-Y., Lee J.-Y.** Mathematical modelling of p53 pathways. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019; 20(20):5179.
16. **Lev Bar-Or R., Maya R., Segel L.A., Alon U., Levine A.J., Oren M.** Generation of oscillations by the p53–Mdm2 feedback loop: A theoretical and experimental study. *PNAS*. 2000; 97(21):11250–11255.

17. **Tiana G., Jensen M.H., Sneppen K.** Time delay as a key to apoptosis induction in the p53 network. *The European Physical Journal B.* 2002; 29:135–140.
18. **Voropaeva O.F., Shokin Yu.I., Nepomnyashchikh L.M., Senchukova S.R.** Matematicheskoe modelirovanie funktsionirovaniya i regulyatsii biologicheskoy sistemy p53–Mdm2 [A mathematical model for functioning and regulation of the p53–Mdm2 biological system]. Moscow: Izdatel'stvo RAMN; 2014: 176. (In Russ.)
19. **Ciliberto A., Novak B., Tyson J.J.** Steady states and oscillations in the p53–Mdm2 network. *Cell Cycle.* 2005; 4(3):488–493. DOI:10.4161/cc.4.3.1548.
20. **Geva-Zatorsky N., Rosenfeld N., Itzkovitz Sh., Milo R., Sigal A., Dekel F., Yarnitzky T., Liron Yu., Polak P., Lahav G., Alon U.** Oscillations and variability in the p53 system. *Molecular Systems Biology.* 2006; 2(1):2006.0033.
21. **Chickarmane V., Ray A., Sauro H.M., Nadim A.** A model for p53 dynamics triggered by damage. *SIAM J. Applied Dynamical Systems.* 2007; 6(1):61–78.
22. **Hamada H., Tashima Y., Kisaka Y., Iwamoto K., Hanai T., Eguchi Y., Okamoto M.** Sophisticated framework between cell cycle arrest and apoptosis induction based on p53 dynamics. *PLOS ONE.* 2009; 4(3):e4795. 7 p.
23. **Sun T., Chen C., Shen P.** Modelling the role of p53 pulses in DNA damage-induced cell death decision. *BMC Bioinformatics.* 2009; (10):190.
24. **Zhang T., Brazhnik P., Tyson J.** Exploring mechanisms of the DNA-damage response: p53 pulses and their possible relevance to apoptosis. *Cell Cycle.* 2007; (6):85–94.
25. **Jolma I.W., Ni X.Y., Rensing L., Ruoff P.** Harmonic oscillations in homeostatic controllers: Dynamics of the p53 regulatory system. *Biophysical Journal.* 2010; (98):743–752.
26. **Lai X., Wolkenhauer O., Vera Ju.** Modelling miRNA regulation in cancer signaling systems: miR-34a regulation of the p53/Sirt1 signaling module. *Computational Modeling of Signaling Networks. Methods in Molecular Biology.* 2012; (880):87–108.
27. **Sun T., Cui J.** A plausible model for bimodal p53 switch in DNA damage response. *FEBS Letters.* 2014; (588):815–821.
28. **Moore R., Ooi H.K., Kang T., Bleris L., Ma L.** MiR-192-mediated positive feedback loop controls the robustness of stress-induced p53 oscillations in breast cancer cells. *PLoS Computational Biology.* 2015; 11(12):e1004653.
29. **Jonak K., Kurpas M., Szoltysek K., Janus P., Abramowicz A., Puszynski K.** A novel mathematical model of ATM/p53/NF-B pathways points to the importance of the DDR switch-off mechanisms. *BMC Systems Biology.* 2016; 10(75):12.
30. **Senotrusova S.D., Voropaeva O.F., Shokin Yu.I.** Application of minimal mathematical models for the dynamics of the signaling pathway of the p53–miRNA to the analysis of laboratory data. *Computational Technologies.* 2020; 25(6):4–49. DOI:10.25743/ICT.2020.25.6.002.
31. **Voropaeva O.F., Gavrilova K.S., Senotrusova S.D.** Minimal mathematical models for the functioning of the protein the p53–Mdm2–Wip1–p21 network. *Aktual'nye Problemy Prikladnoy Matematiki, Informatiki i Mekhaniki: Sbornik Trudov Mezhdunarodnoy Nauchno-Tekhnicheskoy Konferentsii [Actual Problems of Applied Mathematics, Computer Science and Mechanics: Proceedings of the International Scientific and Technical Conference].* Voronezh, 3–5 dekabrya 2018 g. Voronezh: Izdatel'stvo "Nauchno-issledovatel'skie publikatsii"; 2019: 672–679. (In Russ.)
32. **Voropaeva O.F., Gavrilova K.S., Senotrusova S.D.** Mathematical modelling of the dynamics of a network of biomarkers for degenerative diseases. *Raspredelelynye Informatsionno-Vychislitel'nye Resursy. Tsifrovye Dvoyniki i Bol'shie Dannye (DICR-2019): Trudy XVII Mezhdunarodnoy Konferentsii [Distributed Information and Computing Resources. Digital Twins and Big Data (DICR-2019): Proceedings of the XVII International Conference],* Novosibirsk, 03.12–06.12.2019. Novosibirsk: IVT SO RAN; 2019: 185–190. (In Russ.)
33. **Myshkis A.D.** General theory of differential equations with retarded arguments. *Uspekhi Matematicheskikh Nauk.* 1949; 4(5(33)):99–141. (In Russ.)
34. **Belykh L.N.** Analiz matematicheskikh modeley v immunologii [Analysis of mathematical models in immunology]. Moscow: Nauka. Gl. red. fiz.-mat. lit.; 1988: 192. (In Russ.)
35. **Oran E.S., Boris J.P.** Numerical simulation of reactive flow. N.Y.: Elsevier Science Publishing Co.; 1987: 529.