

УДК 577.31+577.171.53

## ФИЗИЧЕСКИЙ ПОДХОД К МОДЕЛИРОВАНИЮ КОЛЕБАНИЙ КОНЦЕНТРАЦИЙ КЛЕТОК КРОВИ ЗДОРОВОГО И БОЛЬНОГО ЛЕЙКОЗОМ ОРГАНИЗМА В УСЛОВИЯХ IN VIVO

А. А. Березин, В. А. Щеглов

*Предложена физическая модель острого лейкоза in vivo, описывающая динамику лейкозного процесса как значительное увеличение энергии цикла дифференцировки тех видов клеток крови (бластов), энергия цикла которых в норме составляет доли процента от энергии цикла лимфоцитов и сегментоядерных нейтрофилов. Модель записана в рамках связанных уравнений Ван дер Поля с запаздыванием. Получено хорошее соответствие решений модели экспериментальным клиническим данным.*

В предыдущей статье [1] нами была предложена физическая модель колебаний в условиях in vitro концентраций сегментоядерных нейтрофилов и лимфоцитов в крови здорового донора. Было показано, что эти колебания описываются связанными уравнениями Ван дер Поля с запаздыванием:

$$\frac{d^2x}{dt^2} + \epsilon_1 \left( y^2 + \frac{d(y^2)}{dt} T_x - 1 \right) \frac{dx}{dt} + \omega^2 = a_1 F_1(t), \quad (1)$$

$$\frac{d^2y}{dt^2} + \epsilon_2 \left( x^2 + \frac{d(x^2)}{dt} T_y - 1 \right) \frac{dy}{dt} + 4\omega^2 = a_2 F_2(t),$$

где  $x, y$  – производные концентраций сегментоядерных нейтрофилов и лимфоцитов соответственно в крови in vitro,  $T_x$  и  $T_y$  – времена запаздывания изменения концентраций относительно воздействия, которые определяются временем взаимной дифференцировки клеток,  $\epsilon_1, \epsilon_2 < 1$  отражают коэффициенты нелинейности, определяемые механизмом

синтеза белков сегментоядерными нейтрофилами и лимфоцитами,  $\omega$  – частота колебаний производных концентраций нейтрофилов и лимфоцитов,  $F_1(t), F_2(t)$  – случайные функции, отражающие влияние хаотических тепловых флуктуаций в электролите плазмы крови на производные концентраций  $x$  и  $y$ . Система (1) была исследована на компьютере и было показано соответствие ее решений результатам эксперимента.

Кроме того, в [1] было показано, что в крови *in vitro* больных острым лейкозом наряду с нормальными клетками присутствуют опухолевые (лейкозные) клетки. На рис. 1 приведен график колебаний концентраций лимфоцитов и лейкозных клеток в крови больного острым лимфобластным лейкозом в условиях *in vitro*. Аналогичный характер имеют графики колебаний  $y$  больных острым миелобластным лейкозом, однако в этом случае наблюдаются противофазные колебания между концентрациями сегментоядерных нейтрофилов и миелобластами (опухолевыми клетками). Эти экспериментальные результаты позволяют предложить физико-математическую модель острого лейкоза как лимфобластного, так и миелобластного. В дополнение к математически описанной системой (1) колебательным процессам, имеющим место в крови здоровых людей, в модель включаются колебания концентрации лейкозных (опухолевых) клеток. При этом, наряду с описанной взаимной дифференцировкой сегментоядерных нейтрофилов и лимфоцитов, описываемой математически с помощью системы (1), в крови *in vitro* будет наблюдаться взаимная дифференцировка между лимфоцитами и лимфобластами [2], которая математически записывается следующим образом:

$$\frac{dC_{LJ}}{dz} = C_{LB}, \quad \frac{dC_{LB}}{dy} = C_{LJ}, \quad (2)$$

где  $C_{LJ}$  и  $C_{LB}$  – абсолютная концентрация лимфоцитов и лимфобластов соответственно;  $z$  – производная концентрации в крови белка, синтезируемого лимфобластами. В этом случае, наряду с системой (2), будет присутствовать уравнение, описывающее динамику скорости изменения концентрации белков, синтезируемых лимфобластами:

$$\frac{d^2 z}{dt^2} + \epsilon_3 \left( y^2 + \frac{d(y^2)}{dt} T_z - 1 \right) \frac{dz}{dt} + 4\omega_0^2 = a_3 F_3(t), \quad (3)$$

где  $z$  – производная концентрации в крови белков, синтезируемых лимфобластами,  $T_z$  – время процесса дифференцировки лимфоцитов в лимфобласты,  $F_3(t)$  – случайная функция, отражающая влияние тепловых флуктуаций электролита плазмы крови на скорость диффузии белков внутрь лимфобластов и лимфоцитов.  $\omega_0$  отражает частоту собственных колебаний клеток *in vitro*, которая соответствует периоду колебаний

$2\pi/\omega_0 = 2$  часа 40 минут.

Уравнение, описывающее скорость изменения концентрации белков, синтезируемых лимфоцитами, с учетом (2), будет выглядеть следующим образом:

$$\frac{d^2y}{dt^2} + \epsilon_2 \left( x^2 + \frac{d(y^2)}{dt} T_y + k_1 z^2 + \frac{d(z^2)}{dt} T_z - 1 \right) \frac{dy}{dt} + 4\omega_0^2 = a_2 F_2(t). \quad (4)$$

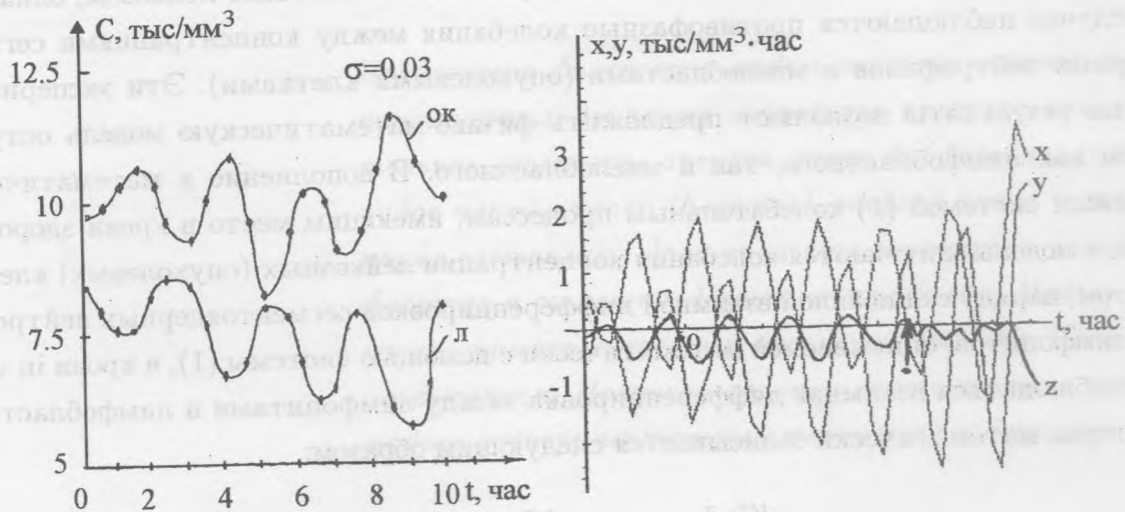


Рис. 1. Часовые колебания концентраций лимфоцитов (Л) и лейкозных клеток (ОК) в крови больного острым лимфообластным лейкозом в условиях *in vitro*.

Рис. 2. Результат математического моделирования часовых колебаний производных концентраций нейтрофилов ( $x$ ), лимфоцитов ( $y$ ) и лейкозных клеток ( $z$ ) в условиях *in vitro*.

На рис. 2 изображены графики компьютерных решений связанных уравнений (1, 3, 4). При подстановке значений  $x, y, z$  в уравнения для абсолютных концентраций получены кривые, соответствующие экспериментальным данным.

При уменьшении времени запаздывания  $T_z$  в три раза в решениях модели наблюдается уменьшение абсолютной концентрации нейтрофилов при увеличении абсолютной концентрации лимфоцитов. Это позволяет сделать заключение о том, что лейкоэмический процесс представляет собой явление увеличения энергии цикла дифференцировки

лейкемических клеток. Опухолевые клетки имеют свой собственный цикл дифференцировки, параметры которого отличаются от параметров дифференцировки здоровых клеток. Это различие в некоторых случаях приводит к автопараметрическому раскачиванию амплитуды колебаний концентрации опухолевых клеток и опухолевой дифференцировке клеток в буферных органах: костном мозге, селезенке, лимфоузлах. Другими словами, возникновение и развитие лейкемического процесса представляет собой явление развития автоколебаний с временными параметрами, отличными от параметров автоколебательного процесса дифференцировки здоровых клеток крови и, как следствие, отбор энергии в сторону опухолевого цикла.

В экспериментальном отношении представляет интерес влияние различных параметров в плазме крови в условиях *in vitro* на характер колебаний. Поскольку кровь в этих условиях представляет собой открытую термодинамическую систему, ожидалось, что незначительное изменение начальных условий среды приведет к значительным изменениям характера колебаний. В эксперименте при инкубации крови *in vitro* было обнаружено, что добавление в среду таких традиционных цитостатиков как винкристин в дозах на два порядка меньше лечебных (0.01 мг) приводит к быстрой гибели всех клеток в исследуемом объеме. Кроме того, изменение  $pH$  плазмы крови от 7.2 до 6.8, также приводит к резкому изменению характера колебаний исследуемых концентраций. Последнее также подтверждает выводы работы М. В. Фока о роли  $pH$  в процессе дифференцировки клеток [3].

Наблюдаемая в эксперименте синхронность колебаний абсолютных концентраций сегментоядерных нейтрофилов и лимфоцитов во всем объеме исследуемой крови *in vitro* представляет собой явление, аналогичное возникновению ячеек Бенара, синхронным сокращениям сердечной мышцы, реакцией Белоусова-Жаботинского и др. Вместе с тем, механизм синхронизации концентрационных колебаний клеток крови в крови *in vitro* требует наличия гипотезы о существовании среды, обладающей свойствами распределенной динамической системы. В роли такой среды может выступать сильный электролит плазмы крови, рассматриваемый с позиции плотной физической плазмы.

Разработанная математическая модель колебаний концентраций сегментоядерных нейтрофилов, лимфоцитов и опухолевых клеток в крови *in vitro* была положена в основу создания модели для описания колебаний указанных концентраций в условиях *in vivo*.

*Математическая модель суточных и месячных колебаний концентраций сегментоядерных нейтрофилов, лимфоцитов и лейкемических клеток в условиях in vivo. Полученные экспериментальные данные и результаты математического моделирования*

колебаний сегментоядерных нейтрофилов, лимфоцитов и лейкоцитарных клеток *in vitro* позволили разработать математическую модель для описания суточных и месячных колебаний концентраций этих клеток в условиях *in vivo*. Основная система уравнений модели записывается следующим образом:

$$\begin{aligned} \frac{d^2 C_N}{dt^2} + \mu_N(N-1) \frac{dC_N}{dt} + \omega^2 C_N - P \frac{d^2 C_L}{dt^2} &= \\ = S_0 + S_1 \sin \omega_1 t + S_2 \sin 2\omega_1 t + S_3 \sin \Omega t + S_4 \sin 2\Omega t, \\ \frac{d^2 C_L}{dt^2} + \mu_L(L-1) \frac{dC_L}{dt} + 4\omega_1^2 C_L - R \frac{d^2 C_N}{dt^2} &= \\ = E_0 + E_1 \sin \omega_1 t + E_2 \sin 2\omega_1 t + E_3 \sin \Omega t + E_4 \sin 2\Omega t, \end{aligned} \quad (5)$$

где  $N$  – концентрация сегментоядерных нейтрофилов в костном мозге и  $L$  – концентрация лимфоцитов в лимфатических узлах, нормированные на среднестатистические концентрации в данной возрастной группе.  $C_N$  и  $C_L$  – отклонение от среднего концентраций сегментоядерных нейтрофилов и лимфоцитов соответственно в единице объема периферической крови. Справа в уравнениях записывается внешнее воздействие суточных и месячных вариаций солнечной активности и магнитного поля Земли.  $S_0 - S_4$  и  $E_0 - E_4$  – начальные амплитуды этих воздействий.  $T_0 = 2\pi/\omega_0 = 24$  часа,  $T_\Omega = 2\pi/\Omega = 28$  суток.  $\mu_N = 0.1$ ,  $\mu_L = 0.1$  – коэффициенты связи.

$$C_L^2 = L - \frac{dL}{dt} T_L, \quad C_N^2 = N - \frac{dN}{dt} T_N. \quad (6)$$

Эта пара уравнений отражает запаздывающее воздействие демпферов амплитуд колебаний концентраций нейтрофилов и лимфоцитов за счет демпфирующего воздействия костного мозга для  $C_N$  и селезенки и лимфоузлов для  $C_L$ . При этом время запаздывания  $T_N$ :

$$T_N = \frac{m_N c_N 100\%}{p_N S_N K_N}, \quad (7)$$

где  $m_N$  – объем костного мозга,  $c_N$  – удельная скорость поглощения нейтрофилов костным мозгом из периферической крови,  $S_N$  – площадь поверхности костного мозга,  $p_N$  – процентное содержание нейтрофилов в костном мозге,  $K_N$  – удельная скорость выхода нейтрофилов в периферическую кровь из костного мозга, пропорциональная скорости дифференцировки миелобластов костного мозга до стадии нейтрофилов,

$$T_L = \frac{m_L c_L 100\%}{p_L S_L K_L}, \quad (8)$$

где  $m_L$  – объем селезенки и лимфоузлов,  $c_L$  – удельная скорость поглощения лимфоцитов селезенкой и лимфоузлами из периферической крови,  $p_L$  – процентное содержание лимфоцитов в селезенке и лимфоузлах,  $S_L$  – площадь поверхности селезенки и лимфоузлов,  $K_L$  – удельная скорость выхода лимфоцитов в периферическую кровь, пропорциональная скорости дифференцировки лимфобластов селезенки и лимфоузлов до стадии лимфоцитов.

$$C_N = P + \frac{dP}{dt}T_l, \quad C_L = R + \frac{dR}{dt}T_n. \quad (9)$$

Здесь  $P$  – концентрация миелобластов в селезенке и лимфоузлах, а  $R$  – концентрация лимфоцитов в костном мозге, пара уравнений (9) описывает взаимную синхронизацию колебаний концентраций  $C_N$  и  $C_L$  за счет дифференцировки нейтрофилов из миелобластов в селезенке и лимфоузлах и дифференцировки лимфоцитов из лимфобластов в костном мозге. При этом

$$T_l = \frac{m_N c_b 100\%}{p_b S_N K_b}, \quad (10)$$

где  $c_b$  – удельная скорость поглощения лимфоцитов костным мозгом из периферической крови,  $p_b$  – процентное содержание лимфоцитов в костном мозге,  $K_b$  – удельная скорость выхода лимфоцитов в периферическую кровь из костного мозга, пропорциональная скорости дифференцировки лимфобластов костного мозга до стадии лимфоцитов. Время запаздывания, равное времени протекания этой дифференцировки,  $T_n$  равно:

$$T_n = \frac{m_L c_s 100\%}{p_s S_L K_s}, \quad (11)$$

где  $c_s$  – удельная скорость поглощения нейтрофилов селезенкой и лимфоузлами из периферической крови,  $p_s$  – процентное содержание нейтрофилов в селезенке и лимфоузлах,  $K_s$  – удельная скорость выхода нейтрофилов в периферическую кровь, пропорциональная скорости дифференцировки миелобластов селезенки и лимфоузлов до стадии нейтрофилов.

Как показали исследования систем, описываемых уравнениями Ван дер Поля с запаздыванием [4], в зависимости от времени запаздывания  $T_N, T_L, T_x, T_y$  они имеют различные режимы колебаний. Так, при  $T_x = T_0/2, T_y = T_0/4, T_N = T_0/2, T_L = T_0/4$  наблюдаются устойчивые синхронные колебания с периодом  $T_0$ . Увеличение  $T_x$  до значения  $T_0$  и  $T_y$  до значения  $T_0/2$  приводит к тому, что синфазный режим колебаний  $C_N$  и  $C_L$  скачком переходит в противофазный. Синфазный режим суточных колебаний

концентраций сегментоядерных нейтрофилов и лимфоцитов, как показано на рис. 1, 2 работы [1], наблюдается у здоровых людей и животных (мыши), а противофазный – у больных инфекционными и воспалительными заболеваниями (рис. 4 работы [1]).

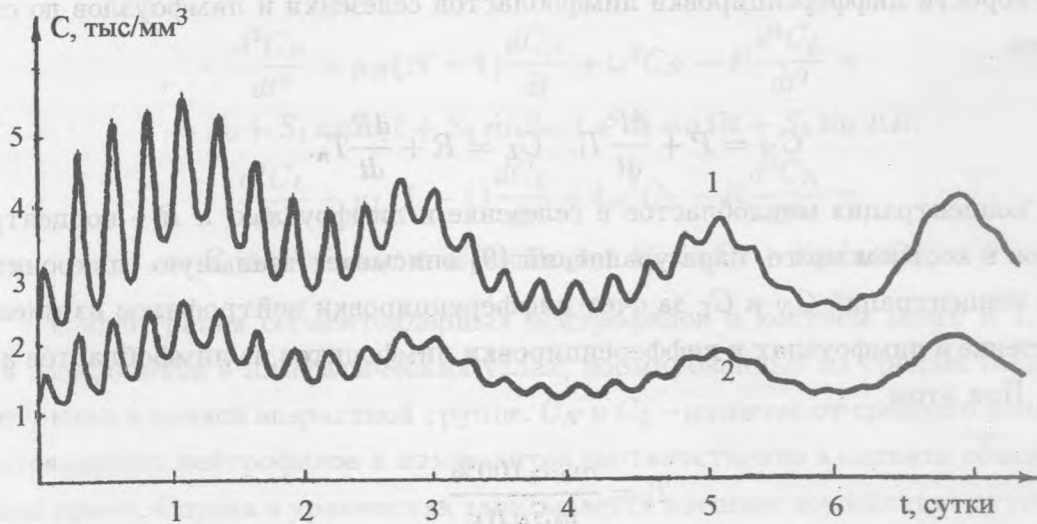


Рис. 3. Компьютерное моделирование суточных и часовых колебаний концентраций нейтрофилов (1) и лимфоцитов (2) в крови здоровых доноров.

Компьютерное исследование совместного решения систем (5, 6, 9) и системы (4) работы [1] показало как качественное, так и количественное соответствие решений математической модели для случаев здоровых доноров (рис. 3) инфекционных заболеваний (рис. 4), и развития острого лейкоза (рис. 5). Кроме того, исследование решений модели при внешнем импульсном воздействии на систему, что моделирует, например, проведение вакцинаций, воздействие на кровь различных химических агентов и другие стрессорные воздействия на систему крови, показало, что если воздействие на кровь происходит по времени в точке перегиба функции изменения концентрации цикла дифференцировки по пути лимфоцит – лимфобласт, то возникает высокая вероятность развития лейкозного процесса (автопараметрического раскачивания этого в норме очень малого цикла и преимущественного передифференцирования клеток буферных органов в лимфобласты), что иногда наблюдается после проведения вакцинаций или отравлений химическими веществами. В целях моделирования подобных воздействий, было осуществлено импульсное влияние на модель (показано стрелкой на графике рис. 2) в периоде развития регулярных противофазных колебаний в решениях модели. Как видно из полученных графиков (рис. 2), характер колебаний после импульсного воздействия резко

меняется. В частности, наблюдается нарушение фазовой и амплитудной стабильности колебаний. Помимо этого, как экспериментальная система, так и ее математическая модель обладают "памятью" к внешним воздействиям, что также является типичным свойством открытых термодинамических систем.

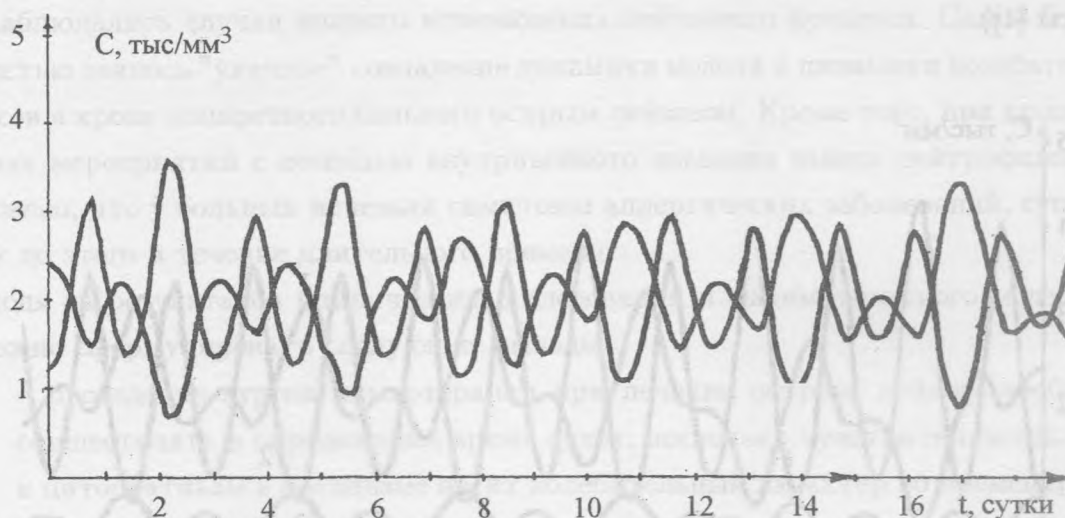


Рис. 4. Компьютерное моделирование суточных колебаний концентраций нейтрофилов (1) и лимфоцитов (2) в крови больного инфекционным заболеванием.

Эти исследования модели также показали, что одним из простых эффективных методов воздействия на лейкозный процесс в направлении передифференцировки лейкозных клеток в лимфоциты является введение в кровь дополнительных буферов, например, донорских сегментоядерных нейтрофилов, что приводит к быстрому уменьшению амплитуды колебаний лейкозного цикла дифференцировки. Этот метод был исследован клинически и показал свою высокую эффективность.

Рассмотрим причины, лежащие в основе изменения параметров циклов дифференцировки клеток крови. Следует полагать, что времена запаздывания  $T_N, T_L, T_x, T_y$  детерминированы генетически и различные изменения в молекуле ДНК приводят к их изменению и, как следствие, к нарушению амплитуд и фаз суточных колебаний концентраций этих типов лейкоцитов. Фактически причины изменения параметров циклов дифференцировки лежат на микроуровне — в изменениях параметров колебательной динамики молекулы ДНК, что имеет место, например, при внедрении вирусов, изменяющих структуру этой молекулы. Кроме того, в силу ряда генетических отличий,



например, у инбридинговых мышей линий АКР, периоды запаздывания дифференцировки изменены на уровне характерных отличий в молекуле ДНК мышей этой линии по сравнению, например, со среднестатистической молекулой ДНК у беспородных мышей, что и является причиной врожденных изменений суточных колебаний концентраций сегментоядерных нейтрофилов и лимфоцитов, которые наблюдались в эксперименте (рис. 3 работы [1]).

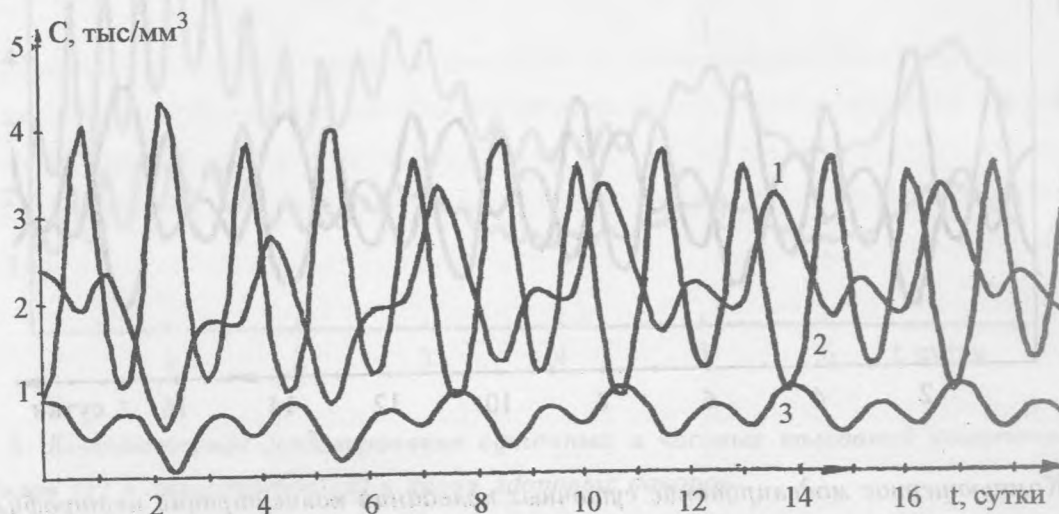


Рис. 5. Компьютерное моделирование суточных колебаний концентраций нейтрофилов (1), лимфоцитов (2) и лимфобластов (3) в крови больного острым лимфобластным лейкозом.

В целом, на основе математического моделирования системы кроветворения как *in vitro*, так и *in vivo*, и сравнения результатов моделирования с экспериментальными данными был сделан вывод о том, что система крови представляет собой открытую термодинамическую систему, в которой существует ряд аттракторных циклов дифференцировки, параметры которых детерминированы генетически. В силу различных генетических нарушений или врожденных отличий в структуре молекулы ДНК эти циклы могут изменять свои параметры как спонтанно, так и под влиянием внешних факторов. Наличие двух малых лимфобластных и миелобластных циклов в такой распределенной колебательной системе как кровь всегда наблюдается у здоровых людей и автопараметрическое раскачивание одного из этих циклов и развитие лимфобластного или миелобластного лейкозов в силу возможных перечисленных причин представляет собой один из типичных физических сценариев перекачки энергии между циклами.

После численного исследования модели были проведены клинические исследования,

направленные на перестройку энергии циклов клеток с помощью взвеси сегментоядерных нейтрофилов, а также традиционных цитостатиков. Предварительный сценарий лечения отрабатывался на компьютерной модели, с помощью которой определялось наиболее оптимальное время воздействия на систему крови. Несмотря на очевидную трудность этой методики, связанной с необходимостью забора до 8 анализов крови в день, наблюдались случаи полного исчезновения лейкозного процесса. Самой большой трудностью явилось "удачное" совпадение динамики модели и динамики колебательных процессов в крови конкретного больного острым лейкозом. Кроме того, при проведении лечебных мероприятий с помощью внутривенного введения взвеси нейтрофилов было обнаружено, что у больных исчезали симптомы аллергических заболеваний, существовавших до этого в течение длительного времени.

Исходя из результатов клинических исследований и математического моделирования, можно сформулировать следующие выводы:

- проведение курсов химиотерапии при лечении острого лейкоза необходимо осуществлять в определенное время суток, поскольку чувствительность клеток к цитостатикам в организме носит колебательный характер во времени, аналогичный колебаниям концентрации клеток крови. В частности, при непрерывном капельном введении химиопрепаратов в течение суток их концентрация обычно должна достигать своего минимального значения в период 6–8 часов утра, а максимального – в 18–20 часов. При этом максимальное и минимальное значения концентрации препарата должны различаться не менее чем на порядок. При разовых введениях препаратов рекомендации аналогичны.
- традиционные вакцинации у детей рекомендуется осуществлять в период с 14 до 18 часов дня и не менее чем за месяц до или после дня рождения ребенка,
- избегать контактов с сильнодействующими химическими веществами в период с 2 часов ночи до 12 часов дня,
- подобно изложенной модели могут быть описаны и другие патологические процессы, такие как аутоиммунные заболевания (бронхиальная астма), развитие некоторых видов опухолей, а также динамика ряда вирусных заболеваний.

Светлой памяти Леночки Березиной, умершей от лейкоза в 20 лет.

#### Л И Т Е Р А Т У Р А

- [1] Березин А. А., Щеглов В. А. Краткие сообщения по физике ФИАН, N 4, 3 (2002).

- [2] Б е р е з и н А. А. и др. Труды первой Украинской конференции гематологов и трансфузиологов. Киев, 1980, с. 92.
- [3] Ф о к М. В. Краткие сообщения по физике ФИАН, N 4, 30 (1999).
- [4] Р у б а н и к В. П. Колебания квазилинейных систем с запаздыванием. М., Наука, 1969, с. 288.

Поступила в редакцию 25 сентября 2002 г.