

На правах рукописи

Никитюк Александр Сергеевич

**МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ НЕЛИНЕЙНОЙ КИНЕТИКИ  
МОЛЕКУЛЫ ДНК И ЕЕ ПРИМЕНЕНИЕ ДЛЯ АНАЛИЗА  
КЛЕТОЧНОЙ ДИНАМИКИ**

05.13.18 – Математическое моделирование,  
численные методы и комплексы программ

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата физико-математических наук

Пермь – 2020

Работа выполнена в «Институте механики сплошных сред Уральского отделения Российской академии наук» – филиале Федерального государственного бюджетного учреждения науки Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук.

**Научный руководитель:** **Наймарк Олег Борисович,**  
доктор физико-математических наук, профессор

**Официальные оппоненты:** **Русаков Сергей Владимирович,**  
доктор физико-математических наук,  
профессор, заведующий кафедрой «Прикладной математики и информатики» Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь

**Рывкин Александр Михайлович,**  
кандидат физико-математических наук,  
научный сотрудник лаборатории математической физиологии имени В.С. Мархасина Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург

**Ведущая организация:** Федеральное государственное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт прикладной математики им. М.В. Келдыша Российской академии наук», г. Пущино

Защита диссертации состоится «22» сентября 2020 года в 16:00 на заседании диссертационного совета Пермского национального исследовательского политехнического университета Д ПНИПУ.01.09, по адресу: 614990, г. Пермь, Комсомольский проспект, 29, ауд. 423б.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке и на сайте ФГБОУ ВО «Пермский национальный исследовательский политехнический университет» (<http://pstu.ru>).

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2020 года

Ученый секретарь

диссертационного совета Д ПНИПУ.01.09,

кандидат физико-математических наук, доцент

А.И. Швейкин

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### **Актуальность темы исследования и степень ее разработанности.**

В настоящее время обращается особое внимание на то, что формирование и наследование определенных признаков (фенотипа) клетки можно рассматривать как влияние некоторого «аттрактора», характеризующего динамическое состояние системы на молекулярном уровне. Концепция аттрактора предполагает, что система эволюционирует к предпочтительному (минимальному по энергии) состоянию, являющемуся компактным подмножеством фазового пространства динамической системы. Наличие аттракторов системы, соответствующих определенным фенотипам клетки, означает, что существует некое «энергетическое поле», описывающее процесс реализации генома в тот или иной фенотип и представляющее собой множество метастабильных «притягивающих» состояний системы.

В 1942 году К. Уоддингтон предложил образное представление данного энергетического поля, названное им эпигенетическим ландшафтом. Эпигенетический ландшафт определяет воздействие генов на развитие фенотипа клетки и может быть интерпретирован как профиль энергии молекулы ДНК, определяющий феногенез клетки.

Одной из первых работ, в которой было предложено теоретическое описание изменения энергии ДНК, является исследование А.В. Инглэндера с соавторами, посвященное исследованию природы открытых состояний в длинных полинуклеотидных двойных спиральных. В работе был предложен нелинейный гамильтониан и впервые получено решение в виде автосолитона, имитирующее локальное расплетание двойной спирали. Дальнейшее развитие исследований в данном направлении получило в работах С. Ямосу, С. Такено и С. Хомма, Дж.А. Крумхансла с соавторами, В.К. Федянина с соавторами, Л.В. Якушевич, Ч.-Т. Жанга, Е.В. Проховского, В. Муто с соавторами, Л.Л. Ван Зандта, М. Пейрара, Т. Даоксиса, Г. Гаету, М. Салерно, А.А. Боголюбского и И.Л. Боголюбской, В. Хаи, Дж.А. Гонзализа и М. Мартина-Ландрова. Отличительной чертой результатов, полученных этой группой авторов, является учет структурно-динамических параметров применительно к изучению функциональных свойств молекулы ДНК.

В работах М. Пейрара отмечается, что исследования статической структуры и динамических свойств молекулы ДНК без учета температурных эффектов недостаточны для понимания процессов инициации и поддержания феногенеза клетки. Это связано с тем, что термические флуктуации играют важную роль при устойчивых и наследуемых изменениях экспрессии генов. Поэтому для описания изменения энергии молекулы ДНК целесообразным представляется использование концепции свободной энергии системы, а для изучения процессов формирования и развития фенотипа клетки – применение этой концепции в рамках статистической механики. Статистико-термодинамический подход к описанию ДНК применялся многими

исследователями, среди них: Дж.Ф. Марко, Е.Д. Сиггиа, М. Пейрар, А.Р. Бишоп, Т. Даоксис и др.

В настоящее время отмечается роль «мезоскопических» переменных в термодинамике структурных превращений и динамике ДНК. Эти переменные ассоциируются с так называемыми открытыми комплексами, парами нуклеотидов, в которых происходит растяжение или разрыв водородных связей между комплементарными азотистыми основаниями. В работе профессора О.Б. Наймарка, посвященной структурно-скейлиговым переходам и локализованным модам дисторсии в двойной спирали ДНК, показано, что эффекты коллективного поведения открытых комплексов, образующихся и взаимодействующих в структуре цепи ДНК, играют значительную роль в функциональных процессах данной макромолекулы таких как транскрипция, репликация, репарация, денатурация и пр. В связи с этим актуальным представляется учет коллективного поведения ансамбля открытых комплексов при разработке математических моделей молекулы ДНК, основанных на подходах статистической термодинамики.

Экспериментальные исследования процесса формирования и наследования определенного фенотипа клетки, необходимые для идентификации и верификации новых математических моделей ДНК, указывают на перспективность использования неинвазивных методов исследования прижизненной динамики и морфологии клеток, и, в частности, лазерной интерференционной микроскопии, позволяющей изучать, в том числе, поведение органелл в условиях сверхвысокого пространственного разрешения. Применение данных методов в биофизике позволило исследовать пространственно-временные флуктуации в ядрышке клетки (органелле, которая полностью состоит из ДНК) и получить ряд принципиально новых научных результатов, отраженных в работах В.Л. Кононенко, Я.К. Шимкуса, В.П. Тычинского, А.В. Лопарева, А.В. Кретушева, П.С. Игнатъева. Однако до сих пор остается открытым вопрос интерпретации экспериментальных данных о клетке на основе сопоставления результатов измерений с модельными представлениями о внутриклеточных процессах, происходящих в том числе в ДНК.

Таким образом, на основе вышеприведенной информации можно заключить, что создание математических моделей на базе статистико-термодинамического подхода, предназначенных для описания нелинейной кинетики молекулы ДНК, а также применение данных моделей для интерпретации данных лазерной интерференционной микроскопии клеток является актуальной задачей математического моделирования биологических систем. Одним из важных направлений является создание модели, учитывающей коллективное поведение ансамбля открытых комплексов молекулы ДНК для объяснения закономерностей феногенеза.

**Цель работы** – разработка математической модели молекулы ДНК, позволяющей описать ее термодинамические и кинетические свойства с учетом коллективного поведения ансамбля открытых комплексов, и

применение результатов моделирования для интерпретации данных лазерной интерференционной микроскопии нормальных и раковых клеток.

Для достижения поставленной цели необходимо решить следующие **основные задачи:**

1. Разработать статистическую математическую модель молекулы ДНК, позволяющую описать ее термодинамические и кинетические свойства с учетом коллективного поведения ансамбля открытых комплексов.

2. Разработать и реализовать алгоритмы на основе эффективных численных методов в виде комплексов проблемно-ориентированных программ для проведения моделирования нелинейной кинетики молекулы ДНК.

3. Провести натурные эксперименты по измерению морфометрических показателей и прижизненной динамики клеток методом лазерной интерференционной микроскопии с последующей обработкой полученных данных методами Фурье-анализа, вейвлет анализа, мультифрактального анализа и построения фазовых портретов.

4. Выявить объективные критерии дифференциации раковых и нормальных клеток на основе анализа результатов натурального эксперимента.

5. Применить математическую модель нелинейной кинетики ДНК для интерпретации данных натурального эксперимента.

**Научная новизна** диссертационной работы заключается в следующем:

1. Разработана новая статистико-термодинамическая модель молекулы ДНК, описывающая связь коллективного поведения ансамбля открытых комплексов с процессами формирования и развития фенотипа клетки.

2. Разработаны эффективные алгоритмы реализации модели и качественного анализа теоретических и экспериментальных результатов с использованием современных методов обработки сигналов, таких как Фурье-анализ, вейвлет анализ, мультифрактальный анализ и метод построения фазовых портретов. Создан комплекс проблемно-ориентированных программ для ЭВМ, реализующих данные алгоритмы.

3. Впервые предложен объективный диагностический критерий дифференциации раковых и нормальных эпителиальных клеток молочной железы человека на основе оценки высоты и объема фазового изображения клетки, измеренных с помощью лазерной интерференционной микроскопии.

4. Впервые установлено, что флуктуации оптической толщины ядрышка эпителиальных клеток в норме характеризуются мультифрактальными свойствами, тогда как динамика ядрышка раковых клеток демонстрирует переход от мультифрактальности к монофрактальности.

5. Впервые предложена теоретическая интерпретация данных лазерной интерференционной микроскопии живых раковых клеток, базирующаяся на закономерностях «критичности» системы для различных диапазонов значений параметров, определяющих энергетический рельеф (эпигенетический ландшафт) биологической системы.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Теоретическая значимость обусловлена разработкой математической модели ДНК, отражающей связь коллективного поведения ансамбля открытых комплексов с процессами феногенеза клетки, в частности – процессом превращения нормальной эпителиальной клетки в раковую. Практическая значимость заключается в возможности использования разработанной модели и комплекса программ для анализа патологических процессов в клетках различной природы. Практическую значимость представляют установленные критерии выявления патологически измененных клеток, которые могут оказаться востребованными при разработке новых клинических методик дифференциации раковых и нормальных клеток. Получены свидетельства о государственной регистрации программ для ЭВМ «MathTransform» № 2015661814 от 09.11.2015, «Программный модуль для анализа флуктуаций оптической толщины раковых и нормальных клеток» № 2019663089 от 10.10.2019 и «Программный модуль для анализа фазовых изображений раковых и нормальных клеток» № 2019663291 от 15.10.2019.

**Методология и методы исследования.** Методологической основой диссертационной работы являются разработки отечественных и зарубежных ученых в области статистической механики и термодинамики биологических молекул, а также математической обработки сигналов биологической природы. Информационную базу составляют материалы, содержащиеся в научных монографиях, справочной литературе, материалах научно-технических конференций, статьях в периодических изданиях и научных сборниках по исследуемой проблеме.

Методы исследования основаны на использовании алгоритмов математической обработки одномерных временных сигналов и аппарата статистической термодинамики, позволяющей определять поведение физической системы (молекулы ДНК) на основе ее микро- (мезо) структурных свойств. Разработаны алгоритмы реализации модели с применением численных методов интегрирования дифференциальных уравнений в частных производных в пакете прикладных программ MathWorks Matlab. Реализованы одномерные методы Фурье-преобразования, вейвлет преобразования, мультифрактального анализа и метода построения фазовых портретов флуктуаций оптической толщины ядрышка клетки в пакете прикладных программ MathWorks Matlab.

**Положения, выносимые на защиту:**

1. Математическая модель молекулы ДНК, позволяющая описать ее термодинамические и кинетические свойства с учетом коллективного поведения ансамбля открытых комплексов.

2. Алгоритмы численной реализации разработанной модели, основанные на численных методах решения дифференциальных уравнений в частных производных, и созданный на их основе программный комплекс в пакете прикладных программ MathWorks Matlab, предназначенный для проведения вычислительного эксперимента.

3. Оригинальные критерии классификации раковых и нормальных клеток на основе анализа данных лазерной интерференционной микроскопии.

4. Результаты сравнительного анализа данных натурального эксперимента и результатов математического моделирования нелинейной кинетики молекулы ДНК.

**Степень достоверности и апробация результатов.** Достоверность результатов численного моделирования подтверждается удовлетворительным соответствием экспериментальным данным, результатами проверки устойчивости и сходимости, согласованностью с результатами других авторов.

Результаты диссертационной работы были представлены на следующих международных и российских конференциях: XXII, XXIV и XXV Всероссийских школах-конференциях молодых ученых и студентов «Математическое моделирование в естественных науках» (2013, 2015, 2016, Пермь), Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых «Современные проблемы математики и ее прикладные аспекты –2013» (2013, Пермь), International Workshop «Failure of Heterogeneous Materials under Intensive Loading: Experiment and Multi-scale Modeling» (2014, Пермь), XI Всероссийской конференции «Биомеханика-2014» (2014, Пермь), Международных конференциях «Перспективные материалы с иерархической структурой для новых технологий и надежных конструкций (2015, 2018 Томск), Международной конференции молодых ученых «Экспериментальная и теоретическая биофизика '15» (2015, Пущино), International workshop «Multiscale experimental and theoretical study of homeostasis and mechanobiology of tumors: results and prospective» (2015, Пермь), Международных конференциях «Физика рака: трансдисциплинарные проблемы и клинические применения» (2016, 2017, Томск), XII Всероссийской конференции «Биомеханика-2016» (2016, Пермь), XX, XXI Зимних школах по механике сплошных сред (2017, 2019 Пермь), International Workshop «Multiscale Biomechanics and Tribology of Inorganic and Organic Systems» (2019, Томск). Работа полностью докладывалась и обсуждалась на семинарах кафедры математического моделирования систем и процессов ПНИПУ (руководитель – д-р. физ.-мат. наук, проф. П.В. Трусов), Института механики сплошных сред УрО РАН (руководитель – академик РАН, д-р. тех. наук, проф. В.П. Матвеев), кафедры композиционных материалов и конструкций ПНИПУ (руководитель – д-р. тех. наук, проф. А.Н. Аношкин).

Работа выполнена при финансовой поддержке государства в лице Минобрнауки России (уникальный идентификатор проекта RFMEFI60718X0202), Российского фонда фундаментальных исследований (№ 13-01-96044 p\_урал\_a, № 16-41-590235 p\_a), Правительства Пермского края (соглашение № С-26/614 от 19.12.2012) и государственного контракта № АААА-А19-119013090021-5.

**Личный вклад** соискателя заключается в разработке математической модели молекулы ДНК, позволяющей описать ее термодинамические и кинетические свойства с учетом коллективного поведения ансамбля открытых комплексов; программной реализации алгоритмов разработанной модели; проведении и анализе результатов вычислительных экспериментов по моделированию нелинейной кинетики ДНК; проведении измерений морфометрии и динамики раковых и нормальных эпителиальных клеток методом лазерной интерференционной микроскопии, анализе и интерпретации результатов измерений с помощью математической модели молекулы ДНК.

#### **Публикации.**

Основные результаты опубликованы в 15 печатных работах, включая 5 статей в журналах, входящих в перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук (в том числе 2 – в изданиях, рекомендованных ВАК, 3 – в изданиях, входящих в базы цитирования Web of Science и Scopus).

#### **Структура и объем работы.**

Диссертационная работа состоит из введения, четырех глав, заключения, списка использованной литературы. Работа изложена на 110 страницах, содержит 31 рисунок и 5 таблиц. Список литературы включает 135 наименований.

### **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

**Введение** содержит обоснование актуальности диссертационной работы, обзор научной литературы по изучаемой проблеме, формулировку цели и задач исследования, описание новизны, теоретической и практической значимости работы, методологии и методов исследования, также во введении оценена степень достоверности результатов, приведены данные об апробации работы, кратко изложено основное содержание работы.

**Первый раздел** посвящен литературному обзору основных теоретических и экспериментальных подходов к исследованию молекулы ДНК. В п.1.1 описываются основные свойства двойной спирали с учетом динамики структурных переменных ДНК и некоторые особенности биологической активности цепи ДНК. В п.1.2 обсуждается формирование открытых комплексов как основная причина локального раскрытия молекулы ДНК. В п.1.3 приведена классификация математических моделей ДНК, рассмотрены преимущества и недостатки подходов к моделированию ДНК, сделан и обоснован выбор к какому классу относится разрабатываемая в диссертационной работе модель. В п.1.4 приведен обзор прямых методов исследования клеточных структур, обосновывается преимущество метода лазерной интерференционной микроскопии по сравнению с другими экспериментальными методами применительно к решению задачи анализа динамики ДНК.

**Второй раздел** посвящен рассмотрению математической модели молекулы ДНК, позволяющей описать ее термодинамические и кинетические свойства с учетом коллективного поведения ансамбля открытых комплексов.

В п.2.1 приводится содержательная постановка задачи моделирования нелинейной кинетики молекулы ДНК в соответствии с поставленной целью диссертационной работы.

В п.2.2 содержится концептуальная постановка задачи моделирования нелинейной кинетики молекулы ДНК, в рамках которой вводится понятие микроскопического открытого комплекса в цепи молекулы ДНК и ассоциированного с ним параметра – вектора смещения азотистых оснований молекулы ДНК, обусловленного разрывом водородных связей. С помощью осреднения векторов смещения оснований по ансамблю состояний открытых комплексов определяется термодинамическая переменная, характеризующая ансамбль открытых комплексов. Принимается ряд предположений для решения поставленной задачи и определяется вид кинетического уравнения, описывающего эволюцию введенной термодинамической переменной.

В п.2.3 излагается математическая постановка задачи моделирования нелинейной кинетики молекулы ДНК.

Изменение энергии системы имеет вид (1) и полагается связанным с формированием локализованных открытых комплексов, которые описываются векторным полем смещений азотистых оснований молекулы ДНК  $\mathbf{q}$

$$E - E_0 = -\mathbf{H} \cdot \mathbf{q} + \alpha \mathbf{q} \cdot \mathbf{q}. \quad (1)$$

В соотношении (1) первое слагаемое правой части отвечает за взаимодействие между открытыми комплексами и внешним полем сил, а второе слагаемое – за «собственную» энергию открытого комплекса,  $\alpha$  – это константа взаимодействия, которая определяет изменение энергии локализованного объема при увеличении микроскопического открытого комплекса. Вид эффективного поля  $\mathbf{H}$  имеет форму «среднего поля» и представляется соотношением

$$\mathbf{H} = \mathbf{f} + \lambda \mathbf{Q}, \quad (2)$$

где  $\lambda$  – константа взаимодействия, которая характеризует способность микроскопического открытого комплекса сопротивляться воздействию дальнедействующих полей других микроскопических комплексов,  $\mathbf{f}$  и  $\mathbf{Q}$  – это вектор обобщенной внешней силы и термодинамическая переменная ансамбля открытых комплексов (мезоскопический вектор открытых комплексов). Слагаемое  $\lambda \mathbf{Q}$  определяет силовое воздействие на микроскопический открытый комплекс, приписываемое обычно дальнедействующим полям других микроскопических комплексов и вызывающее рост открытого комплекса в поле перенапряжения, создаваемом ансамблем открытых комплексов окружения.

Термодинамическая переменная ансамбля открытых комплексов рассматриваемой системы определяется соотношениями:

$$\mathbf{Q} = N \int_{\Omega} \mathbf{q} W(\mathbf{q}) d\Omega, \quad (3)$$

$$W = Z^{-1} \exp\left(-\frac{E - E_0}{\theta}\right), \quad (4)$$

$$Z = \int_{\Omega} \exp\left(-\frac{E - E_0}{\theta}\right) d\Omega, \quad (5)$$

где  $W$  и  $Z$  – функция распределения модулей и ориентаций векторов микроскопических открытых комплексов и ее нормирующий фактор, соответственно,  $\Omega$  – пространство состояний системы,  $N$  – количество взаимодействующих микроскопических открытых комплексов,  $\theta$  – эффективный температурный фактор, характеризующий среднее значение энергии системы.

В соответствие со статистическим подходом к разработке модели молекулы ДНК в приближении самосогласованного поля выводится структурный параметр  $\delta$ , определяемый соотношением

$$\delta = \frac{\alpha}{\lambda}. \quad (6)$$

Согласно анализу размерностей  $\alpha$  и  $\lambda$ , данный параметр характеризует реакцию системы на образование и накопление открытых комплексов.

Уравнение (3) представляет собой уравнение самосогласования между введенными микроскопическим  $\mathbf{q}$  и мезоскопическим  $\mathbf{Q}$  параметрами и соответствует условиям стационарности для неравновесной свободной энергии  $F$ , характеризующей «эпигенетический ландшафт» системы:

$$-\frac{\partial F}{\partial \mathbf{Q}} = 0 \quad (7)$$

или в безразмерном виде

$$\mathbf{Q}' = \sqrt{\frac{\alpha}{\theta}} \mathbf{Q}, \quad (8)$$

$$-\frac{\partial \Psi}{\partial \mathbf{Q}'} = 0, \quad (9)$$

$$\Psi = \frac{F}{F_m}, \quad (10)$$

$$F_m = \frac{\lambda \theta}{\alpha^2}. \quad (11)$$

Для нахождения вида потенциала свободной энергии строится аппроксимация численно рассчитанного интеграла (3) в виде отношения двух полиномов третьей  $P_3(\mathbf{Q}')$  и четвертой  $M_4(\mathbf{Q}')$  степени.

Потенциал неравновесной свободной энергии молекулы ДНК с учетом эффектов нелокальности взаимодействия микроскопических открытых комплексов определяется интегрированием аппроксимирующего отношения

полинома третьей степени  $P_3(Q')$  к полиному четвертой степени  $M_4(Q')$  степени и в безразмерном виде представляется соотношением:

$$\Psi = \frac{Q'^2}{2} \left( 1 - \frac{1}{\delta} \right) + 0,48 \arctan(0,50(0,57 + 2Q')) - 13,45 \ln(304,69 - Q') - \\ - 0,31 \ln(0,38 + Q') + 0,61 \ln(1,10 + 0,57Q' + Q'^2) + 0,0436Q' - f'Q', \quad (11)$$

где последнее слагаемое отвечает за нелокальные эффекты взаимодействия микроскопических открытых комплексов ДНК вдоль центральной оси двойной спирали ДНК,  $A$  – параметр нелокальности.

Эволюционное уравнение, определяющее кинетику молекулы ДНК, имеет вид

$$\frac{\partial Q'}{\partial t} = -L \left( Q' \left( 1 - \frac{1}{\delta} \right) + \frac{P_3(Q')}{M_4(Q')} + 0,04 - f' - A' \Delta Q' \right), \quad (12)$$

что позволяет сформулировать математическую постановку задачи моделирования нелинейной кинетики молекулы ДНК следующим образом. Необходимо определить термодинамический параметр  $Q$ , соответствующий ансамблю открытых комплексов, согласно эволюционному уравнению (12) при заданных начальных и граничных условиях, а также обобщенном векторе внешней силе и значении структурного параметра  $\delta$

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{\partial Q'}{\partial t} = -L \left( Q' \left( 1 - \frac{1}{\delta} \right) + \frac{P_3(Q')}{M_4(Q')} + 0,04 - f' - A' \Delta Q' \right), \\ Q'(z, 0) = A \cos(2\pi z / \phi), \\ \left. \frac{\partial Q'}{\partial z} \right|_{z \rightarrow 1} = 0, \\ \left. \frac{\partial Q'}{\partial z} \right|_{z \rightarrow G} = 0, \end{array} \right. \quad (13)$$

где  $L$  – кинематический коэффициент,  $A$  – амплитуда гармонических начальных условий,  $\phi$  – фаза гармонических начальных условий,  $G$  – количество генов молекулы ДНК,  $z$  – пространственная координата центральной оси двойной спирали, значение которой соответствует гену молекулы ДНК.

В п.2.4 приводятся результаты исследования предложенной модели.

На первом этапе исследования математической модели ДНК решается квазистатическая задача с целью определения чувствительности модели к структурному параметру  $\delta$ . На рисунке 2 представлены различные виды реакций ДНК в зависимости от разных значений  $\delta$  без учета эффектов нелокальности. Установлены два критических значения структурного параметра, относительно которых ДНК демонстрирует качественно различное поведение ( $\delta_c$ ;  $\delta_t$ ) равные (1; 1,16) соответственно. Приводится оценка значения среднего расстояния между открытыми комплексами.

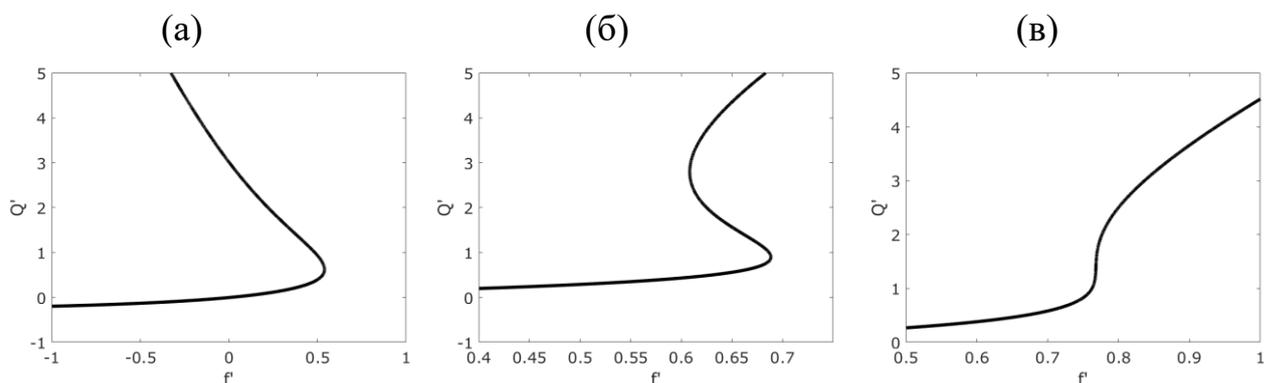


Рисунок 2 – Зависимость изменения термодинамической переменной ансамбля открытых комплексов  $Q'$  от приложенной силы  $f'$  без учета эффектов нелокальности (а) при  $\delta = 0,9$ , (б) при  $\delta = 1,1$ , (в) при  $\delta = 1,2$

На втором этапе для выделенных диапазонов значений параметра  $\delta$  строятся профили свободной энергии (см. рисунок 3). Зависимости  $\Psi(Q')$ , представленные на рисунке 3, соответствуют переходам между тремя характерными нелинейными режимами, связанными с изменением симметрии системы вследствие накопления и взаимодействия большого количества открытых комплексов. Данный результат позволяет сделать вывод, что параметр  $\delta$  определяет новые условия термализации системы, которые не зависят от обычной температуры.

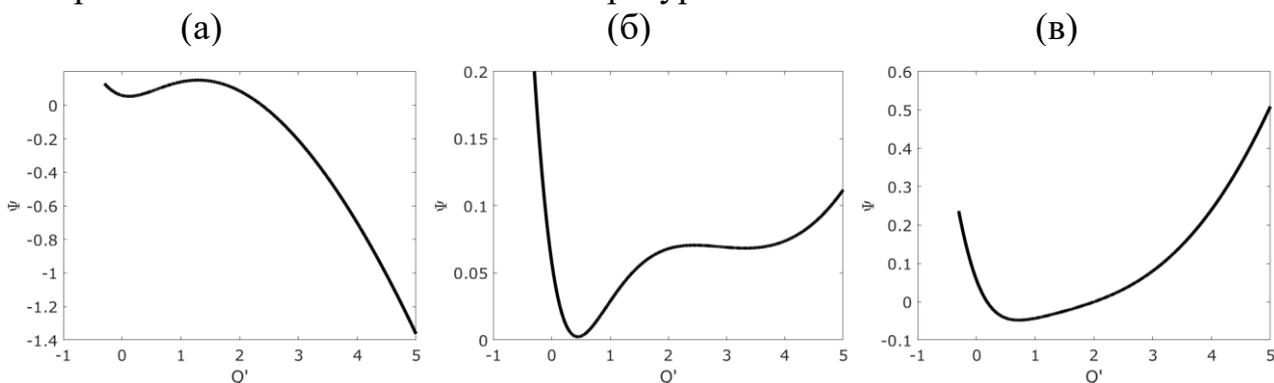


Рисунок 3 – Профили неравновесной свободной энергии  $\Psi(Q')$  при различных значениях структурного параметра  $\delta$  и внешней силы (а)  $\delta = 0,9$  и  $f' = 0,45$ , (б)  $\delta = 1,1$  и  $f' = 0,66$ , (в)  $\delta = 1,2$  и  $f' = 0,77$

На следующем этапе выполняется численное моделирование кинетики молекулы ДНК для различных диапазонов структурного параметра  $\delta$ . По результатам моделирования устанавливаются типы автомодельных решений и соответствующие им коллективные моды открытых комплексов (см. рисунок 4).

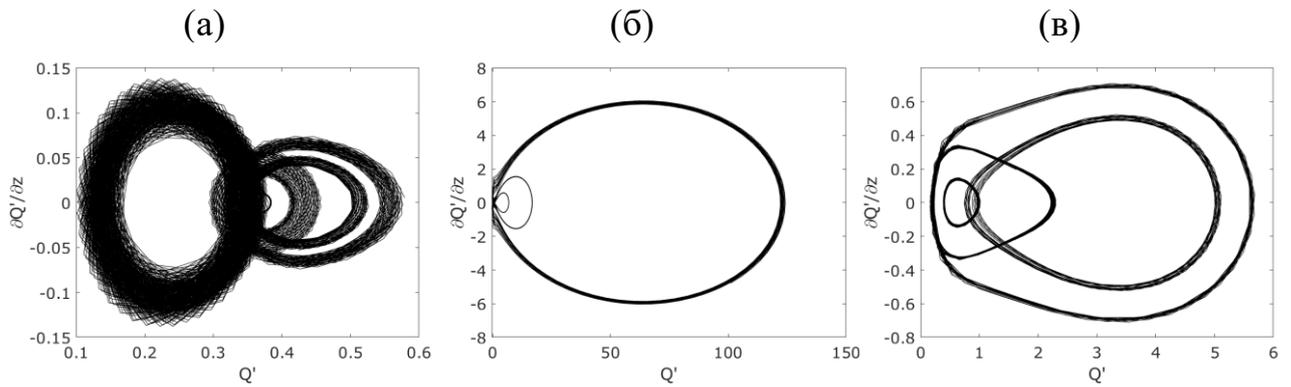


Рисунок 4 – Фазовые траектории системы для трех различных областей структурного параметра структурного (а)  $\delta < \delta_c$ , (б)  $\delta_c < \delta < \delta_t$ , (в)  $\delta > \delta_t$  и при различных величинах внешней силы

Автомодельные решения имеют природу конечно-амплитудных флуктуаций в виде мод бризерного типа (см. рисунок 5), автосолиitonного типа (см. рисунок 6) и диссипативных структур обострения (см. рисунок 7).

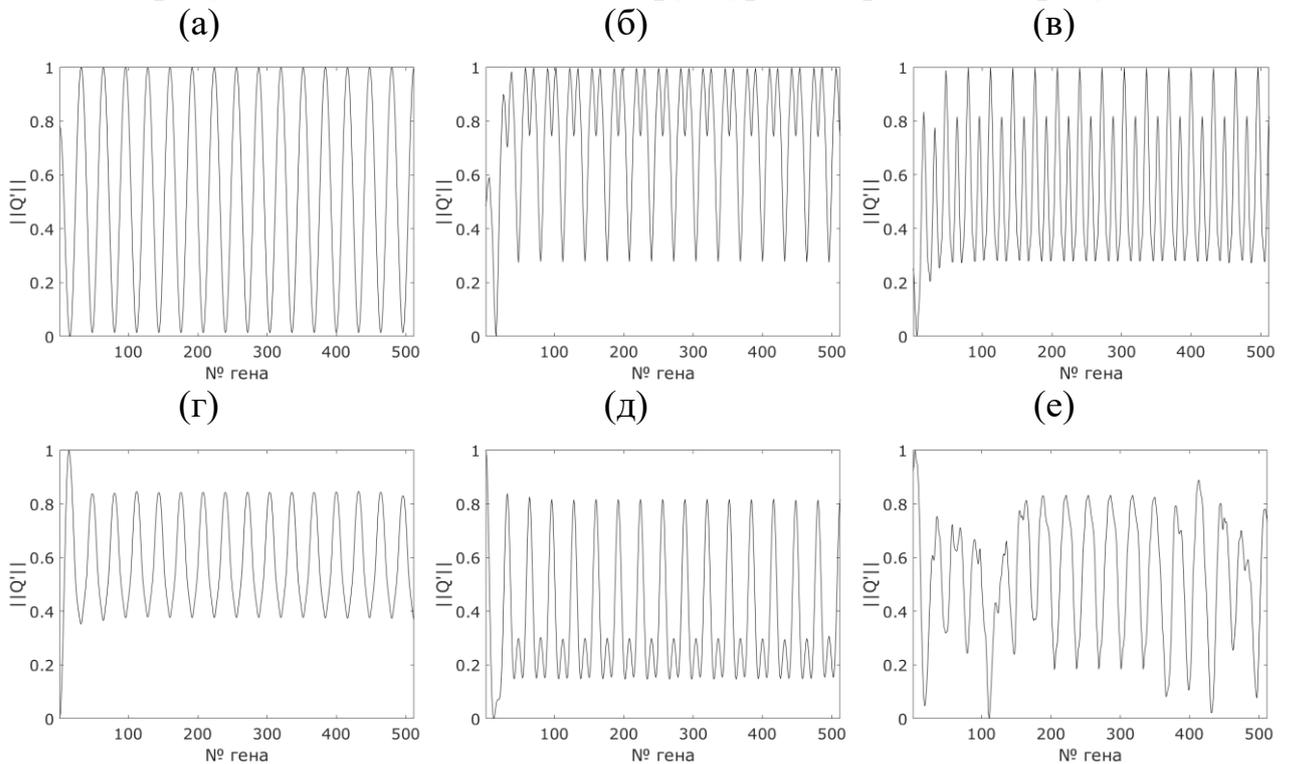


Рисунок 5 – Бризерное решение кинетического уравнения (12) для  $\delta = 1,2$  и  $f = 0,77$  в различные моменты времени (а)  $t = 10$ , (б)  $t = 30$ , (в)  $t = 50$ , (г)  $t = 70$ , (д)  $t = 80$ , (е)  $t = 90$

На заключительном этапе выполняется исследование поведения решений, полученных с помощью модели при различных начальных условиях для  $\delta > \delta_t$  и последующим одномерным Фурье-анализом. В качестве анализируемого сигнала используется зависимость суммарной свободной энергии системы от времени  $\Psi_\Sigma(t)$ .

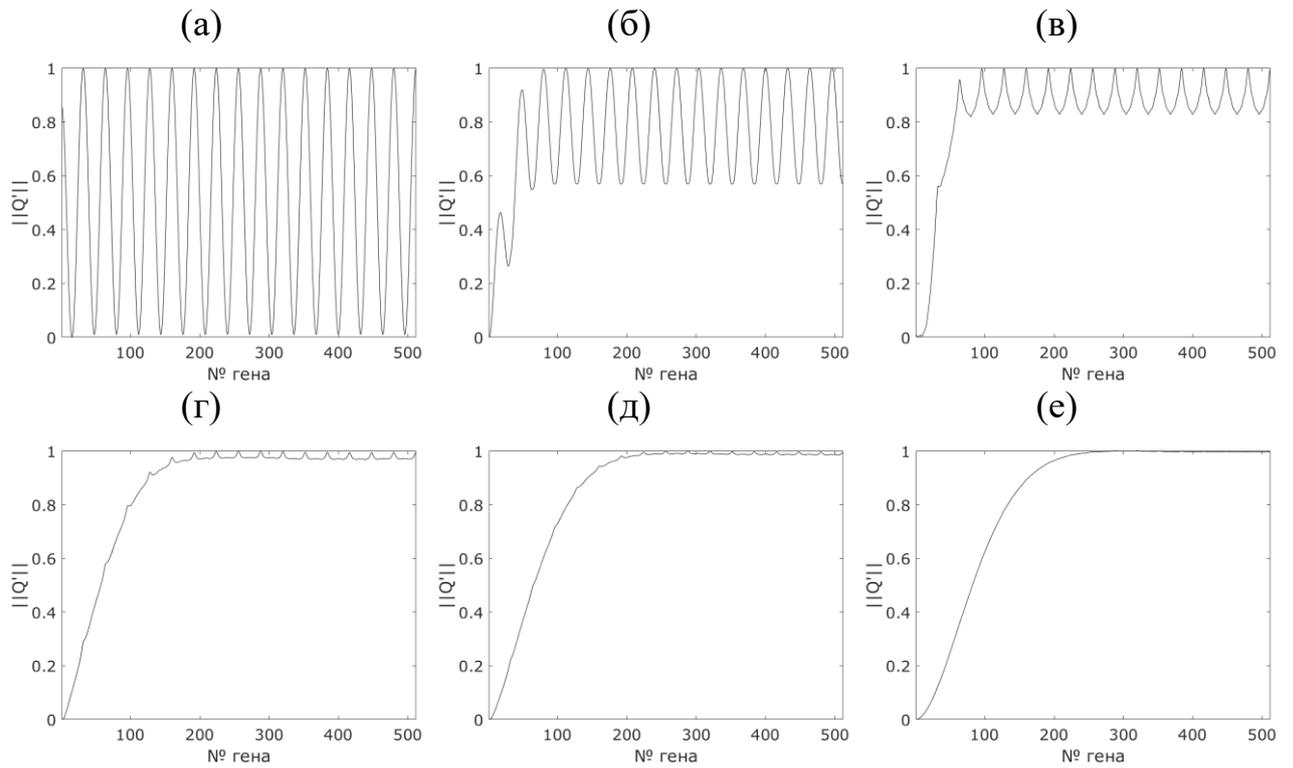


Рисунок 6 – Автосолитонное решение кинетического уравнения (12) для  $\delta = 1,1$  и  $f = 0,66$  в различные моменты времени (а)  $t = 10$ , (б)  $t = 30$ , (в)  $t = 50$ , (г)  $t = 70$ , (д)  $t = 80$ , (е)  $t = 90$

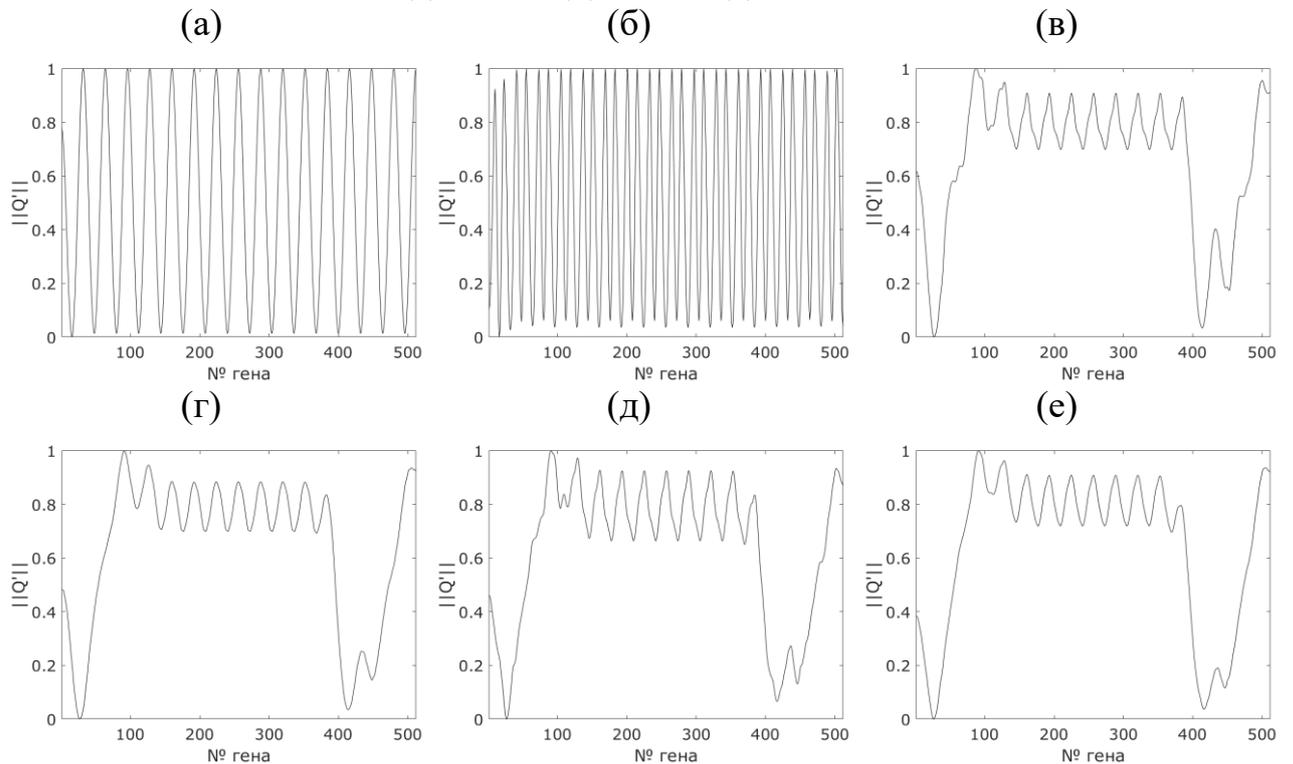


Рисунок 7 – Диссипативные структуры обострения, полученные при решении кинетического уравнения (12) для  $\delta = 1,1$  и  $f = 0,66$  в различные моменты времени (а)  $t = 10$ , (б)  $t = 30$ , (в)  $t = 50$ , (г)  $t = 70$ , (д)  $t = 80$ , (е)  $t = 90$

Полученные результаты свидетельствуют о том, что спектры мощности  $S(k)$  не отличаются друг от друга и имеют одинаковый наклон  $\beta \approx 2$  (где  $\beta$

определяется согласно соотношению  $S(k) \sim k^{-\beta}$ . Данный наклон соответствует наклону спектра мощности, вычисленного для броуновского («коричневого») шума. На основании данных результатов делается вывод о том, что результат моделирования зависит от вида нелинейности модели.

**Третий раздел** посвящен исследованиям морфометрии и прижизненной динамики раковых и нормальных клеток методом лазерной интерференционной микроскопии.

В п.3.1 приведено описание основных принципов лазерной интерференционной микроскопии, а также лазерного микроскопа МИМ-340, реализующего данный метод. Приводится краткий обзор биологических областей применения микроскопа МИМ-340. Обсуждаются принципы получения фазового изображения клеточных структур.

В пп.3.2, 3.3 описываются исследуемые культуры клеток и способ подготовки образцов для исследования клеток с помощью лазерного микроскопа МИМ-340. В качестве материалов исследования используются клетки злокачественной опухоли эпителиального происхождения из молочной железы человека MCF-7, нормальные клетки почки человека НЕК 293 и молочной железы человека MCF-10A.

В п.3.4 описываются способ и результаты измерений оптической толщины и флуктуаций оптической толщины клеток методом лазерной интерференционной микроскопии. Приводится интерпретация полученных изображений.

В п.3.5 представлены алгоритмы выделения морфометрических показателей клеток, а именно высоты, минимального и максимального диаметров, периметра, площади и объема фазового изображения клетки.

В п.3.6 приведены алгоритмы математической обработки флуктуаций оптической толщины клетки. Временные сигналы, характеризующие динамику клеточных структур, анализируются одномерными методами Фурье-анализа, вейвлет анализа, мультифрактального анализа (на основе метода максимумов модулей вейвлет-преобразования) и методом построения фазовых портретов. Приводится список динамических параметров, характеризующих прижизненную динамику клетки.

В п.3.7 выполнен сравнительный анализ морфометрических показателей раковых и нормальных клеток.

На первом этапе проводится сравнение морфометрических показателей клеток злокачественной опухоли эпителиального происхождения из молочной железы человека MCF-7 и нормальных клеток почки человека НЕК 293. На втором этапе было проведено сравнение морфометрических показателей клеток, выделенных из одного источника – молочной железы человека: клеток злокачественной опухоли эпителиального происхождения MCF-7 и нормальных клеток MCF-10A. Установлено, что по всем морфометрическим показателям исследуемые выборки имеют статистически значимые различия ( $p < 0,001$ ), оцененные двухвыборочным непараметрическим критерием Уилкоксона–Манна–Уитни. Из анализа

данных распределений выведен критерий дифференциации нормальных и патологически измененных клеток, полученных из одной и той же ткани (органа), на примере раковых и нормальных клеток молочной железы человека. Критерий формулируется следующим образом. Эпителиальная клетка молочной железы человека считается нормальной, если значение  $h/M(r)$  не превышает  $2,2 \times 10^4$  и значение  $V/(0,5\lambda S_0)$  не превышает 0,02, в противном случае исследуемая клетка – раковая.

В п.3.8 приведены результаты сравнительного анализа динамических параметров раковых и нормальных клеток, а именно: ширины фазового портрета в горизонтальном  $R(\Delta\phi)$  и вертикальном направлениях  $R(d(\Delta\phi)/dt)$ , среднего радиуса области, заполняемой фазовым портретом  $M(\rho)$ ; ширины спектра сингулярностей  $\Delta\alpha$ ; значение показателя Гельдера, соответствующее максимуму спектра сингулярностей  $\alpha_0$ ; показателя Херста  $H$ .

Анализ динамических параметров для дифференциации раковых и нормальных клеток проводится для двух случаев: сравнение культуры MCF-7 с клетками линии НЕК 293 и с клетками MCF-10A. В качестве метода оценки статистически значимой разницы используется двухвыборочный непараметрический тест Уилкоксона-Манна-Уитни.

На рисунке 8 представлены результаты сравнения некоторых динамических показателей клеток клеточных линий НЕК 293, MCF-10A и MCF-7. Установлено (таблица №1), что клеточные линии НЕК 293 и MCF-7 имеют статистически значимые различия по следующим динамическим показателям:  $R(\Delta\phi)$ ,  $R(d(\Delta\phi)/dt)$ ,  $M(\rho)$ ,  $H$ ,  $\alpha_0$ , в то время как линии MCF-10A и MCF-7 различны только по  $H$ ,  $\alpha_0$ ,  $\Delta\alpha$ . При этом раковым клеткам соответствует монофрактальный спектр сингулярностей, а нормальным клеткам – мультифрактальный.

Таблица 1 – Результаты статистического анализа (p-значение) динамических показателей клеток для культур MCF-7, НЕК293 и MCF-10A, где \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$ , \*\*\* –  $p < 0,001$

Культуры клеток	Динамические показатели					
	$R(\Delta\phi)$	$R(d(\Delta\phi)/dt)$	$M(\rho)$	$H$	$\alpha_0$	$\Delta\alpha$
НЕК 293 и MCF-7	0,005**	0,014*	0,009**	0,002**	0,046*	0,054
MCF-10A и MCF-7	0,156	0,228	0,909	1,8e-5***	2,4e-5***	2,9e-4***

На основе результатов статистического анализа для критерия дифференциации нормальных и раковых клеток предложено использовать показатель Херста, так как в сравнительных экспериментах клеток раковой линии с нормальными клетками, полученными из различных органов, результаты теста Уилкоксона-Манна-Уитни показали наибольшую степень различия, а также ширину мультифрактального спектра, так как раковые клетки отличаются от нормальных монофрактальной динамикой.

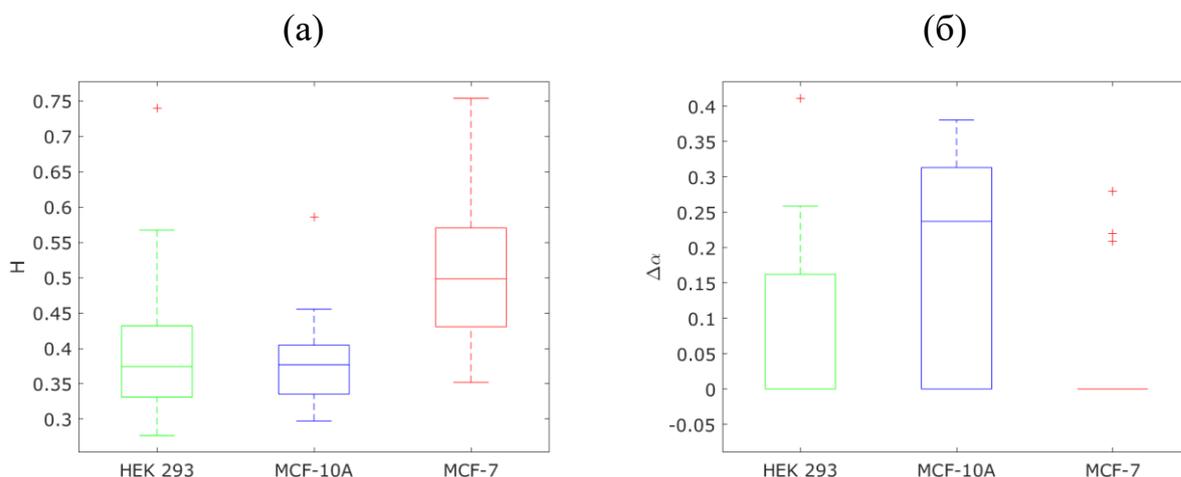


Рисунок 8 – Сравнение динамических показателей клеток линий HEK 293, MCF-10A и MCF-7: сравнение по  $H$  (а) и  $\Delta\alpha$  (б)

Таким образом, критерий формулируется следующим образом. Эпителиальная клетка человека считается раковой, если значение  $H$  превышает значение 0,45 и ширина спектра сингулярностей равна 0 (т.е. он монофрактален), в противном случае исследуемая клетка считается нормальной. Предложенный критерий позволяет дифференцировать раковую клетку от нормальной, независимо от источника (ткани, органа) их происхождения.

**Четвертый раздел** посвящен интерпретации результатов измерения прижизненной динамики клеток с помощью статистической модели молекулы ДНК. Для трех характерных нелинейных режимов системы задается функция распределения структурного параметра  $\delta$  при различных значениях ее разброса. На рисунке 9,а представлена функция распределения параметра  $\delta$  для  $\delta_c < \delta < \delta_t$ . Выполнено численное моделирование нелинейной кинетики молекулы ДНК для каждого режима и оценивается суммарная свободная энергия системы в каждый момент времени. Полученные данные анализируются методом максимумов модулей вейвлет-преобразования. Устанавливается связь между результатами измерения флуктуаций оптической толщины раковых и нормальных эпителиальных клеток в области ядрышка и характерными нелинейными режимами ДНК на основе мультифрактальных свойств анализируемых сигналов (см. рисунок 9,б,в).

Установлено, что для  $\delta > \delta_t$  с увеличением разброса значений структурного параметра  $\delta$  увеличивается ширина мультифрактального спектра. Для  $\delta_c < \delta < \delta_t$  рост дисперсии не влияет на ширину спектра сингулярностей, при этом динамика ДНК остается мультифрактальной. Переход через критическую точку  $\delta_t$  приводит к резкому изменению значений структурного параметра, переходу системы в область метастабильности и зарождению автосолитонов (уединенных волн), способных к перемещению вдоль цепи ДНК. Данная способность открытых комплексов связывается с важнейшими функциями ДНК, такими как транскрипция и репликация.

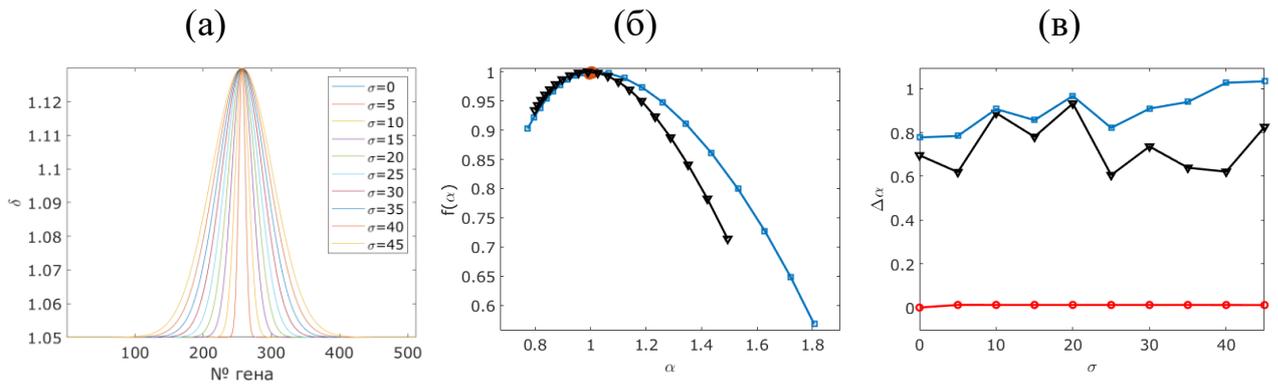


Рисунок 9 – Мультифрактальный анализ динамики ДНК по данным численного моделирования. (а) Распределения структурного параметра  $\delta$  при различных значениях разброса  $\sigma$  для диапазона  $\delta_c < \delta < \delta_t$  (б) Типовые мультифрактальные спектры  $f(\alpha)$  суммарной свободной энергии системы для трех диапазонов  $\delta$ :  $\delta < \delta_c$  (красная линия с круглыми маркерами),  $\delta_c < \delta < \delta_t$  (черная линия с треугольными маркерами) и  $\delta > \delta_t$  (синяя линия с квадратными маркерами) (в) Зависимости ширины мультифрактального спектра  $\Delta\alpha$  от разброса  $\sigma$  распределения структурного параметра  $\delta$  для  $\delta < \delta_c$  (красная линия с круглыми маркерами),  $\delta_c < \delta < \delta_t$  (черная линия с треугольными маркерами),  $\delta > \delta_t$  (синяя линия с квадратными маркерами)

При значениях структурного параметра  $\delta$  меньших  $\delta_c$  происходит переход системы в качественно новое состояние, характеризующееся вырождением мультифрактального спектра в монофрактальный. На основе сравнительного анализа результатов мультифрактального анализа данных лазерной интерференционной микроскопии клеток и данных численного моделирования нелинейной кинетики ДНК делается вывод, что достижение структурным параметром  $\delta$  критического значения  $\delta_c$  приводит к неограниченному росту числа открытых комплексов. Это влечет за собой качественное изменение процесса экспрессии генов и, как следствие, нарушение функций ДНК и «перерождение» нормальной клетки в раковую в условиях ее неконтролируемого деления.

В **заключении** приведены основные результаты работы, которые заключаются в следующем:

1. Разработана математическая модель молекулы ДНК, основанная на статистической термодинамике и позволяющая описать термодинамические и кинетические свойства ДНК с учетом коллективного поведения ансамбля открытых комплексов.
2. Разработаны и реализованы алгоритмы на основе эффективных численных методов в виде комплексов проблемно-ориентированных программ для проведения моделирования нелинейной кинетики молекулы ДНК.
3. Впервые предложен диагностический критерий дифференциации раковых и нормальных эпителиальных клеток молочной железы человека на основе оценки высоты и объема фазового изображения клетки.

4. Установлен новый критерий дифференциации раковых и нормальных эпителиальных клеток на основе анализа результатов измерений флуктуаций оптической толщины клетки методом мультифрактального анализа.

5. На основе сопоставления результатов моделирования и данных лазерной интерференционной микроскопии продемонстрирована возможность применения предложенной модели для анализа процессов эволюции клеток, в том числе патологического характера, на основе анализа качественных различий прижизненной динамики клеток, базирующейся на закономерностях «критичности» ДНК-системы для различных диапазонов значений структурного параметра термализации неравновесной системы.

#### **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ АВТОРОМ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Nikitiuk, A.S. DNA breathers and cell dynamics / Nikitiuk A.S., Korznikova E.A., Dmitriev S.V., Naimark O.B. // *Mathematical Biology and Bioinformatics*. – V. 14. – № 1. – 2019. – P. 137–149. (перечень ВАК, база цитирований Scopus)

2. Nikitiuk, A.S. Nonlinear dynamics of DNA with topological constraints / Nikitiuk A.S., Korznikova E.A., Dmitriev S.V., Naimark O.B. // *Letters on Materials*. – 2018. – V. 8. – № 4. – P. 489-493. (перечень ВАК, база цитирований Scopus)

3. Nebogatikov, V. Study of morphological changes in breast cancer cells MCF-7 under the action of pro-apoptotic agents with laser modulation interference microscope MIM-340 / Nebogatikov V., Nikitiuk A., Konysheva A., Ignatyev P., Grishko V., Naimark O. // *AIP Conference Proceedings «International Conference on Physics of Cancer: Interdisciplinary Problems and Clinical Applications (PC IPCA'17)»*. – 2017. – Vol. 1882, No. 1. – P. 020053. (базы цитирований Scopus, Web of Science)

4. Lyapunova, E. Passive microrheology of normal and cancer cells after ML7 treatment by atomic force microscopy / Lyapunova E., Nikituk A., Bayandin Y., Naimark O., Rianna C., Radmacher M. // *AIP Conference Proceedings “International Conference on Physics of Cancer: Interdisciplinary Problems and Clinical Applications (PC'16)”*. – 2016. – Vol. 1760, Issue 1. – P. 020046. (базы цитирований Scopus, Web of Science)

5. Naimark, O.B. The physics of cancer: The role of epigenetics and chromosome conformation in cancer progression / Naimark O.B., Nikitiuk A.S., Baudement M.-O., Forne T., Lesne A. // *AIP Conference Proceedings “International Conference on Physics of Cancer: Interdisciplinary Problems and Clinical Applications (PC'16)”*. – 2016. – Vol. 1760, Issue 1. – P. 020051. (базы цитирований Scopus, Web of Science)