

МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ РАДИАЦИОННО-ИНДУЦИРОВАННОГО НАРУШЕНИЯ НЕЙРОГЕНЕЗА

А. А. Глебов¹, Е. А. Колесникова, А. Н. Бугай

Объединенный институт ядерных исследований, Дубна

Модели радиационно-индуцированного нарушения нейрогенеза базируются на рассмотрении возрастной динамики изменения числа клеток-предшественников в течение жизни. Однако для полноценного анализа радиационных нарушений также необходимо знать возрастную динамику зрелых типов клеток — нейронов, астроцитов и олигодендроцитов, образующихся из соответствующих клеток-предшественников. Для учета как клеток-предшественников, так и зрелых типов клеток нами разработана математическая модель радиационно-индуцированного нарушения нейрогенеза у взрослых на основе модели асимметричного деления нервных стволовых клеток в зубчатой извилине гиппокампа мышей C57BL. Модель воспроизводит экспериментальные данные возрастного изменения численности нервных стволовых клеток, амплифицирующих нейрональных предшественников, нейробластов, незрелых нейронов, а также первые зрелых нейронов и астроцитов. Предсказана динамика изменения числа олигодендроцитов с возрастом. Рассчитаны доли выживших зрелых нейронов, астроцитов и олигодендроцитов после действия рентгеновского излучения.

Models of radiation-induced neurogenesis disorders are based on the consideration of the age-related dynamics of changes in the number of progenitor cells during life. However, for a full-fledged analysis of radiation injury, it is also necessary to know the age dynamics of mature cell types — neurons, astrocytes, and oligodendrocytes formed from the corresponding progenitor cells. To account for the population of both progenitor cells and mature cell types, we developed a mathematical model of radiation-induced impairment of adult neurogenesis based on the model of asymmetric division of neural stem cells in the dentate gyrus of the hippocampus of C57BL mice. The model reproduces experimental data on age-related changes in the number of neural stem cells, amplifying neuronal progenitors, neuroblasts, immature neurons, and, for the first time, mature neurons and astrocytes. The dynamics of changes in the number of oligodendrocytes with age is predicted. The proportions of surviving mature neurons, astrocytes, and oligodendrocytes after exposure to X-ray radiation were calculated.

PACS: 87.53.-j; 87.10.Ed

¹E-mail: glebov.atth@gmail.com

ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на лечебный эффект, применение лучевой терапии головного мозга для лечения онкологических заболеваний вызывает долгосрочные когнитивные нарушения у пациентов всех возрастов [1]. Например, у детей младше пяти лет наблюдается специфический нейрокогнитивный дефицит внимания, памяти, пространственных отношений и координации, половина детей старше семи лет нуждается в получении дополнительных образовательных услуг [2–4]. У взрослых людей значительно снижается качество жизни, а в долгосрочной перспективе повышается риск развития деменции [5].

Радиационно-индуцированные нарушения, характеризующиеся ухудшением кратковременной и долговременной памяти, связаны с уменьшением числа новообразованных нейронов, продуцирующихся в результате процесса нейрогенеза у взрослых [6]. Нейрогенез проходит в популяции нервных стволовых клеток (НСК), выстилающих зубчатую извилину гиппокампа. Помимо нейронов, из нервных стволовых клеток образуются глиальные клетки, астроциты и олигодендроциты, однако процесс образования нейронов имеет преимущественный характер. Подавление нейрогенеза после облучения рентгеновскими лучами возникает из-за образования воспалительной реакции в микроокружении нервных стволовых клеток, что приводит к преимущественному производству глиальных типов клеток вместо нейрональных. Кроме того, радиация индуцирует гибель клеток-предшественников нейронов — нейробластов и незрелых нейронов. Совокупный эффект гибели предшественников нейронов и замещения нейрогенеза глиогенезом приводит к уменьшению числа новообразованных нейронов на 90% при дозах рентгеновского излучения порядка 10 Гр [7].

Ожидается, что моделирование радиационно-индуцированного нарушения нейрогенеза поможет в совершенствовании методик применения лучевой терапии для снижения вероятности развития когнитивных нарушений как у детей, так и у взрослых. Существует два подхода для моделирования процесса нейрогенеза, отличающихся способом объяснения возрастного истощения пула стволовых клеток с возрастом. В случае симметричного деления стволовых клеток пул истощается за счет изменения скорости пролиферации стволовых клеток. В случае асимметричного деления — за счет необратимой дифференциации нервных стволовых клеток в астроциты. Оба подхода имеют прочную фактологическую основу [8, 9], поэтому выбор конкретной модели может варьироваться в зависимости от поставленных задач. Например, в работах по моделированию радиационного нарушения нейрогенеза использовалась модель симметричного деления [10, 11], а для оценки возрастных изменений нейрогенеза и динамики BrdU-меченых клеток применялась модель симметричного и асимметричного деления НСК [12, 13].

Ранее исследователями уже была предложена модель нейрогенеза, рассматривающая влияние гибели предшественников нейронов и замещение нейрогенеза глиогенезом после облучения мышей линии C57BL рентгеновскими лучами [10]. Возрастная динамика нейрогенеза у взрослых моделировалась на базе модели симметричного деления нервных стволовых клеток, а нарушение регуляции нейрогенеза — за счет ввода параметров обратной связи, пролиферации нервных стволовых клеток и радиационно-индуцированного апоптоза клеток. Несмотря на воспроизведенную возрастную динамику и дозозависимый ответ нервных стволовых клеток и клеток-

предшественников нейронов на облучение, остается неясным, как рентгеновское излучение влияет на прирост численности в популяциях зрелых нейронов, астроцитов и олигодендроцитов.

Наша задача состояла в разработке математической модели радиационно-индуцированного нарушения нейрогенеза у взрослых мышей C57BL, учитывающей возрастную динамику изменения численности как клеток-предшественников, так и зрелых типов клеток. Для моделирования мы использовали модель асимметричного деления нервных стволовых клеток, модифицированную с учетом популяций незрелых нейронов и олигодендроцитов.

Статья разбита на четыре части. В разд. 1 сравниваются особенности моделирования нейрогенеза у взрослых на базе модели симметричного и асимметричного деления стволовых клеток. В разд. 2 описывается модификация модели асимметричного деления нервных стволовых клеток. В разд. 3 представлена математическая модель радиационно-индуцированного нарушения нейрогенеза. В разд. 4 представлены результаты моделирования возрастной и пострадиационной динамики численности популяций, участвующих в нейрогенезе. В заключении сформулированы основные выводы.

1. МОДЕЛЬ АСИММЕТРИЧНОГО ДЕЛЕНИЯ НЕРВНЫХ СТОЛОВЫХ КЛЕТОК

Для начала рассмотрим возможность учета зрелых типов клеток путем модификации уже имеющейся модели радиационно-индуцированного нарушения нейрогенеза, базирующейся на модели симметричного деления нервных стволовых клеток [10]. Согласно модели, часть нервных стволовых клеток делится симметрично, после чего они дифференцируются в нейробласты, а затем в незрелые нейроны, оставшиеся клетки дифференцируются в глиобласты (рис. 1, *a*). В описании модели указано, что глиобласты становятся астроцитами и олигодендроцитами, но учет численности производился только для глиобластов. Возрастная динамика численности четырех типов клеток, участвующих в нейро- и глиогенезе, описывается системой дифференциальных уравнений, где начальные значения численности популяций оцениваются по абсолютной величине. Для стволовых клеток, нейробластов, незрелых нейронов оценка исходного числа клеток рассчитывается из аппроксимации экспериментальных данных экспоненциальной функцией, а также из соотношения числа образовавшихся клеток. Для глиобластов — исходя из известных количественных отношений между нейронами и клетками глии.

Применительно к нашей задаче оценка исходного числа астроцитов, олигодендроцитов и зрелых нейронов сопряжена с трудностями, так как неизвестно, какой функцией описывается динамика численности этих популяций. Например, исходя из количественных данных по числу астроцитов в зубчатой извилине [14], можно выдвинуть гипотезы, интерпретирующие эксперимент: первая — число астроцитов в течение жизни не меняется; вторая — количество астроцитов увеличивается в первые недели жизни животного, а потом остается неизменным. Если взять во внимание предсказанное моделью радиационно-индуцированного нарушения нейрогенеза уменьшение популяции глиобластов с возрастом, то также не стоит исключать версию уменьшения числа астроцитов с последующим выходом на плато. Отсюда следует, что для

оценки исходного числа клеток необходимо привести дополнительные аргументы в пользу той или иной гипотезы, а также оценить скорость образования астроцитов в первые недели жизни мыши. Аналогичная ситуация возникает при попытке описания динамики зрелых нейронов и олигодендроцитов. Кроме того, существуют значительные различия в экспериментальных оценках количества и плотности клеток в зубчатой извили гиппокампа, что также может повлиять на оценку исходного числа клеток [15].

Чтобы воспроизвести динамику изменения численности популяции нейрональных и глиальных линий, минуя процесс отбора гипотез, было решено заменить модель симметричного деления на модель асимметричного деления нервных стволовых клеток [9], а расчет абсолютных начальных значений численности популяций — на относительные.

В отличие от модели симметричного деления модель асимметричного деления учитывает популяции большинства участников нейрогенеза, за исключением незрелых нейронов и олигодендроцитов (рис. 1, б). Согласно модели, нервная стволовая

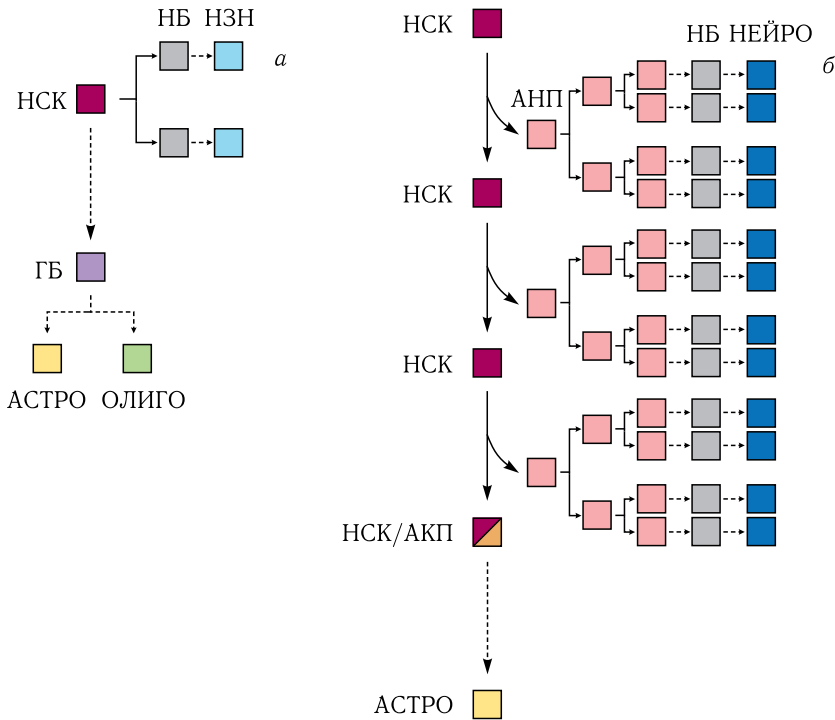


Рис. 1. Модель симметричного (а) и асимметричного (б) деления нервных стволовых клеток без учета апоптоза, где НСК — нервная стволовая клетка; НСК/АКП — нервная стволовая клетка, являющаяся астроцитарной клеткой-предшественником; АСТРО — астроцит; АНП — амплифицирующие нейрональные предшественники; ГБ — глиобласты; НБ — нейробласты; НЕЙРО — зрелые нейроны. Стрелкой обозначены процессы асимметричного и симметричного деления, пунктирной стрелкой — процесс дифференциации

клетка трижды делится асимметрично, после чего дифференцируется в клетку-предшественника астроцита, а затем — в зрелый астроцит. Образовавшиеся в результате асимметричного деления амплифицирующие нейрональные предшественники (АНП) делятся симметрично два раза, после чего дифференцируются в нейробласты. Часть нейробластов подвергается апоптозу, а выжившие клетки дифференцируются в зрелые нейроны. Без учета апоптоза 1 стволовая клетка продуцирует 1 астроцит и 12 нейронов, что используется для оценки относительного соотношения числа клеток. Помимо этого, экспериментально рассчитанные скорости деления и дифференциации клеток позволяют последовательно воспроизвести динамику изменения численности популяций.

2. МОДИФИЦИРОВАННАЯ МОДЕЛЬ АСИММЕТРИЧНОГО ДЕЛЕНИЯ НЕРВНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

Исходя из особенностей задачи модель асимметричного деления была модифицирована в двух аспектах. Во-первых, соотнесены данные популяционной динамики и клеточных делений между собой, поскольку модель асимметричного деления рассматривает процесс нейрогенеза на клеточном, а не популяционном уровне. Во-вторых, учтены популяции незрелых нейронов и олигодендроцитов, не представленные в изначальной версии модели. Оба аспекта учтены за счет введения процесса активации покоящихся нервных стволовых клеток, разделения общей популяции амплифицирующих нейрональных предшественников и популяции новообразованных АНП, оценки доли АНП, дифференцирующихся в нейробласты и олигодендроциты, а также ввода параметра скорости апоптоза как для нейробластов, так и для незрелых нейронов.

Активация покоящихся нервных стволовых клеток промоделирована исходя из факта, что популяция нервных стволовых клеток уменьшается с возрастом из-за необратимой дифференциации нервных стволовых клеток в астроциты после трех асимметричных делений. В отличие от израсходованных делящихся клеток оставшиеся в популяции стволовые клетки находятся в состоянии покоя и не участвуют в производстве клеток-предшественников нейронов и глии. Таким образом, можно выделить две субпопуляции стволовых клеток: покоящиеся стволовые клетки и делящиеся нервные стволовые клетки, — а процесс возрастного снижения числа стволовых клеток можно описать как активацию покоящихся клеток со скоростью, равной скорости уменьшения популяции нервных стволовых клеток. При этом скорости активации будет соответствовать момент первого асимметричного деления клетки. Это позволяет соотнести между собой данные по численности популяции нервных стволовых клеток и клеточных делений, а также оценить долю делящихся нервных стволовых клеток, продуцирующих астроциты и амплифицирующих нейрональных предшественников.

Возрастное уменьшение численности также характерно для популяции амплифицирующих нейрональных предшественников, дифференцирующихся в нейробласты и олигодендроциты. Параллельно с уменьшением популяции происходит процесс увеличения числа амплифицирующих нейрональных предшественников за счет двукратного симметричного деления новообразованных АНП, при этом доля делящихся клеток

составляет порядка 10–20 % от численности всей популяции. Скорость преобразования новообразованных АНП в нейробласты быстрее, чем скорость убыли клеток в популяции, поэтому учет обоих процессов дифференциации производится независимо друг от друга. В нашей модели доля делящихся клеток, участвующих в приросте числа нейробластов и олигодендроцитов, составляет 15 %, а доля дифференцирующихся клеток из общей популяции АНП — 85 %, поскольку данные значения позволяют точнее описать возрастное изменение числа нейробластов.

Доля образующихся олигодендроцитов в точности неизвестна, поскольку прирост новообразованных клеток в популяции или не происходит, или составляет несколько процентов от числа дифференцирующихся клеток-предшественников [15–17]. Чтобы оценить относительное число АНП, дифференцирующихся в олигодендроциты, мы воспользовались данными стехиометрического исследования, в котором оценивалась плотность и относительное число клеток в зубчатой извилине гиппокампа в рамках одной методики подсчета [18]. Из рассмотренных десяти типов клеток были отобраны только те, которые участвуют в процессе нейрогенеза, а именно: нервные стволовые клетки, амплифицирующие нейрональные предшественники, нейробласты/незрелые нейроны, зрелые нейроны и олигодендроциты. Далее, для отобранных популяций сделан перерасчет относительного количества клеток (рис. 2). Оказалось, что отношение зрелых нейронов к астроцитам составляет 11,5 к 1, что можно объяснить моделью асимметричного деления стволовых клеток, в которой аналогичное соотношение не превышает 12 к 1 без учета апоптоза.

Чтобы удостовериться, что моделью асимметричного деления можно описать экспериментальные соотношения не только для нейронов и астроцитов, но и для других типов клеток, по данным перерасчета относительного числа клеток был воспроизведен процесс нейрогенеза, продемонстрированный на рис. 2. Рассчитанные соотношения относительного числа клеток описываются одним незавершенным и семью завер-

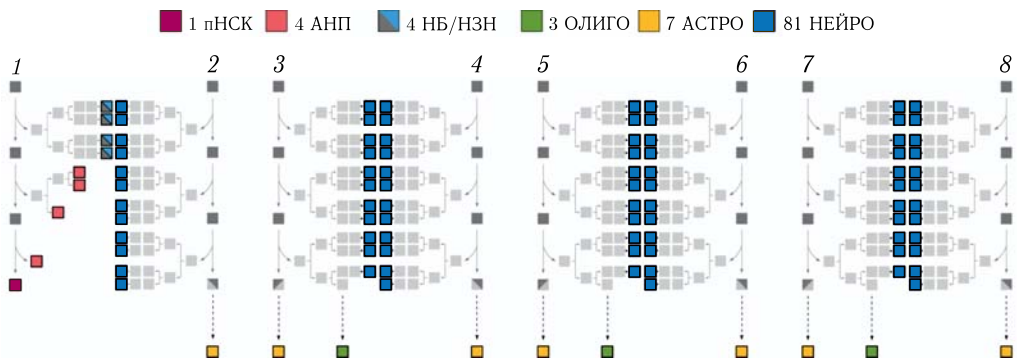


Рис. 2. Циклы нейрогенеза без учета апоптоза. Незавершенный цикл характеризуется протеканием процессов деления и дифференциации (1), завершённые циклы — образованием зрелых типов клеток (2–8). Сверху — результат перерасчета относительного числа клеток из работы [18], где пНСК — покоящиеся нервные стволовые клетки; АНП — амплифицирующие нейрональные предшественники; АСТРО — астроциты; НБ — нейробласты; НЗН — незрелые нейроны; НЕЙРО — зрелые нейроны; ОЛИГО — олигодендроциты

шенными циклами нейрогенеза. Поскольку на завершение цикла указывает наличие зрелых нейронов, астроцитов и олигодендроцитов, то оставшиеся типы клеток были отнесены к незавершенному циклу нейрогенеза. Заметим, что за два полных цикла нейрогенеза из 24 клеток АНП образуются 23 зрелых нейрона и 1 олигодендроцит, что стало основанием для оценки доли образующихся олигодендроцитов, составившей 4,2%, а нейробластов — 95,8% от общего числа дифференцирующихся АНП.

После дифференциации АНП образовавшиеся нейробласты преобразуются в незрелые нейроны, а те — в зрелые нейроны. Уменьшение популяции нейробластов и незрелых нейронов рассматривается в связи с процессом клеточной дифференциации, однако отметим, что согласно модели асимметричного деления часть нейробластов подвергнется апоптозу. Поскольку в модели асимметричного деления нельзя отделить гибель нейробластов и незрелых нейронов друг от друга, то параметр апоптоза введен для обеих популяций клеток. Также введен параметр апоптоза для зрелых нейронов, чтобы оценить влияние фактора естественной возрастной гибели клеток.

3. МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ РАДИАЦИОННО-ИНДУЦИРОВАННОГО НАРУШЕНИЯ НЕЙРОГЕНЕЗА

Схема разработанной нами модели нейрогенеза у взрослых мышей линии С57ВL представлена на рис. 3. В ней три асимметричных деления стволовых клеток объединены в один процесс со скоростью деления, равной сумме трех исходных скоростей, поскольку в результате деления образуются идентичные типы клеток. Аналогичное

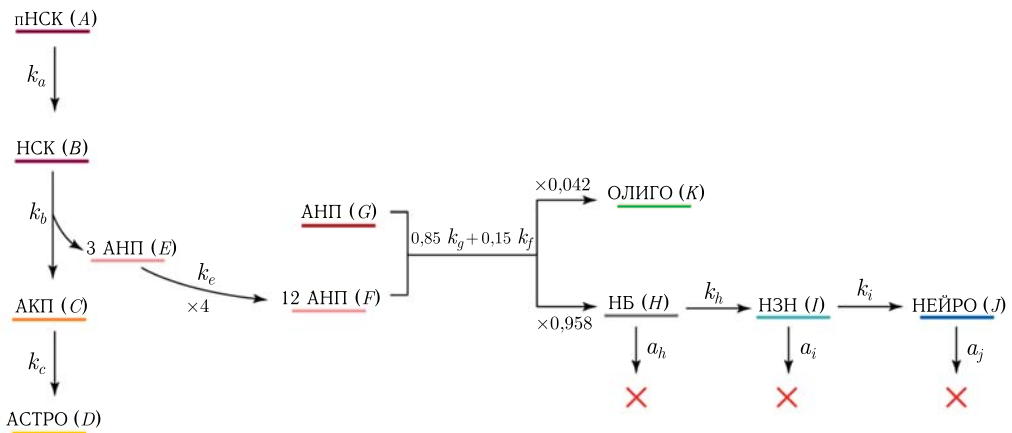


Рис. 3. Схема математической модели нейрогенеза у взрослых, где пНСК — покоящиеся нервные стволовые клетки; НСК — делящиеся нервнне стволовые клетки; АКП — астроцитарные клетки-предшественники; АСТРО — астроциты; АНП — амплифицирующие нейрональные предшественники; НБ — нейробласты; НЗН — незрелые нейроны; НЕЙРО — зрелые нейроны; ОЛИГО — олигодендроциты; k_{a-g} — скорость производства (активации, деления или дифференциации); $a_{h,i,j}$ — скорость апоптоза

преобразование произведено для подсчета числа новообразованных амплифицирующих нейрональных предшественников. Это позволяет сократить число уравнений в математической модели, не повлияв на динамику изменения числа клеток.

Математическая модель представляет собой систему из одиннадцати дифференциальных уравнений:

$$\frac{dA(t)}{dt} = -k_a A(t), \quad (1)$$

$$\frac{dB(t)}{dt} = k_a A(t) - k_b B(t), \quad (2)$$

$$\frac{dC(t)}{dt} = k_b B(t) - k_c C(t), \quad (3)$$

$$\frac{dD(t)}{dt} = k_c C(t), \quad (4)$$

$$\frac{dE(t)}{dt} = 3k_b B(t) - k_e E(t), \quad (5)$$

$$\frac{dF(t)}{dt} = 4k_e E(t) - k_f F(t), \quad (6)$$

$$\frac{dG(t)}{dt} = -k_g G(t), \quad (7)$$

$$\frac{dH(t)}{dt} = 0,985(pk_g G(t) + (1-p)k_f F(t)) - k_h H(t) - a_h H(t), \quad (8)$$

$$\frac{dI(t)}{dt} = k_h H(t) - k_i I(t) - a_i I(t), \quad (9)$$

$$\frac{dJ(t)}{dt} = k_i I(t) - a_j J(t), \quad (10)$$

$$\frac{dK(t)}{dt} = 0,042(pk_g G(t) + (1-p)k_f F(t)), \quad (11)$$

где $A-K$ — доля выживших клеток популяции: A — покоящихся нервных стволовых клеток, B — делящихся нервных стволовых клеток, C — астроцитарных клеток-предшественников, D — астроцитов, E, F, G — амплифицирующих нейрональных предшественников, H — нейробластов, I — незрелых нейронов, J — зрелых нейронов, K — олигодендроцитов; k_{a-i} — скорость производства (активации, деления или дифференциации); $a_{h,i,j}$ — скорость апоптоза. Граничное условие в точке $t = 0$ для популяций A, D, G, H, I, J, K равно 1, для популяций B, C, E, F равно 0. Скорости процессов активации, деления и дифференциации рассчитаны в приближении постоянства скорости по уравнениям

$$k = \frac{1}{t} \ln \frac{X_0}{X}, \quad (12)$$

$$k = \frac{1}{\tau}, \quad (13)$$

где k — скорость производства (активации, деления или дифференциации); t — время; X — доля выживших клеток в момент времени t ; X_0 — доля выживших клеток в момент времени t_0 ; τ — средняя продолжительность жизни клеток в популяции. Уравнение (12) используется для оценки параметров производства в популяции нервных стволовых клеток, амплифицирующих нейрональных предшественников, незрелых нейронов и нейробластов, по данным из [9, 19], а уравнение (13) — для популяций делящихся клеток, средняя продолжительность жизни которых интерпретируется как среднее время жизни клетки до вступления в процесс деления или дифференциации. Параметры апоптоза подобраны вручную.

В предыдущих исследованиях [20–22] нами было рассмотрено возрастное и радиационно-индуцированное изменение нейрогенеза у взрослых на основе модели асимметричного деления НСК. Настоящая модель отличается от предыдущей уравнениями, описывающими популяцию АНП (6)–(8), (11), что отражается на точности получаемых данных. В прошлом мы учитывали доли делящихся и неделящихся клеток АНП в одной общей популяции, которая дифференцировалась в нейробласты и олигодендроциты с параметром производства, подобранным вручную. В данной модели мы отказались от подобного рассмотрения и отдельно учитываем дифференциацию делящихся и неделящихся АНП в соответствии с данными экспериментов. Отметим, что рассчитанные значения параметров производства для популяций нервных стволовых клеток и амплифицирующих нейрональных предшественников совпадают с максимальными значениями оценок скорости производства из работы [9] для тех же популяций. Численные значения скоростей производства и апоптоза приведены в табл. 1, в единицах $1/\tau$, для наглядного сравнения параметров средней продолжительности жизни различных популяций клеток.

Влияние острого облучения рентгеновскими лучами моделируется вводом дополнительного члена в уравнения с параметром радиационной гибели клеток для расчета начального значения числа клеток согласно модели, описанной в работе [10]. Началь-

Таблица 1. Параметры производства и апоптоза

Параметр	Скорость производства, сут ⁻¹	Источник
k_a	1/91	Аппроксимация результатов из [9]
k_b	1/4,48	Экспериментальные данные из [9]
k_c	1/8,41	Экспериментальные данные из [9]
k_e	1/2,9	Экспериментальные данные из [9]
k_f	1/1,25	Экспериментальные данные из [9]
k_g	1/206	Аппроксимация результатов из [9]
k_h	1/53	Аппроксимация результатов из [24]
k_i	1/81	Аппроксимация результатов из [24]
a_h	1/18	Подгоночный параметр
a_i	1/81	Подгоночный параметр
a_j	1/2000	Подгоночный параметр

ные условия для уравнений (1)–(11) рассчитываются по формуле

$$n(t) = n_0(t) \exp\left(-\frac{d}{d_0}\right), \quad (14)$$

где $n(t)$ — число выживших клеток после облучения; n_0 — число клеток до облучения; d — поглощенная доза облучения; d_0 — характеристическая доза облучения (табл. 2). Расчет характеристических доз основан на аппроксимации данных экспоненциальной функцией, взятых из работ по влиянию рентгеновского излучения на выживаемость клеток [7, 17, 23]. Поскольку эксперименты по выживаемости НСК и АНП проводились на 45-е сутки, а НБ и НЗН — на 21-е и 60-е сутки жизни мыши, было решено привести данные в соответствии с временем облучения. Для этого характеристические дозы для нейробластов и незрелых нейронов были пересчитаны для 45-х суток в приближении линейной аппроксимации и составили 1,7 и 7,4 Гр соответственно. В отличие от работы [22] в модель добавлены параметры, учитывающие гибель популяций делящихся НСК и АНП, по данным из [23], но не учитывающие восстановление пролиферации клеток. Характеристическая доза делящихся НСК составляет 2,35 Гр, делящихся АНП — 1,84 Гр. Для остальных популяций экспоненциальный член в уравнении (14) приближенно равен 1, так как рентгеновские лучи существенно не влияют на их численность после облучения.

Таблица 2. Характеристические дозы рентгеновского излучения при облучении мыши на 45-е сутки жизни

Популяция клеток	Характеристическая доза d_0 , Гр
пНСК (A)	25,8
НСК (B)	2,35
АНП (E, F)	1,84
АНП (G)	4,21
НБ (H)	1,7
НЗН (I)	7,4

4. РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты моделирования возрастной динамики нейрогенеза представлены на рис. 4–6. Графики на рис. 4 демонстрируют долю выживших клеток, участвующих в процессах активации покоящихся стволовых клеток, тройном каскаде асимметричных делений и дифференциации в астроциты. Оценка доли активированных клеток позволила воспроизвести экспериментальные данные по числу астроцитов [14], предсказывая быстрое увеличение численности популяции в первые полгода жизни мыши.

На рис. 5, а, б изображен рост популяции новообразованных амплифицирующих нейрональных предшественников в результате двух симметричных делений. Возрастное снижение общей популяции амплифицирующих нейрональных предшественников представлено на рис. 5, в. Вклад обеих популяций в соответствующих долях на прирост численности олигодендроцитов показан на рис. 5, г. Число новообразованных

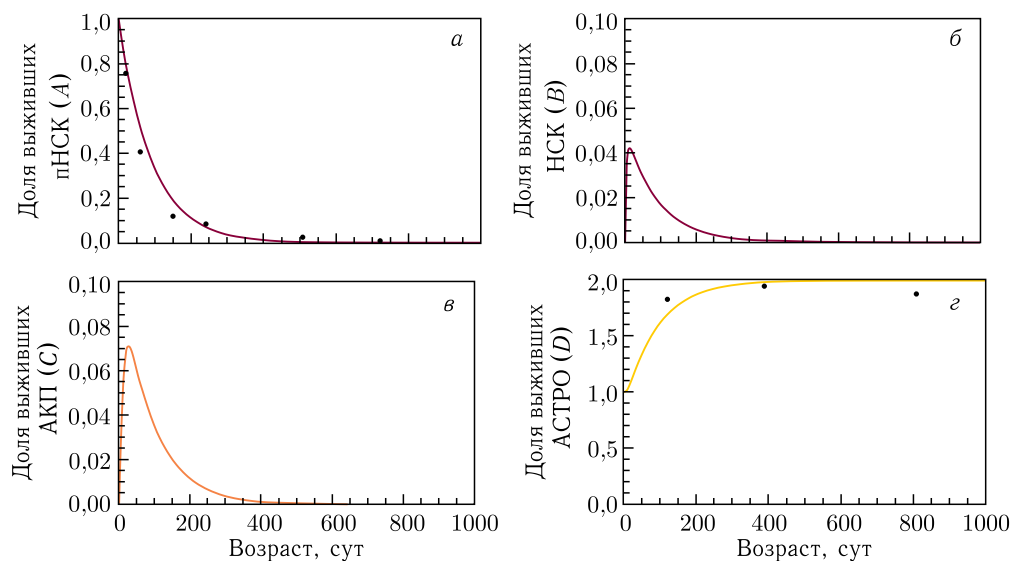


Рис. 4. Возрастная динамика относительного числа клеток в популяции: а) покоящихся нервных стволовых клеток (популяция А); б) нервных стволовых клеток, участвующих в асимметричном делении (популяция В); в) нервных стволовых клеток, прошедших тройной каскад делений и являющихся астроцитарными клетками-предшественниками (популяция С); г) астроцитов (популяция D). Значения R^2 составляют 0,974 и 0,996 для покоящихся НСК и астроцитов соответственно. Экспериментальные данные взяты из [9, 14]

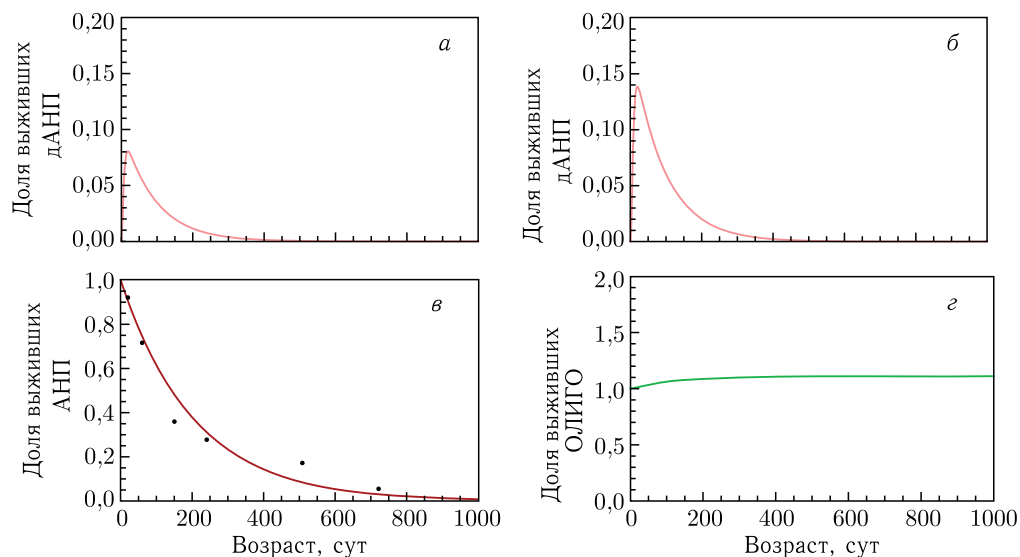


Рис. 5. Возрастная динамика относительного числа клеток в популяции: а) АНП, появившихся в результате деления нервных стволовых клеток (популяция E); б) популяции АНП после двух симметричных делений (популяция F); в) общей популяции АНП; г) популяции олигодендроцитов (популяция K). Значение R^2 для общей популяции АНП составляет 0,983. Экспериментальные данные взяты из [9]

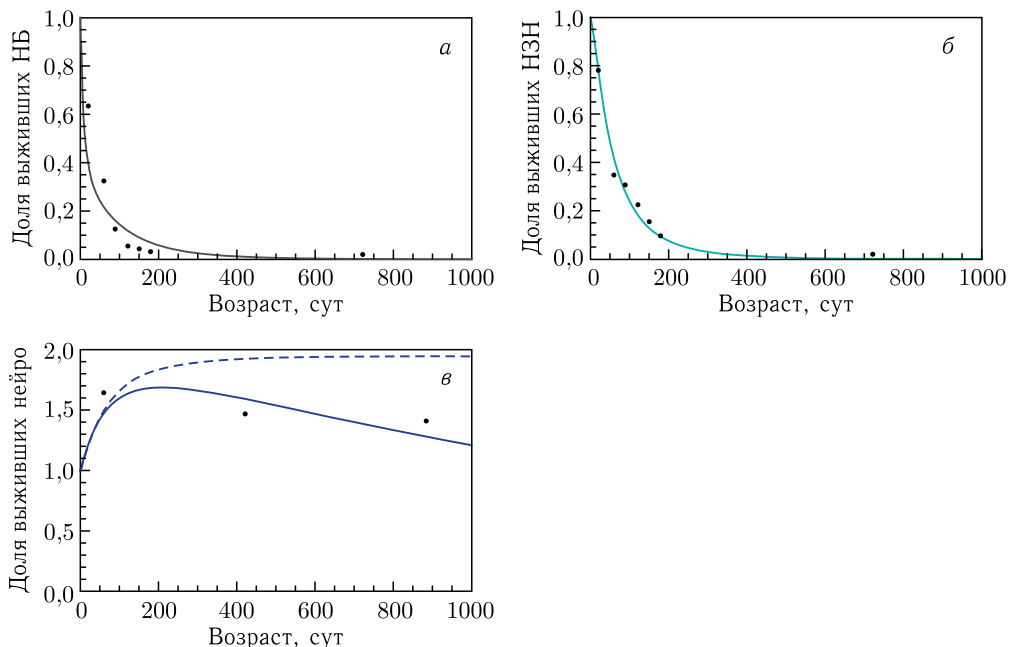


Рис. 6. Возрастная динамика относительного числа клеток в популяции: *а*) нейробластов (популяция H); *б*) незрелых нейронов (популяция L); *в*) зрелых нейронов (популяция J). Штриховая линия — возрастная динамика численности зрелых нейронов без учета апоптоза. Значения R^2 составляют 0,839, 0,989 и 0,990 для нейробластов, незрелых нейронов и зрелых нейронов соответственно. Экспериментальные данные взяты из [24, 25]

олигодендроцитов близко к исходному числу клеток и не меняется на протяжении жизни, что подтверждает экспериментальные наблюдения из [15–17].

Кроме того, воспроизведена динамика популяций нейробластов и незрелых нейронов [24], учитывающая процессы дифференциации и апоптоза, за счет оценки параметров гибели нейрональных предшественников (рис. 6, *а*, *б*). Ввод параметра возрастной гибели зрелых нейронов, несмотря на малую величину, модернизирует модельную кривую, позволяя точнее описать экспериментальные данные [25]. В итоге возрастную зависимость числа зрелых нейронов можно охарактеризовать быстрым ростом в первый год и плавным снижением числа клеток в течение жизни организма (рис. 6, *в*).

Дозозависимый ответ на облучение рентгеновскими лучами популяций НСК и АНП представлен на рис. 7. Как видно из графиков, делящиеся клетки имеют низкую выживаемость в отличие от покоящихся субпопуляций клеток. Таким образом, именно делящиеся клетки будут вносить основной вклад в уменьшение числа зрелых типов клеток, дифференцирующихся из данных типов предшественников.

Сравнение оценки доли выживших клеток в модели симметричного и асимметричного деления для популяции нейробластов и незрелых нейронов на 21-е и 60-е сутки жизни мыши показано на рис. 8. В отличие от работы [10] мы не учитывали восстановление повреждений клеток после облучения рентгеновскими лучами, однако значения коэффициента детерминации в нашей модели оказались выше. Их значения

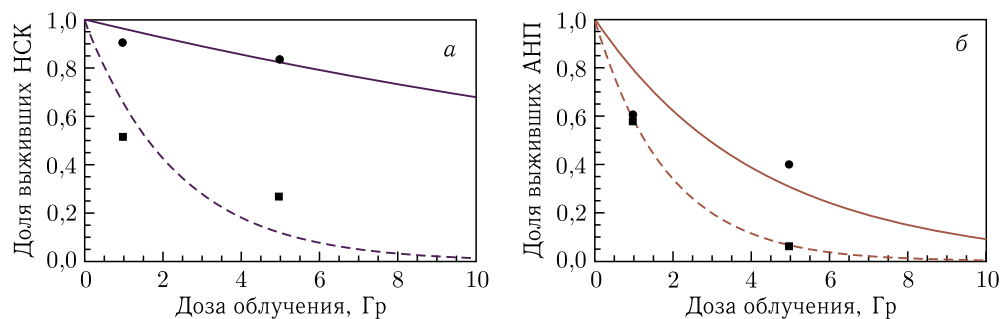


Рис. 7. Сравнение доли выживших покоящихся и делящихся популяций: а) НСК на 45-е сутки жизни мыши; б) АНП на 45-е сутки жизни мыши — после острого рентгеновского облучения дозами 1 и 5 Гр. Делящимся популяциям клеток соответствуют штриховые линии и квадраты, покоящимся популяциям — сплошные линии и кружки. Экспериментальные данные взяты из [23]

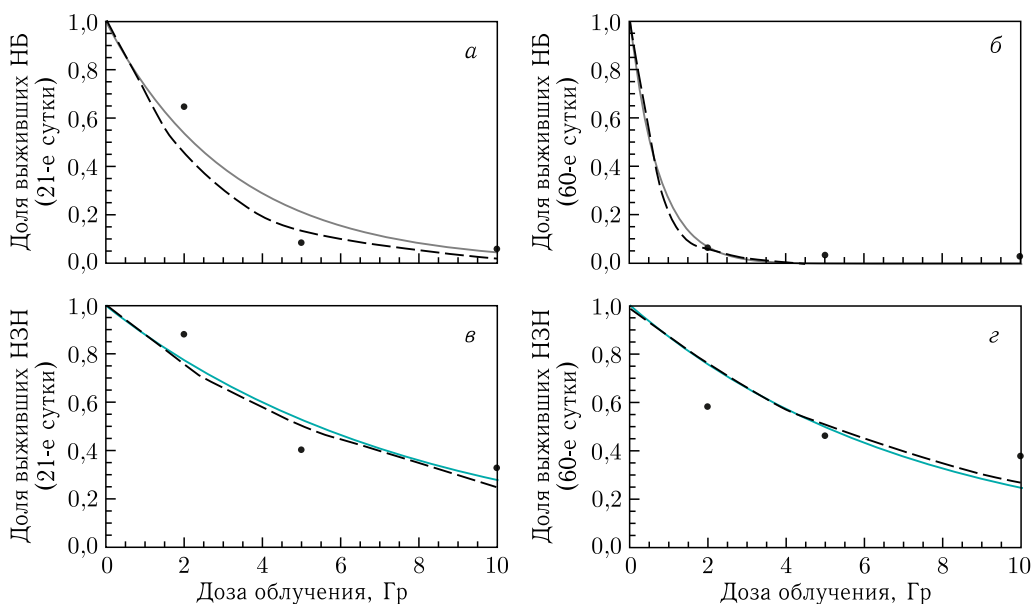


Рис. 8. Сравнение доли выживших популяций: а) нейробластов на 21-е сутки жизни мыши; б) нейробластов на 60-е сутки жизни мыши; в) незрелых нейронов на 21-е сутки жизни мыши; г) незрелых нейронов на 60-е сутки жизни мыши — после острого рентгеновского облучения дозами 2, 5 и 10 Гр. Штриховая линия — результаты моделирования из [10], сплошная линия — результаты данного исследования

составили 0,980 и 0,997 для нейробластов (0,929 и 0,995 в [10]), а также 0,985 и 0,971 для незрелых нейронов (0,909 и 0,807 в [10]).

После перерасчета характеристических доз на 45-е сутки жизни мыши были рассчитаны доли выживших зрелых типов клеток (рис. 9), подвергшихся рентгеновскому

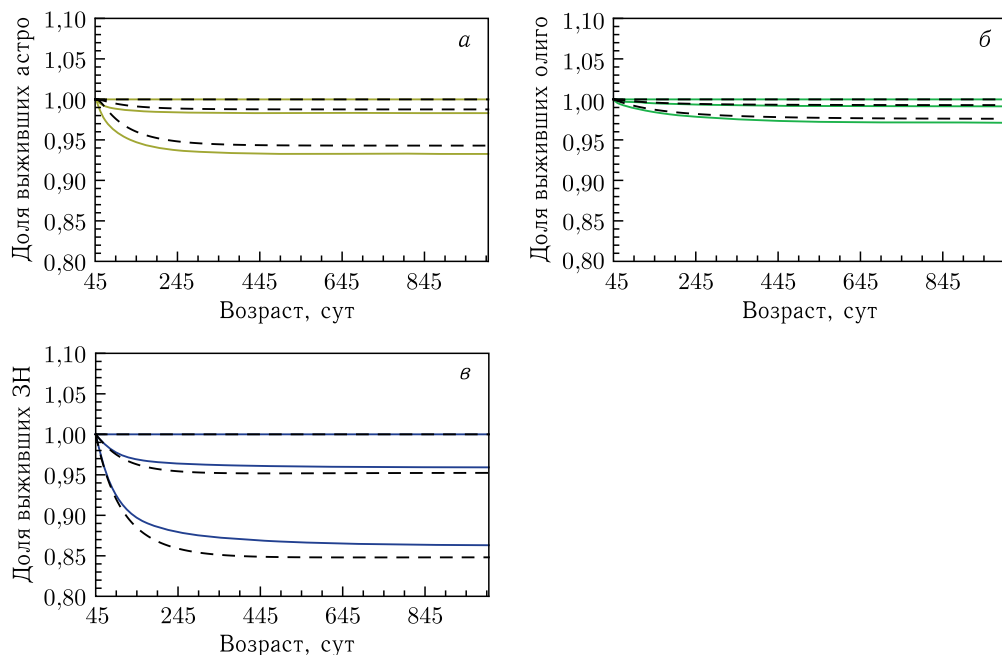


Рис. 9. Сравнение временной динамики численности популяций: а) астроцитов; б) олигодендроцитов; в) зрелых нейронов — после острого рентгеновского облучения дозами 1 и 5 Гр на 45-е сутки жизни мыши. Штриховая линия — результаты моделирования из [22], сплошная линия — результаты данного исследования. Кривые на графиках нормированы относительно динамики численности необлученных мышей после действия рентгеновского излучения

облучению дозами 0, 1, 5 Гр. Полученные результаты сравнивались с дозозависимыми кривыми, полученными из предыдущей модели [22]. Все графики демонстрируют уменьшение числа выживших клеток с увеличением дозы излучения.

Уменьшение числа астроцитов составляет порядка 5–7 % при высоких дозах облучения (рис. 9, а), что напрямую связано с гибелью покоящихся нервных стволовых клеток, являющихся предшественниками данного типа клеток. Учет гибели делящихся НСК смещает оценку в сторону дополнительной гибели астроцитов, составляющей 1–2 % в сравнении с предыдущей моделью.

Влияние рентгеновских лучей на производство олигодендроцитов самое маленькое среди зрелых типов клеток — порядка 2–3 % (рис. 9, б). Это объясняется низкой долей АНП, дифференцирующихся в зрелые олигодендроциты. Разделение популяций делящихся и неделящихся АНП не повлияло на результаты моделирования.

Популяция зрелых нейронов теряет порядка 15 % от числа новообразованных клеток при высоких дозах излучения, что является максимальным среди рассмотренных типов зрелых клеток (рис. 9, в). Это связано с совокупным эффектом уменьшения численности всех клеток-предшественников, а также с высокой радиочувствительностью нейробластов, чья популяция гибнет более чем на 95 % при дозах порядка 5 Гр относительно необлученной популяции клеток. Альтернативный учет популяции АНП уменьшает оценку гибели зрелых нейронов на 1–2 % при высоких дозах излучения из-за учета двух независимых процессов дифференциации, а не одного.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На базе модифицированной модели асимметричного деления стволовых клеток разработана математическая модель радиационно-индуцированного нарушения нейрогенеза, учитывающая популяции как клеток-предшественников, так и зрелых клеток. В рамках модели воспроизведены уже известные зависимости возрастного уменьшения числа клеток в популяциях нервных стволовых клеток, амплифицирующих нейрональных предшественников, нейробластов и незрелых нейронов. Впервые воспроизведена динамика изменения численности астроцитов, олигодендроцитов и зрелых нейронов в зубчатой извилине гиппокампа мышей.

Воспроизведенная динамика численности астроцитов соответствует результатам работы по выявлению возрастных изменений в гиппокампальном нейрогенезе [13]. В данной работе описана модель, совмещающая как симметричные, так и асимметричные деления стволовых клеток, а возрастная астроцитарная динамика моделируется за счет активации покоящихся нервных стволовых клеток. При этом 47% активированных НСК дифференцируются в астроциты, а 53% подвергаются быстрому апоптозу. Модель воспроизводит экспериментальные данные, демонстрирующие двукратное увеличение числа астроцитов с 50-х по 400-е сутки жизни организма с последующим выходом кривой на плато. В нашей модели все активированные НСК преобразуются в астроциты. Относительное число астроцитов увеличивается в 1,5 раза в интервале от 50-х до 400-х суток и не более чем в два раза на протяжении всей жизни организма. Несмотря на разницу модельных подходов и скоростей образования астроцитов, обе модели предсказывают рост популяции астроцитов в два раза в первые 100–150 сут жизни организма, после чего прирост численности остается неизменным.

Что касается возрастной динамики олигодендроцитов, то, несмотря на воспроизведенные экспериментальные наблюдения, остается открытым вопрос о скорости дифференциации амплифицирующих нейрональных предшественников в зрелые олигодендроциты. Известно, что в гиппокампе мозга существуют три типа олигодендроцитов, которые, вероятно, представляют собой стадии процесса созревания, при которых один тип может трансформироваться в другой [26]. Для полноценного моделирования нейрогенеза у взрослых необходимо знать скорости дифференциации каждого типа олигодендроцитов и доли клеток, подвергающихся дифференциации. В нашей модели мы оценили лишь долю образующихся зрелых олигодендроцитов, а скорость дифференциации АНП в олигодендроциты приравняли к скорости дифференциации АНП в нейробласты. Данное приближение воспроизводит известные экспериментальные наблюдения, однако для моделирования популяционной динамики всех участников нейрогенеза также требуется рассмотреть популяции предшественников олигодендроцитов и незрелых олигодендроцитов.

Экспериментальные данные возрастного изменения числа зрелых нейронов воспроизводятся при учете параметра возрастного уменьшения числа нейронов за счет апоптоза, скорость которого сравнима со средней продолжительностью жизни организма. Медленный апоптоз новообразованных нейронов в совокупности с уменьшением численности нервных стволовых клеток приводит к уменьшению числа зрелых нейронов с возрастом, чем объясняется снижение когнитивных способностей в процессе старения организма.

Моделирование краткосрочного влияния рентгеновского излучения на клетки-предшественники астроцитов, олигодендроцитов и зрелых нейронов показало, что численность зрелых типов клеток после облучения не восстанавливается в течение всей жизни мыши, составляющей порядка 900 сут. Дополнительный учет влияния рентгеновских лучей на популяции делящихся НСК, делящихся АНП и неделящихся АНП показал незначительное уменьшение числа астроцитов и увеличение выживаемости зрелых нейронов в пределах 1–3% в сравнении с предыдущей моделью.

Представленная модель радиационно-индуцированного нарушения нейрогенеза у взрослых на базе модифицированной модели асимметричного деления нервных стволовых клеток может использоваться для оценки влияния рентгеновского излучения и тяжелых ионов на выживаемость как зрелых типов клеток, так и клеток-предшественников. В отличие от модели радиационно-индуцированного нарушения нейрогенеза на базе симметричного деления наша модель не рассматривает влияние факторов, учитывающих нарушения пролиферации делящихся клеток, а также увеличение числа активированной микроглии, реагирующей на множественные очаги воспаления в микроокружении клеток зубчатой извилины. Однако дальнейшая модернизация модели с учетом описанных закономерностей позволит предсказать долгосрочные последствия действия облучения на нейрогенез.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Monje M. L., Palmer T.* Radiation Injury and Neurogenesis // *Curr. Opin. Neurol.* 2003. V. 16, No. 2. P. 129–134.
2. *Smith M. A., Ries L. G., Gurney J. G., Bondy M. L., Plon S. E., Malkin D., Look A. T., Kirsch I. R., Thiele C. J., Kastan M. B. et al.* Principles and Practice of Pediatric Oncology Pizzo PAPoplack GD. 2002.
3. *Radcliffe J., Packer R. J., Atkins T. E., Bunin G. R., Schut L., Goldwein J. W., Sutton L. N.* Three and Four-Year Cognitive Outcome in Children with Noncortical Brain Tumors Treated with Whole-Brain Radiotherapy // *Ann. Neurology: Official J. Am. Neurol. Assoc. Child Neurol. Soc.* 1992. V. 32, No. 4. P. 551–554.
4. *Lackner H., Benesch M., Schagerl S., Kerbl R., Schwinger W., Urban C.* Prospective Evaluation of Late Effects after Childhood Cancer Therapy with a Follow-Up over 9 Years // *Eur. J. Pediatrics.* 2000. V. 159, No. 10. P. 750–758.
5. *Crossen J. R., Garwood D., Glatstein E., Neuwelt E. A.* Neurobehavioral Sequelae of Cranial Irradiation in Adults: A Review of Radiation-Induced Encephalopathy // *J. Clin. Oncol.* 1994. V. 12, No. 3. P. 627–642.
6. *Monje M. L., Mizumatsu S., Fike J. R., Palmer T. D.* Irradiation Induces Neural Precursor-Cell Dysfunction // *Nat. Med.* 2002. V. 8, No. 9. P. 955–962.
7. *Mizumatsu S., Monje M. L., Morhardt D. R., Rola R., Palmer T. D., Fike J. R.* Extreme Sensitivity of Adult Neurogenesis to Low Doses of X Irradiation // *Cancer Res.* 2003. V. 63, No. 14. P. 4021–4027.
8. *Bonaguidi M. A., Wheeler M. A., Shapiro J. S., Stadel R. P., Sun G. J., Ming G. L., Song H.* *In Vivo* Clonal Analysis Reveals Self-Renewing and Multipotent Adult Neural Stem Cell Characteristics // *Cell.* 2011. V. 145, No. 7. P. 1142–1155.
9. *Encinas J. M., Michurina T. V., Peunova N., Park J. H., Tordo J., Peterson D. A., Fishell G., Koulakov A., Enikolopov G.* Division-Coupled Astrocytic Differentiation and Age-Related Depletion of Neural Stem Cells in the Adult Hippocampus // *Cell Stem Cell.* 2011. V. 8, No. 5. P. 566–579.

10. *Cacao E., Cucinotta F.A.* Modeling Impaired Hippocampal Neurogenesis after Radiation Exposure // *Radiat. Res.* 2016. V. 185, No. 3. P. 319–331.
11. *Cacao E., Kapkotuwa S., Cucinotta F.A.* Modeling Reveals the Dependence of Hippocampal Neurogenesis Radiosensitivity on Age and Strain of Rats // *Front. Neurosci.* 2018. V. 12. P. 980.
12. *Ziebell F., Martin-Villalba A., Marciniak-Czochra A.* Mathematical Modelling of Adult Hippocampal Neurogenesis: Effects of Altered Stem Cell Dynamics on Cell Counts and Bromodeoxyuridine-Labelled Cells // *J. Roy. Soc. Interface.* 2014. V. 11, No. 94. P. 20140144.
13. *Ziebell F., Dehler S., Martin-Villalba A., Marciniak-Czochra A.* Revealing Age-Related Changes of Adult Hippocampal Neurogenesis Using Mathematical Models // *Development.* 2018. V. 145, No. 1. P. dev153544.
14. *Long J.M., Kalehua A.N., Muth N.J., Calhoun M.E., Jucker M., Hengemihle J.M., Ingram D.K., Mouton P.R.* Stereological Analysis of Astrocyte and Microglia in Aging Mouse Hippocampus // *Neurobiol. Aging.* 1998. V. 19, No. 5. P. 497–503.
15. *Keller D., Erö C., Markram H.* Cell Densities in the Mouse Brain: A Systematic Review // *Front. Neuroanat.* 2018. V. 12. P. 83.
16. *Steiner B., Kronenberg G., Jessberger S., Brandt M.D., Reuter K., Kempermann G.* Differential Regulation of Gliogenesis in the Context of Adult Hippocampal Neurogenesis in Mice // *Glia.* 2004. V. 46, No. 1. P. 41–52.
17. *Rola R., Raber J., Rizk A., Otsuka S., VandenBerg S.R., Morhardt D.R., Fike J.R.* Radiation-Induced Impairment of Hippocampal Neurogenesis Is Associated with Cognitive Deficits in Young Mice // *Exp. Neurol.* 2004. V. 188, No. 2. P. 316–330.
18. *Rieskamp J.D., Sarchet P., Smith B.M., Kirby E.D.* Stereological Characterization of the Major Cell Lineages in the Mouse Dorsal Dentate Gyrus // *bioRxiv.* 2019. P. 847350.
19. *Nada M.B., Slomianka L., Vyssotski A.L., Lipp H.P.* Early Age-Related Changes in Adult Hippocampal Neurogenesis in C57 Mice // *Neurobiol. Aging.* 2010. V. 31, No. 1. P. 151–161.
20. *Глебов А. А., Колесникова Е. А., Бугай А. Н.* Математическое моделирование нейрогенеза взрослых с учетом предшественников олигодендроцитов // *Медицинская и радиационная биофизика: Тр. XXVIII Междунар. конф. «Математика. Компьютер. Образование», Пушкино, Россия, 25–30 янв. 2021 г.* С. 126.
21. *Глебов А. А., Колесникова Е. А., Бугай А. Н.* Математическая модель нейрогенеза взрослых с учетом популяции зрелых нейронов // *Математика и мат. моделирование: Сб. материалов XV Всерос. молодежной научно-инновационной школы, Саров, Россия, 13–15 апр. 2021 г.* С. 123–124.
22. *Глебов А. А., Колесникова Е. А., Бугай А. Н.* Моделирование нарушения нейрогенеза после острого облучения мышей рентгеновскими лучами // *Актуальные вопросы биол. физики и химии.* 2021. Т. 6, № 2. С. 280.
23. *Mineyeva O.A., Bezriadnov D.V., Kedrov A.V., Lazutkin A.A., Anokhin K.V., Enikolopov G.N.* Radiation Induces Distinct Changes in Defined Subpopulations of Neural Stem and Progenitor Cells in the Adult Hippocampus // *Front. Neurosci.* 2019. V. 12. P. 1013.
24. *Andres-Mach M., Rola R., Fike J.R.* Radiation Effects on Neural Precursor Cells in the Dentate Gyrus // *Cell Tissue Res.* 2008. V. 331, No. 1. P. 251–262.
25. *Calhoun M.E., Kurth D., Phinney A.L., Long J.M., Hengemihle J., Mouton P.R., Ingram D.K., Jucker M.* Hippocampal Neuron and Synaptophysin-Positive Bouton Number in Aging C57BL/6 Mice // *Neurobiol. Aging.* 1998. V. 19, No. 6. P. 599–606.
26. *Vinet J., Lemieux P., Tamburri A., Tiesinga P., Scafidi J., Gallo V., Sik A.* Subclasses of Oligodendrocytes Populate the Mouse Hippocampus // *Eur. J. Neurosci.* 2010. V. 31, No. 3. P. 425–438.