

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ИНСТИТУТ ВЫЧИСЛИТЕЛЬНОЙ МАТЕМАТИКИ И
МАТЕМАТИЧЕСКОЙ ГЕОФИЗИКИ
СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК
(ИВМиМГ СО РАН)**

Просп. Академнка Лаврентьева, 6, Новосибирск, 630090
Тел.: (383)330-83-53, факс (383)330-87-83, e-mail: director@sscc.ru
ОКПО 03533843, ОГРН 1025403656420, ИНН/КПП 5408100025/540801001

04.04.2022 №15301/1-01-09

На № _____ от _____

УТВЕРЖДАЮ

Директор Федерального государственного
бюджетного учреждения науки

«Институт вычислительной математики и
математической геофизики
Сибирского отделения Российской академии наук»

д.ф.-м. н., профессор РАН

М. А. Марченко

_____ 2022 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации о диссертации Сенотрусовой Софьи Дмитриевны
«Математическое моделирование функционирования системы биомаркеров
дегенеративных заболеваний», представленной на соискание ученой степени кандидата
физико-математических наук по специальности 05.13.18 – «математическое
моделирование, численные методы и комплексы программ»

Актуальность. Тематика диссертационной работы Софьи Дмитриевны Сенотрусовой связана с одной из наиболее актуальных проблем современной биологии и медицины – разработкой новых подходов к диагностике и терапии разных видов рака, деменций, сердечно-сосудистых и других дегенеративных заболеваний из первой десятки наиболее опасных для человека. Более глубокое понимание значения молекулярно-генетических биомаркеров в нормальном функционировании белковых сигнальных путей, обеспечивающих регуляцию генетически детерминированных программ клеточной реакции на повреждение ДНК, является необходимым условием для создания технологий раннего обнаружения и контроля патологических изменений в клетках и тканях, разработки и внедрения в клиническую практику научно обоснованных общедоступных пациент-ориентированных терапевтических противораковых и антидегенеративных стратегий.

Конкретная тема диссертационного исследования связана с изучением методом математического моделирования механизмов управления клеточной реакцией на

повреждение ДНК, которая осуществляется через сложную систему положительных и отрицательных прямых и обратных связей белка p53 («стража генома») с другими белками и с многочисленными микроРНК. Это важнейшая научная проблема, с решением которой напрямую связывается прогресс в области биомедицины, затронутой в диссертационной работе. Математические модели, позволяющие лучше понять механизмы и общие закономерности функционирования сигнального пути p53 в заданных условиях, качественно и количественно оценить роль и поведение p53-зависимых микроРНК и находящихся под их контролем белков-ингибиторов p53, являются ценным инструментом исследования.

В диссертации разработан оригинальный подход к моделированию сложного многофакторного биологического процесса, в котором особое место отводится базовым малоразмерным математическим моделям, позволяющим рассмотреть исследуемый объект с самых общих позиций, предсказать некоторые фундаментальные свойства и особенности поведения, систематизировать имеющуюся экспериментальную информацию. Актуальность подобного подхода диктуется крайне высоким темпом накопления и объемом экспериментальной информации, требующей систематизации и формализации, в том числе с помощью математического моделирования.

В работе представлена реализация технологической цепочки вычислительного эксперимента, направленного на исследование закономерностей функционирования биологической системы типа p53–ингибитор–микроРНК, в которой каждый из элементов является или претендует на роль биомаркера дегенеративных заболеваний. Применяется системно-биологический подход, в рамках которого ставится и решается задача построения минимальной математической модели, обладающей определенной универсальностью в смысле описания достаточно широкого круга белков-ингибиторов p53 и p53-зависимых микроРНК.

Цели диссертационной работы состоят в разработке в рамках системно-биологического подхода базовой минимальной математической модели функционирования системы p53–белок-ингибитор–микроРНК, создании на ее основе иерархии более полных математических моделей, описывающих широкий круг экспериментальных данных, и в их использовании для исследования закономерностей функционирования системы биомаркеров дегенеративных заболеваний, анализа терапевтического и диагностического потенциала p53-зависимых микроРНК.

Достижение указанных целей обеспечивается в диссертации решением следующих задач: разработкой эффективных численных алгоритмов и программного комплекса, ориентированных на решение прямых и обратных коэффициентных задач для нелинейных систем функционально-дифференциальных уравнений с запаздыванием и систем ОДУ высокой размерности; проведением комплекса численных исследований, связанных с разработкой новой базовой модели – тестированием, калибровкой и валидацией модели, анализом качественных свойств решений, оценкой чувствительности и границ применимости модели, сопоставительным анализом иерархии моделей достаточно близкого уровня полноты; численным анализом существования связи минимальных моделей, основанных на использовании функционально-дифференциальных уравнений с запаздывающими аргументами, с моделями в виде систем ОДУ высокой размерности, описывающими явно многостадийный процесс передачи биохимического сигнала в системе типа p53–белок-ингибитор–микроРНК; созданием наследующей свойства базовой

модели иерархии более полных математических моделей, их структурной и параметрической идентификацией с привлечением широкого круга экспериментальных данных; проведением комплексного исследования конкретных механизмов и общих закономерностей функционирования систем типа р53–белок-ингибитор–микроРНК, роли микроРНК в патогенезе дегенеративных заболеваний, при реализации гипотетических терапевтических стратегий и анализа надежности микроРНК как диагностических биомаркеров.

Структура и основное содержание диссертационной работы. Диссертация изложена на 206 страницах и состоит из введения, четырех глав, заключения и приложения. Список цитируемой литературы включает 250 источников.

Во введении кратко представлены основные достижения биологической науки в области исследования, дан обзор существующих математических моделей в области исследования функционирования сигнального пути р53 с особым вниманием на модели с учетом микроРНК. Обосновывается актуальность темы исследований, формулируются цель, задачи, научная новизна работы и положения, выносимые на защиту.

В главе 1 разработана базовая математическая модель для упрощенной системы общего вида р53–ингибитор–микроРНК. Ядро предложенной модели составляет модель типа хищник–жертва колмогоровского типа, которая с помощью биокинетических функций из класса Гольдбетера–Кошланда и Михаэлиса–Ментен описывает взаимодействие р53–ингибитор.

Разработан численный алгоритм решения прямой и обратной коэффициентной задачи для жестких нелинейных систем дифференциальных уравнений с запаздывающими аргументами, основанный на методе последовательного интегрирования, методах решения задачи Коши и генетическом алгоритме BGA. Выполнен необходимый комплекс методических расчетов, дано краткое описание комплекса программ.

На основе сопоставления результатов численного анализа с экспериментальными данными решена задача параметрической идентификации этой модели применительно к ряду биологических процессов, представлена схема вычислительного эксперимента, доказывающего определенную универсальность модели как модели общего вида. Численно исследованы качественные свойства ее решений в биологически значимом диапазоне параметров и чувствительность модели. Для рассматриваемого класса задач предложен основанный на анализе экспериментальных данных способ разделения фазового пространства на области характерных состояний моделируемой системы биомаркеров р53–ингибитор–микроРНК, что является необходимой частью реализации идеи использования модели и результатов моделирования как инструмента диагностики дегенеративных нарушений.

Во второй главе исследуется важный с математической и биологической точек зрения вопрос о связи разработанных в главе 1 минимальных моделей систем типа р53–ингибитор и р53–ингибитор–микроРНК, основанных на дифференциальных уравнениях с запаздыванием, с моделями в виде систем ОДУ высокой размерности, описывающими функционирование этих систем как процесс с множеством быстропротекающих стадий передачи биохимического сигнала. В ходе численных экспериментов, демонстрирующих связь двух постановок задач, решается последовательность задач Коши для системы ОДУ, в которой количество число уравнений (промежуточных стадий процесса) наращивается от десятка до нескольких сотен тысяч. Для нескольких постановок задач реализована и

уточнена известная схема вычислительного эксперимента, исследующего процесс предельного перехода от системы ОДУ с ростом ее размерности к системе уравнений с запаздыванием. На модельных примерах и на экспериментальных данных исследован процесс сходимости численных решений двух задач при конечном количестве стадий, предложено условие сходимости. Разработан неявный численный метод 1-го порядка решения задачи Коши, который дает определенные преимущества по точности при решении систем сверхвысокой размерности и полностью подтверждает результаты анализа решений, полученные с привлечением других численных методов. Проведены дополнительные исследования работоспособности генетического алгоритма BGA на данном классе задач.

В главе 3 рассматривается иерархия минимальных математических моделей функционирования системы p53–ингибитор–микроРНК, различающиеся видом функций взаимодействия белок–микроРНК и типом этой биологической связи. Выполнена калибровка, исследование чувствительности, качественных свойств и валидация моделей на экспериментальных данных. Показана преобладание свойств численных решений по мере усложнения моделей, включая способность описать фундаментальный механизм «бимодального» переключения состояний системы в условиях стрессовых воздействий.

По результатам сопоставительного анализа моделей предложена новая базовая модель для системы общего вида p53–ингибитор–микроРНК, в которой действуют одновременно петля отрицательной обратной связи p53–ингибитор и петля положительной обратной связи p53–микроРНК. В численных экспериментах в биологически значимом диапазоне значений параметров модели обнаружены стационарные, периодические и квазипериодические решения, рассчитаны линии нейтральности, параметрически определены границы области применимости (биологической адекватности) модели.

В применении разработанной базовой модели выполнен численный анализ общих закономерностей функционирования системы p53–ингибитор–микроРНК, которые представляют интерес как с точки зрения гипотетических вариантов микроРНК-зависимой противораковой терапии, так и с точки зрения формального обоснования важности регуляторной функции микроРНК в данной биологической системе. Показано, что гипотетически наиболее эффективной терапевтической стратегией является гиперактивация петли положительной обратной связи p53–микроРНК. Впервые показано, что в его основе лежит синергическое свойство больших сложных систем, проявляющееся в сверхусилении эффекта от объединения нескольких относительно слабых воздействий на отдельные сегменты рассматриваемой системы p53–ингибитор–микроРНК. На этом общем модельном примере показано, что ключевую роль в этом эффекте играют микроРНК, являющиеся негативными регуляторами белков-ингибитор p53.

В главе 4 представлены результаты комплексного исследования механизмов функционирования, регуляторной функции и диагностического потенциала p53-зависимых микроРНК при дегенеративных заболеваниях. При моделировании рассматриваются две группы экспериментальных исследований. Для первой из них основной задачей является анализ вариантов противораковых терапевтических стратегий, состоящих в принудительной активации сигнального пути p53 для запуска терминальных программ клеточного старения и апоптоза. Вторая группа направлена на изучение патологических механизмов активации p53 под влиянием оксидативного стресса, которая характерна для многих дегенеративных процессов и является причиной массовой гибели нормальных клеток. На основе базовой модели, предложенной в главе 3, разработаны более полные

математические модели, ориентированные на описание лабораторных данных. Показано, что все предложенные модели характеризуются общностью структуры уравнений и базовых свойств решений, а также достаточной близостью значений соответствующих параметров в сходных условиях функционирования биологической системы.

В данной главе представлены, в частности, результаты следующих численных экспериментов. Выполнено численное моделирование функционирования системы p53-Wip1-miR-16 в клетках остеосаркомы человека, получено согласие с экспериментальными данными. Проведено численное исследование сверхэкспрессии микроРНК как способа подавления Wip1 в терапевтических целях, получен синергический эффект сверхактивации пути p53 под контролем микроРНК. Предложена математическая модель динамики системы p53-Wip1-miR-16-мРНК Wip1 и показана ее близость к базовой модели.

Выполнено численное моделирование функционирования системы p53-Mdm2-miR-34a-miR-192-miR-194-miR-215-p21 в клетках множественной миеломы. Предложена новая математическая модель, с использованием разработанного алгоритма и комплекса программ решена задача структурной и параметрической идентификации модели, получено хорошее согласие с экспериментальными данными. Выполнен численный анализ функционирования системы в норме, при патологии и при терапевтическом воздействии. Показано, что в рамках принятой модели внешнее воздействие на биологическую систему химиопрепаратом может быть описано как явным введением функциональных зависимостей, так и с помощью варьирования констант скоростей соответствующих биохимических реакций.

Разработана математическая модель динамики системы p53-Sirt1-микроРНК и ее модификаций в условиях оксидативного стресса. С привлечением экспериментальных данных решена задача структурной и параметрической идентификации математических моделей и выполнено численное исследование функционирования системы в эпителиальных клетках дыхательных путей при ХОБЛ, фиброзе печени у крыс, а также в клетках мозга трансгенных мышей линии Ts65Dn с фенотипическими проявлениями синдрома Дауна, характерными для человека, и ранними молекулярно-клеточными признаками болезни Альцгеймера. Исследованы гипотетические терапевтические стратегии, нацеленные на ингибирование активности p53 и находящихся под его контролем программ клеточной смерти, инициированных оксидативным стрессом.

Результаты численного моделирования указанных задач привлекаются для анализа основных закономерностей функционирования системы вида p53-ингибитор-микроРНК, в которой действует петля положительной обратной связи p53-микроРНК. Выявленные закономерности объясняют достаточно высокий диагностический потенциал исследуемой системы биомаркеров дегенеративных заболеваний и позволяют определить наиболее эффективные терапевтические стратегии с участием p53-зависимых микроРНК. Даны реалистичные оценки надежности микроРНК-диагностики дегенеративных заболеваний при относительно слабых нарушениях в механизмах функционирования микроРНК.

В заключении сформулированы основные результаты работы.

В приложении приведено свидетельство о регистрации программы для ЭВМ.

Научная новизна диссертационной работы Сенотрусовой С.Д. заключается в следующем:

1. разработаны, реализованы в виде программного комплекса и применены к решению широкого круга задач, связанных с моделированием биохимических процессов и

гипотетических генных сетей, эффективные численные алгоритмы решения прямых и обратных коэффициентных задач. Для численного решения задачи Коши для системы ОДУ высокой размерности разработана неявная схема 1-го порядка, которая сводит решение нелинейной системы ОДУ специального вида к аналитическому решению трех СЛАУ и решению нелинейного алгебраического уравнения. Разработанные алгоритмы демонстрируют высокую работоспособность как при решении начальных задач для нелинейных систем функционально-дифференциальных уравнений с запаздывающими аргументами и систем ОДУ 1-го порядка размерности $n \gg 1000$, так и при решении обратных коэффициентных задач, в том числе в условиях структурной неопределенности уравнений;

2. в рамках системно-биологического подхода разработана новая базовая минимальная математическая модель функционирования системы p53–белок-ингибитор–микроРНК (положительная обратная связь p53–микроРНК, реализующаяся через регуляторное воздействие микроРНК на белок-ингибитор p53). Выполнены тестирование, калибровка и валидация модели на основе экспериментальных данных, численный анализ качественных свойств решений, анализ чувствительности модели к малым возмущениям параметров. Показано, что модель, в которой взаимосвязь белок–ингибитор и белок–микроРНК аппроксимируется кинетической функцией типа Гольдбетера–Кошланда, обеспечивает описание широкого спектра состояний биологической системы и наблюдаемого в экспериментах механизма «бимодального» переключения системы из нормального состояния в состояния риска рака или массовой гибели клеток;
3. для ряда упрощенных математических моделей функционирования системы p53–белок-ингибитор и системы p53–белок-ингибитор–микроРНК, основанных на функционально-дифференциальных уравнениях с запаздыванием, численно показана связь с моделями в виде системы ОДУ высокой размерности, которые явно описывают функционирование той же самой системы как многостадийный процесс с линейным представлением промежуточных стадий. Впервые показано, что в численных экспериментах с ростом числа промежуточных стадий «предельный» переход от решения системы ОДУ к решению уравнения с запаздыванием характеризуется асимптотическим степенным законом n^{-q} (где $q > 0$), согласующимся с известной теоретической оценкой, только если $h \leq C\tau/n$, где n – количество промежуточных стадий, τ – параметр запаздывания, h – шаг расчетной сетки;
4. с привлечением базовой модели выполнено комплексное исследование функционирования ряда наиболее важных сегментов сигнального пути p53, которое включает в себя разработку иерархии новых более полных моделей и численное моделирование функционирования систем при терапевтических воздействиях на раковые клетки и при дегенеративных заболеваниях, сопровождающихся оксидативным стрессом;
5. с привлечением иерархии математических моделей и широкого круга лабораторных экспериментов выполнен численный анализ общих закономерностей функционирования системы p53–белок-ингибитор–микроРНК, определяющих диагностический и терапевтический потенциал p53, его ингибиторов и p53-зависимых микроРНК. Показана особая роль p53-зависимых микроРНК, которая состоит в обеспечении синергического эффекта гиперактивации петли положительной обратной связи p53–микроРНК в условиях стрессового или терапевтического воздействия на клетки-мишени.

Продемонстрирован аддитивный эффект гиперактивации p53 несколькими микроРНК (включая miR-34a), важный с точки зрения повышения точности микроРНК-диагностики и эффективности возможных терапевтических воздействий при дегенеративных заболеваниях. Выполнена оценка вероятности расхождения результатов микроРНК-диагностики дегенеративных заболеваний с результатами диагностики, основанной на анализе уровня p53. Результаты анализа согласуются с данными лабораторных исследований.

Научная и практическая значимость. Разработанная новая базовая математическая модель и основанная на ней иерархия моделей, а также результаты численного анализа представляют интерес в связи с решением актуальных задач исследования механизмов функционирования проапоптозного сигнального пути p53 и регуляторной функции p53-зависимых микроРНК при широком круге дегенеративных заболеваний. Установленные в ходе моделирования базовые закономерности дают теоретическое обоснование важной роли p53-зависимых микроРНК как регулятора p53-зависимых процессов, диагностического маркера и терапевтической мишени при дегенеративных заболеваниях. Предложенные математические модели и результаты могут применяться при проведении исследований функционирования больших систем с высоким уровнем неопределенностей в биологии, медицине, химии, экологии и др.

Достоверность результатов диссертационной работы обеспечивается привлечением иерархии математических моделей, детальным тестированием и проведением больших серий методических расчетов, контролем сходимости решений на последовательности сеток, сопоставлением численных решений с аналитическими решениями и расчетами других авторов, а также с широким кругом экспериментальных данных.

Апробация результатов исследования. Результаты, вошедшие в диссертационную работу, были представлены и обсуждались на семинарах ИГиЛ СО РАН «Прикладная гидродинамика» под руководством член-корр. РАН д.ф.-м.н. В. В. Пухначева и «Гемодинамика» под руководством д.ф.-м.н. А. П. Чупахина, на объединенном научном семинаре ФИЦ ИВТ, кафедры математического моделирования НГУ и кафедры вычислительных технологий НГТУ «Информационно-вычислительные технологии (численные методы механики сплошной среды)» под руководством академика РАН Ю. И. Шокина и д.ф.-м.н. В. М. Ковени, на семинаре лаборатории обратных задач естествознания ИВМиМГ СО РАН под руководством член-корр. РАН д.ф.-м.н. С. И. Кабанихина и д.ф.-м.н. М. А. Шишленина, на семинаре по биомедицинской физике кафедры общей и теоретической физики ЧелГУ под руководством д.ф.-м.н. А. В. Лаппы, а также на 29 конференциях всероссийского и международного уровня.

По теме диссертации в изданиях, индексируемых в базах данных РИНЦ, WoS или Scopus, опубликовано 40 печатных работ, в том числе 7 статей в журналах, рекомендованных ВАК, 17 тезисов докладов, 15 статей в трудах международных и всероссийских конференций, 1 свидетельство о государственной регистрации программ для ЭВМ.

Замечания по диссертации.

1. При решении обратной задачи и изменении параметров уравнений, система ОДУ может стать жесткой. Исследовался ли вопрос устойчивости численных методов при решении обратных задач?
2. Есть ли теоретические оценки сходимости алгоритма BGA? Почему использовалось разное значение (от 20 до 750) перезапуска алгоритма BGA для определения минимума функционала?
3. Какой критерий остановки алгоритма BGA и почему?
4. Описание графиков и расчетов могло быть более информативным.

Указанные недостатки не снижают достоинств работы, которая выполнена на высоком уровне и соответствует всем квалификационным требованиям.

Заключение.

Диссертационная работа Сенотрусовой Софьи Дмитриевны «Математическое моделирование функционирования системы биомаркеров дегенеративных заболеваний» является законченной научно-квалификационной работой на актуальную тему, выполнена на высоком научном уровне, получены результаты, имеющих важное научное и практическое значение. Выводы и рекомендации достаточно обоснованы. Автореферат диссертации в достаточной степени отражает содержание и суть исследования. Основные результаты диссертации отражены в публикациях различного уровня, в том числе в журналах из перечня ВАК, индексируемых в международных системах цитирования SCOPUS и WoS. Работа соответствует паспорту заявленной специальности, требованиям ВАК, предъявляемым к кандидатским диссертациям, и п. 9 Положения о порядке присуждения ученых степеней, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 05.13.18 «Математическое моделирование, численные методы и комплексы программ».

Диссертационная работа С. Д. Сенотрусовой на тему «Математическое моделирование функционирования системы биомаркеров дегенеративных заболеваний» и отзыв заслушаны и обсуждены на научном семинаре лаборатории обратных задач естествознания Института вычислительной математики и математической геофизики СО РАН 23 марта 2022 года. В работе семинара приняли участие 27 человек, в том числе 5 докторов наук, 8 кандидатов наук. Отзыв одобрен в качестве отзыва ведущей организации, протокол № 1; результаты голосования: «за» – 27, «против» – нет, воздержавшихся нет.

Отзыв подготовил доктор физико-математических наук Шишленин Максим Александрович, заведующий лабораторией обратных задач естествознания Института вычислительной математики и математической геофизики СО РАН.

Я, Шишленин Максим Александрович, даю согласие на включение моих персональных данных в документы, связанные с работой диссертационного совета, и их дальнейшую обработку.

Заведующий лабораторией
обратных задач естествознания,
д.ф.-м.н.



Шишленин Максим Александрович

(тел. 8(383)330-61-67; адрес 630090, г. Новосибирск, пр. Ак. Лаврентьева, 6;

e-mail: maxim.shishlenin@sscc.ru

Подпись Шишленина Максима Александровича заверяю
Ученый секретарь ИВМиМГ СО РАН,
к. ф.-м. н.

Вшивкова Людмила Витальевна

Я, Кабанихин Сергей Игоревич, даю согласие на включение моих персональных данных в документы, связанные с работой диссертационного совета, и их дальнейшую обработку.

Главный научный сотрудник
лаборатории обратных задач естествознания
д.ф.-м.н., чл.-корр. РАН, профессор

Кабанихин Сергей Игоревич

(тел. 8(383)330-61-67; адрес 630090, г. Новосибирск, пр. Ак. Лаврентьева, 6;
e-mail: ksi52@mail.ru)

Подпись Кабанихина Сергея Игоревича заверяю
Ученый секретарь ИВМиМГ СО РАН,
к. ф.-м. н.

Вшивкова Людмила Витальевна

04.04.2022

Сведения о ведущей организации:

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт вычислительной математики и математической геофизики Сибирского отделения Российской академии наук (ИВМиМГ СО РАН)

630090, г. Новосибирск, пр-т Академика Лаврентьева, 6;
+7 (383) 330 83 53; director@sscc.ru; icmmg.nsc.ru