

## ИЗСЛЕДВАНЕ НА ЕДИН МАТЕМАТИЧЕСКИ МОДЕЛ НА РЕГУЛАЦИЯТА НА КЛЕТЪЧНОТО РАЗМНОЖЕНИЕ В ЕПИДЕРМИСА

Благовест Сендов, Румен Цанев и Емилия Матеева

Един основен и все още нерешен проблем в биологията е проблемът за механизмите, които регулират клетъчното размножение. Разкриването на тези механизми е единственият път за рационалното решение на такива важни за практиката проблеми като управляването на регенерацията на увредени тъкани и злокачественото изграждане на клетките. Във възрастния организъм количествените взаимоотношения между клетките, изпълняващи определена, специализирана функция (диференцирани клетки), и клетките, които се делят, са строго контролирани и само външни въздействия могат да нарушат обратимо (регенеративни процеси) или необратимо (злокачествен растеж) броя на делящите се клетки. Обикновено се приема, че регулацията на този процес се извършва на две нива — организмено и клетъчно. В действителност в основата на регулацията лежи един основен вътреклетъчен механизъм (регулация на клетъчно ниво), който може да се влияе отвън (регулация на организмено ниво).

Строгата детерминативност на процесите на диференциране и на пролиферация в различните тъкани и в различните животински и растителни видове навежда все повече изследователи на мисълта, че регулацията на клетъчното размножение е генетично детерминирана. Идеите за генната регулация на метаболитната активност на бактериалната клетка [1, 2] бяха пренесени и върху клетките на висши организми. През последните години редица автори правят опити да обяснят на тази основа явленията в областта на клетъчната пролиферация в тъканите на възрастния организъм [3—7]. Предложените схеми обаче не дават възможност за количествен подход, за да се види доколко една клетъчна популация би могла да функционира на основата на такъв механизъм, а, от друга страна, при някои от тях не се вижда как може да се осъществява авторегулация.

От нас беше предложена принципна схема на авторегулацията на клетъчното размножение [8], която дава възможност за точно количествено изследване на поведението на клетъчни популации, чиито клетки работят по предложения механизъм и си взаимодействат само чрез дифузия на вещества от една клетка в друга. Разработената схема се основава на съвременните данни за механизма, по който се предава информацията за синтеза на белтъците в клетката [9], и на идеята за взаимно-

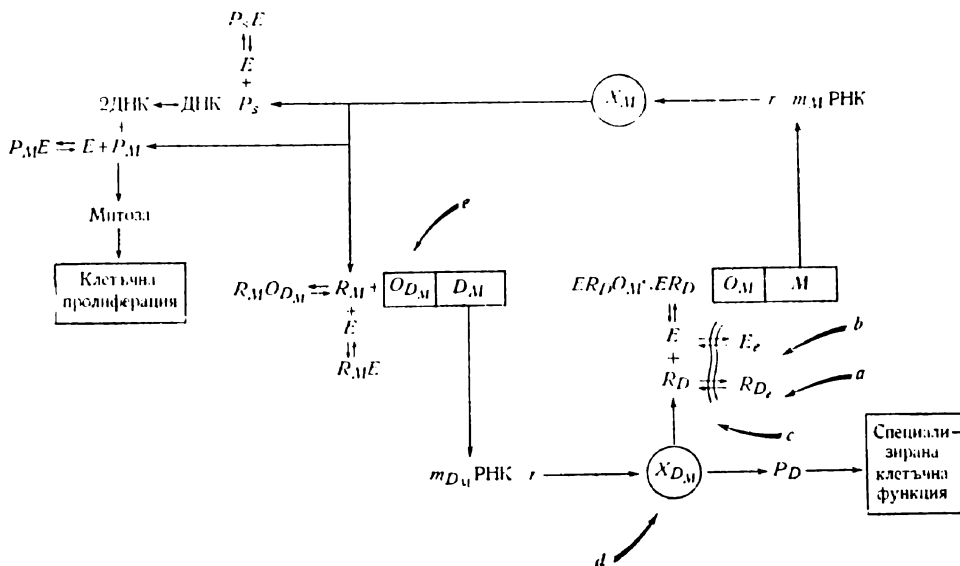
спрегнати генетични оперони, чиято активност се определя от наличността на белтъци репресори [1].

Въз основа на тази схема (вж. подробности в [8]) бяха направени математически модели на клетъчни популации с различна конфигурация — синхронно деляща се клетъчна популация, имитираща синхронизирана култура от клетки [8], и асинхронна клетъчна популация, чието разположение и взаимоотношение с кръвния ток имитира черния дроб на млекопитаещи [10]. И двата модела доведоха до резултати, които много добре имитират известните експериментални факти по отношение на поведението на такива клетъчни системи: тяхното разположение, реакция на външни въздействия и количественото протичане на синтеза на някои вещества в клетката през време на митотичния цикъл [8, 10, 11]. Изследването на стабилността на свойствата на тези модели по отношение на промяна на параметрите на системата също така показва едно свойство, характерно за живите системи — стабилност и една и съща реакция в определени граници и рязко нарушение на поведението при много малки отклонения във външни граници [10, 11]. Особено интересен резултат бе получен при нарушение на едно от звената (оперона  $D_M$ ) в регулационната схема. Получените нови свойства на клетъчната популация наподобяват редица от пролиферативните свойства на раковите клетки [12]. Трябва да подчертаем още веднъж, че всички тези свойства на изучените клетъчни системи се получават, без да бъдат програмирани, а само като резултат на вътреклетъчната програма за синтеза на различните вещества и тяхната дифузия. Всичко това ни дава основание да смятаме, че предложеният модел на вътреклетъчна авторегулация на клетъчното размножение [8] е едно от възможните обяснения на разглежданото явление, без, разбира се, получените данни да са доказателство, че действителният регулаторен механизъм почива на този принцип. Приложението на нашия хипотетичен механизъм и към други силно различаващи се клетъчни конфигурации би спомогнало да се реши този въпрос с по-голяма увереност. Това ни кара да изучим още една клетъчна система, която би имитирала пролиферативните свойства на епидермиса у млекопитаещите.

Реалният епидермис принципно се състои от няколко слоя клетки, като най-долният (терминативен) слой показва висока пролиферативна активност, а горните слоеве постепенно се диференцират към клетки, произвеждащи кератин, докато се стигне до мъртъв рогов слой. Спряхме се на този тъкан, тъй като нейните пролиферативни свойства в норма, при увреждащи и при други въздействия са добре изучени експериментално [13,14]. Поради тази причина и едни от първите модели за регулация на клетъчното размножение чрез обратна връзка представляват модели на епидермиса [15,16]. В тези модели обаче не се разглеждат никакви вътреклетъчни механизми. Те са по-скоро модел за взаимодействие между диференцираните клетки от горните слоеве на епидермиса и клетките на най-долния герминативен слой. В нашия модел тези взаимодействия възникват естествено въз основа на вътреклетъчния механизъм, контролиращ синтеза на дифундиращите във външната среда вещества.

## § 1. ОПИСАНИЕ НА МОДЕЛА

Схемата на спрегнатите оперони, по която работи всяка клетка на модела, е показана на фиг. 1. Принципно тя не се отличава от вече предложената от нас схема [8]. С  $D_M$  е означен оперонът, контролиращ синтеза на група белтъци, свързани със специфичната функция на клет-



Фиг. 1. Схема на спрегнатите оперони

ката. Този оперон освен това контролира производството на белтъка  $R_D$ , който се свързва с ген-оператора на митотичния оперон  $M$  и го репресира. От своя страна оперонът  $M$ , когато не е репресиран, произвежда информационна РНК за производството на белтъците на митотичния цикъл и за репресора  $R_M$ , който репресира работата на оперона  $D_M$ . При това скоростта, с която се транскрибира информационната РНК, се приема пропорционална на интервала от времето, през което оперонът е свободен от репресор. Лесно се доказва, че ако взаимодействието между репресора и операторния ген на оперона се подчинява на закона за действие на масите, този интервал от време  $\theta$  зависи от концентрацията на репресора  $R$  по следния начин:  $\theta = \frac{1}{1 + \sigma R}$ , където  $\tau$  е равновесната константа на комплекса, който се образува. Естествено е да се приеме, че съществува една долна граница на този интервал  $\tau$ , под която транскрипцията на оперона изобщо не е възможна. Оттук следва важният извод, че съществуват критични концентрации  $A$  на репресорите (определени от отношението  $\tau = \frac{1}{1 + \sigma A}$ ), над които съответният оперон изобщо ще престане да работи. За да приближим модела повече до реалното положение, ние приехме, че всички белтъци, които играят регулаторна роля (репресорите и белтъците, инициращи отделни фази на митотичния цикъл, вж. [8]), могат да взаимодействуват с определени клетъчни метаболити (хормони), като образуват активни или неактивни комплекси.

За простота в предишните ни изследвания тази възможност бе пренебрегната. Обаче такива взаимодействия са доказани в бактериалните клетки [1], а образуването на комплекси между биологично активни белтъци и адреналина е доказано за епидермиса [5, 13, 14, 17, 18]. По всяка вероятност това е обща закономерност.

Всеки от двата оперона  $D_M$  и  $M$  синтезира информационна РНК за синтезата на различни групи белтъци, както е показано на схемата. Митотичният оперон в същност тук обединява една цяла поредица от оперони, които последователно работят по време на митотичния цикъл. За регулацията е от значение производството на белтъка  $P^M$ , който иницира синтезата на ДНК, и белтъка  $P^M_2$ , който иницира влизането в митоза. Освен това бе въведен и белтъкът  $P^M_3$ , от който зависи възстановяването на клетъчната мембрана. Съществуването на първите два белтъка е експериментално обосновано (вж. [8]), а съществуването на последния е хипотетично. Въвеждането му обаче е необходимо, за да можем да изследваме как влияе увреждането на клетъчната мембрана (промяна на нейната проницаемост) върху пролиферативните свойства на клетките. Тъй като е известно, че увреждането води до промени в клетъчната проницаемост, която след това се възстановява, а в този процес несъмнено участвуват белтъци, въвеждането на белтъка  $P^M_3$  не е без основание.

Тази схема принципно не се отличава от предишната. Те са в същност идентични, ако приемем, че в предишната схема със символа  $R$  е означена само активната част на репресора след взаимодействието му с ефектора  $E$ . В последния случай, като се излезе от закона за действие на масите, активната част на регулаторните белтъци ( $\tilde{R}^D$ ,  $\tilde{R}^M$ ,  $\tilde{P}^M$ ) ще се определя от формулите

$$(1) \quad \tilde{R}^D = \frac{R^D}{1 + \frac{k^D}{E'}}$$

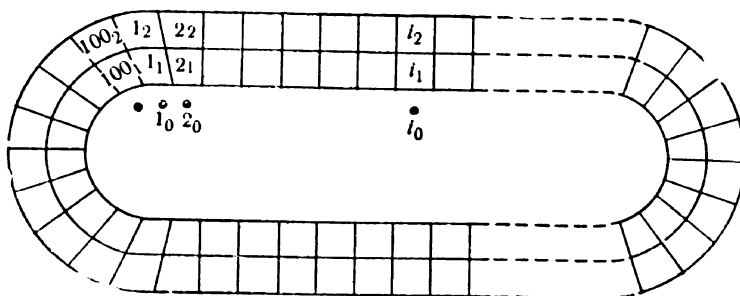
$$(2) \quad \tilde{R}^M = \frac{R^M}{1 + k^M E'}$$

$$(3) \quad \tilde{P}^M = \frac{P^M}{1 + k^P E'}$$

Както се вижда, в предлаганата схема се допуска, че репресорът, който подтиска митотичния оперон  $M$ , е активен само когато се свърже с определен ефектор, а репресорът на функционалния оперон  $D^M$  и регулаторните белтъци  $P^M$  се инактивират от същия ефектор. Обратното допускане не изменя по същество принципа на регулацията.

Лесно е да се види, че най-общо работата на двата оперона се взаимно изключва. Освен това съществуват редица пунктове (означени със стрелки на схемата), в които външни въздействия могат да нарушат равновесието или производството (подробности вж. в [8]). Един нов пункт е възможността за въздействие върху концентрацията на ефектора  $E$ , който се произвежда от друга тъкан и достига до епидермиса от кръвта по пътя на дифузията.

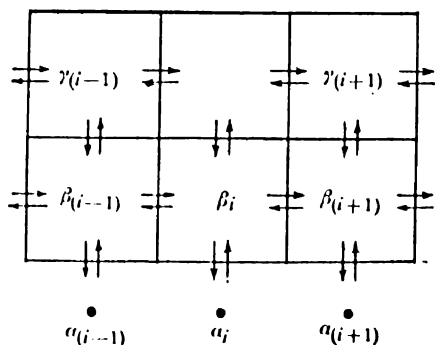
За простота ние приехме, че нашият модел на епидермис се състои само от два слоя, които образуват затворен цилиндър. Схематично сечението на модела е показано на фиг. 2. В модела всеки слой на сечението има по 100 асинхронно работещи клетки. Изследвахме работата на само



Фиг. 2. Схема на модела на епидермиса

едно такова сечение. Клетките от първия (герминативния) слой и всички параметри и променливи, които се отнасят до тях, означаваме с долен индекс 1, поставен след номера на клетката, а за клетките от втория слой използваме долен индекс 2. Долен индекс 0, поставен след номера на клетката, означава мястото под епидермиса, отговарящо на съответната клетка. В тези места (означени с точки на фиг. 2) предполагаме, че има точкови източници на ефектора  $E$ . В действителност той идва от кръвните капилляри, разположени под епидермиса, и дифундира към клетките.

В модела се приема, че веществата дифундират между клетките и от тях навън съгласно схемата, показана на фиг. 3. Числата  $\beta_i$  и  $\gamma_i$  характеризират клетъчната проницаемост на  $i$ -тата клетка от първия, респективно втория слой, а числото  $\alpha$  — проницаемостта между епидермиса и подлежащата тъкан. Коефициентът на проницаемост между две клетки се изразяваше чрез реципрочната стойност на сумата от числата, характеризиращи двете клетки. Така например коефициентът на проницаемост между  $i$ -тата клетка на първия слой и  $i$ -тата клетка на втория слой ще бъде  $\frac{1}{\beta_i + \gamma_i}$ .



Фиг. 3. Схема на дифузията между клетките

Състоянието на всяка клетка по отношение фазите на митотичния цикъл характеризираме с двоичната променлива  $\epsilon_i$  по следния начин:

$$(4) \quad \epsilon_i = \begin{cases} 1, & \text{ако } i\text{-тата клетка е в } G_1\text{- или } G_2\text{-периода,} \\ 0, & \text{ако } i\text{-тата клетка е в } S\text{- или } M\text{-периода.} \end{cases}$$

Състоянието на двата оперона  $D$  и  $M$  характеризираме с двоичните променливи по следния начин:

$$(5) \quad \varepsilon_i^D = \begin{cases} 1, & \text{ако } R_i^M \leq A_D, \\ 0, & \text{ако } \tilde{R}_i^M > A_D \end{cases}$$

$$(6) \quad \varepsilon_i^M = \begin{cases} 1, & \text{ако } \tilde{R}_i^D \leq A_M, \\ 0, & \text{ако } \tilde{R}_i^D > A_M. \end{cases}$$

Тъй като точковите източници на  $E$  трябва да са еквивалентни на постъпването чрез дифузия на ефектора от капиллярите, които са по различен и случаен начин разположени под епидермиса, въведохме индивидуални случайни колебания в концентрацията на  $E$  във всяка отделна клетка. За тази цел при всеки такт от живота на отделната клетка концентрацията на ефектора  $E'$  се пресмяташе като сума от две величини — една постоянна  $E_i$  и една случайна, която се получаваше чрез генератор на случайни числа. Генераторът даваше равномерно разпределение на псевдослучайни числа в даден интервал. По такъв начин концентрацията на ефектора в  $i$ -тата клетка от първия слой се определяше по формулата

$$(7) \quad E'_{i,1} = E_{i,1} + k\xi_i,$$

където  $\xi_i$  е случайно число в интервала  $[-1, +1]$ .

За пресмятане на концентрациите на всички променливи, участващи в регулацията, се използваха уравнения, подробно обосновани преди [8], [10]. Пресмятанията ставаха по метода на крайните разлики, при което уравненията за първия слой добиваха вида

$$(8) \quad \Delta C_{i,1}^D(t) = a_D \left[ \frac{\varepsilon_i \varepsilon_i^D}{1 + \sigma^D \tilde{R}_{i,1}^M(t)} - C_{i,1}^D(t) \right] \Delta t,$$

$$(9) \quad \Delta C_{i,1}^M(t) = a_M \left[ \frac{\varepsilon_i \varepsilon_i^M}{1 + \sigma^M \tilde{R}_{i,1}^D(t)} - C_{i,1}^M(t) \right] \Delta t,$$

$$(10) \quad \Delta X_{i,1}^D(t) = \nu_D [C_{i,1}^D(t) - X_{i,1}^D(t)] \Delta t,$$

$$(11) \quad \Delta X_{i,1}^M(t) = \nu_M [C_{i,1}^M(t) - X_{i,1}^M(t)] \Delta t,$$

$$(12) \quad P_{i,1}^M(t) = g_M [X_{i,1}^M(t) - R_{i,1}^M(t)] \Delta t,$$

$$(13) \quad \Delta D_{i,1}(t) = [2D^0 - D_{i,1}(t)] \max[0, t - t_i^s] \Delta t,$$

където  $C^D$ ,  $C^M$  са концентрации на информационната РНК, произвеждана от съответния оперон;

$X^D$  и  $X^M$  — концентрациите на рибозомите, програмирани със съответната РНК;

$P^M$  — концентрацията на белтъците  $P^{M_1}$ ,  $P^{M_2}$  и  $P^{M_3}$ ;

$D^0$  — премитотичното количество ДНК;

$D$  — количеството ДНК в даден момент;

$t$  — времето от началото на опита;

$t_i^s$  — моментът, в който  $i$ -тата клетка влиза в  $S$ -периода (който е различен за различните клетки).

$a_D$ ,  $a_M$ ,  $\nu_D$ ,  $\nu_M$ ,  $g_M$ ,  $\sigma^D$  и  $\sigma^M$  са параметри (вж. [8] и [10]).

За всички вещества, чиито концентрации се определят съгласно уравненията (8)–(13), с изключение на репресорите се предполага, че не дифундират във всички посоки във клетките със скорост, пропорционална на разликата в концентрациите между двете мембрани. Като вземем пред вид и определянето на проницаемостта чрез коефициентите  $\alpha$ ,  $\beta$  и  $\gamma$ , уравненията за  $R^D$  и  $R^M$  ще бъдат

$$(14) \quad \Delta R_{i,1}^D(t) = g^D \left\{ X_{i,1}^D(t) + \frac{1}{\beta_i + \beta_{i-1}} R_{i-1,1}^D(t) + \frac{1}{\beta_i + \beta_{i+1}} R_{i+1,1}^D(t) + \frac{1}{\beta_i + \gamma_i} R_{i,2}^D(t) - \left[ \frac{1}{\alpha + \beta_i} + \frac{1}{\beta_i + \beta_{i-1}} + \frac{1}{\beta_i + \beta_{i+1}} + \frac{1}{\beta_i + \gamma_i} \right] R_{i,1}^D(t) \right\} \Delta t,$$

$$(15) \quad \Delta R_{i,1}^M(t) = g^M \left\{ X_{i,1}^M(t) + \frac{1}{\beta_i + \beta_{i-1}} R_{i-1,1}^M(t) + \frac{1}{\beta_i + \beta_{i+1}} R_{i+1,1}^M(t) + \frac{1}{\beta_i + \gamma_i} R_{i,2}^M(t) - \left[ \frac{1}{\alpha + \beta_i} + \frac{1}{\beta_i + \beta_{i+1}} + \frac{1}{\beta_i + \beta_{i+1}} + \frac{1}{\beta_i + \gamma_i} \right] R_{i,1}^M(t) \right\} \Delta t.$$

Поради особената конфигурация на клетките преминаването на клетка от първия слой във втория я поставя в положение на постоянно поддържане на висока концентрация на репресорите (дифузия на репресорите към горния мъртъв кератинов слой не става). При изследване на системата диференциални уравнения се вижда, че при условията на нашите експерименти концентрацията на  $R^D$  във втория слой никога не пада под критичната граница, т. е. винаги имаме  $C_{i,2}^D = X_{i,2}^D = 1$  и  $C_{i,2}^M = X_{i,2}^M = 0$ . Поради това, за да се съкрати машинното време, уравненията за втория слой, съответни на (8)–(10), бяха елиминирани. Уравненията на дифузия на репресорите обаче се запазват. Взимайки под внимание, че  $X_{i,2}^D = 1$ , а  $X_{i,2}^M = 0$ , тези уравнения имат следния вид:

$$(16) \quad \Delta R_{i,2}^D(t) = g^M \left\{ 1 + \frac{1}{\beta_i + \gamma_i} R_{i,1}^D(t) + \frac{1}{\gamma_i + \gamma_{i-1}} R_{i-1,2}^D(t) + \frac{1}{\gamma_i + \gamma_{i+1}} R_{i+1,2}^D(t) - \left[ \frac{1}{\beta_i + \gamma_i} + \frac{1}{\gamma_i + \gamma_{i-1}} + \frac{1}{\gamma_i + \gamma_{i+1}} \right] R_{i,2}^D(t) \right\} \Delta t,$$

$$(17) \quad \Delta R_{i,2}^M(t) = g^D \left\{ \frac{1}{\beta_i + \gamma_i} R_{i,1}^M(t) + \frac{1}{\gamma_i + \gamma_{i-1}} R_{i-1,2}^M(t) + \frac{1}{\gamma_i + \gamma_{i+1}} R_{i+1,2}^M(t) - \left[ \frac{1}{\beta_i + \gamma_i} + \frac{1}{\gamma_i + \gamma_{i-1}} + \frac{1}{\gamma_i + \gamma_{i+1}} \right] R_{i,2}^M(t) \right\} \Delta t.$$

В програмата бе предвидено при разделяне на някоя клетка от първия слой едната от получените дъщерни клетки да остане в първия слой, а другата да премине във втория слой на мястото на клетка, която от своя страна отива в роговия слой. С други думи, приемаме, че при делението се получават две еднакви дъщерни клетки, от които едната само поради новото положение, което заема, получава друг път на развитие. Това е в съгласие с експерименталните данни за епидермиса [18].

За пресмятане на концентрацията на ефектора  $E$  приемаме, че в източниците 0 той се произвежда с постоянна скорост  $v(t)$ , която обаче

може да варира през различните часове на денонощието. Това е в съответствие с добре установената денонощна ритмика на производството на редица хормони в организма. Като се вземе пред вид и дифузията, уравненията за  $E$  вземат вида

$$(18) \quad \Delta E_{i,0}(t) = \{v(t) + \lambda[E_{i,1}(t) + E_{i-1,0}(t) + E_{i+1,0}(t)] - (1 + 3\lambda)E_{i,0}(t)\} \Delta t,$$

$$(19) \quad \Delta E_{i,1}(t) = \{\lambda[E_{i,0}(t) + E_{i-1,0}(t) + E_{i+1,0}(t)] - 3\lambda E_{i,1}(t)\} \Delta t,$$

където  $\lambda$  е параметър, определящ проникваемостта на клетъчните мембрани по отношение на ефектора  $E$ .

В модела е прието, че  $v(t)$  взема две стойности: една дневна от 6 до 20 ч. и втора нощна от 20 до 6 ч., означавани по-нататък съответно с  $E_d$  и  $E_n$ .

Както и в предишните ни модели, условие за преминаване на клетката от  $G_1$ -периода в  $S$ -периода и от  $G_2$ -периода в  $M$ -периода беше достигането на определена концентрация на белтъците  $\tilde{P}^{M_1}$  и  $\tilde{P}^{M_2}$ , т. е.

$$(20) \quad \tilde{P}^{M_1} > C_1$$

за прехода  $G_1 \rightarrow S$  и

$$(21) \quad \tilde{P}^{M_2} > C_2$$

за прехода  $G_2 \rightarrow M$ .

Програмата за изследване на този модел бе построена така, че да бъдат възможни различни видове външни въздействия върху клетките на епидермиса и да могат да бъдат проследявани следните характеристики на системата: в кой период на митотичния цикъл се намира всяка клетка; броят на деленията на всяка клетка от началото на опита; броят на деленията в целия модел и отделни негови части за определен интервал от време; средните концентрации на отделните вещества в целия модел и на избрано вещество във всяка клетка поотделно.

Програмирани бяха следните възможности за въздействие:

1. Анулиране на  $X_i^D$  за определен период от време. Това означава моделиране на определен вид увреждане на клетката. Има редица данни [8], че увреждането засяга белтъкосинтезиращия апарат на клетката, като се разгражда наличната информационна РНК.

2. Изменение на клетъчната проникваемост, което също така е един от ефектите на увреждането и на действието на някои хормони.

3. Премахване на втория слой на епидермиса, стимулиращо механично остъргване на горните слоеве на епидермиса.

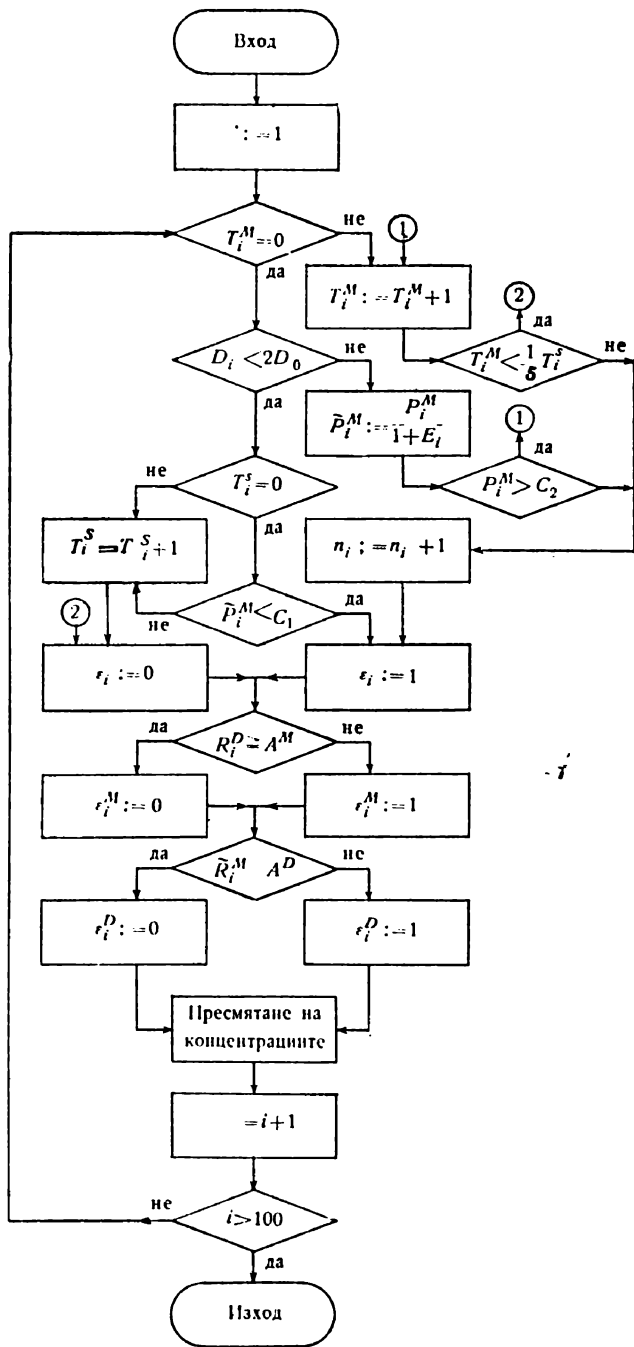
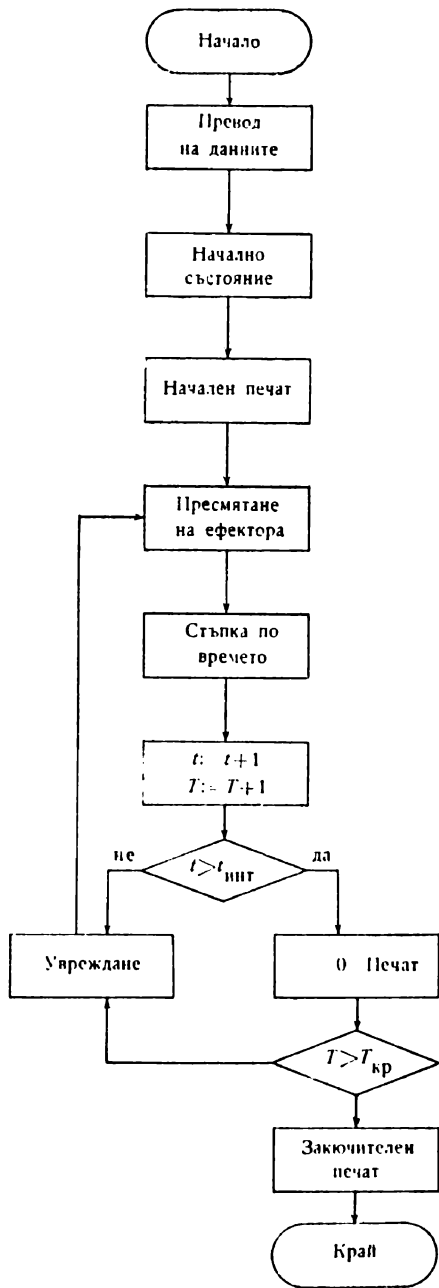
При промени в клетъчната проникваемост програмата беше изградена така, че проникваемостта да се възстанови, ако настъпи деление (при което един белтък  $P^{M_2}$  трябва да надмине определена граница  $B$ ) или ако не настъпи деление, когато  $R^D$  расте и надмине определен праг  $F$ .

Описаната клетъчна система при липса на случайни промени в концентрацията на репресорите се намира във фиксирано състояние при следните стойности на променливите:

$$R_{i,2}^D = R_2^D, \quad R_{i,2}^M = 0;$$

$$\varepsilon_i = 1, \quad \varepsilon_i^D = 1, \quad \varepsilon_i^M = 0;$$





а

б

Фиг. 4

а — обща блок-схема на програмата ; б — блок „стъпка по времето“

$$\begin{aligned}
C_{i,1}^D &= X_{i,1}^D = 1, & C_{i,1}^M &= X_{i,1}^M = 0; \\
P_{i,1}^M &= 0, & D_i &= D^0; & R_{i,1}^D &= R_1^D, & R_{i,1}^M &= 0; \\
E_{i,0} &= E_{i,1} = v(t); & \beta_i &= \beta; & \gamma_i &= \gamma.
\end{aligned}$$

При това състояние от (14) и (15) следва, че трябва да бъдат изпълнени съотношенията

$$(22) \quad R_1^D = 2(\alpha + \beta)$$

и

$$(23) \quad R_2^D = 2\alpha + 3\beta + \gamma.$$

За числените експерименти приехме  $\alpha = 0$ ,  $\beta = \gamma = 0,250$ . Тогава въз основа на (22) и (23) концентрациите на  $R^D$  в първия и втория слой при устойчиво състояние ще бъдат респективно  $R_1^D = 0,500$  и  $R_2^D = 1,000$ .

За устойчивост на числения метод за решаване на диференциалните уравнения, описващи модела, необходимо е стъпката  $\Delta t$  да бъде подбрана достатъчно малка. Лесно може да се покаже, че при горния подбор на  $\alpha$ ,  $\beta$  и  $\gamma$  е достатъчно да бъде изпълнено неравенството

$$(24) \quad \Delta t < \frac{1}{20 \max[a^D, a^M, v^D, v^M, g^D, g^M]}.$$

При числения експеримент бяха подбрани следните стойности на параметрите:

$$\begin{aligned}
a^D &= 0,400, & a^M &= 0,100; \\
v^D &= 0,400, & v^M &= 0,100; \\
g^D &= 0,050, & g^M &= 0,050; \\
\sigma^D &= 0,200, & \tau^M &= 0,200; \\
k^D &= 1,000, & k^M &= 1,000; \\
\lambda &= 1, & k^{P_1} &= 1, & k^{P_2} &= 1,
\end{aligned}$$

$$C_1 = 0,900, \quad F = 0,450, \quad B = 0,200, \quad k = 0,700.$$

$\Delta t = 0,1$ , което отговаря на около 5 минути реално време от живота на клетката.

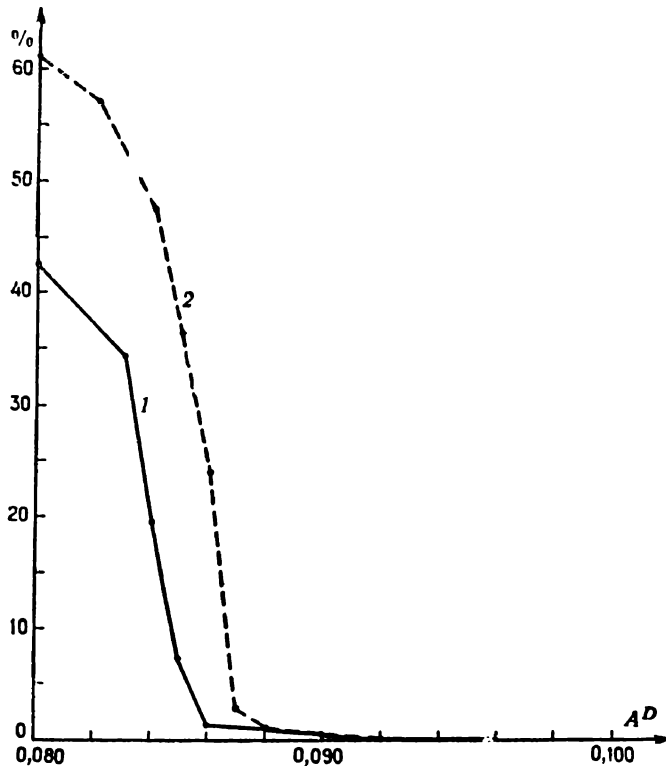
За праговете  $C_2$ ,  $A^D$  и  $A^M$  бяха взимани различни стойности, посочени при съответните експерименти.

Експериментите бяха извършени на ЦЕСМ „Минск 22“. За да се получи оптимална програма по отношение на бързодействието и обема на паметта, програмата бе написана на машинен език съгласно блок-схемите, показани на фиг. 4. За цялата подготовка и експериментална работа с този модел бяха необходими 980 часа машинно време.

## § 2. ЕКСПЕРИМЕНТИ С МОДЕЛА

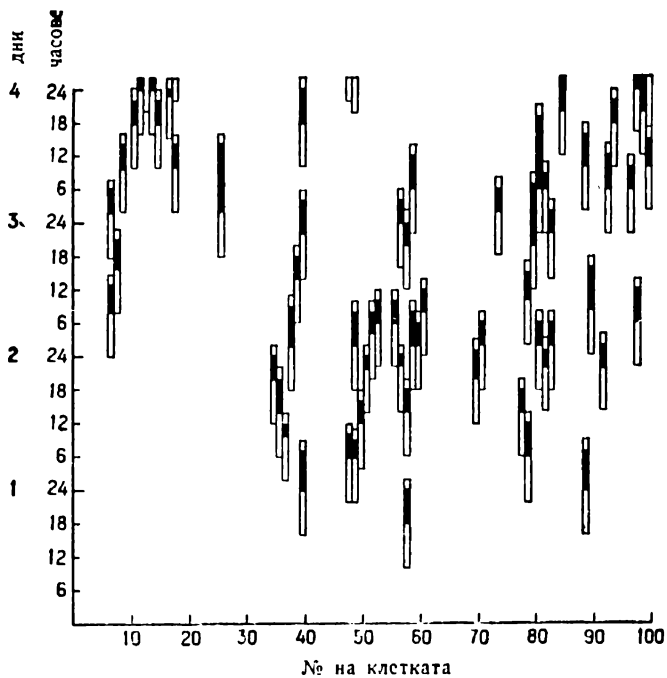
### Характеристика на модела при липса на смущения (нормален епидермис)

При липса на външни въздействия клетъчната популация на нашия модел се характеризира с постоянната наличност на определен процент делящи се клетки, както това е характерно за нормалния епидермис.

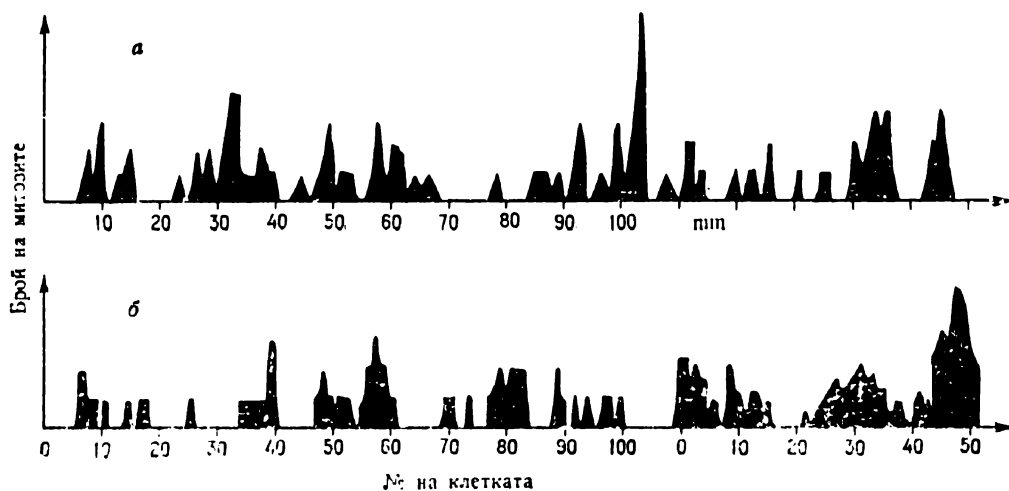


Фиг. 5. Процентът на митозите в зависимост от прага  $A^D$ .  $A^M=0,240$ ;  $C_2=0,300$ ;  $E_n=1,000$ ;  $E_d=1,200$  (1) и 1,100 (2)

Броят на делящите се клетки силно зависи от параметрите на системата, като най-силно влияние оказват праговете  $A^D$  и  $A^M$  и концентрацията на ефектора  $E$ . Както се вижда от фиг. 5, при постоянно  $A^M=0,240$  броят на делящите се клетки рязко намалява при повишаването на  $A^D$ . При  $A^D=0,085$  митотичният индекс на модела е 40/00, а при покачване на  $A^D$  над 0,90 митотичната активност практически напълно се подтиска. Обаче намаляването на концентрацията на репресора в кръвта води до значително покачване на митотичната активност, така че изследването на свойствата на модела и при високи стойности на  $A^D$  е възможно, като се повиши концентрацията на ефектора. Промените в  $A^M$  също така се отразяват върху пролиферативната активност на модела, само че в обратна посока на промените, предизвикани от изменения на  $A^D$ .



Фиг. 6. Разпределение на дялящите се клетки на модела във времето и пространството  $A^D=0,085$ ;  $A^M=0,240$ ;  $C_2=0,300$ ;  $E_d=1,200$ ;  $E_n=1,000$



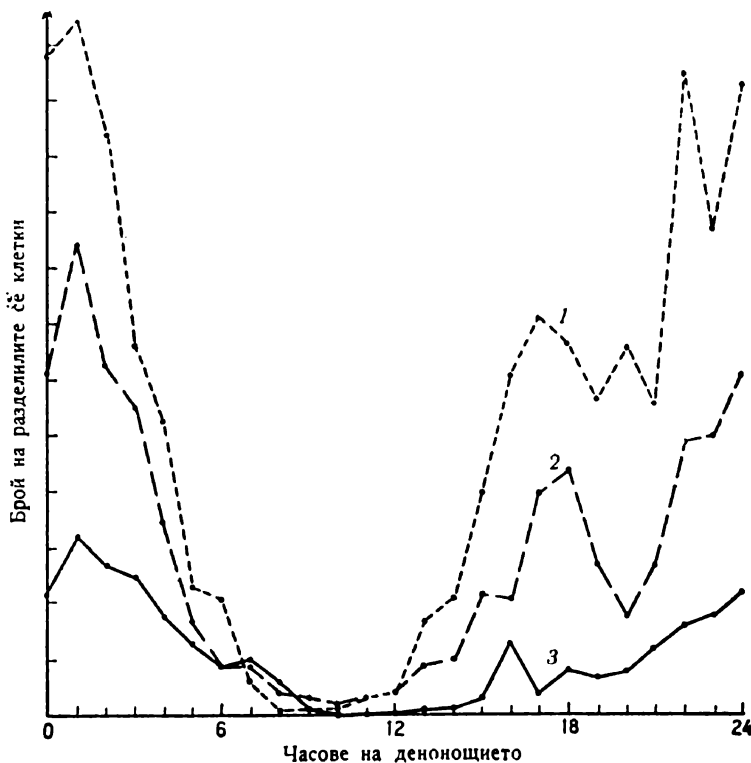
Фиг. 7. Пространствено разпределение на митозите

*a* — в реален експеримент; *б* — в модела.  $A^D=0,085$ ;  $A^M=0,240$ ;  $C_2=0,300$ ;  $E_d=1,200$ ;  $E_n=1,000$

На фиг. 6 е показано разпределението на дялящите се клетки на модела във времето и в пространството. Както се вижда, това разпределение е случайно, като се срещат участъци без всякакви митози и участъци с повишен брой митози. Такова разпределение е характерно за ре-

алния епидермис, където митозите са също така случайно групирани в отделни места. На фиг. 7 се вижда сходството между разпределението на митозите в реалния епидермис и в моделния експеримент.

Интерес представлява въпросът как се отразява изменението в концентрацията на ефектора през денонощието върху митотичната активност

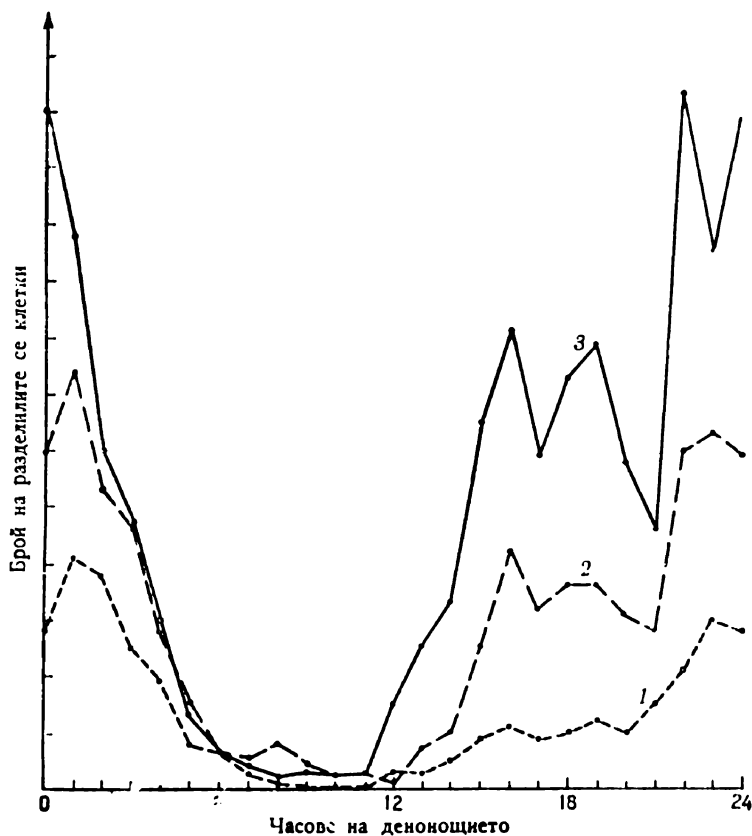


Фиг. 8. Денонощен ритъм на броя на делящите се клетки при различно изразена пролиферативна способност (различни стойности на  $A^D$ ).  $A^M=0,240$ ;  $C_2=0,300$ ;  $E_d=1,200$ ;  $E_n=1,000$ ;  $A^D=0,083$  (1),  $0,084$  (2) и  $0,085$  (3)

на модела. Има известни основания да се предполага, че в случая с епидермиса ролята на ефектор играе адреналинът [5, 13, 14, 17, 18]. От друга страна, известно е, че концентрацията на адреналина в кръвта варира в зависимост от двигателната активност на животното (вж. [13] и [19]). При експерименталните животни (мишки, плъхове и др. п.) тази активност обикновено намалява през нощта, а през деня се покачва във връзка с режима на хранене. Това ни даде основание да поставим една по-висока стойност за  $E$  през деня от 6 до 18 ч. и една по-ниска през останалото време.

При това условие, както се вижда от фиг. 8 и 9, моделът показва денонощна ритмика в броя на делящите се клетки, подобна на наблюдаваната в редица реални експерименти [13, 20 и др.]. И тук отчетливо се вижда отражението на праговете  $A^D$  и  $A^M$  върху пролиферативната способност на модела.

Денонощната ритмика при фиксирани прагове  $A^D$  и  $A^M$  зависи от размера на денонощното колебание в концентрацията на ефектора (фиг. 10). Вижда се, че покачването на концентрацията на ефектора с 50 до 20% над нощната стойност води до добре изразена денонощна ритмика в ми-

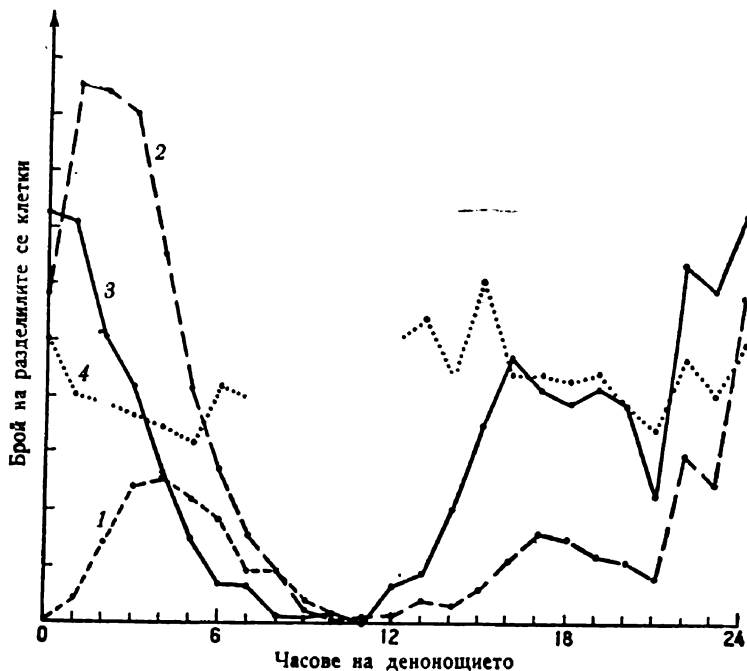


Фиг. 9. Денонощен ритъм на броя на дялящите се клетки при различно изразена пролиферативна способност (различни стойности на  $A^M$ ).  $A^D=0,086$ ;  $C_2=0,300$ ;  $E_d=1,200$ ;  $E_n=1,000$ ;  $A^M=0,241$  (1), 0,242 (2) и 0,243 (3)

тотичната активност. Когато обаче това покачване е само 10%, денонощната ритмика изведнъж се загубва. Интересно е да се отбележи, че намаляването на пролиферативната способност (покачване на  $A^D$ ) води до изразена денонощна ритмика дори и при само 10% вариации в концентрацията на ефектора (фиг. 11). С други думи, денонощна ритмика в митотичната активност на модела се получава по-трудно при по-силно изразена пролиферативна способност. Това е в съгласие с експерименталните наблюдения, че при тъкани с повишена пролиферативна способност денонощната ритмика в митотичната активност се губи [17, 18].

При наличност на денонощна ритмика максимумът на митозите очевидно ще зависи от времето на денонощието, през което концентрацията на ефектора се мени, и от дължината на митотичния цикъл. При условията на нашия модел (повишаване концентрацията на ефектора за вре-

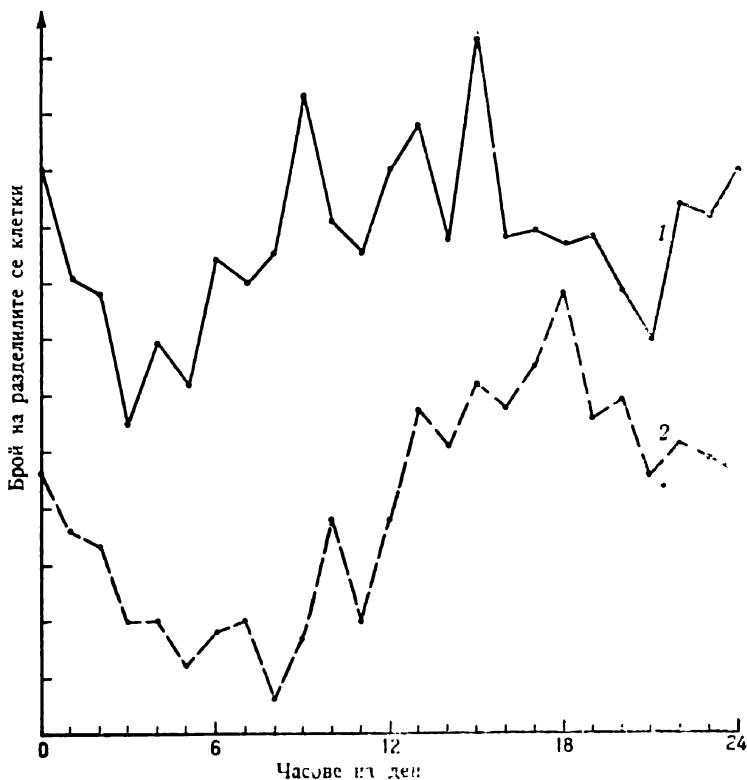
мето от 6 до 18 ч. и дължина на митотичния цикъл 18 до 24 часа) максимумът на митозите се наблюдава през нощта обикновено между 22 и 2 ч. (фиг. 8, 9 и 10). Обаче при малки колебания (10%) в концентрацията на ефектора максимумът на митозите се измества към 18 ч.



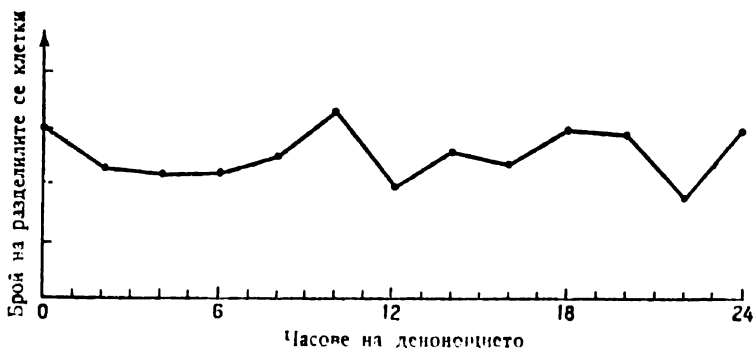
Фиг. 10. Денонощна ритмика на броя на дялящите се клетки при добре изразена пролиферативна способност ( $A^D=0,080$ ;  $A^M=0,240$ ;  $C_2=0,300$ ,  $E_n=1,000$ ) и различна степен на денонощно колебание на концентрацията на  $E$  ( $E_d=1,500$  (1), 1,300 (2), 1,200 (3) и 1,100 (4))

Всички тези данни показват, че предполагаемият вътреклетъчен регулаторен механизъм, по който работи клетъчната популация на нашия модел, не води задължително до денонощна ритмика в митозите. Основният фактор, който определя ритмиката, не е единствено денонощното колебание в концентрацията на ефектора. От голямо значение е и неговата абсолютна концентрация, а също така и определени стойности на останалите параметри, главно на праговете  $A^D$  и  $A^M$ . Това се вижда от обстоятелството, че дори десеткратни денонощни колбания в концентрацията на  $E$  могат да не доведат до денонощна митотична ритмика при определен подбор на параметри (фиг. 12).

Заслужава да се обърне внимание и на обстоятелството, че в нашия модел денонощна ритмика показват не само броят на клетките, намиращи се в митоза, но и броят на клетките, намиращи се в  $S$ -периода. Както се вижда от фиг. 13, през всички дни броят на клетките в  $S$ -периода показва максимум през деня към 12 ч. и минимум през нощта към 24 ч. Това е следствие от допускането, че ефекторът се свързва с репресорите и оттам влияе върху влиянето на клетките в митотичния цикъл. Експерименталните резултати показват, че такова допускане е оправдано. През последните години бе показано



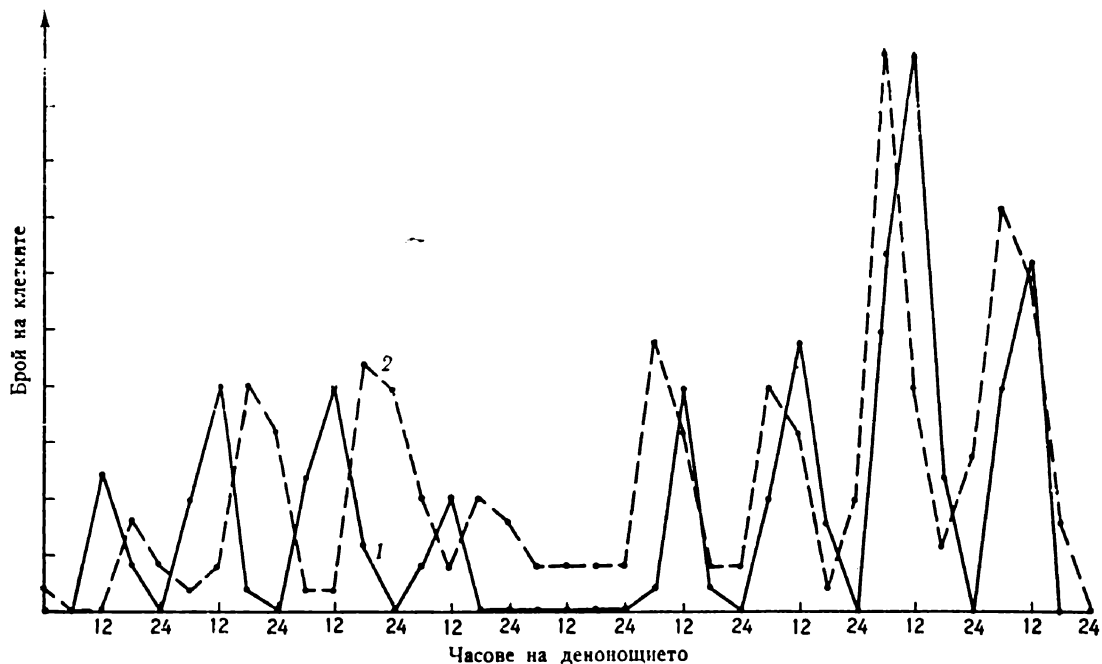
Фиг. 11. Денонощна ритмика на броя на делящите се клетки при слаби денонощни колебания в  $E$  и различно изразена способност за пролиферация.  $A_1^M=0,240$ ;  $C_2=0,300$ ;  $E_d=1,100$ ;  $E_n=1,000$ ;  $A^D=0,080$  (1) и  $0,086$  (2)



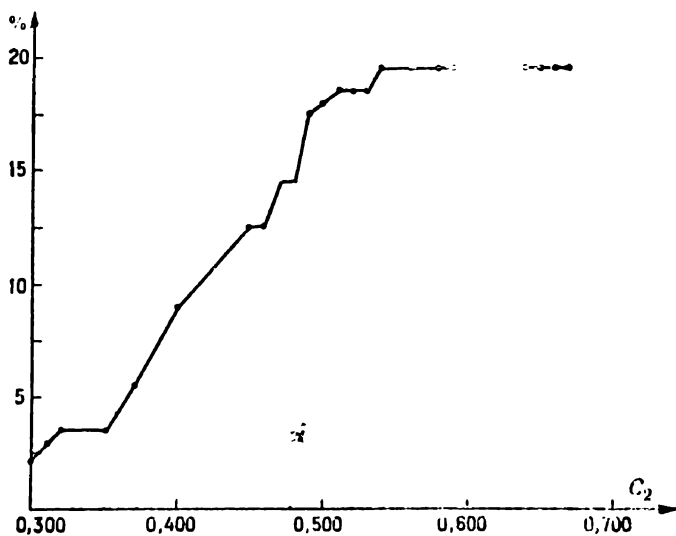
Фиг. 12. Липса на денонощна ритмика дори при силно вариране на  $E$  при друг подбор на параметрите.  $A^D=0,118$ ;  $A^M=0,215$ ;  $C_2=0,300$ ;  $E_d=1,000$ ;  $E_n=0,100$ ;  $K=1,000$

с помощта на белязан с тритий тимидин, че действително не само броят на митозите, но и броят на белязаните клетки (клетки, синтезиращи ДНК) показва денонощна ритмика (вж. [21]). Този факт опровергава представата [13], че денонощната ритмика се дължи само на вариации в прехода  $G_2 \rightarrow M$  и е в съгласие с данните от нашия моделен експеримент.





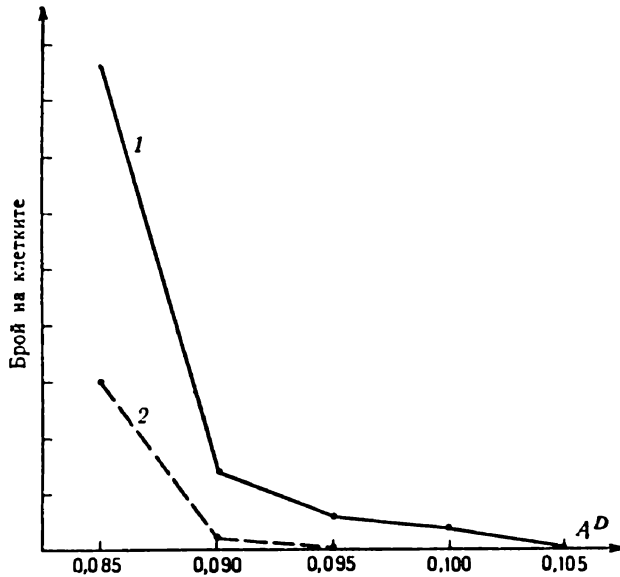
Фиг. 13. Денонощна ритмика на броя на клетките, намиращи се в периодите  $S$  (1) и  $G_2$  (2);  $A^D=0,085$ ;  $A^M=0,240$ ;  $C_1=0,485$ ;  $C_2=0,300$ ;  $E_d=1,200$ ;  $E_n=1,000$



Фиг. 14. Зависимост на броя на клетките, блокирани в  $G_2$ -периода от прага  $C_2$ .  $A^D=0,085$ ;  $A^M=0,240$ ;  $E_d=1,200$ ;  $E_n=1,000$

Трябва да отбележим като важна особеност на нашия модел възможността част от клетките да се задържат за по-дълго или по-кратко време в  $G_2$ -периода. Възможността за  $G_2$ -блок бе показана от някои автори в реални експерименти [22]. Остава обаче дискуссионен въпросът за процента на тези клетки в нормалния епидермис и за това, дали трябва

да се смята, че тези клетки излизат от митотичния цикъл и се връщат към фаза на покой. Основание за последното предположение дава обстоятелството, че в някои опити този блок може да трае дни и седмици (вж. [22]).



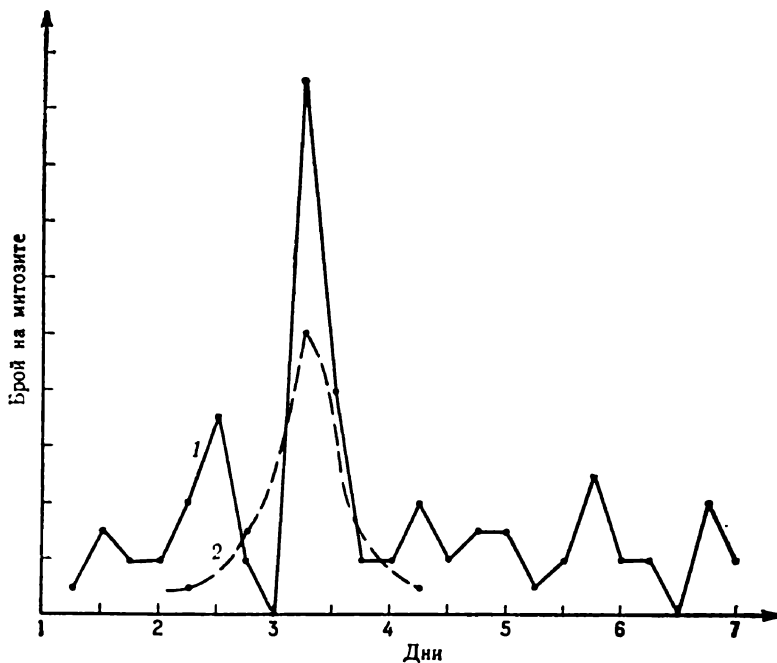
Фиг. 15. Брой на клетките, намиращи се в периодите  $G_2$  (1) и  $M$  (2) в зависимост от прага  $A^D$ .  
 $A^M=0,240$ ;  $C_2=0,525$ ;  $E_d=1,200$ ;  $E_n=1,000$

Опитите с нашия модел показват, че преди всичко  $G_2$ -блокът зависи от праговата концентрация  $C_2$  на митотичния белтък  $P^{M_2}$ . Както и трябва да се очаква, повишаването на този праг води до повече клетки, блокирани в  $G_2$  (фиг. 14). От друга страна, броят на тези клетки също така показва денонощна ритмика, която обаче може да се забележи само при достатъчен брой такива блокирани клетки (високо  $C_2$ , фиг. 13).

Броят на блокираните в  $G_2$  клетки силно зависи от пролиферативната способност на епидермиса. Така например той рязко намалява при намаляване на пролиферативната способност (увеличаване на  $A^D$ , фиг. 15). Проследяването на съдбата на отделни клетки в модела показва, че  $G_2$ -блокът действително може да трае от няколко часа до много дни. Стойностите на променливите, характеризиращи една клетка, продължително време блокирана в периода  $G_2$ , не я отличават от клетките, намиращи се в покой — нещо, което подкрепя изказаната хипотеза [22], че клетката може да излезе от митотичния цикъл и по време на периода  $G_2$ .

Използването на случайни числа за вариации в концентрацията на ефектора води до статистически закономерности, които дават възможност да се изчисляват отделни характеристики на митотичната активност в модела по същия начин, както това се прави и в реалния експеримент. В последния случай вариациите в митотичната активност по всяка вероятност се дължат също на случайни вариации в концентрацията на активните метаболити. Времето за наблюдение на модела във всеки експери-

мент беше 15—17 дни от живота на клетката достатъчно, за да може да се прави статистическа обработка на резултатите. Това може да се види от един пример с определяне дължината на  $S$ -периода и на митозата, които в нашия модел бяха фиксирани в самата програма на 8 и 1,6



Фиг. 16. Стимулиране на деленията в епидермиса при моделния експеримент след анулиране на  $X^D$  в продължение на един час (1);  $A^D=0,118$ ;  $A^M=0,215$ ;  $C_2=0,300$ ;  $E_d=1,000$ ;  $E_n=0,300$  и при реален експеримент след механично увреждане [23] (2). Със стрелка е означен началният момент на въздействието

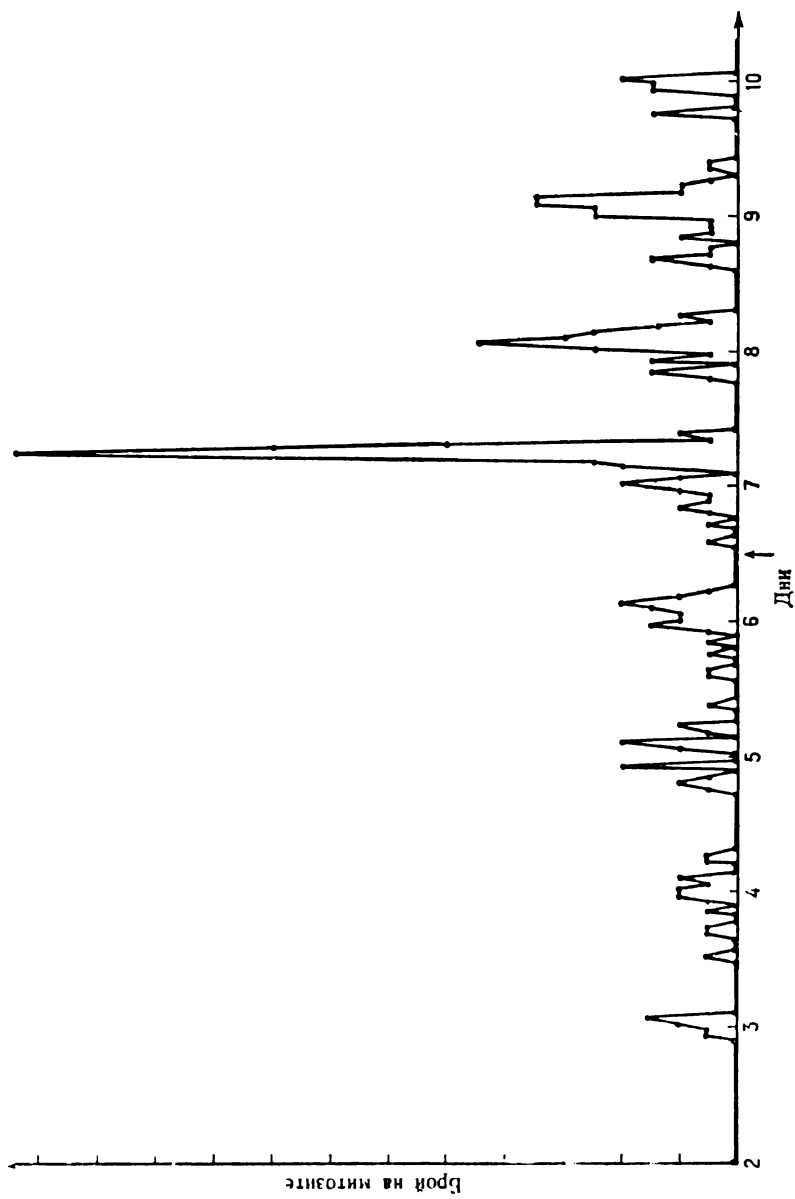
часа респективно. В един опит, който продължаваше 15 дни, средно за цялото време в митотичния цикъл влизаха по 1,87‰ клетки на час, митотичният индекс беше 3,5‰, а броят на клетките в  $S$ -периода — 15,5‰. Лесно е да се види, че времето за  $M$ -периода  $T_M$  и за  $S$ -периода  $T_S$  трябва да се дава от отношенията

$$T_M = \frac{n_M}{n_v} \quad T_S = \frac{n_S}{n_v}$$

където  $n_M$  и  $n_S$  са броят на клетките, намиращи се съответно в периода  $M$  и в  $S$ , а  $n_v$  е скоростта на делението, т. е. броят на клетките, влизащи в митотичния цикъл за 1 час. От намерените цифри в горния експеримент се вижда, че  $S$ -периодът е 8,3 часа, а  $M$ -периодът е 1,9 часа, които са близки до програмираните стойности. Удължаването на  $M$ -периода се дължи на силно изразения  $G_2$ -блок в този опит.

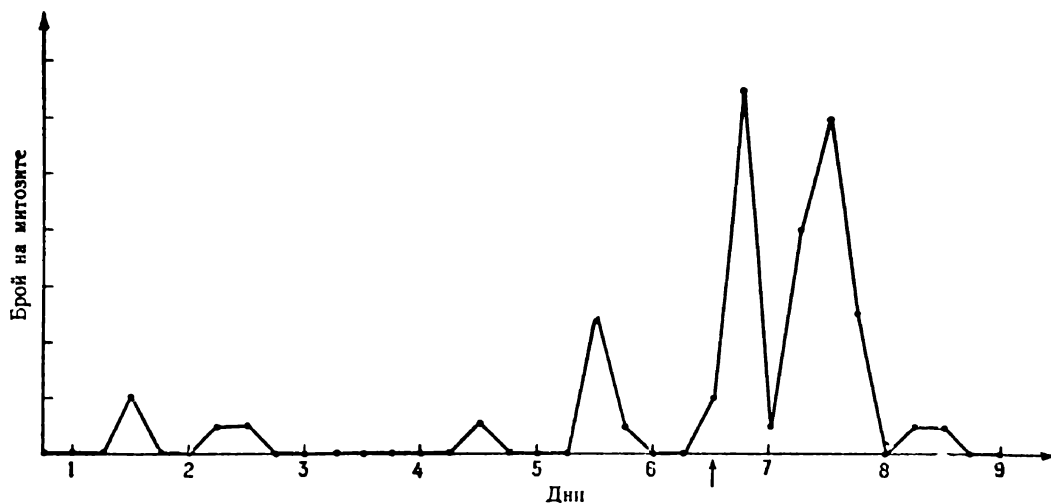
### Опити с външни въздействия върху епидермиса

Анулиране на  $X^D$ . За да имитираме външно въздействие, което уврежда епидермалните клетки, без да ги убива (обратимо механическо или друго увреждане), ние анулирахме за определено време величината



Фиг. 17. Стимулиране на деленијата след анулирање на  $X^D$  в продолжение на три часа в 60 клетки.  
 $A^D = 0,085$ ;  $A^M = 0,240$ ;  $C_2 = 0,300$ ;  $E_d = 1,200$ ;  $E_n = 1,000$

$X^D$ , която ни дава концентрацията на програмираните рибозоми в клетката. Имаме редица основания да смятаме, че различни увреждания оказват своя ефект именно по този път, като водят до разграждане на информационната РНК в цитоплазмата (вж. [8]). Резултатът от такива увреждания



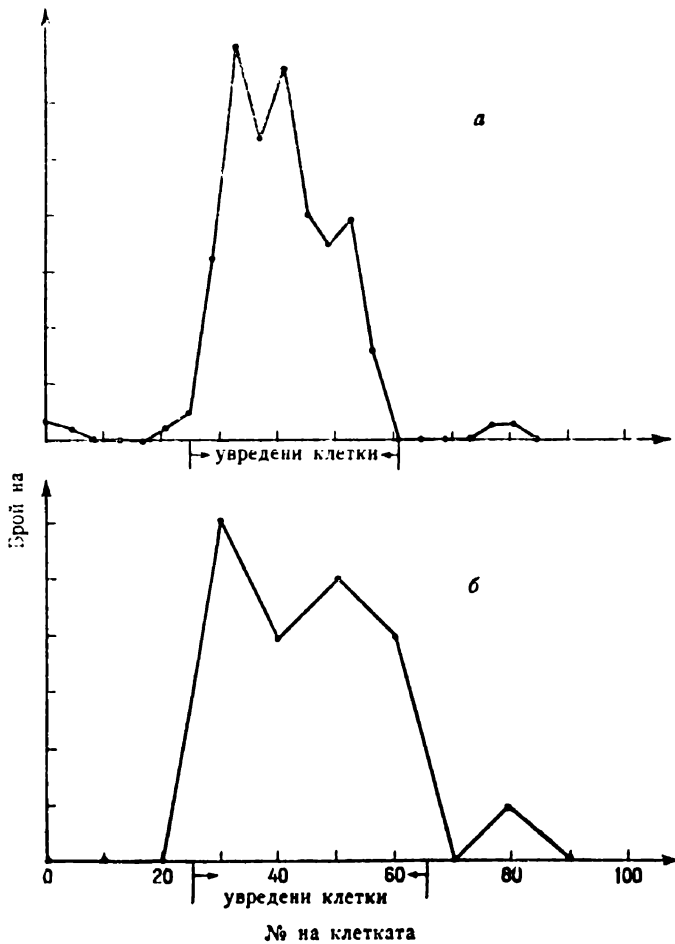
Фиг. 18. Снемане на  $G_2$ -блока след анулиране на  $X^D$  в продължение на два часа в 40 клетки при високо  $C_2$  ( $A^D=0,085$ ;  $A^M=0,240$ ;  $C_2=0,460$ ;  $E_d=1,200$ ;  $E_n=1,000$ )

в реалния експеримент е винаги свързан с активиране на клетъчното деление. Резултатите от анулирането на  $X^D$  в модела също така водят до рязко активиране на митотичната активност на засегнатия участък. Ефектът зависи от параметрите на клетките и от продължителността на въздействието.

Активирането на митотичната активност на модела след анулиране на  $X^D$  показва известни особености, които зависят от параметрите на системата. При опита, показан на фиг. 16, анулирането на  $X^D$  за 1 час води до рязко изразена митотична вълна с максимум 24 часа след „увреждането“ — така, както сме наблюдавали и в реален експеримент [23]. При други стойности на  $A^D$  и  $A^M$  (фиг. 17) пролиферативна реакция се получава при по-продължително въздействие (анулиране на  $X^D$  за 2 и повече часа), но затова пък се получават две-три митотични вълни — първата с максимум след около 18 часа и още две през интервали от 24 часа. При покачването на прага  $C_2$  (увеличаване на броя на блокираните  $G_2$  клетки) води до поява на една много ранна митотична вълна — с максимум 6 часа след увреждането (фиг. 18). Проследяване на състоянието на клетките в ранната вълна показва, че това са клетки, излезли от  $G_2$ -блока, докато втората вълна са клетки, минали през целия митотичен цикъл. Тези данни показват, че при условия за  $G_2$ -блок увреждането може да доведе до бързо снемане на блока и до поява на лъжлива митотична вълна. Рязко засилена митотична активност, която се дължи на освобождаване на клетки от  $G_2$ -блок, е наблюдавана в епидермиса и в реални експерименти [13]. След нараняване на епидермиса на мишки в реални експерименти не се наблюдава ранна митотична вълна [23, 24],

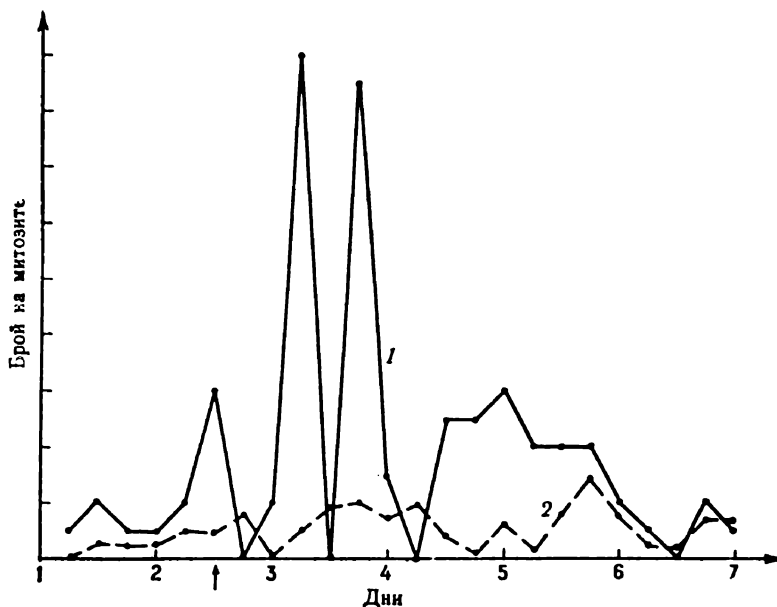
което показва липсата на значителен брой клетки в  $G_2$ -блок в реалния епидермис при нормално състояние на животните.

Проследяването на разпределението на делящите се клетки след анулиране на  $X^D$  в определен участък на модела показва характерни особености.

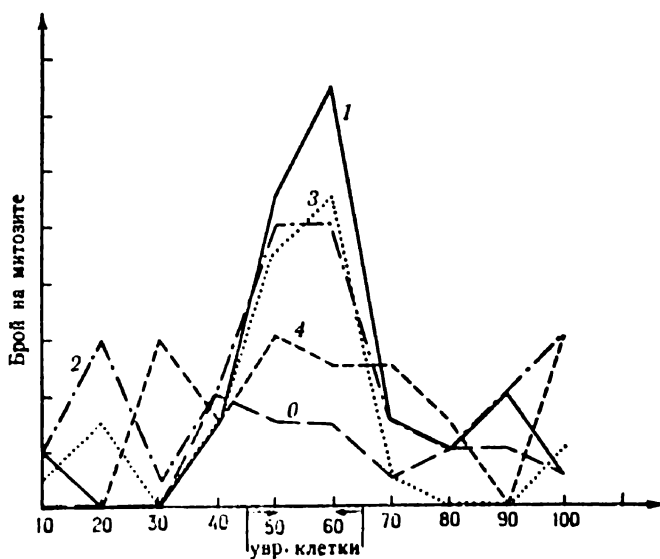


Фиг. 19. Пространствена локализация на деленията на клетките 24 часа след анулиране на  $X^D$   
 а — в реален експеримент [23]; б — в моделен експеримент  
 ( $A^D=0,118$ ;  $A^M=0,215$ ;  $C_2=0,300$ ;  $E_d=1,000$ ;  $E_n=0,300$ )

ности. Митотичната вълна е локализирана само в увредения участък, появява се след 18—24 часа и след това намалява, без да се разпространява встрани. Също такава характеристика има и стимулирането на митотичното деление след механично притискане на определен участък на кожата [23] (фиг. 19). Липсата на разпространение на митотичната вълна встрани е свързано вероятно с параметрите на клетъчната проницаемост. Не е изключено при силно намаление на  $\beta$  и  $\gamma$  (силно увеличаване на клетъчната проницаемост) да се получи известно разпространение на клетъчното деление встрани (в незасегнатите области). С това могат да се обяснят и някои противоречиви литературни данни. Така при увреж-



Фиг. 20. Стимулиране на клетъчните деления след махане на горния слой на епидермиса в модела върху 20 клетки.  $A^D=0,118$ ;  $A^M=0,215$ ;  $C_2=0,300$ ;  $E_d=1,000$ ;  $E_n=0,300$



Фиг. 21. Пространствена локализация на деленията в клетките след махане на горния слой на епидермиса в модела върху означената със стрелка област в различни дни след увреждането (0, 1, 2, 3, 4).  $A^D=0,118$ ;  $A^M=0,215$ ;  $C_2=0,300$ ;  $E_d=1,000$ ;  $E_n=0,300$

дане на епитела на жабешка роговица е показано, че стимулирането на митотичната активност не се разпространява встрани като вълна [25], докато такова разпространение е наблюдавано при увреждане на роговица на заек [26].

Премахване на горния (втория) слой на епидермиса. При увреждане, свързано само с остъргване на горния слой на епидермиса, моделът дава много рязко изразено активиране на клетъчната пролиферация, както се наблюдава и при реално одраскване на епидермиса. Стимулацията тук е още по-рязка, като се появяват няколко митотични вълни — на 18-тия, на 30-тия и на 54-тия час след въздействието (фиг. 20). Всички вълни се дължат на увеличен брой клетки, влизащи в митотичен цикъл. В този опит блок  $G_2$  липсва поради ниския праг  $C_2$ . Разпределението на дялящите се клетки и тук е, общо взето, с изразен максимум в увредената част, но локализацията не е така строга и се забелязва тенденция за разпространение на митотичната вълна встрани в следващите дни (фиг. 21).

Промени в клетъчната проницаемост. Опитите с промяна на  $\beta$  и  $\gamma$  в границите от 0,1 до 0,3 не водеха до съществени промени в митотичната активност. Все пак съвсем слабо, но достоверно стимулиране на пролиферацията се наблюдава при намаляване на  $\beta$  на 0,1. Логично е да се очаква, че при по-съществено намаляване на  $\beta$  (силно увеличаване на клетъчната проницаемост) би се получило по-значително стимулиране на клетъчното деление. Такива опити не бяха направени, тъй като силното намаление на  $\beta$  и  $\gamma$  изисква силно намаляване на  $\Delta t$ , което много увеличава машинното време.

### § 3. ОБСЪЖДАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

Както се вижда от получените резултати, изследваният модел на епидермис дава резултати, които наподобяват всички особености на реалния епидермис по отношение на неговата пролиферативна активност в норма и при увреждащи въздействия.

1. Получава се модел на тъкан с постоянно поддържаща се митотична активност, т. е. устойчиво равновесно състояние, при което средният митотичен индекс при липса на въздействия е постоянен.

2. Разпределението на дялящите се клетки в модела има статистически характер, както е в реалния епидермис.

3. Митотичната активност може да показва денонощна ритмика, подобна на наблюдаваната в реалния епидермис от редица автори.

4. Денонощна ритмика показва и броят на клетките, намиращи се в S-периода, което е в съгласие с денонощната ритмика на броя на белязаните с  $H^3$ -тимидин ядра в реалния епидермис.

5. При засилване на пролиферативната активност денонощната ритмика се заглажда както в реалния регенериращ епидермис.

6. Моделът показва възможността за  $G_2$ -блок, наблюдаван в някои реални експерименти.

7. При увреждане моделът реагира с повишена митотична активност 24 часа след увреждането, така както се наблюдава и в действителност.

8. След увреждане дялящите се клетки в модела са локализиращи в увредената област, както е случаят и при реалния експеримент.

Резултатите, отбелязани в точки 2 и 3, са резултат на случайните и денонощните вариации на предполагаемия ефектор. Ефектът, който се получава в модела от наличността на ефектора, напълно имитира вариациите в митотичната активност на реалния епидермис. Това засилва уве-



реността, че репресията в клетките на епидермиса се осъществява на принципа на комплексното действие на два продукта. Експерименталните данни напълно подкрепят този извод. През последните години Бълоу и сътр. [27, 28] успяха да изолират от епидермиса белтък (вероятно глюкоропротеид), който подтиска митозите в същата тъкан, но при условие, че образува комплекс с адреналина. Засега не е изяснено дали този комплекс оказва блокиращо действие в периода  $G_2$  или подтиска и влизането в периода  $G_1$ . Според някои данни този белтък не оказва влияние на влизането в периода  $G_1$  [29] и следователно не отговаря на нашия репресор  $R^D$ . Независимо от това тези данни потвърждават принципа на образуване на активни комплекси между регулаторни белтъци и хормони. Не е изключено като ефектор в разглежданата от нас система да играят роля и други хормони на надбъбрека, за които има данни, че влияят върху митотичната активност в епидермиса [21, 30].

Изследваният от нас модел на епидермиса потвърждава данните, получени върху съвсем друга конфигурация на клетки (модела на черний дроб), че увреждането и отстраняването на клетки са два мощни фактора, стимулиращи клетъчното деление. Макар и съвсем различни по природа, и двата тези фактора засягат един и същ основен регулаторен механизъм. Опитите с модела на епидермиса показват, макар и не така отчетливо, че силното намаление на клетъчната проницаемост може да бъде такъв стимулиращ клетъчното деление фактор.

Налага се общият извод, че предложената от нас конкретна схема на вътреклетъчен регулационен механизъм [8], приложена към модели с различни клетъчни конфигурации, се оказва способна да обясни пролиферативните им свойства. При това тя обяснява еднакъвия резултат (клетъчна пролиферация), получен от влиянието на съвсем различни по своята природа фактори. Важна особеност на така предизвиканата реакция е, че при всички изследвани досега от нас клетъчни конфигурации реакцията е обратима, т. е. моделът отново се връща в изходното или близко до него устойчиво състояние. Всичко това засилва увереността, че изходната ни схема за вътреклетъчна авторегулация [8] е много близка до реалния механизъм, който определя състоянието на една клетка в животинския организъм.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Jacob, E. and J. Monod. Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol., 24, 1961, 193.
2. Monod, J. and F. Jacob. Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol., 24, 1961, 389.
3. Simon, Z. J. Theoret. Biol., 8, 1965, 258.
4. Pifot, H. C. and Ch. Weidelberger, 1963.
5. Bullough, W. S. In: Cellular Control Mechanism and Cancer. Amsterdam, 1964, 124.
6. Bullough, W. S. Cancer Res., 25, 1965, 1683.
7. Hadjiolov, A. A. Usp. sovr. biol., 60, 1965, 215.
8. Tsanev, S. and Bl. Sendov. J. Theoret. Biol., 12, 1966, 227.
9. Патнер, В. А. Генетические управляющие системы. Новосибирск, 1966.
10. Sendov, Bl. and R. Tsanev. J. Theoret. Biol., 18, 1968, 90.
11. Tsanev, R. and Bl. Sendov. In: Effects of Radiation on Cellular Proliferation and Differentiation. Vienna, Intern. Atomic Energy Agency, 1968.
12. Tsanev, R. and Bl. Sendov. J. Theoret. Biol., 1968, 22.
13. Bullough, W. S. and E. B. Laurence. Symp. Zool. Soc., Lond., 12, 1964, 1.
14. Bullough, W. S. The evolution of differentiation. London, Acad. Press, 1967 103.
15. Mercey, F. H. Brit. Med. Bull., 1962, 187.
16. Iverson, O. H. Progr. Biocybernetics, 2, 1965, 76.

17. Bullough, W. S. and E. B. Laurence. Proc. Roy. Soc. B., **154**, 1961, 540.
18. Bullough, W. S. and E. B. Laurence. Exp. Cell. Res., **33**, 1964, 176.
19. Bullough, W. S. Biol. Reviews, **37**, 1962, 307.
20. Kreyberg, L., A. Evensen and O. H. Iverson. Acta path. et microbiol. scandinav., **64**, 1965, 176.
21. Frankfurt, O. S. Exptl. Cell. Res., **52**, 1968, 220.
22. Епифанова, О. И. Цитология, **9**, 1967, 1033.
23. Цанев, Р. В: Изследвания в памет на Д. Костов. София, 1960, 199.
24. Цанев, Р. Известия на Биол. инст. при БАН, **2**, 1951, 213.
25. Rothstein, H., J. Raddan and A. Wensieder. Exptl. Cell. Res., **37**, 1965, 440.
26. Harding, C. V. and B. D. Srinivasan. Exptl. Cell. Res., **25**, 1962, 326.
27. Bullough, W. S., C. L. Hewett and Laurence. Exptl. Cell. Res., **36**, 1964, 192.
28. Boldingh, W. H. and E. B. Laurence. Europ. J. Biochem., **5**, 1968, 191.
29. Baden, H. P. and S. Svioklla. Exptl. Cell. Res., **50**, 1968, 644.
30. Bullough, W. S. and E. B. Laurence. Cell. and tissue kinetics, **1**, 1968, 5.

*Постъпила на 15. II. 1969 г.*

## МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ РЕГУЛЯЦИИ КЛЕТОЧНОЙ ПРОЛИФЕРАЦИИ В ЭПИДЕРМИСЕ

Благовест Сендов, Румен Цанев и Емилия Матеева

*(Резюме)*

Описанная прежде [8] схема взаимосвязанных оперонов была применена к новой клеточной конфигурации, имитирующей двухслойный эпидермис. Пролиферативные свойства этой модели и ее реакции на повреждение оказались очень близкими с результатами реальных экспериментов. Модельные эксперименты показали также, что суточные вариации митотической активности могут быть обязаны суточным изменениям концентрации определенного метаболита в крови. Показана так же возможность продолжительного  $G_2$ -блока. Полученные результаты подкрепляют предложенную схему регуляции клеточной пролиферации на основе взаимосвязанных оперонов.

## A MATHEMATICAL MODEL OF THE REGULATION OF CELLULAR PROLIFERATION OF THE EPIDERMIS

Blagovest Sendov, Rumen Canev and Emilia Mateeva

*(Summary)*

The previously described scheme of interrelated operons [8] was applied to a new cellular configuration imitating a two layer epidermis. The proliferative properties of the model and its reaction to injury were found to be very close to what is observed in real experiments. The model experiments showed also that diurnal variations of the mitotic activity can be due to diurnal variations of the concentration of some metabolite in the blood. The possibility of a long  $G_2$ -block was also shown. All results obtained with this model support the scheme of interrelated operons supposed to control the cellular proliferation.