

# MATEMATICKÉ MODELY PROLIFERACE A DIFERENCIACE V BUNĚČNÝCH POPULACÍCH

Gejza DOHNAL  
KTM FS ČVUT

**Abstract:** The mathematical modelling of haemopoietic processes is closely connected with both the level of knowledges and the experimental facilities in this area. In the past, a lot of cell proliferation-differentiation models were developed (see [4], [5], [7], [21], . . .). In this contribution, the stochastic multiple branching model is used for discrete-time simulation of the process. The presented model scheme was derived recently from correlations of lineages given in [15] and [16]. The basic assumption is that all principal haemopoietic lineages originate from one common progenitor, the stem cell.

**Резюме:** Математическое моделирование гемопоетических процессов тесно связано с уровнем науки и экспериментальных возможностей. В литературе было уже описано много моделей связанных с пролиферацией и дифференциацией клеточных популяций (смотри например [4], [5], [7], [21], . . .). В этой статье занимаемся стохастической моделью многомерного ветвления, которая использована для симуляций процесса в дискретном времени. Эта модель выходит из современных работ [15] и [16], в которых основным предположением является что все гемопоетические линии выходят из одного прогенитора, племенной клетки.

## ÚVOD

Matematické modelování vývoje biologických systémů je již dlouhou dobu cílem vědeckých snah řady autorů. Jeden z nejvýznamnějších matematických modelů – Malthusův obecný model vývoje populace – vznikl již v roce 1798. Řada modelů vznikala v průběhu 19. a polovině 20. století a byla spojena se všeobecným rozvojem vědeckého zkoumání, především matematiky, biologie a medicíny. Rozvoj teorie stochastických procesů ve 30. letech a matematické kybernetiky v 50. letech tohoto století stimulovaly druhou mohutnou vlnu rozvoje matematických modelů prakticky ve všech oblastech lidského zkoumání. Třetí významný nárůst počtu publikací v této oblasti lze pozorovat v souvislosti s rozvojem výpočetní techniky a simulačních metod.

Pomocí počítačové simulace lze modelovat i takové systémy, na nichž klasický analytický postup selhává. V současné době jsou publikovány i modely vytvořené pomocí neuronových sítí (viz [17]).

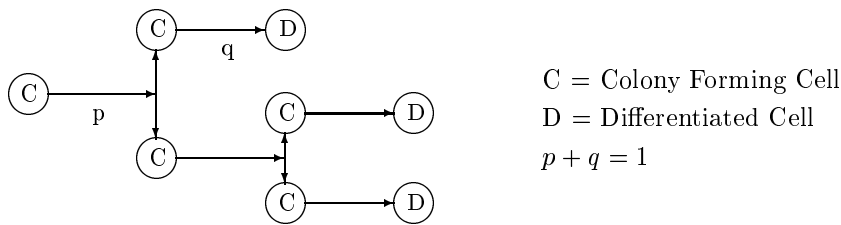
Matematické modely růstu buněčných populací jsou nejčastěji spojovány se dvěma oblastmi: šířením rakovinných buněk a s procesem tvorby krevních buněk v souvislosti se zkoumáním poruch tohoto procesu. Matematické modelování v tomto směru je úzce spjato s vývojem znalostí o buněčných systémech a s možnostmi experimentování v dané oblasti.

Můj příspěvek se zabývá modelováním procesu proliferace a diferenciaci kmenových buněk. Existence kmenových buněk byla dokázána v počátku 60. let řadou experimentálních prací Tilla a McCullocha, kdy byl také vytvořen (1964) jeden z prvních stochastických modelů proliferace a diferenciaci kmenových buněk. Tento model, formulovaný jako proces zrodu a zániku ve spojitém čase, byl dále rozvíjen a zobecnován. Řada modelů je založena na popisu pomocí vícetyrového větvičího se procesu (multitype branching process) – jedním z prvních byl model Kornův (1974). Některé modely se zabývají dynamikou systému po jeho narušení (zpravidla ozářením).

## PŘEHLED VÝZNAMNÝCH MODELŮ

**Till a Mc Culloch (1964)** vytvořili *první stochastický model proliferace a diferenciaci buněk* na základě analýzy experimentálních dat, získaných z jejich klasických „spleen colony assay“ ([20], [21])

Vyšetrovali detailně četnostní rozložení CFC (colony forming cells). Zjistili totiž, že počet CFC se mění kolem stř. hodnoty s mnohem větším rozptylem, než jaký by odpovídal pouhé výběrové chybě. Srovnáváním s různými rozloženími došli k závěru, že nejbližší (z hlediska významnosti) je gamma rozložení. Aby pochopili, jak toto rozložení vzniká, modelovali množení buněk jako proces zrodu a zániku, spojitý v čase.

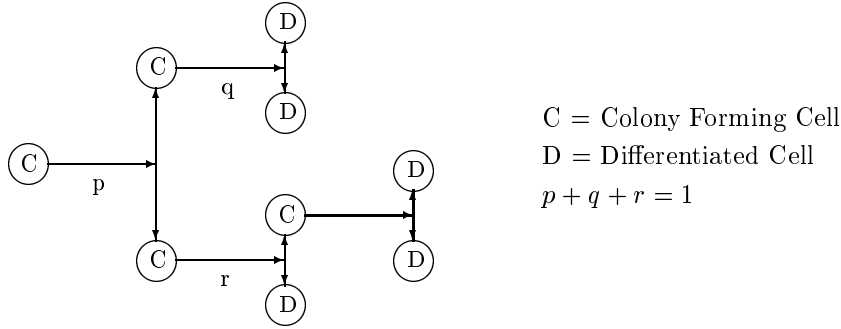


Zrození je zde chápáno jako vytvoření dvou dalších rodičovských CFC z jedné CFC. Zánik představuje ztrátu schopnosti vytvoření dalších CFC díky diferenciaci. Jiná možnost není ( $p + q = 1$ ).

Explicitní řešení modelu zrodu a zániku obdržel již Harris (1959) za předpokladu, že doby mezi událostmi jsou náhodné, nezávislé a exponenciálně rozložené. Podle Harrisova řešení, počet CFC má negativně binomické rozložení, jehož limitním rozložením je gamma. Gamma rozložení lze také získat Monte Carlo simulací při konstantních časech a volbou  $p=0.6$  a  $q=0.4$ .

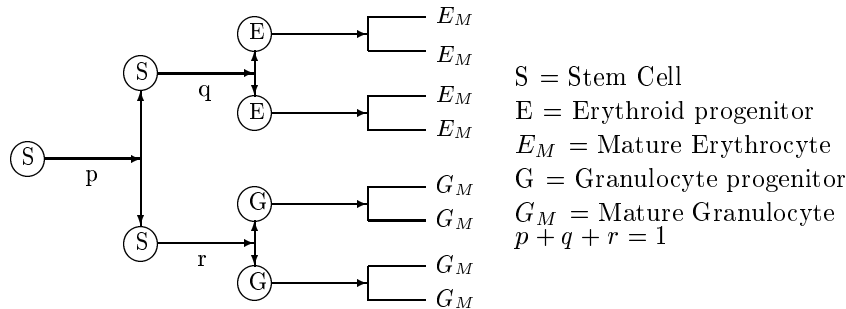
**Vogel a spol. (1969)** publikovali první zobecnění Tillova modelu v souvislosti s tvorbou erythroidních kolonií (červených krvinek) ([22], [23]).

*V tomto modelu se mohou kmenové buňky reprodukovat asymetricky*



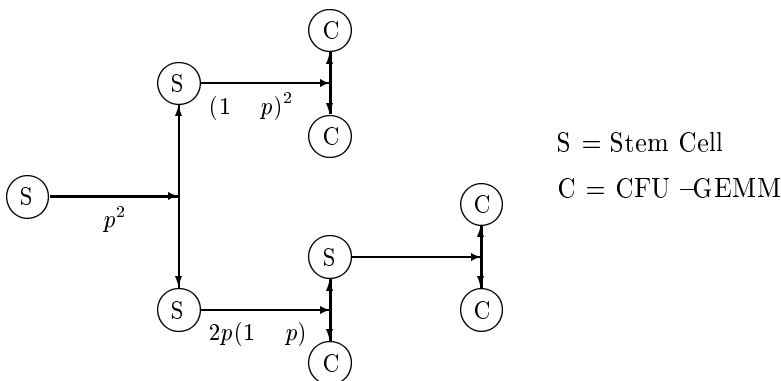
Vogel počítal střední hodnotu a rozptyl počtu CFC jako funkci počtu buněk  $n$ . Na základě experimentálních dat (from spleen colony assay) odhadl Vogel pravděpodobnost obnovy kmenových buněk, t.j. parametr  $p=0.61(1-r)$ . Pro model se symetrickým dělením ( $r=0, p=0.61$ ) lze tyto hodnoty nalézt i v pozdější literatuře.

**Korn a spol. (1973)**. Autoři si všimli velké variability ve složení spleen colonies. Tak vznikl *vícetypový větvičí se proces* (viz [5])



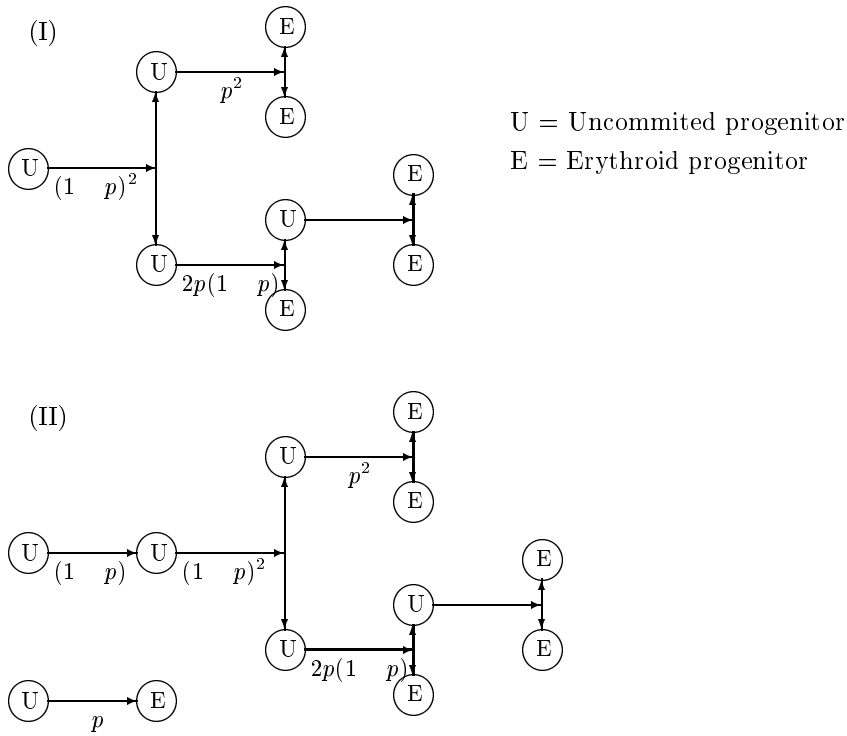
Kinetika růstu průměrné kolonie byla zkoumána za předpokladu fixního času mezi děleními pro každý typ buněk. Pro hodnotu  $p=0.61$  (viz Vogel) výsledky odpovídají publikovaným experimentálním výsledkům.

**Nakahata a spol. (1982)** v [8] identifikovali v klonálních buněčných kulturách nediferencovatelné "blast" cell, o kterých se domnívali, že jsou mnohem primitivnější než tzv. CFU-GEMM (granulocyte-erythrocyte-makrophage-megakaryocyte colony-forming unit). Aby tuto domněnku otestovali, zformulovali model podobný Tillovu.

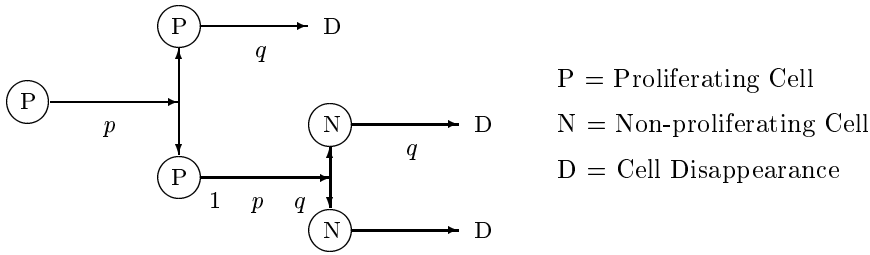


Použitím fixního času, ukázali, že tento model může adekvátně popsat data získaná ze 16ti denního experimentu. Odhadnutá hodnota  $p=0.589$  odpovídá hodnotě získané Vogelem.

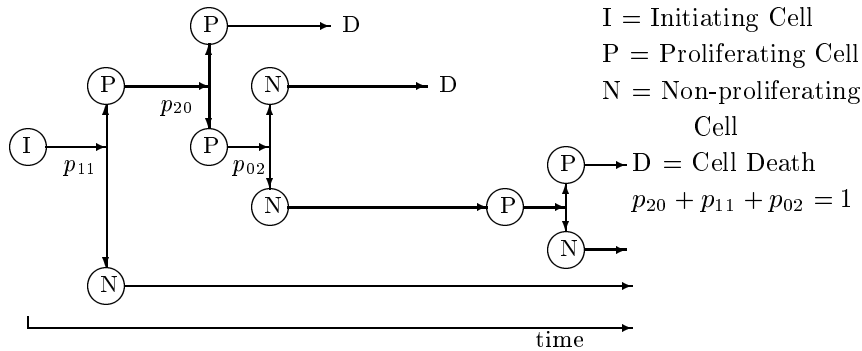
**Kurnit a spol. (1985)** studovali in vitro růst erytroidních kolonií lidské periferní krve (viz [6]). Erytroidní linii lze snadno detekovat vizuálně, neboť v buňkách se objevuje hemoglobin. Kurnit a spol. se zaměřili na modelování doby do první přeměny a velikosti kolonie v tento čas. Také odvodili fomuli pro výpočet velikosti kolonie v době, kdy jsou přeměněny všechny původní (kmenové) buňky a pravděpodobnost, že všechny buňky v kolonii budou přeměněny. Byly vytvořeny dvě verze modelu s pevnou dobou. Obě dovolují asymetrické dělení. První verze předpokládá dělení kmenových buněk a s prpstí  $p$  vznikne erytroidní progenitor (předek, rodičovská buňka). Ve druhé verzi je obsažena možnost přímé přeměny (bez dělení) kmenové buňky v erytroidní progenitor s pravděpodobností  $p$ . Použili rovnice z druhé verze pro odhad  $p$  a zjistili, že při 27 experimentech hodnota  $p$  se pohybovala mezi 0.4 až 0.63, přičemž 7 odhadů bylo menších než 0.5. Kurnit a spol. ukázali, že hranice  $p < 0.5$  je podmínkou pro neomezený růst kolonie v tomto modelu. Předpověděli dva aspekty chování kolonie: 1. rozsah přeměněné části kolonie roste s klesajícím  $p$ , 2. existuje velká variabilita ve velikosti přeměněné části kolonie při různých hodnotách  $p$ .



**Pharr a spol. (1985)** zjistili, že "mast cells" tvoří výjimku z pravidla, podle něhož maturované (vyzrálé) buňky ztrácejí schopnost množení. V [18] vytvořili diskretní model na základě studie "in vitro clonal assay". V něm se "mast cell" může s prpstí  $p$  rozdělit na dvě rodičovské buňky nebo s prpstí  $q$  zemřít (zmizet) případně s prpstí  $1 - p - q$  rozdělit na dvě dále nedělitelné buňky, z nichž každá opět s prpstí  $q$  zmizí nebo s prpstí  $1 - q$  neudělá nic. Kolonie jsou iniciovány jedinou rodičovskou buňkou. Každé kolonii je přiřazen parametr  $p$  z dvouparametrického rozložení  $S_B$  Johnsonova typu (viz. [19]). Simulace Monte Carlo modelu s fixním časem vedly k určení pravděpodobnosti  $q$  a parametrů rozložení pro určení  $p$ . Protože model zahrnuje i nedělitelné buňky, modeluje (úspěšně) situace, kdy rozložení velikosti kolonie má silný chvost či je dokonce bimodální. Model také ukazuje, že relativní počet rodičovských buněk je větší ve velkých koloniích. To bylo otestováno i experimentálně.

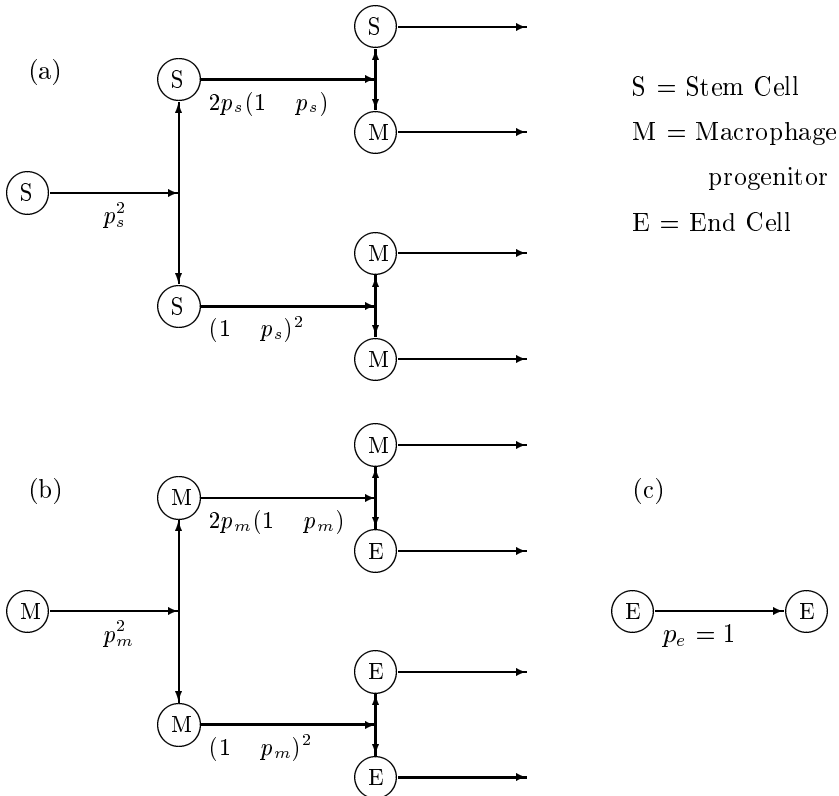


**Nedelman a spol. (1987)** popisují ve své práci [14] mnohem obecnější model množení buněk. Uvažuje tři typy buněk - inicializační (kmenovou), rodičovské a buňky dále se nedělící (zralé, maturované). Kromě toho uvažuje i zánik buněk. Rodičovské a kmenové buňky mají stejnou prpřst dělení, ale v případě kmenových buněk je předpokládán náhodný čas do jejich rozdělení. Na konci každého buněčného cyklu se předpokládá, že kmenová či rodičovská buňka vyprodukuje dva potomky, z nichž je 0, 1 nebo 2 rodičovské buňky a zbývající je dále nedělitelná (zralá) buňka. Dále je zde předpoklad, že nedělitelná buňka se může po jistém (náhodném) čase přeměnit v dělitelnou buňku a dále se dělit. Doba života buněk a doba do jejich dělení jsou uvažovány jako náhodné s různými rozloženími pravděpodobnosti. Model byl srovnáván s experimentálními daty a odtud byly odvozeny hodnoty parametrů. Ukázalo se, že hodnota parametru  $p_{00}$  (zánik buňky) je zanedbatelná. Dále, nedělící se buňky se objevily s malou četností a zřídka kdy se přeměnily v dělitelné po dobu experimentu. Rozložení rozsahu kolonie nebylo bimodální, ale výskyt nesymetrického dělení byl velmi častý, což je indikováno parametrem  $p_{11} = 0.45$ .



**Macken a spol. (1988)** studovali v [7] tří-typový větvičí se proces: S – M – E (stem – makrophage – end)

Hledali limitní chování v případě superkritického procesu ( $p_s > 0.5$  – neomezený růst kolonie).

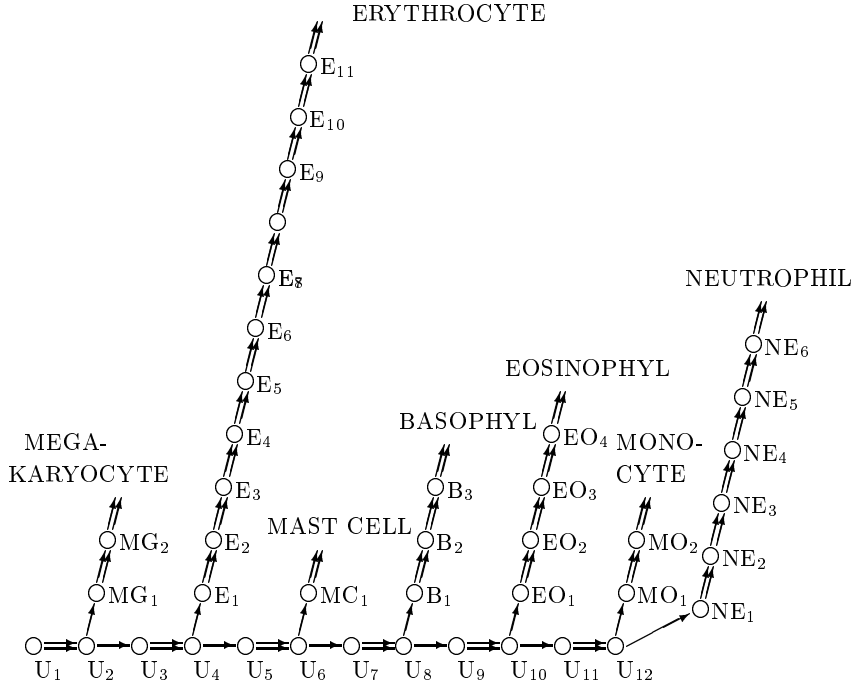


Problém je s ověřením pomocí experimentů *in vitro*. Zde jsou jistá omezení: nelze pozorovat neomezený růst, neboť po určité době se destička s koloniemi zaplní a poruší se podmínky pro množení.

Jednou z aplikací tohoto modelu může být model L – D – E (leukemic – differentiated – end).

## POPIS MODELU

Předpokládejme že buňky ve svém vývoji procházejí řadou různých vývojových *stádií*. Buňky v různých stádiích se budou lišit svými vlastnostmi. Označme množinu stádií  $\mathcal{F} = \{U_\infty, U_\infty, \dots, NE_6\}$ . Počet stádií v modelu je dán *rozlišitelností* modelu a může být různý, nicméně konečný. Při návrhu modelu jsme vycházeli ze základního schématu proliferace a diferenciace buněk v hemopoetických větvích, který byl popsán v [15] a [13]:



Stav jednotlivé buňky  $C$  v systému v čase  $t$  budeme popisovat jako dvojici  $(f^C, a^C)$ , kde

- $f^C \in \mathcal{F}$  je momentální stádium, ve kterém se buňka  $C$  nachází,
- $a^C = 0, 1, \dots$  je doba, kterou buňka  $C$  již strávila ve stádiu  $f^C$ . Tuto dobu budeme dále nazývat *stáří* nebo *věk* buňky  $C$ .

Dále nechť  $P(i, j, a)$  je pravděpodobnost přechodu buňky ve věku  $a$  ze stádia  $i$  do stádia  $j$ .  $P(i, j, a)$  reprezentuje podmíněnou pravděpodobnost, že nově vzniklá buňka (ve věku 0) bude ve stádiu  $j$ , zatímco rodičovská buňka byla ve stádiu  $i$  ve věku  $a$ . Každá buňka  $C$  v systému může být v jediný okamžik pouze v jediném stádiu  $f^C$ .



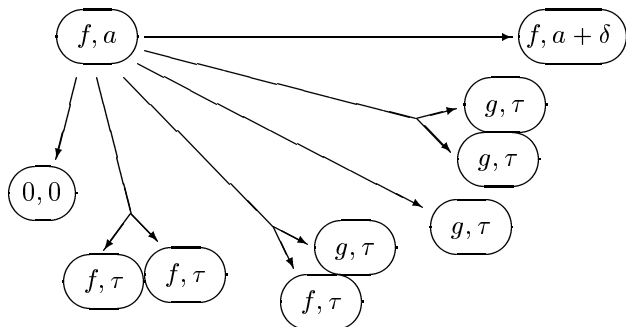
Posloupnost stádií  $F = \{f_1, f_2, \dots, f_k\}$  taková, že pro všechna  $j \in \{1, 2, \dots, k\}$  pro nějaké  $a$  platí  $P(f_{j-1}, f_j, a) > 0$ , tvoří *hemopoetickou cestu*  $F$  (viz [Necas & Novak]). Každá buňka  $C$  v modelu má svoji *historii*  $F^C$ , to jest vývojovou cestu  $F^C$  takovou, že posloupnost rodičů buňky  $C$  prošla postupně všemi stádií na této cestě. Pro každou buňku platí, že její vývojová cesta má počátek ve stádiu  $U_1$ . Tudíž jakákoliv buňka  $C$  v systému má svého  $U_1$ -rodiče.

Dále budeme označovat symbolem  $s_{f_a}(t)$  počet buněk ve věku  $a$ , které se nacházejí v čase  $t$  ve stádiu  $f$ . Potom *rozsah buněčné populace* ve stádiu  $f$  bude možno vyjádřit vztahem  $n_f(t) = \sum_{a=1}^{\infty} s_{f_a}(t)$  a *celkový rozsah buněčné populace* v systému bude vyjádřen vztahem  $N(t) = \sum_{\mathcal{F}} \sum_{a=1}^{\infty} s_{f_a}(t) = \sum_{\mathcal{F}} n_f(t)$ . Při tomto značení bude například  $s_{U_1,0}(t)$  rovno počtu buněk vstupujících do systému.

Popíšme nyní funkci uvažovaného modelu (obecně ve spojitém čase). V časovém intervalu  $[t, t + \delta)$  má buňka  $C$ , která je v čase  $t$  ve stavu  $(f, a)$  následující možnosti:

- *setrvání buňky ve stádiu*; nedojde ke kvalitativní změně, tj. nebude vyprodukována žádná nová buňka a stáří buňky ve stádiu  $f$  se zvýší o 1. Stav buňky  $C$  tedy přejde do stavu  $(f, a + \delta)$ . Počet buněk ve stádiu  $f$  ani v systému se tím nezmění.
- *sebeobnova*; buňka  $C$  se rozdělí do dvou nových buněk se stejnými vlastnostmi, to znamená ve stejném stádiu vývoje. Tyto nové buňky budou ve stavu  $(f, \tau)$ , kde  $\tau \in (0, \delta)$ . Počet  $n_f$  vzroste o 1.
- *diferenciace*; dělením buňky  $C$  vzniknou dvě nové buňky. Jedna z nich zůstane ve stádiu  $f$  ve stavu  $(f, \tau)$ ,  $\tau \in (0, \delta)$  a druhá přejde do stavu  $(g, \tau)$  (s novými vlastnostmi). Počet  $n_f$  se nezmění a  $n_g$  vzroste o 1.
- *zrání dělením*; dělením původní (rodičovské) buňky vzniknou dvě buňky, obě v nové kvalitě ve stavech  $(g, \tau)$ ,  $\tau \in (0, \delta)$ . V tomto případě rozsah populace ve stádiu  $f$  klesne o 1 a rozsah populace ve stádiu  $g$  vzroste o 2 buňky.
- *zrání přeměnou*; původní buňka se přemění v jinou buňku nové kvality, to jest ve stavu  $(g, \tau)$ ,  $\tau \in (0, \delta)$ . Celkový počet buněk v systému se tím nezmění, pouze klesne  $n_f$  a vzroste  $n_g$ .
- *zánik*; vlastnosti buňky se změní takovým způsobem, že ji lze z hlediska funkce systému považovat za mrtvou (buňka ztratí schopnost dalšího dělení či přeměny). Formálně lze tento případ považovat za jedno z možných stádií a stav zaniklé buňky označíme  $(0, 0)$ . V tomto případě budeme předpokládat že celkový rozsah populace buněk se zmenší o 1.

Graficky jsou tyto možnosti přechodu stavu buňky v časovém intervalu  $(t, t + \delta)$  znázorněny na následujícím obrázku.



#### PŘEDPOKLADY MODELU

1) *Diskrétní čas.* Při konstrukci našeho modelu uvažujme proces buněčné proliferace a diferenciaci probíhající v diskrétním čase. To znamená, že si stanovíme časovou jednotku  $\epsilon$  a budeme předpokládat, že všechny změny v modelu budou nastávat pouze v časových okamžicích  $k\epsilon, k = 0, 1, 2, \dots$ . Časová proměnná  $t$  v modelu bude potom nabývat pouze hodnot  $k = 0, 1, 2, \dots$ . Vzhledem k informaci, kterou máme o tomto procesu k dispozici a k možnosti volby libovolně malého  $\epsilon$  zřejmě není tento předpoklad omezující.

Věk buňky v určitém stádiu vývoje je měřen od okamžiku vstupu buňky do tohoto stádia (po dělení či diferenciaci). V každém časovém úseku  $(t, t + 1), t = 0, 1, 2, \dots$  budeme předpokládat, že buňka ve věku  $i$  má pouze jednu z následujících možností:

1. buňka se nezmění – zůstane ve stejném stádiu, pouze zestárne o jednu časovou jednotku; její věk vzroste z  $i$  na  $i + 1$
2. buňka přejde do jiného stádia diferenciací
3. buňka se rozdělí – vzniknou dvě nové buňky ve stejném či novém stádiu
4. buňka se přemění – vznikne nová buňka v jiném stádiu
5. buňka zanikne – zemře;

Z tohoto předpokladu plynou dvě základní vlastnosti modelu:

- po dělení, diferenciaci či přeměně je věk buňky vždy roven 0,

– buňky starší než 0 mohou vzniknout jen stárnutím.

2) *Pravděpodobnosti přechodu* mezi jednotlivými stavy buňky závisí na jejím stavu  $i$  následujícím způsobem:

Za předpokladu že buňka je ve stavu  $(k, i)$ , označme podmíněné pravděpodobnosti změny buňky v následujícím časovém úseku délky 1 takto:

$c_{ki}^1$  = pravděpodobnost že se buňka nezmění,

$c_{ki}^2$  = pravděpodobnost že buňka přejde do jiného stádia diferenciací,

$c_{ki}^3$  = pravděpodobnost že se buňka rozdělí,

$c_{ki}^4$  = pravděpodobnost že se buňka přemění,

$i = 0, 1, \dots$ . Pravděpodobnost že buňka zanikne potom bude rovna

$$c_{ki}^5 = 1 - c_{ki}^1 - c_{ki}^2 - c_{ki}^3 - c_{ki}^4.$$

Nechť  $f$  je počet všech uvažovaných stádií v modelu. Označme  $P = \{p_{kl}\}$  matici pravděpodobností přechodu libovolné buňky ze stádia  $k$  do stádia  $l$ . Matice  $P$  je typu  $(f \times f)$ . Pro tyto pravděpodobnosti nebudeme dále předpokládat závislost na stáří buňky v daném stádiu.  $P$  je stochastická matice, tzn. že pro každé  $k$  musí platit  $\sum_{l=1}^f p_{kl} = 1$ .

Podmíněná pravděpodobnost jevu, že se buňka která je ve stavu  $(k, i)$  v následujícím kroku (časovém úseku délky 1) rozdělí na dvě buňky ve stavech  $(l, 0)$ , bude rovna  $c_{ki}^3 p_{kl}$ .

3) Pravděpodobnosti přechodu mezi stavy systému nezávisí na počtu buněk v jednotlivých stádiích.

Z výše uvedených předpokladů plyne předpoklad nezávislosti pravděpodobností přechodu na délce fungování systému – na *systémovém čase*. Tyto pravděpodobnosti závisí pouze na momentálním stavu buňky v systému. Uvedená vlastnost je tzv. *markovskou vlastností* a tedy systém budeme – alespoň v počátečním stádiu jeho tvorby – považovat za markovský.

4) *Omezené stáří buněk*. Pro jednoduchost – a zřejmě bez újmy na obecnosti – předpokládáme, že existuje číslo  $d$  takové, že žádná buňka v systému nemůže být starší než  $d$  časových jednotek. Stanovení hodnoty  $d$  souvisí s velikostí časové jednotky  $\epsilon$  a bude stanoveno.

## VÝPOČET LINKY V USTÁLENÉM STAVU.

Stav systému budeme popisovat *stavovou maticí*  $\mathcal{S}(t)$  typu  $(f \times (d + 1))$ , kde  $d$  je maximální věk buňky v systému,  $f$  je počet stádií (typů buňky) a  $t$  je diskrétně měřený čas. Prvky této matice jsou náhodné veličiny  $S_{ki}(t)$ , jejichž hodnota  $s_{ki}(t)$  potom označuje počet buněk, které jsou v čase  $t$  ve stadiu  $k$  a věku  $i$ . Podívejme se nyní podrobněji na prvky matice  $\mathcal{S}(t)$ .

Počet buněk ve stadiu  $k$  a ve stáří  $i$  v čase  $t$  tvoří bodový náhodný proces  $\{S_{ki}(t), t \geq 0\}$ . V časovém intervalu  $(t, t + 1)$  má každá z těchto buněk možnost přejít do stavu  $(l, 0)$  buď jako jedna nová buňka diferenciací s pravděpodobností  $c_{ki}^2 p_{kl}$  nebo přeměnou s pravděpodobností  $c_{ki}^4$ , případně dělením jako dvě nové buňky s pravděpodobností  $c_{ki}^3 p_{kl}$ .

Předpokládejme, že v čase  $t$  ve stadiu  $k$  a stáří  $i$  je celkem  $s_{ki}$  buněk. Označme

1.  $S_{ki}^1$  počet buněk, které v časovém intervalu  $(t, t + \delta)$  zestárnou o  $\delta$ , nicméně zůstanou ve stadiu  $k$  (kvalitativně se nezmění),
2.  $S_{ki}^2$  počet buněk, které v časovém intervalu  $(t, t + \delta)$  přejdou do jiného stádia  $l$  (nerozdělí se, pouze projdou kvalitativní přeměnou),
3.  $S_{ki}^3$  počet buněk, které se v časovém intervalu  $(t, t + \delta)$  rozdělí a přejdou do jiného stádia  $l$  (vzniknou z nich dvě buňky nové kvality),
4.  $S_{ki}^4$  počet buněk, které se v časovém intervalu  $(t, t + \delta)$  rozdělí a diferencují se tak, že jedna z nich přejde do jiného stádia  $l$  a druhá zůstane ve stadiu  $k$  (ve stáří 0),
5.  $S_{ki}^5$  počet buněk, které v časovém intervalu  $(t, t + \delta)$  zaniknou (vystoupí ze systému buď tak, že „zemřou“ nebo „dozrají“, tzn. že ukončí svůj vývoj v rámci systému).

Potom vektor  $\mathbf{S}_{ki} = (S_{ki}^1(t), S_{ki}^2(t), S_{ki}^3(t), S_{ki}^4(t), S_{ki}^5(t))$  se řídí multinomickým rozložením pravděpodobnosti, tedy

$$P(S_{ki}^1 \leq s_{ki}^1, S_{ki}^2 \leq s_{ki}^2, S_{ki}^3 \leq s_{ki}^3, S_{ki}^4 \leq s_{ki}^4, S_{ki}^5 \leq s_{ki}^5) = \frac{s_{ki}!}{s_{ki}^1! s_{ki}^2! s_{ki}^3! s_{ki}^4! s_{ki}^5!} (c_{ki}^1)^{s_{ki}^1} (c_{ki}^2)^{s_{ki}^2} (c_{ki}^3)^{s_{ki}^3} (c_{ki}^4)^{s_{ki}^4} (c_{ki}^5)^{s_{ki}^5},$$

přičemž musí platit  $s_{ki}^1 + s_{ki}^2 + s_{ki}^3 + s_{ki}^4 + s_{ki}^5 = s_{ki}$ ,  $k = 0, 1, \dots, f$ ,  $i = 0, 1, \dots, d$ , kde  $f$  je celkový počet stádií a  $d$  je maximální stáří buněk. Vektor středních hodnot je  $E(\mathbf{S}_{ki}) = s_{ki}(c_{ki}^1, c_{ki}^2, c_{ki}^3, c_{ki}^4, c_{ki}^5)$ .

Speciálně, má-li systém v čase  $t$  ve stádiu  $k$  a stáří  $i$  právě  $s_{ki}$  buněk, potom do stáří  $i + 1$  přejde v následujícím okamžiku  $t + \delta$  celkem  $s_{ki}^1$  buněk s binomickou pravděpodobností

$$P(S_{ki}^1 \leq s_{ki}^1) = \binom{s_{ki}}{s_{ki}^1} (c_{ki}^1)^{s_{ki}^1} (1 - c_{ki}^1)^{s_{ki} - s_{ki}^1}$$

a se střední hodnotou  $E(S_{ki}^1) = c_{ki}^1 s_{ki}$ .

Střední počet buněk ve stavu  $(l, 0)$  vzniklých z buněk ve stavu  $(k, i)$  tedy bude roven  $(c_{ki}^2 + 2c_{ki}^3 + c_{ki}^4)p_{kl}$ . Setrvat ve stádiu  $k$  může buňka buď stárnutím s pravděpodobností  $c_{ki}^1$ , diferenciací s pravděpodobností  $c_{ki}^2 p_{kk}$  nebo dělením jako dvě nové buňky s pravděpodobností  $c_{ki}^3 p_{kk}$ .

Uvažujme nyní závislost na čase. Protože do stavu  $(k, i + 1, t + \delta)$  se buňka nemůže dostat jinak, než ze stavu  $(k, i, t)$  zestárnutím, platí

$$E(S_{k,i+1}(t + \delta)) = c_{ki}^1 E(S_{ki}(t)), \quad t \geq 0, \delta \geq 0,$$

což za předpokladu diskrétního času  $t = 1, 2, \dots$  lze psát ve tvaru

$$E(S_{k,i+1}(t + 1)) = c_{ki}^1 E(S_{ki}(t)), \quad t = 0, 1, \dots, \quad k = 1, \dots, f, \quad i = 0, \dots, d - 1.$$

Vzhledem k předpokladu konečného stáří předpokládáme že  $c_{k,d}^1 = 0$  pro všechna  $k$ .

Postupným výpočtem potom dostaneme

$$E(S_{k,i}(t)) = \prod_{j=0}^{i-1} c_{kj}^1 E(S_{k0}(t - i)), \quad t = i, i + 1, \dots, \quad k = 1, \dots, f, \quad i = 1, \dots, d.$$

Označme  $d_{ki} E(S_{k0}(t - i)) = \prod_{j=0}^{i-1} c_{kj}^1$ .

Je-li systém ve stavu  $\mathbf{S}(t) = (S_{00}(t), S_{01}(t), \dots, S_{0d}(t), S_{10}(t), S_{11}(t), \dots, S_{fd}(t))$  v čase  $t$ , potom ve stádiu  $k$  v čase  $t$  lze očekávat

$$\begin{aligned} ES_{k0}(t + 1) &= \sum_{l=0}^f p_{lk} \sum_{j=0}^d (c_{lj}^2 + 2c_{lj}^3) ES_{lj}(t) + \sum_{l \neq k} p_{lk} \sum_{j=0}^d c_{lj}^4 ES_{lj}(t) + \\ &+ \sum_{j=0}^d c_{kj}^4 ES_{kj}(t) = \\ &= \sum_{l=0}^f p_{lk} \sum_{j=0}^d (c_{lj}^2 + 2c_{lj}^3) d_{lj} ES_{l0}(t - j) \\ &+ \sum_{l \neq k} p_{lk} \sum_{j=0}^d c_{lj}^4 d_{lj} ES_{l0}(t - j) + \\ &+ \sum_{j=0}^d c_{kj}^4 d_{kj} ES_{k0}(t - j) \quad k = 1, \dots, f, \quad t = 0, \dots \end{aligned}$$

Předpokládejme, že systém se po určité době dostane do ustáleného stavu, neboli stav  $\mathbf{S}(t) = (S_{00}(t), S_{01}(t), \dots, S_{0d}(t), S_{10}(t), S_{11}(t), \dots, S_{fd}(t))$  se nebude měnit v čase. Za tohoto předpokladu bude pro ustálený stavový vektor  $\mathbf{S} = (S_{00}, S_{01}, \dots, S_{0d}, S_{10}, S_{11}, \dots, S_{fd})$  platit soustava homogenních algebraických rovnic

$$S_{k0} = \sum_{l=0}^f p_{lk} S_{l0} \sum_{j=0}^d (c_{lj}^2 + 2c_{lj}^3) d_{lj} + \sum_{l \neq k} p_{lk} S_{l0} \sum_{j=0}^d c_{lj}^4 d_{lj} + \\ + S_{k0} \sum_{j=0}^d c_{kj}^4 d_{kj} \quad k = 1, \dots, f, \quad t = 0, \dots$$

což po úpravě lze vyjádřit v maticovém tvaru

$$\mathbf{A}\mathbf{S}_0 = 0,$$

kde čtvercová matice  $\mathbf{A}$  typu  $f \times f$  bude mít prvky

$$a_{kl} = p_{lk} \sum_{j=0}^d (c_{lj}^2 + 2c_{lj}^3 + c_{lj}^4) d_{lj}, \quad k \neq l, \\ a_{kk} = p_{kk} \sum_{j=0}^d (c_{lj}^2 + 2c_{lj}^3) - 1 + \sum_{j=0}^d c_{kj}^4 d_{kj}, \quad k = 0, \dots, f$$

Protože je systém konečný, bude za předpokladu homogenity v každém čase v systému stejný počet buněk - řekněme  $S$  - a tedy musí platit podmínka

$$\sum_{k=0}^f \sum_{j=0}^d S_{kj} = \sum_{k=0}^f S_{k0} \sum_{j=0}^d d_{kj} = S.$$

Z každého stádia  $k$ , v němž je v čase  $t-1$  právě  $S_{kj}$  buněk ve stáří  $j$  vznikne za jednotku času  $S_{kj}(t-1)(c_{kj}^1 + c_{kj}^2 + 2(c_{kj}^3 + c_{kj}^4))$  buněk a původní buňky zaniknou. Tak dostáváme rovnici rovnováhy

$$\sum_{k=0}^f \sum_{j=0}^d S_{kj} = \sum_{k=0}^f \sum_{j=0}^d S_{kj} (c_{kj}^1 + c_{kj}^2 + 2(c_{kj}^3 + c_{kj}^4)) = S$$

která po úpravě vede k soustavě rovnic

$$\sum_{k=0}^f S_{k0} \sum_{j=0}^d d_{kj} = \sum_{k=0}^f S_{k0} \sum_{j=0}^d (c_{kj}^1 + c_{kj}^2 + 2(c_{kj}^3 + c_{kj}^4)) d_{kj}$$

Odtud a z tvaru prvků matice  $\mathbf{A}$  plyne singularita  $\mathbf{A}$  a tudíž nekonečně mnoho řešení soustavy  $\mathbf{A}\mathbf{S}_0 = \mathbf{o}$ . Z těchto řešení vybereme to, které odpovídá vstupní podmínce  $S_{00} = \sigma$ .

Počet buněk, které v čase  $t$  zemřou lze vyjádřit vztahem

$$ES_d(t) = \sum_{k=0}^f \sum_{j=0}^d c_{kj}^5 S_{kj}(t),$$

resp.

$$S_d = \sum_{k=0}^f \sum_{j=0}^d c_{kj}^5 S_{kj} = \sum_{k=0}^f S_{k0} \sum_{j=0}^d c_{kj}^5 d_{kj} = \mathbf{S}_0 \mathbf{D}.$$

## SIMULACE.

Pro počítačovou simulaci uvedeného modelu lze použít řadu programových prostředků a metod. V našem případě jsme se rozhodli pro speciální program, poskytující uživatelsky příjemné zadávání vstupních parametrů a modifikaci vlastního modelovaného schématu vizuálními prostředky. Z dostupných programových systémů přicházelo do úvahy systém MATLAB s jeho simulační nadstavbou SIMULINK, používaný především při modelování technických systémů. Tento systém je však pro naše potřeby příliš složitý a nevyhovuje zcela našim požadavkům na snadnou manipulaci a uchovávání pracovních parametrů, modifikaci výpočetních algoritmů a další funkce. Proto jsme dali přednost tvorbě samostatného programu v prostředí jazyka Borland DELPHI, který umožňuje

- vizuálním způsobem (na obrazovce pomocí myši) definovat strukturu modelu, tj. jednotlivé uzly (stádia) a jejich spojení
- zadávat a uchovávat parametry modelu ve formě databázového souboru
- výsledky simulace ukládat opět do databázového souboru
- graficky prezentovat výsledky simulace a sledovat je na obrazovce monitoru

Úpravou malé části kódu programu lze přizpůsobit funkci programu novým metodám, které bude v budoucnosti potřeba implementovat.

## References

- [1] Cubarsi, R., Villaverde, A.: *Conditions for a continuous production of transient microbial products in a two-stage fermentation system*. Biotechnology Letters **15**, 827–832 (1993).
- [2] Dohnal, G.: *Analýza výrobních systémů*. Habilitační práce, ČVUT Praha (1993).
- [3] Dohnal, G.: *The simulation of processes in FAMULUS 3.5* Sborník z konference Teaching mathematics for industry, Praha (1994).
- [4] Hoel, D. G., Mitchell, T.: *The simulation, fitting, and testing of a stochastic cellular proliferation model*. Biometrics **27**, 191–199 (1971).
- [5] Korn, A. P., Henkelman, R. M., Ottensmeyer, F. P., Till, J. E.: *Investigations of a stochastic model of haemopoiesis*. Exp. Hemat. **1**, 362–375 (1973).
- [6] Kurnit, D. M., Matthysse, S., Papayannopoulou, T., Stamatoyannopoulos, G.: *Stochastic branching model for hemopoietic progenitor cell differentiation*. J. Cell. Physiol. **123**, 55–63 (1985).
- [7] Macken, C. A., Perelson, A. S.: *Stem cell Proliferation and differentiation*. Lecture Notes in Biomathematics 76, Springer-Verlag, 1988.
- [8] Nakahata, T., Gross, A. J., Ogawa, M.: *A stochastic model of self-renewal and commitment to differentiation of the primitive hemopoietic stem cells in culture*. J. Cell. Physiol. **113**, 455–458 (1982).
- [9] Nečas, E., Hausner, F., Neuwirt, J.: *Computer model of hemopoietic stem cell population testing a possible role of DNA synthesizing cells in proliferation control*. Blut **41**, 335–346 (1980).
- [10] Nečas, E., Blackett, N. M., Frindel, E.: *Diversity of stem cell growth from a uniform population of cells*. Nature **322**, 289–290 (1986).
- [11] Nečas, E., Hausner, F.: *Simulation of CFU-s kinetics after irradiation*. Cell Tissue Kinet. **21** 81–90 (1988).
- [12] Nečas, E., Znojil, V., Šefc, L., Jirásková, Z.: *Individual differences in a functional organization of the hematopoietic tissue*. Exp. Hematol. **17**, 1028–1031 (1989).
- [13] Nečas, E., Novak, J. P.: *Proliferation-differentiation pathways of murine haemopoiesis: correlation of lineage fluxes*. Cell Prolif. **27**, 597–633 (1994).



- [14] Nedelman, J., Downs, H. P., Pharr, P.: *Inference for an age-dependent, multitype branching-process model of mast cells*. J. Math. Biol. **25**, 203–226 (1987).
- [15] Novak, J. P.: *Proliferation–differentiation schema of murine haemopoietic lineages: a transient response*. Cell Prolif. **27**, 635–642 (1994).
- [16] Novak, J. P., Stewart, C. C.: *A possible interpretation of some colony forming assays: 'developmental tree' model*. Cell Prolif. **27** 23–35 (1994).
- [17] Pecen, L., Eben, K., Sláma, M., Nekulová, M., Horák, D.: *Matematické modely metastáze nádorových buněk*. Neural Network World **5**, 977–982 (1995).
- [18] Pharr, P. N., Nedelman, J., Downs, H. P., Ogawa, M., Gross, A. J.: *A stochastic model for mast cell proliferation in culture*. J. Cell. Physiol. **125**, 379–386 (1985).
- [19] Shapiro, S. S., Hahn, G. J.: *Statistical Models in Engineering*. J. Wiley, New York, 1967.
- [20] Till, J. E., Mc Culloch, E. A.: *A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells*. Radiation Res. **14**, 213–222 (1961).
- [21] Till, J. E., Mc Culloch, E. A., Siminovitch, L.: *A stochastic model of stem cell proliferation, based on the growth of spleen colony-forming cells*. Proc. Nat. Acad. Sci. USA **51**, 29–36 (1964).
- [22] Vogel, H., Niewisch, H., Matioli, G.: *The self renewal probability of haemopoietic stem cells*. J. Cell. Physiol. **72**, 221–228 (1968).
- [23] Vogel, H., Niewisch, H., Matioli, G.: *Stochastic development of stem cells*. J. Theoret. Biol. **22**, 249–270 (1969).