

Стохастический алгоритм в реакционно-диффузионной модели процессов коммуникации эволюционирующих бактерий

Масловская А.Г.¹, Саруханян С.К.¹, Куттлер К.²

¹Амурский государственный университет

²Технический университет Мюнхена

maslovskayaag@mail.ru

Важнейшей особенностью многих бактериальных видов является способность к осуществлению коммуникации – процессу, оказывающему влияние на различные аспекты жизни человека. Один из основополагающих механизмов бактериальной коммуникации представлен «чувством кворума». Работа посвящена развитию модели этого сложного биологического явления на основе дифференциального подхода с использованием реакционно-диффузионного приближения. Для описания приближенного к реалистичному сценария в составе 2D детерминированной модели чувства кворума предложен стохастический алгоритм моделирования эволюции бактериальных популяций в полном жизненном цикле. Алгоритм реализуется на основе Монте-Карло симуляции логического роста популяции. Процедура интегрирована в общий алгоритм, базирующийся на численном решении системы уравнений с частными производными методом конечных разностей. Разработано программное приложение в ППП Matlab, которое позволяет проводить оценку концентрационных характеристик основных химических субстанций, определяющих «уровень кворума» биосистемы. Вычислительные эксперименты проведены на примере бактериального вида *P. putida*.

Ключевые слова: коммуникация бактерий, реакционно-диффузионная модель, популяционный рост, Монте-Карло симуляция, численные характеристики чувства кворума.

A Stochastic Algorithm for Reaction-Diffusion Model of Communication Processes in Evolving Bacteria

Maslovskaya A.G.¹, Sarukhanian S.K.¹, Kuttler Ch.²

¹Amur State University

²Technical University of Munich

The ability to communicate is the most important feature of many bacterial species, that affects various aspects of human life. One of the relevant mechanisms of bacterial communication is represented by "quorum sensing". The study is devoted to the development of a mathematical model of this complex biological phenomenon. The model is based on a differential approach using the reaction-diffusion approximation. To describe a realistic scenario, a stochastic algorithm for simulation of evolving bacterial populations in the full life cycle is proposed as part of the 2D deterministic quorum sensing model. The algorithm is implemented on the basis of the Monte Carlo simulation of logical population growth. The procedure is integrated into the general algorithm, which is based on the numerical solution of a system of partial differential equations using the finite difference method. A software application has been developed in Matlab, which allows us to evaluate the concentration of the main chemical substances characterizing "the quorum level" of a biosystem. Computational experiments were performed for the *P. putida* bacterial species.

Key words: bacterial communication, reaction-diffusion model, population growth, Monte Carlo simulation, numerical characteristics of quorum sensing.

1. Введение

В последние десятилетия научное сообщество преодолело этап системных изменений в представлениях о поведении многих объектов микромира. Важнейшим открытием в микробиологии стало явление коммуникации бактерий. В частности, в качестве одного из

возможных механизмов, посредством которого реализуется коммуникация, рассматривается "quorum sensing" – «чувство кворума». Чувство кворума было обнаружено у многих грамотрицательных бактерий, которые проявляют способность регулировать свою численность и реагировать коллективно на внешние возбудители.

Установлено, что процесс коммуникации управляется экспрессией специализированных наборов генов за счет действия сигнальных молекул, которые иницируют передачу информации между бактериями [1–2]. Чувство кворума интенсивно изучалось для многих бактериальных видов, включая смертоносные патогены. В частности, *Pseudomonas aeruginosa* (синегнойная палочка) – грамотрицательная палочковидная аэробная бактерия, которая благодаря чувству кворума способна вызывать госпитальную пневмонию, в частности, при применении аппаратов ИВЛ. Ее ближайший «сородич» – *P. putida* хотя и был признан безопасным для человека микроорганизмом, в некоторых случаях может выступать патогеном для людей с ослабленным иммунитетом (для новорожденных и онкологических больных) или матрицей для переноса более вредоносных бактерий, таких как *P. aeruginosa* [3].

Именно чувство кворума отвечает за развитие толерантности многих бактериальных видов к антибиотикам, а также за формирование поверхностных и пространственных компактных структур, представляющих угрозу для здоровья и жизни человека. Поэтому коллективное поведение бактерий становится важным объектом междисциплинарных разработок. Наряду с биологией и химией, для исследования этого сложного явления применяют средства и методы математической биологии и *in silico* исследования.

Если классифицировать известные модели с биологической точки зрения, то можно выделить отдельные категории исходя из того, какие механизмы регулируются с помощью чувства кворума: биолюминесценция (*Vibrio fischeri*), устойчивость к антибиотикам (*P. aeruginosa*), подвижность (*P. syringae*), компетентность (*Streptococcus pneumoniae*), вирулентность (*Escherichia coli*), формирование биопленок и бактериальных матов (*P. aeruginosa*). С математической точки зрения модели коммуникации бактерий можно условно разделить на две группы: детерминированные непрерывные модели, формализуемые на основе дифференциального аппарата, и дискретные модели с элементами неопределенности, основанные на применении агентного моделирования, теории клеточных автоматов, стохастического моделирования методом Монте-Карло и др. [4–5].

Одними из пионерских работ в детерминированном направлении были исследования, использующие аппарат обыкновенных дифференциальных уравнений [6]. Позднее были изложены многочисленные модификации этих подходов, основанные на рассмотрении молекулярных механизмов чувства кворума, регуляции кворума при формировании биопленок, возникновении биолюминесценции, формировании отклика на воздействие антибиотиков и усиление факторов вирулентности.

Дифференциальные модели допускают формализацию с учетом законов популяционного роста, наличия отрицательной обратной связи при активации специальных ферментов, присутствия запаздывания или эффекта памяти и др. [7–10]. Настоящее исследование направлено на развитие дифференциальной модели коммуникации бактериального сообщества, представленной в серии авторских работ [10–12].

Важным структурным элементом в алгоритмах реализации дифференциальных моделей является формализация количественной или концентрационной характеристик биомассы бактерий. С этой целью ранее были использованы уравнения логистического роста (временная динамика популяции) [9], фиксация бактериальных колоний определенного размера и задание эмпирического закона роста (квази-пространственно-временное распределение) [11], объединение дифференциальных моделей коммуникации и пространственно-временного роста биомассы [13]. Альтернативным подходом является стохастическое моделирование сценариев эволюции бактериальной популяции, позволяющих описать пространственно-временное распределение биомассы для всех фаз полного жизненного цикла. Целью данной работы является развитие стохастического алгоритма имитации роста микробной биомассы в полном жизненном цикле и его гибридизация с 2D реакционно-диффузионной моделью коммуникации бактерий для численной оценки концентрационных характеристик чувства кворума грамотрицательных бактерий.

2. Математическое описание модели и численные методы ее реализации

2.1. Формализованное представление чувства кворума бактериального сообщества

Введем в рассмотрение системное формализованное описание функционирования основных элементов биосистемы. Поскольку механизмы реализации чувства кворума отличаются у различных бактериальных видов, для определенности рассмотрим класс грамотрицательных бактерий. В частности, бактериальный штамм *P. putida IsoF* представляет удобный модельный объект, поскольку для него диагностированы процессы “quorum sensing” и “quorum quenching” (подавление кворума).

Бактериальное чувство кворума реализуется посредством генерации и распространения особых сигнальных молекул или аутоиндукторов (АИЛ). Рисунок 1 демонстрирует упрощенную схему системы, регулирующей чувство кворума. Важными элементами также являются: АИЛ-синтазы – ферменты, отвечающие за синтез аутоиндукторов (белки семейства PpuL), и регуляторы транскрипции (белки семейства PpuR). Продуцируемые бактериями ацил-гомосерин-лактоны (АИЛ) при определенной концентрации

способны диффундировать через клеточные мембраны бактериальных клеток и стимулировать активность генов, что, в свою очередь, за счет положительной обратной связи, вновь приводит к генерации сигнального вещества.

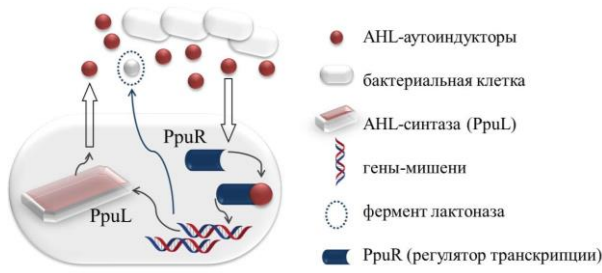


Рис. 1. Схематическое представление системы, регулирующей чувство кворума.

У определенных бактериальных видов диагностируется процесс деградации AHL за счет выработки специального фермента лактоназы. С точки зрения системного анализа, такой процесс может быть ассоциирован с возникновением отрицательной обратной связи в биосистеме. В дополнение, наблюдается естественная деградация сигнального вещества AHL и лактоназы, подавляющего кворум. Указанные процессы составляют полный цикл. В используемом модельном подходе спецификации подлежат две основные субстанции, характеризующие состояние коммуникации микробной биосистемы: сигнальное вещество AHL и фермент лактоназа. Концентрации данных субстанций определяются на основе численного решения системы нестационарных дифференциальных уравнений реакционно-диффузионного типа.

2.2. Реакционно-диффузионная модель коммуникации бактерий и метод реализации

Основными процессами, подлежащими формализации, являются динамика и диффузия AHL и лактоназы, естественная деградация AHL и лактоназы, деградация AHL за счет лактоназы, продуцирование AHL и лактоназы. Базовая модель описывается начально-граничной задачей для системы полулинейных уравнений с частными производными параболического типа:

$$\begin{cases} \frac{\partial u}{\partial t} = D_{AHL} \Delta u - \gamma_{AHL} u - \gamma_{L \rightarrow AHL} L u + F_1, \\ \frac{\partial L}{\partial t} = D_L \Delta L - \gamma_L L + F_2, \end{cases} \quad (1)$$

$0 < x < l$, $0 < y < l$, $0 < t \leq \bar{t}$. Для 2D модели $u(x, y, t)$ и $L(x, y, t)$ – пространственно-временные распределения AHL и лактоназы соответственно, моль/л. Система (1) замыкается заданием начальных

$$u(x, y, 0) = 0, L(x, y, 0) = 0, 0 \leq x \leq l, 0 \leq y \leq l \quad (2)$$

и граничных условий

$$u|_{\Gamma} = 0, L|_{\Gamma} = 0, 0 < t \leq \bar{t}, \quad (3)$$

Генерационные слагаемые F_s в (1) задаются в виде:

$$F_s = \sum_{v=1}^V f_s \exp \left(- \frac{(x - x_c^v)^2 + (y - y_c^v)^2}{\sigma^2} \right), \quad s = 1, 2, \quad (4)$$

$$f_1(u) = \alpha_{AHL} + \frac{\beta_{AHL} u^n}{(u_{th}^n + u^n)}, \quad f_2(u) = \frac{\beta_L u^n}{((u_{th} + \varepsilon)^n + u^n)},$$

где l – линейный размер области (мкм) и Γ – граница области; \bar{t} – время наблюдения процесса, час; (x_c^v, y_c^v) – позиция колонии с индексом v ; D_{AHL} , D_L , γ_{AHL} , γ_L , $\gamma_{L \rightarrow AHL}$, β_{AHL} , β_L , σ , u_{th} , ε – параметры.

Для решения задачи (1) – (4) использован метод конечных разностей – комбинация неявной трехточечной схемы с процедурой итерационной обработки (ввиду присутствия нелинейных реакционных слагаемых). Итоговая схема имеет второй порядок точности по координате и времени. Система линейных алгебраических уравнений для каждого временного слоя решалась методом прогонки. Верификация работы алгоритма проводилась с использованием тестовых задач, а также на основе численного анализа практической сходимости и устойчивости по отношению к генерационным слагаемым. Программная реализация алгоритма проведена в ППП Matlab.

Отметим, что в базовом алгоритме позиции колоний бактерий зафиксированы, а плотность биомассы и динамическая зависимость характеристик от времени введены через параметры функций Хилла и Гаусса. С целью обеспечения более реалистичных сценариев симуляции, введем рассмотрение алгоритм стохастического моделирования процессов бактериального роста.

2.3. Стохастический алгоритм симуляции эволюции бактериальной популяции

Динамика бактериальной популяции в фазе роста характеризуется зависимым от времени воспроизведением. В ходе этого процесса «материнская» бактериальная клетка увеличивается и делится на новые «дочерние» клетки. Также могут возникать новые клетки, идентичные родительской клетке. Для формализации динамики популяции чаще всего используют законы степенного, экспоненциального или логистического роста. За фазой быстрого роста следует фаза релаксации [14].

Для случая проточного культивирования бактерий, при котором добавляется новая питательная среда, а часть среды с клетками микроорганизмов и продуктами метаболизма удаляется, симуляция на данном этапе может быть остановлена. Однако под влиянием различных факторов (истощение питательной среды, введение деградирующих химических соединений, изменение температурного режима, выращивание периодических бактериальных культур) закон динамики бактериальной популяции может включать фазу ее деградации [14–15]. Например, скорость метаболизма падает вследствие нехватки

питательных веществ для роста бактерий. В фазе смерти прекращается размножение клеток и ускоряется их гибель. В основу алгоритма положены следующие принципы.

В фазе роста в расчетной области, ограниченной контуром Γ , имитируется рост колонии бактерий круглой формы согласно логистическому закону с использованием концепции метода Монте-Карло. В момент старта генерируется с разной вероятностью p до трех бактериальных колоний, расположенных в случайных позициях (для одной колонии $p_1=0.6$, для двух колоний – $p_2=0.3$, а для трех – $p_3=0.1$). Новая бактериальная колония может появиться в случайное время, но с малой вероятностью на каждом временном слое (например, $p^v=0.1$). Линейный размер каждой бактериальной колонии определяется согласно соотношению:

$$R^v(t) = \frac{IR_0 \exp(rt)}{I + R_0(\exp(rt) - 1)}, \quad v = \overline{1, V},$$

где R_0 – начальный линейный размер бактериальной колонии, мкм; I – предельный линейный размер, мкм, r – параметр, задающий скорость роста, 1/час.

Если в процессе симуляции геометрические области, которые занимают колонии, перекрываются, то функция источника (4) определяется как суперпозиция вкладов отдельных колоний (рисунок 2).

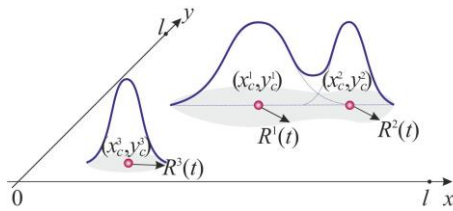


Рис. 2. Схема суперпозиции генерационных слагаемых при пересечении геометрических областей.

Следующий этап моделирования соответствует фазе релаксации. Рост колоний продолжается до того момента, когда суммарный линейный размер колоний станет равным некоторому предельному значению K . Генерация новых колоний прекращается. Для реализации модели эволюции бактериальной популяции, включающей фазу деградации, используется следующий вариант работы алгоритма. По достижении бактериальной колонией предельного линейного размера I , рост останавливается, бактерия «живет» определенное время τ , сохраняя свой размер, после чего «умирает», при этом линейный размер каждой колонии сокращается по экспоненциальному закону. Представленный алгоритм реализован в виде программного модуля в ППП Matlab и интегрирован в общую систему моделирования бактериального чувства кворума.

3. Результаты вычислительных экспериментов

Результаты вычислительных экспериментов продемонстрируем на примере бактериального вида *P. putida*. Пусть расчетная область – квадрат с линейным размером $l = 100$ мкм. Время наблюдения 20 час. Установим следующие значения модельных параметров [11]: коэффициенты диффузии аминокислоты и лактоназы $D_{AHL} = 100$ мкм²/час и $D_L = 1$ мкм²/час; абиотическое снижение скорости образования аминокислоты $\gamma_{AHL} = 0.005545$ 1/час; скорость деградации аминокислоты за счет лактоназы $\gamma_{L \rightarrow AHL} = 0.65 \cdot 10^9$ л/(моль·час); абиотическое снижение скорости образования лактоназы $\gamma_L = 0.5$ 1/час; производительность аминокислоты $\alpha_{AHL} = 1.058 \cdot 10^{-7}$ моль/(л·час); производительность аминокислоты $\beta_{AHL} = 1.058 \cdot 10^{-6}$ моль/(л·час); параметр продуцирования лактоназы $\beta_L = 1.38 \cdot 10^{-6}$ моль/(л·час); пороговое значение концентрации аминокислоты $u_{th} = 70$ нмоль/литр; $n = 2.5$, $\varepsilon = 5 \cdot 10^{-9}$ нмоль/л. На рисунке 3 представлен фрагмент имитации динамики бактерий и пространственное распределение концентрации AHL в момент времени $t^* = 8.3$ час достижения популяцией суммарного линейного размера, равного K .

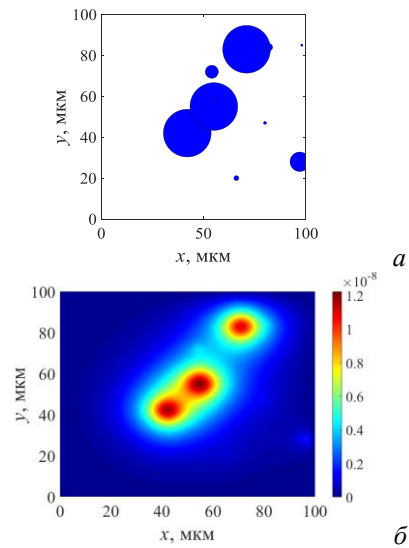


Рис. 3. Фрагмент состояния биосистемы – а и пространственные распределения концентрации AHL – б.

Параметр σ выбирался по правилу трех сигм $\sigma = R^v/3$, параметры, определяющие рост колонии: $R_0 = 1$ мкм, $I = 20$ мкм, $K = 47$ мкм, $r = 0.4$ 1/час, $\tau = 5$ час. Всего при симуляции было сгенерировано 10 колоний, динамика суммарного значения линейных размеров которых приведена на рисунке 4.

В целом, поведение концентрации сигнального вещества в динамике (график максимального значения u_{max}) характеризуется резким возрастанием, достижением максимума в момент t^* ,

дальнейшим снижением за счет одновременного роста концентрации лактоназы. При выходе в фазу смерти популяции наблюдается снижение уровня концентрации двух субстанций.

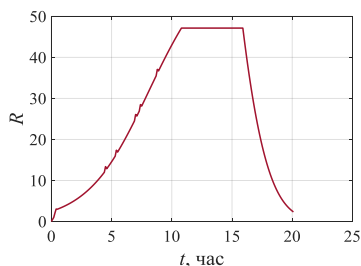


Рис. 4. Временная динамика суммарного линейного размера популяции в полном жизненном цикле.

В процессе достаточно интенсивного ингибирования популяции ($R \approx 2$ мкм при $t = 20$ час.) «уровень кворума» падает не так существенно — значение u_{max} составляет 2.2 нмоль/л, в то время как в момент t^* это значение соответствует 12 нмоль/л. Таким образом, уровень межклеточной коммуникации деградирующей популяции *P. putida* остается весьма существенным в течение длительного времени вследствие диффузионной природы данного явления и ослабления подавления кворума за счет снижения влияния ингибирующего фермента лактоназы.

4. Заключение

В работе представлена гибридная модель коммуникации бактериального сообщества, основанная на интеграции решения реакционно-диффузионного уравнения и алгоритма стохастической симуляции пространственно-временной динамики бактерий. Алгоритм позволяет рассчитывать характеристики кворума в процессе многофазной эволюции бактериального сообщества.

Дальнейшие перспективы развития данной тематики основаны на интеграции альтернативного дискретно-динамического подхода — клеточно-автоматной модели роста бактериальной биомассы и дифференциальной модели для расчета характеристик процесса коммуникации бактерий.

5. Благодарности

Работа поддержана Минобрнауки РФ (проект № 122082400001-8).

6. Список литературы

- Whitehead N.A., Barnard A.M.L., Slater H., Simpson N.J.L., Salmond G.P.C. Quorum sensing in Gram-negative bacteria. *FEMS Microbiol. Rev.* 2001. V. 25. P. 365–404. doi: [10.1111/j.1574-6976.2001.tb00583.x](https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2001.tb00583.x)
- Rutherford S.T., Bassler B.L. Bacterial quorum sensing: its role in virulence and possibilities for its control. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.*

2012. V. 2. P. a012427. doi: [10.1101/cshperspect.a012427](https://doi.org/10.1101/cshperspect.a012427)
- Fernandez M., Porcel M., de la Torre J., Molina-Henares M.A. Analysis of the pathogenic potential of nosocomial *Pseudomonas putida* strains. *Frontiers in Microbiology.* 2015. V. 6. P. 871. № 11. doi: [10.3389/fmicb.2015.00871](https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00871)
- Goryachev A.B. Understanding bacterial cell-cell communication with computational modelling. *Chem. Rev.* 2011. V. 111. № 1. P. 238–250. doi: [10.1021/cr100286z](https://doi.org/10.1021/cr100286z)
- Perez-Velazquez J., Gölgeli M., Garcia-Contreras R. Mathematical modelling of bacterial quorum sensing: a review. *Bull. Math. Biol.* 2016. V. 76. P. 1585–1639. doi: [10.1007/s11538-016-0160-6](https://doi.org/10.1007/s11538-016-0160-6)
- Dockery J.D., Keener J.P. A mathematical model for quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa*. *Bull. Math. Biol.* 2000. V. 63. № 1. P. 95–116. doi: [10.1006/bulm.2000.0205](https://doi.org/10.1006/bulm.2000.0205)
- Ward J.P., King J.R., Koerber A.J., Williams P., Croft J. M., Sockett R.E. Mathematical modelling of quorum sensing in bacteria. *IMA J. Math. Appl. Med. Biol.* 2001. V. 18. № 3. P. 263–292.
- Weber M., Buceta J. Dynamics of the quorum sensing switch: stochastic and non-stationary effects. *BMC Syst. Biol.* 2013. V. 7. № 6. P. 1–15. doi: [10.1186/1752-0509-7-6](https://doi.org/10.1186/1752-0509-7-6)
- Hense B.A., Schuster M. Core principles of bacterial autoinducer systems. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2015. V. 79. № 1. P. 153–169. doi: [10.1128/mmlbr.00024-14](https://doi.org/10.1128/mmlbr.00024-14)
- Kuttler Ch., Maslovskaya A. Hybrid stochastic fractional-based approach to modeling bacterial quorum sensing. *Applied Mathematical Modelling.* 2021. V. 93. P. 360–375. doi: [10.1016/j.apm.2020.12.019](https://doi.org/10.1016/j.apm.2020.12.019)
- Kuttler Ch., Maslovskaya A. Computer simulation of communication in bacterial populations under external impact of signal-degrading enzymes. *Proc. of the CEUR “Workshop Proceedings”.* 2020. V. 2783. P. 163–179.
- Maslovskaya A., Kuttler C., Chebotarev A., Kovtanyuk A. Optimal multiplicative control of bacterial quorum sensing under external enzyme impact. *Math. Model. Nat. Phenom.* 2022. V. 17. № 29. doi: [10.1051/mmnp/2022031](https://doi.org/10.1051/mmnp/2022031)
- Emerenini B.O., Hense B.A., Kuttler C., Eberl H.J. A Mathematical Model of Quorum Sensing Induced Biofilm Detachment. *PLoS ONE.* 2015. V. 10. № 7. Article No. e0132385. doi: [10.1371/journal.pone.0132385](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0132385)
- Llorens J.M.N., Tormo A., Martinez-Garcia E. Stationary phase in gram-negative bacteria. *FEMS Microbiol. Rev.* 2010. P. 476–495. doi: [10.1111/j.1574-6976.2010.00213.x](https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2010.00213.x)
- Peleg M., Corradini M.G. Microbial growth curves: what the models tell us and what they cannot. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.* 2011. V. 51. № 10. P. 917. doi: [10.1080/10408398.2011.570463](https://doi.org/10.1080/10408398.2011.570463)