

Биологическое время и его моделирование в квазихимическом пространстве.

© 2000 г. Ю.А. Ершов

Московская медицинская академия им. И.М. Сеченова

ersh @ r17.bmstu.ru, yuri_ersh @ mail.ru

Методология построения теории времени естественных объектов, детально изложена [1, 2]. В данной работе рассмотрены компоненты этой теории на примере клеточной популяции.

1. Структура клеточной популяции. (O-компонент теории, Object).

Первая проблема состоит в выборе составных частей (элементов, таксонов, униструктур) объекта и определении их пространственных границ [3, 4].

Принципиальная трудность состоит в том, что строгий критерий членения объекта на части отсутствует. Выделение объектов природы – идеализация, связанная, главным образом, с особенностями информационных взаимодействий живых организмов со средой [5].

Объективным критерием членения объекта может служить принцип энергетической дифференцировки [6], который можно записать в виде:

$$E_{j+1} \ll E_j,$$

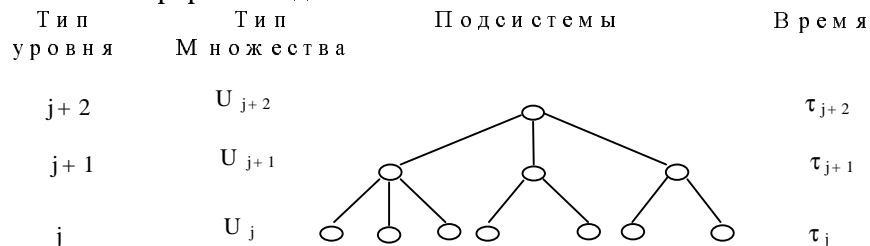
где E_j, E_{j+1} — прочность связи между элементами уровня j и между элементами более высокого уровня $j+1$ (схема 1).

Для клеточной популяции порядок элементов с усложнением уровня (цифры - номера j уровней) можно представить в виде:

$$1 \text{ молекулы}(\tau_m) \subset 2 \text{ органеллы}(\tau_o) \subset 3 \text{ клетки}(\tau_c) \subset 4 \text{ популяция}(\tau_p) \subset 5 \text{ экосистема}(\tau_e) \quad (1)$$

Каждый уровень j разбивается на подмножества элементов (схема 1).

Схема 1. Иерархия подсистем естественных объектов



В качестве высшего уровня в данной иерархии определена экосистема. В случае клеточной монокультуры экосистема состоит из двух частей: клеточной популяции и культуральной среды. Соответственно, в описание структуры объекта необходимо вводить описание структуры среды. В частности химическая структура среды включает набор питательных веществ (субстратов) и химических агентов:

$$M_s = (M_{s1}, M_{s2}, \dots, M_{se}) \quad (2)$$

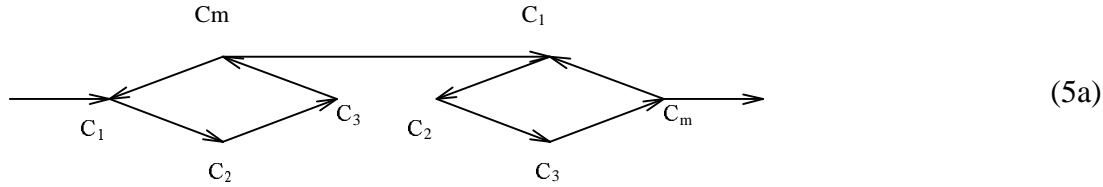
$$X_s = (X_{s1}, X_{s2}, \dots, X_{se}) \quad (3)$$

где M_s, X_s - векторы (наборы) субстратов (M_{s1}, M_{se}) и химических агентов (X_{s1}, X_{se}) для биологического вида S .

Многомерность структуры (1-3) создает слишком большие сложности не только для количественной, но и для качественной идентификации модели. Поэтому целесообразно исследовать агрегированные модели. В случае клеточной монокультуры весьма информативной оказывается структура (1) из трех уровней:

(3) клетки \subset (4) популяция \subset (5) экосистема (4)

Описательная модель клеточного цикла [7], начиная с митоза C_m , может быть представлена в виде разветвленной цепи:



или в более сжатом варианте:



Здесь C_1 - молодая клетка непосредственно после деления, f - коэффициент размножения, который в общем случае может отличаться от 2. C_2, C_3, C_m - фазы развития каждой из f клеток C_1 .

Фазы C_1, C_2, C_3, C_m соответствуют стадиям клеточного цикла G_1, S, G_2, M (клетки четырех возрастов) и являются подмножествами 4-го уровня иерархии (4) - популяции. Популяция с наборами химических агентов (2) и (3) формирует 5-й уровень модели (4).

2. Пространство допустимых состояний популяции (*S-компонент* теории, *States*).

Состояние системы отображается набором элементов (универсумов) всех типов (схема 1). В полной модели (2) состояние клеточной монокультуры задается числами всех типов мономеров, полимеров, органелл, клеток, химических и физических агентов среды. Размерность пространства состояний даже для культуры прокариотов составляет весьма большую величину.

Ограничения на достижимые состояния определяются условиями положительности числа компонентов и физической емкости среды.

В модели (4) состояние задается числами всех типов клеток, химических и физических агентов среды. Уменьшение размерности модели достигается путем агрегирования разных элементов одного уровня по тому или иному признаку.

Например, в рассматриваемой ниже двухстадийной модели фазы C_1, C_2, C_3 объединяются в одну по признаку их большой длительности и отсутствия деления на этих стадиях цикла. Разветвленный циклический граф, отображающий эту двухстадийную модель, имеет вид:



3. Изменение состояний популяции, «предвремя» (*C-компонент* теории, *Change*).

Разбиение множества особей на возрастные подмножества зависит от критериев, заложенных в основу членения объекта по данному признаку, от разрешающей способности экспериментальной методики и других факторов. Это обстоятельство хорошо иллюстрируется общепринятым членением клеточной популяции на четыре стадии (фазы) развития клеток C_1, C_2, C_3, C_m (G_1, S, G_2, M). Мало вероятно, что в природе существуют хотя бы две клетки, идентичных по наборам элементов всех уровней. Поэтому отнесение данной клетки к той или иной стадии проводится по степени соответствия индивидуальных характеристик этой клетки и усредненных характеристик стадий.

В результате метаболизма данная клетка практически непрерывно меняет набор элементов (1) и движется по своей индивидуальной траектории в определенном выше пространстве состояний (*S-компонент* теории). Эта траектория описывает все стадии развития данной клетки (движение в фазовом пространстве) от деления до деления. Последовательность точек этой фазовой траектории, отображенная на числовую ось, определяет предвремя индивидуальной клетки.

Траектории всех клеток популяции образуют в фазовом пространстве пучок. Отображение этого пучка на множество усредненных характеристик дает усредненную фазовую траекторию популяции.

Последовательность точек этой траектории, отображенная на числовую ось, определяет предвремя популяции.

Дальнейшая редукция модели приводит к цепи последовательных стадий (5b), представляющей собой разветвленный циклический граф.

4. Часы и параметрическое время популяции (*T-компонент теории, Time*).

Проблема выбора временных границ существования объекта тесно связана с *S*-компонентом теории, с определением масштабов предвремени, границ в пространстве.

Событие (момент времени) – переход объекта из одного состояния в другое. Тип события определяется уровнем, на котором оно происходит [2].

Предвремя природного объекта – отношение порядка (refl+trans) на множестве событий в этом объекте. Отображением этого порядка на числовой ряд получают числовое выражение предвремени.

Время – интервал между двумя наблюдаемыми событиями одного типа. Измеряется время числом событий между этими двумя событиями.

С биологической точки зрения возраст особи соответствует некоторой стадии индивидуального развития, начиная от зарождения. Стадия развития биологического объекта – синоним его возраста или биологического времени. В общем случае возраст однозначно не связан с физическим временем. Исходя из этого и вводят понятие биологического времени.

Экспликацию понятия “биологическое время” целесообразно дать на примере клеточных популяций. *Возраст популяции* τ_p определяется средним числом делений N_d первичных клеток посева или, что то же самое, числом циклов в цепи (5): τ_p порядка $\tau_c N_d$, где τ_c – среднее время клеточного цикла.

Каждую из биохимических реакций можно трактовать как замену одних молекул другими на молекулярном уровне структурной иерархии (1). Такая замена осуществляется в результате атомно-молекулярных взаимодействий. Поэтому естественным эталоном времени на молекулярном уровне являются атомные часы. Соответственно временные интервалы между «химическими» событиями измеряются в шкале физического времени. Характерное время τ_m молекулярного уровня определяется скоростями ферментативных реакций. Интервалы между событиями на молекулярном уровне имеют значения порядка секунд.

«Химические» события предопределяют события на всех более высоких уровнях популяции. Поэтому временные интервалы на этих уровнях обычно также измеряются в шкале физического времени.

Органеллы собираются из большого числа молекул. Сборка органелл осуществляется в результате молекулярных и, в том числе, ферментативных взаимодействий. Временные интервалы органелл τ_o имеют значения порядка 10^2 с.

Клетки формируются в результате образования наборов органелл и молекул и их трансформации. Временные интервалы клеток τ_c имеют значения порядка 10^4 с.

Популяция развивается в результате изменения наборов клеток в разных фазах развития. Взаимодействия между клетками носят диффузионно-обменный и контактный характер. Временные интервалы популяции τ_p порядка 10^5 с.

Динамика экосистемы зависит от запаса ресурсов, емкости, открытости а также от характера взаимодействия популяции со средой. Временные интервалы экосистемы τ_e имеют значения порядка τ_p .

Таким образом, для описания движения на всех уровнях популяции может использоваться единая физическая шкала времени.

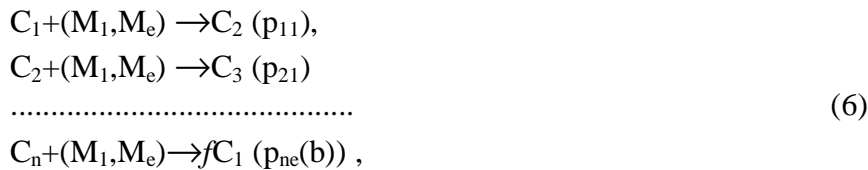
5. Закон обобщенного движения популяции (*L-компонент теории, Law*).

Для вывода закона обобщенного движения популяции в пространстве состояний предлагается использовать единый «квазихимический» язык для описания событий на всех уровнях популяции. При этом все взаимодействия отображаются квазихимическими уравнениями [5, 8, 9]. Пространство

состояний при таком описании можно назвать *квазихимическим*.

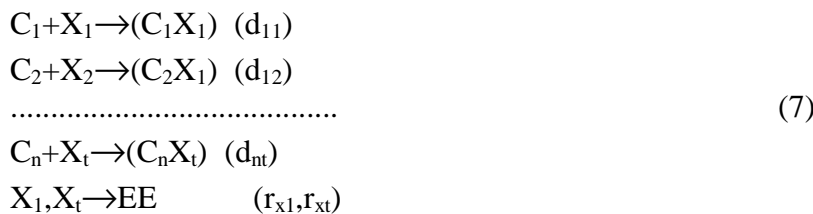
Отобразим с помощью квазихимических уравнений события, определяющие рост популяции на клеточном уровне трехуровневой модели (5).

Популяция развивается в результате усвоения субстратов. Это развитие описывается системой квазихимических реакций (индекс s опускается):



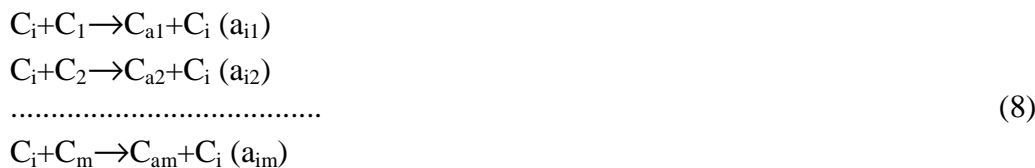
Набор кинетических констант (p_{11}, p_{ne}) определяет кинетический вектор роста.

Действие токсикантов X_i , может проявляться на любой стадии роста и описывается сходным образом:



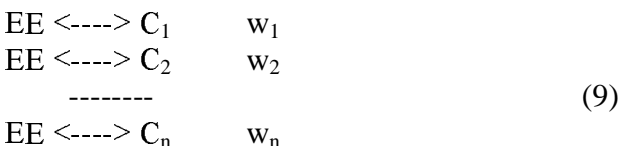
Здесь $(C_k X_l)$ – дезактивированные клетки разных стадий, (X_1, X_t) – вектор токсикантов; $\{d_{ij}\}$ – матрица коэффициентов ингибирования, (r_{x1}, r_{xt}) – вектор скоростей притока токсикантов из среды.

Кроме того, следует учесть клеточные взаимодействия (автоингибирование). Например, зрелые особи C_i переводят в неактивное состояние молодых C_{ak} :



Взаимодействия клеток описываются кинетическим вектором автоингибирования (a_{i1}, \dots, a_{im}) .

В открытых системах учитывается взаимодействие экосистемы со средой EE :



где (w_1, \dots, w_n) – вектор скоростей притока особей C_1, \dots, C_n из среды.

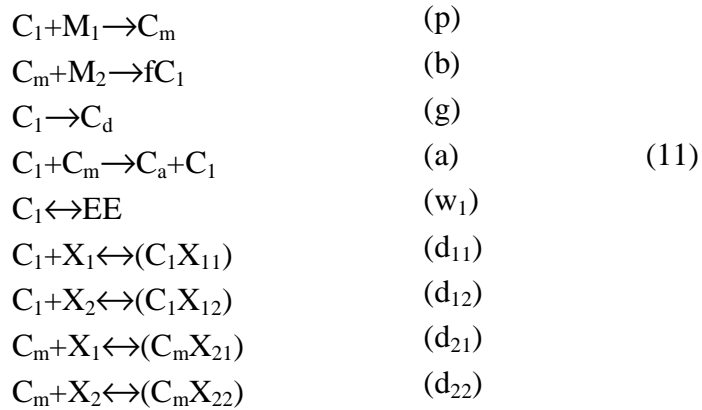
Система псевдохимических реакций (6)-(9) описывается стандартным образом [10-12] системой кинетических уравнений, представляющих собой *закон обобщенного движения популяции* в пространстве состояний:

$$dC/dt = \sum KC - \sum ACC - \sum DCX + \sum R + \sum W \quad (10)$$

Здесь $C = (c_1, c_2, c_3, c_m)$ вектор количества клеток в разных фазах, K, A, D, R, W – матрицы кинетических параметров.

С помощью различных приближений [11] система уравнений четвертого порядка может быть редуцирована до второго. Такая система достаточно информативна и позволяет качественно, а во многих случаях и количественно, описать развитие популяций различных видов.

Рассмотрим редуцированную модель (1) из двух стадий – роста и деления, дополненных стадией самоингибирования:



Здесь использованы те же обозначения, что и в системах (6) – (9) (индексы опущены): C_1 – множество клеток разного возраста до митоза, C_m – митотические клетки; C_a – клетки в анабиозе; $(C_k X_i)$ – ингибированные клетки разных стадий; M_1, M_2 – субстраты.

Следует отметить, что двухстадийный цикл (фазы S и M) наблюдается на ранних стадиях развития зародышей пойкилотермных животных [15, 16]. На этом основании в этот период в качестве единичного интервала времени можно использовать длительность τ_c клеточного цикла («детлаф»).

В предположении постоянства концентраций субстратов M_1, M_2 кинетика цепного роста популяции, состоящей из особей C_1 и C_m , описывается системой:

$$dc_1/dt = -p_x c_1 + f b c_m + w_1 \tag{12.1}$$

$$dc_m/dt = p c_1 - b_x c_m - a c_1 c_m \tag{12.2}$$

Здесь c_1, c_m – количества растущих и митотических клеток; a, b, p – коэффициенты автоингибирования, рождения и роста популяции в отсутствие ингибиторов. В коэффициенты p и b включены постоянные количества субстратов M_1 и M_2 . f – коэффициент размножения. Коэффициенты b_x и p_x – функции количества ингибиторов x_1 и x_2 :

$$p_x = p + d_1; b_x = b + d_2, \text{ где } d_1 = d_{11} x_1 + d_{12} x_2; d_2 = d_{21} x_1 + d_{22} x_2. \tag{13}$$

Система уравнений (12) представляет собой закон обобщенного движения двухстадийной популяции в пространстве состояний. Преобразованная в виде:

$$dc_1 = (-p_x c_1 + f b c_m + w_1) dt, \quad dc_m = (p c_1 - b_x c_m - a c_1 c_m) dt, \tag{12a}$$

система (12) определяет соотношение между интервалами биологического dc_i и физического dt времени.

В приближении квазистационарности для митотических клеток C_m система (12.1-12.2) сводится к одному уравнению:

$$dc_1/dt = p_x c_1 (K_1 - c_1) / (K_2 + c_1) + w_1 \tag{14}$$

$$\text{Здесь } K_1 = c_1 = (f b p - p_x b_x) / (a p_x); \quad K_2 = b_x / a. \tag{15}$$

Динамику численности популяции $c_1(t)$ в общем случае нельзя выразить в виде явной функции от времени t . Поэтому используют обратную функцию $t(c_1)$, получаемую интегрированием (14) по c_1 :

$$t(c_1) = \ln \left\{ (c_1 / c_0) \left[(K_1 - c_0) / (K_1 - c_1) \right]^{(1+n)} \right\} / (n p_x), \text{ где } n = K_1 / K_2. \tag{16}$$

Уравнение (16) в явном виде отображает физическое время на множество состояний популяции.

6. Интерпретация модели (I-компонент теории, Interpretation).

На рис.1 приведены экспериментальные точки и графики функции (16), описывающие дрожжевых клеток в присутствии солей хрома и никеля [13]. При расчете графиков брали значения a, b, p, f , определенные по экспериментальным данным [17]. В пределах точности измерений расчетные кривые согласуются с экспериментом при изменении численности примерно на шесть порядков.

Хорошее согласие теории с экспериментом получено и для других биологических объектов [8, 9].

Поэтому интересно провести верификацию квазихимической модели по характеристикам, связанным с проблемами биологического времени.

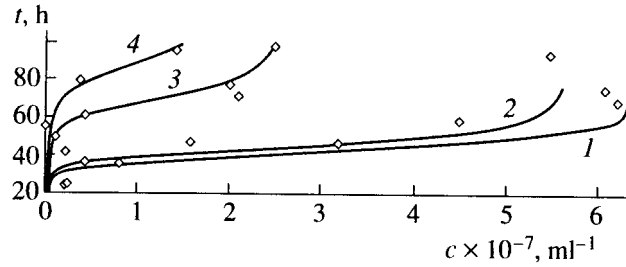


Рис. 1. Экспериментальные точки и графики функции (16), описывающие рост пивных дрожжей при разных концентрациях (ммоль/л) солей хрома и никеля [13]: (1) $c(\text{Ni}) = c(\text{Cr}) = 0.0$, (2) $c(\text{Ni}) = 0.5$, (3) $c(\text{Cr}) = 0.5$, and (4) $c(\text{Ni}) + c(\text{Cr}) = 0.5 + 0.5$. Коэффициенты: $a=1.25 \cdot 10^{-7}$ мл /ч, $b=0.8 \text{ ч}^{-1}$, $p=0.32 \text{ ч}^{-1}$, $f=2$.

Уравнения (12a) можно представить в виде:

$$dc_1 = K_{c1} dt, \quad dc_m = K_{cm} dt, \quad (17)$$

где величины $K_{c1} = (-p_x c_1 + f b c_m + w_1)$ и $K_{cm} = (p c_1 - b_x c_m - a c_1 c_m)$ представляют собой калибровочные коэффициенты для перехода от интервала физического времени dt к интервалам биологического времени dc_j .

На основе (17) получают соотношение между конечными временными интервалами:

$$\Delta c_1 = \int_{t_1}^{t_2} K_{c1} dt, \quad \Delta c_m = \int K_{cm} dt. \quad (17a)$$

Калибровочные соотношения (17) обладают следующими свойствами:

1. Коэффициенты K_{c1} и K_{cm} зависят от кинетических констант, характеризующих внутри- и внесистемные взаимодействия. Это определяет специфику биологического времени данного объекта.

2. Коэффициенты K_{c1} и K_{cm} зависят от наблюдаемого состояния объекта, то есть изменяются при движении по фазовой траектории.

3. Коэффициенты K_{c1} и K_{cm} неодинаковы для однотипных элементов данного уровня иерархии. Это означает, что собственное время «течет» с разной скоростью не только на разных уровнях биологической системы, но и в различных элементах одного уровня.

Приращение суммарной массы dm_p или численности dN_p популяции определяют интервал биологического времени популяции в целом. Для двухстадийной популяции $dN_p = V(c_1 + c_m)$, где V – объем системы. Связь между популяционным и физическим временем согласно (17) определяется соотношением:

$$dN_p = V(K_{c1} + K_{cm}) dt. \quad (18)$$

Через длительность клеточного цикла τ_c в физической шкале (в «детлафах») эта величина выразится в виде:

$$dN_{pd} = V(K_{c1} + K_{cm}) dt / \tau_c. \quad (19)$$

Длительность клеточного цикла τ_c в физической шкале рассчитывают либо по экспериментальным значениям прироста массы или численности клеток, либо по экспериментальным значениям параметров b и p модели (12).

Приращение численности популяции $\Delta c_{12} = c_2 - c_1$ в единице объема наблюдается за время $\Delta t_{12} = t_2 - t_1$, согласно (16) равно:

$$\Delta t_{12} = \ln\{(c_2/c_1)[(K_1 - c_1)/(K_1 - c_2)]^{(1+n)}\} / (np_x), \quad (20)$$

где c_1, c_2 – численности в моменты t_1, t_2 .

Среднее число делений n_{12} каждой из c_1 клеток за это время равно:

$$n_{12} = \log(c_2/c_1) / \log 2 \quad (21)$$

Следовательно, τ_c можно оценить по формуле:

$$\tau_c = \Delta t_{12} / n_{12} \quad (22)$$

Другую оценку значения τ_c можно сделать по кинетическим коэффициентам b и p модели (12):

$$\tau_c = 1/b + 1/p. \quad (23)$$

Расчет по формулам (22) и (23) для дрожжей *S. cerevisiae* (данные рис. 1) дает близкие значения величины τ_c (3,7 и 4,4 ч).

Формула (23) предлагаемой модели клеточной динамики позволяет количественно интерпретировать температурную зависимость длительности клеточного цикла τ_c , хорошо известную из работ [14-16]. Зависимость коэффициентов b и p от температуры можно аппроксимировать формулой Аррениуса. Тогда согласно (23) температурная зависимость τ_c выражается в виде:

$$\tau_c = b + p = a_b e^{E_b/T} + a_p e^{E_p/T}, \quad (24)$$

где E_b , E_p – энергии активации скоростей деления и роста, a_b , a_p – соответствующие предэкспоненциальные множители, T – абсолютная температура.

На рис. 2а приведена кривая зависимости τ_c , рассчитанная по уравнению (24) с помощью эмпирических параметров a_b , a_p и E_b , E_p . Модельная кривая качественно правильно описывает наблюдаемую закономерность [14-16].

Подставляя аррениусовские выражения коэффициентов b и p в уравнение (20) получают формулу для расчета зависимости времени роста Δt_{12} популяции до разных ступеней развития (разные c_2/c_1).

На рис. 2б приведены кривые зависимости Δt_{12} , рассчитанные по уравнению (20) с помощью эмпирических параметров a_b , a_p и E_b , E_p . Модельные кривые качественно правильно описывают экспериментально наблюдаемые зависимости [14-16].

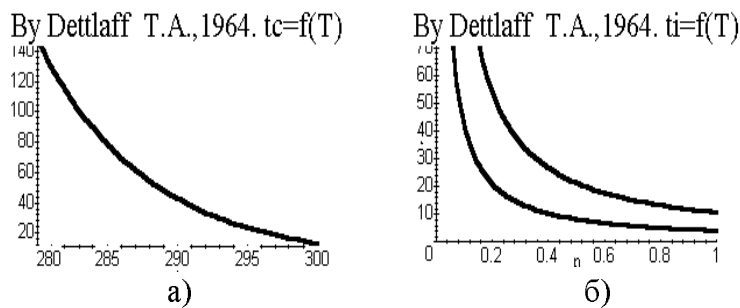


Рис. 2. Кривые температурной зависимости длительности развития элементов разных уровней: а) длительность клеточного цикла, рассчитанная по уравнению (24); б) длительности разных стадий развития популяции, рассчитанные по уравнению (20).

Модель (12) дает возможность проверить для популяции применимость функции Бакмана [14]:

$$\text{Log}N = k \log^2 T, \quad (25)$$

где N – скорость роста популяции, T – время роста, $k < 0$ – нормировочная постоянная.

В аналитическом виде функцию Бакмана можно получить, подставляя в (25) выражения N и T , равные, соответственно, правым частям уравнений (14) (при $w_1 = 0$) и (16). При этом получают зависимость (25) как явную функцию роста, выражаемого переменной величиной c_1 при заданном начальном значении c_0 . На рис. 4 приведен соответствующий график. Согласно (25), логарифм скорости роста должен быть пропорционален квадрату логарифма времени роста. Однако, как следует из рис. 4, такая зависимость для двухстадийной популяции не наблюдается.

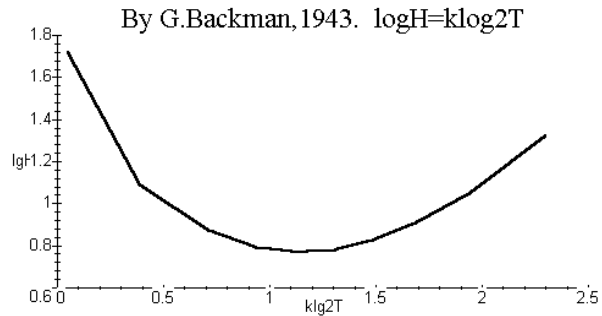


Рис. 3. Функция роста Бакмана (25), построенная на основе двухстадийной модели (16) динамики популяции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Акчури И.А. Единство естественнонаучного знания. М., 1974.
2. Левич А.П. // Конструкции времени в естествознании. М., 1996. С. 9-27, 235-288.
3. Шаров А.А. // Конструкции времени в естествознании. М., 1996. С. 96-111.
4. Мейен С.В. // Системность и эволюция. М., 1984. С. 7-32.
5. Ершов Ю.А. // Ж. Физ. химии. 1999. Т.73. № 10, С. 1817 – 1823.
6. Ершов Ю.А. // Ж. Физ. Химии, 2000, т. 74, № 6, С. 1087-1093.
7. Ершов Ю.А. Термодинамика квазиравновесий в биологических системах. М., ВИНТИ, 1983. 140 с.
8. Гудвин Б. Аналитическая физиология клеток и развивающихся организмов. М.:Мир, 1979, 288 с.
9. Ершов Ю.А. // Докл. РАН. 1997. Т.72. № 5. С. 627-629.
10. Ершов Ю.А. // Ж. Физ. химии. 1998. Т. 352. № 3. С.553-559.
11. Ершов Ю.А. и др. Кинетика и термодинамика биохимических и физиологических процессов. М., Медицина, 1990, 155с.
12. Романовский Ю. М., Степанова Н.В., Чернавский Д.С. Математическая биофизика. М. Наука. 1984. - 304 с.
13. Математические проблемы химической кинетики. Сб. Ред. К.И. Замараев, Г.С. Яблонский. Новосибирск: Наука, 1989, 335с.
14. Ершов Ю. А., Плетенева Т. В., Слонская Т. К. //Бюлл. экспериментальной биологии и медицины, 1997. Т. 123. № 5, р. 594-600.
15. Backman G. Wachstum und organische Zeit. Leipzig, 1943.
16. Dettlaff T. A. //Adv. Morphogen. 1964. № 3, P. 323-362.
17. Experimental species for developmental biology. Т.А. Dettlaff, S.G. Vassetzry Eds.). N.Y. Plenum Press. 1989.