

УДК 576.3

## БИОФИЗИКА ОСНОВНЫХ РЕЖИМОВ КЛЕТОЧНОГО МЕТАБОЛИЗМА. ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ РЕЖИМЫ КЛЕТКИ: СОСТОЯНИЕ ПОКОЯ И АКТИВНОСТЬ

А. Р. Зарицкий, В. С. Пронин

*Работа посвящена кинетике изменения в цитоплазме концентраций АТФ и рН – важнейших параметров клетки, которые определяют величины скоростей практически всех процессов ее метаболизма. Авторы предлагают в течение клеточного цикла выделять три режима метаболизма, выполняющих важную функциональную роль в жизнедеятельности клетки. Два из них (активность и митоз) – цикличны, и только один (покой) характеризуется гомеостазом основных параметров клетки.*

Представления о клеточном цикле – цепи событий от ее рождения в результате деления материнской клетки до исчезновения при последующем делении на две дочерние особи – включают также целый ряд сложных биохимических и физических процессов, следующих в строгой последовательности друг за другом [1]. Однако причинно-следственные связи и факторы, определяющие скорости и порядок смены событий и процессов, остаются до настоящего времени невыясненными. Понятно, что без этого составить общую картину о том, как клетка работает, невозможно.

Согласно принципу детерминизма становление и развитие любого явления происходит не произвольно, а согласно определенным законам, которые, собственно, и управляют порядком и формой этих событий. Любой живой объект (будь то клетка, орган или отдельная особь) при наличии определенных условий неизбежно, если угодно, автоматически, будет перенастраивать свои структуры и реагировать на затрагивающие его события строго определенным образом и никак иначе. Такая предсказуемость поведения живой системы, причем даже в патологических ситуациях, непосредственно вытекает из закономерностей ее морфофункционального построения, которые представляют собой набор наиболее оптимальных способов жизнеобеспечения особей во имя сохранения и умножения численности всей популяции. В этом плане наиболее продуктивным в научных исследованиях представляется поиск системообразующих факторов,

определяющих механизмы развития, правила и порядок функционирования живых систем. Так, П. Т. Шарден еще более века назад предложил искать такие факторы, опираясь на анализ эволюционного становления и развития клетки [2].

В настоящей работе приводятся первые результаты такого анализа. Авторы предлагают модель, говоря словами П. Т. Шардена, того, "как клетка работает". По методике, разработанной в [3], рассматривается кинетика баланса скоростей двух групп противоположно направленных метаболических процессов: освобождения химической энергии при окислении энергосубстратов и ее трат на нужды клетки. Выделены три основных режима клеточного метаболизма, которые характеризуют основные стороны жизнедеятельности клеток. Речь идет о режимах активности, митотического деления и состоянии покоя, каждый из которых имеет свое особое функциональное предназначение.

Режим активности у одноклеточных организмов предназначен для возможно быстрой подготовки их к митотической деятельности и позволяет эффективно использовать благоприятные периоды поступления энергосубстратов при постоянно меняющихся условиях внешней среды. Логично считать, что по этой причине в процессах эволюционного совершенствования в них выработались механизмы, препятствующие отведению даже части высвобождаемой в клетках химической энергии на восстановление своих структур, непрерывно повреждаемых в присутствии кислорода. Указанные механизмы действуют только в режиме активности и не в полной мере при митозе, что обеспечивает экономию энергии для более значимых процессов, определяющих выживание популяций простейших. Специализированные клетки, унаследовавшие эти механизмы, в режиме активности основную часть высвобождаемой энергии (в отличие от простейших) затрачивают на функцию, полезную для организма, а оставшуюся – на подготовку к митозу, которая представляет собой этап накопления в них гликогена или крахмала. Эта приобретенная особенность, лежащая в основе более высокой функциональной деятельности специализированных клеток в ущерб скорости деления, создала предпосылки для совершенствования приспособительных функций тканей и способствовала расширению адаптивных возможностей организма в процессах эволюционного совершенствования.

Митоз (деление клеток) является единственным каналом восполнения клеточного пула, компенсирующим неизбежное его обеднение вследствие гибели клеток по целому ряду случайных и неслучайных причин. Режим митотического деления так же, как и процессы неизбежной гибели клеток, является необходимым условием протока количества клеток как основы гомеостаза любой жизнеспособной клеточной системы, будь то

популяция простейших или специализированная ткань, орган и многоклеточный организм.

По нашему мнению, независимо от уровня организации клеток, важной особенностью режимов активности и митотического деления является то, что в первом случае не происходит восполнения и восстановления утрачиваемых и поврежденных функциональных и структурных элементов, а во втором хотя и происходит, но не в полной мере. Это обстоятельство является основным фактором, ограничивающим продолжительность режима активности и число делений. Неизбежно возникающие при указанных режимах структурные дефекты устраняются в 3-ем режиме клеточного метаболизма – состоянии покоя, которое характеризуется постоянством основных метаболических параметров клетки. Его биологическое значение заключается в том, что только в этом режиме происходит восстановление (восполнение утраченных, “ремонт” поврежденных и замена негодных) всех структур клетки, нарушенных в процессе предшествующих режимов. В первую очередь, это касается адаптационных структур у одноклеточных и специализированных структур в клетках многоклеточного организма. Следовательно, состояние покоя крайне необходимо для сохранения целостности клетки и ее нормальной жизнедеятельности.

Как известно, кинетика метаболических параметров отражает кинетику протока веществ и энергии в клетке. Это позволяет формально рассматривать ее как баланс скоростей роста и уменьшения величин параметров [3]. Учитывая, что живые клетки могут поддерживать свое термодинамически неравновесное состояние только за счет энергии, выделяющейся при утилизации энергоемких субстратов, следует признать, что ведущими параметрами в анализе кинетики клеточного метаболизма являются кислотность ( $pH$ ), концентрации основного макроэрга (АТФ) и ферментов в цитоплазме. Именно эти параметры в конечном итоге определяют величины скоростей всех энергозависимых процессов. Проточный гомеостаз веществ предполагает характерные времена обновления их запасов в клетках. Так, для подавляющего числа видов крупных молекул органических соединений (таких, как белки), участвующих в утилизации энергоемких субстратов, синтезе биологически активных веществ и т.п., время наработки – 2-3 дня, а распада – 2-3 месяца. Величины  $pH$  и концентрации АТФ ( $n_{АТФ}$ ) могут меняться за доли секунды. Поэтому, рассматривая кинетику метаболизма клетки, ограничимся рассмотрением динамики роста и уменьшения быстро изменяющихся величин  $pH$  и  $n_{АТФ}$  в предположении, что концентрации ферментов, катализирующих реакции метаболизма, постоянны. Такое предположение, в свете приведенных выше соображений,

представляется оправданным. Еще одним важным параметром, относящимся к группе быстро меняющихся, является количество липидов ( $C$ ) в клеточных структурах, в том числе в составе цитоплазматических мембран. На кинетику изменений этого параметра также следует обратить внимание, поскольку он определяет целостность клетки.

*Состояние покоя.* Состояние покоя характеризуется постоянством основных параметров (гомеостазом) клетки. Такое состояние можно описать замкнутой системой уравнений, причем вычисленные при этом значения параметров являются усредненными по их флуктуационным колебаниям. Оставив свободными только два самых важных параметра –  $n_{AT\Phi}$  и  $pH$  цитоплазмы, определяющих скорости всех энергозависимых процессов в клетках, можно найти соотношения между скоростями притока  $V^+$  и стока  $V^-$  молекул АТФ, липидов и ионов  $H^+$  и величинами  $pH$  и  $n_{AT\Phi}$ :

$$\begin{aligned} V_{AT\Phi}^+ &= f_1(n_{AT\Phi}; pH); V_{AT\Phi}^- = f_2(n_{AT\Phi}; pH); V_{pH}^+ = \\ &= f_3(n_{AT\Phi}; pH); V_{pH}^- = f_4(n_{AT\Phi}; pH); V_C^+ = f_5(n_{AT\Phi}; pH); V_C^- = f_6(n_{AT\Phi}; pH). \end{aligned}$$

Каждая из приведенных функций двух переменных  $n_{AT\Phi}$  и  $pH$  в трехмерном пространстве указанных величин определяет поверхность сложной формы. На рис. 1а схематично представлены участки этих поверхностей подобно тому, как это сделано в [3]. Пересечение двух поверхностей  $V^+$  и  $V^-$  для каждого из параметров дают кривую линию, являющуюся геометрическим местом точек, отвечающих стационарным значениям каждого из параметров. Проекция этих кривых на плоскость  $n_{AT\Phi} - pH$  (следы кривых) позволяют найти фазовый портрет состояний покоящейся клетки. Кривая  $KL$  представляет собой (см. рис. 1б) совокупность точек равенства скорости синтеза  $V_C^+$  и распада  $V_C^-$  липидов. В точках, лежащих выше кривой  $KL$ , преобладает их синтез, а в точках, расположенных под кривой, – распад. Кривая  $WR$  является геометрическим местом точек равенства скоростей процессов, приводящих к закислению цитоплазмы (точки справа от кривой) и ее подщелачиванию (точки слева от кривой). Кривая  $MN$  отражает баланс скоростей синтеза АТФ –  $V_{AT\Phi}^+$  и распада  $V_{AT\Phi}^-$ . Справа от кривой преобладают процессы синтеза, а слева – распада этого макроэрга. На рис. 1б схематично представлены отрезки этих трех кривых с устойчивыми точками пересечения 1, 2 и 3 каждой пары. Следует заметить, что, хотя конкретные формы и взаимное расположение кривых неизвестны, однако наличие этих точек пересечения кривых в области физиологических значений  $pH$  и концентраций АТФ фазовой плоскости является необходимым условием для жизни и нормального функционирования клеток.

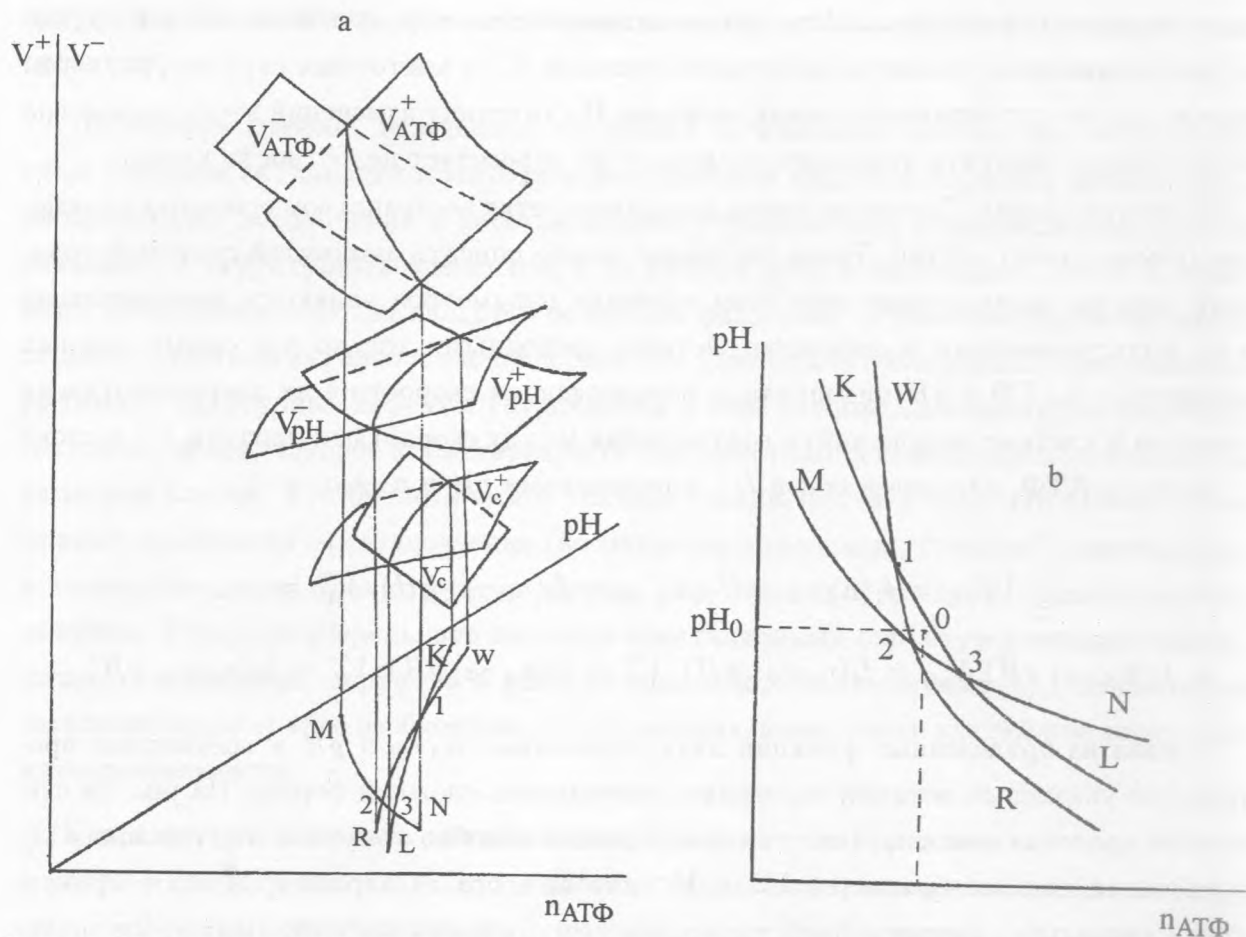


Рис. 1. Кинетика скоростей роста  $V^+$  и убыли  $V^-$  концентрации АТФ, величины  $pH$  цитоплазмы и количества  $C$  липидов в клетке; а) зависимости  $V^+$  и  $V^-$  от величин  $pAT\Phi$  и  $pH$ ; б) фазовый портрет на плоскости  $(pH; pAT\Phi)$  равенства скоростей роста и убыли указанных величин. Кривые:  $KL$  – равенства скоростей синтеза и распада липидов,  $WR$  – постоянства концентрации АТФ и  $MN$  – постоянства  $pH$  цитоплазмы.

На начальных этапах становления и совершенствования клеточных систем точки 1, 2 и 3 на фазовой плоскости были крайне разнесены и вероятность гибели клеток по сравнению с настоящим уровнем их развития была существенно выше. Согласование метаболических процессов при эволюционном развитии шло в основном в направлении их сближения до тех пределов, когда их взаимная удаленность стала сопоставима с флуктуациями величин  $pAT\Phi$  и  $pH$ . Поэтому неизбежные колебания всех жизненно важных параметров метаболизма, вызванные несовпадением указанных устойчивых стационарных точек пересечения кривых всех возможных пар параметров, в том числе не

нашедших отражения на фазовой плоскости рис. 1б, хотя и были минимизированы, но их невозможно свести к нулю. Таким образом, кинетика метаболизма клетки в режиме покоя характеризуется незатухающими релаксационными колебаниями по предельному циклу (в широком диапазоне частот) как величин самих параметров, так и скоростей их изменения, “тонущих” во флуктуациях указанных величин. В качестве примера можно привести колебания объема эритроцитов в пробе консервированной крови, взятой у донора, которые авторы неоднократно наблюдали вместе с группой сотрудников ФИАН им. П. Н. Лебедева.

Усреднение величин по их колебаниям дает на фазовой плоскости точку  $O$  с координатами  $(n_0, pH_0)$  – состояние покоя клетки. При дальнейшем изложении материала мы пренебрежем флуктуационными и релаксационными колебаниями параметров, т.е. примем, что в состоянии покоя строго гомеостатируются величины  $n_0$  и  $pH_0$ .

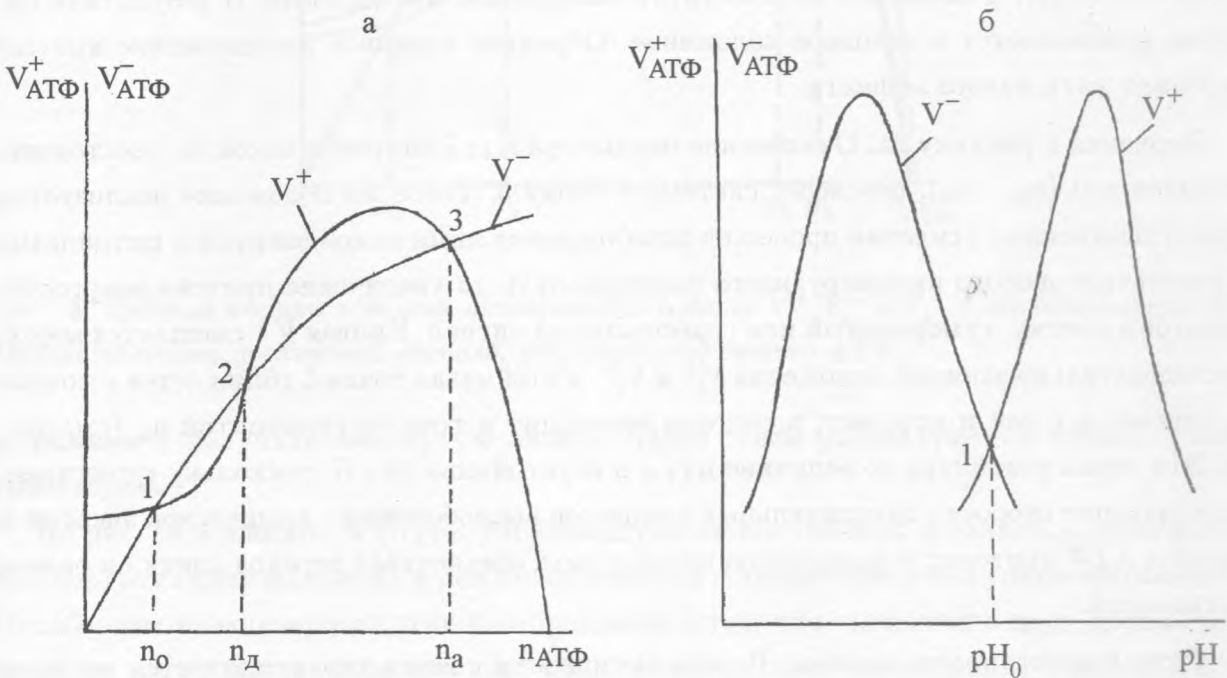


Рис. 2. Зависимости скоростей роста  $V^+$  и убыли  $V^-$  концентрации АТФ в состоянии покоя; а) от величины  $n_{ATФ}$  при постоянной кислотности цитоплазмы ( $pH_0 = const$ ); б) от величины  $pH$  цитоплазмы при постоянной концентрации АТФ ( $n_0 = const$ ).

Кинетику проточного гомеостатирования параметров покажем на примере гомеостаза величины  $n_{ATФ}$  (подробнее смотри [2]). Рассмотрим сечение поверхностей  $V_{ATФ}^+ = f_1(pH; n_{ATФ})$  и  $V_{ATФ}^- = f_2(pH; n_{ATФ})$  плоскостью  $pH = pH_0$ . Соответствующие кривые

$V_{AT\Phi}^+$  и  $V_{AT\Phi}^-$  в этой плоскости приведены на рис. 2а. Точки 1, 2, 3 с координатами  $n_0, n_d$  и  $n_a$  – стационарные. При этом точки 1 и 3 – устойчивые по концентрации АТФ, а точка 2 – неустойчивая. Точка 1 соответствует состоянию покоя.

Устойчивость точки покоя по параметру  $pH$  иллюстрирует рис. 2б. На нем приведено сечение вышеуказанных поверхностей плоскостью  $n_{AT\Phi} = n_0$ . В координатах  $V^+, V^-; pH$  приведены зависимости скоростей синтеза  $V_{AT\Phi}^+$  и расхода  $V_{AT\Phi}^-$  от  $pH$  при фиксированной концентрации АТФ, равной  $n_0$ . Только взаимное расположение кривых, подобное приведенному на рис. 2б, может обеспечить устойчивость точки покоя 1 с координатой  $pH_0$ . Действительно, флуктуационное отклонение значений  $pH$  вправо от нее приводит к преобладанию скорости синтеза над скоростью расхода АТФ. Концентрация АТФ возрастает, вызывая увеличение скорости работы ионного насоса  $K^+/Na^+$  АТФ-азы, что, в свою очередь, обуславливает увеличение трансмембранной разности потенциалов [3], а последнее способствует закислению цитоплазмы. В результате система возвращается в исходное положение. Обратное взаимное расположение кривых не может дать такого эффекта.

Вернемся к рисунку 2а. Отклонение параметра  $n_{AT\Phi}$  от точки покоя на расстояние, большее чем  $(n_d - n_0)$ , переведет систему в точку 3. Такое же положение реализуется при существенном усилении процессов освобождения химической энергии в цитоплазме в результате любого инициирующего фактора, будь то увеличение притока энергосубстратов в клетку, гуморальный или гормональный сигнал. Кривая  $V^+$  смещается вверх, последовательно занимая положения  $V_1^+$  и  $V_2^+$ . Устойчивая точка 1 сближается с точкой 2, сливается с ней и исчезает, а система переходит в точку с координатой  $n_a$  (см. рис. 3). Эта точка устойчива по величине  $n_{AT\Phi}$  и неустойчива по  $pH$ , поскольку существенно возросшие скорости окислительных процессов высвобождения химической энергии и синтеза АТФ приводят к закислению цитоплазмы, обеспечивая переход клетки в режим активности.

*Режим активности клетки.* Режим активности клетки характеризуется последовательной сменой состояний клетки. Кислотность и концентрация АТФ цитоплазмы непрерывно изменяются, а фазовый портрет состояний клетки на плоскости  $\{n_{AT\Phi}; pH\}$  представляет собой квазизамкнутую траекторию. Период активности может вместить множество циклов, причем их фазовые траектории не могут в точности совпадать по ряду причин, главными из которых являются неизбежные флуктуации величин параметров. Однако, подобно тому, что мы сделали с фазовым портретом состояния покоя, траектории циклов активности можно усреднить за время поддержания клеткой это-

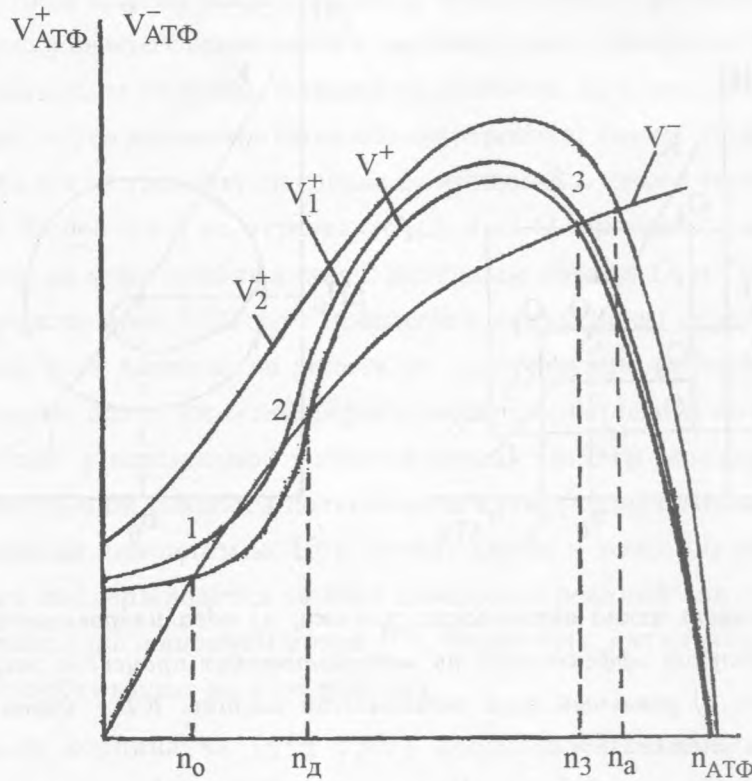


Рис. 3. Переход клетки в режим активности. Кривые  $V^+$ ,  $V_1^+$  и  $V_2^+$  соответствуют последовательному увеличению сигнала, усиливающего синтез АТФ.

го режима и получить замкнутую линию. Далее будем рассматривать именно такие траектории.

На рис. 4а в плоскости  $\{n_{AT\Phi}; pH\}$  представлен полученный в данной модели фазовый портрет перехода клетки в режим активности и дальнейшего ее функционирования. Метаболизм идеализирован, так как предполагается, что сменяющие друг друга процессы не могут начаться до тех пор, пока не завершатся предыдущие. Кривая  $KL$  – равенства скоростей синтеза и распада липидов. Точка  $O$  на этой кривой соответствует состоянию покоя. Клетка переходит в циклический режим активности по траектории  $O-O_1-O_2-O_3$ . Циклы активности осуществляются по замкнутой траектории  $O_3-O_4-O_5-O_6-O_7-O_3$ . Отрезку  $OO_1$  соответствует усиление утилизации энергоемких субстратов и быстрый рост концентрации АТФ от  $n_0$  до  $n_a$ , причем процессы, приводящие к закислению цитоплазмы, не успевают проявиться. Точка  $O_1(n_a; pH_0)$  – устойчива по концентрации АТФ, но неустойчива по  $pH$  цитоплазмы. Последующее ее закисление,



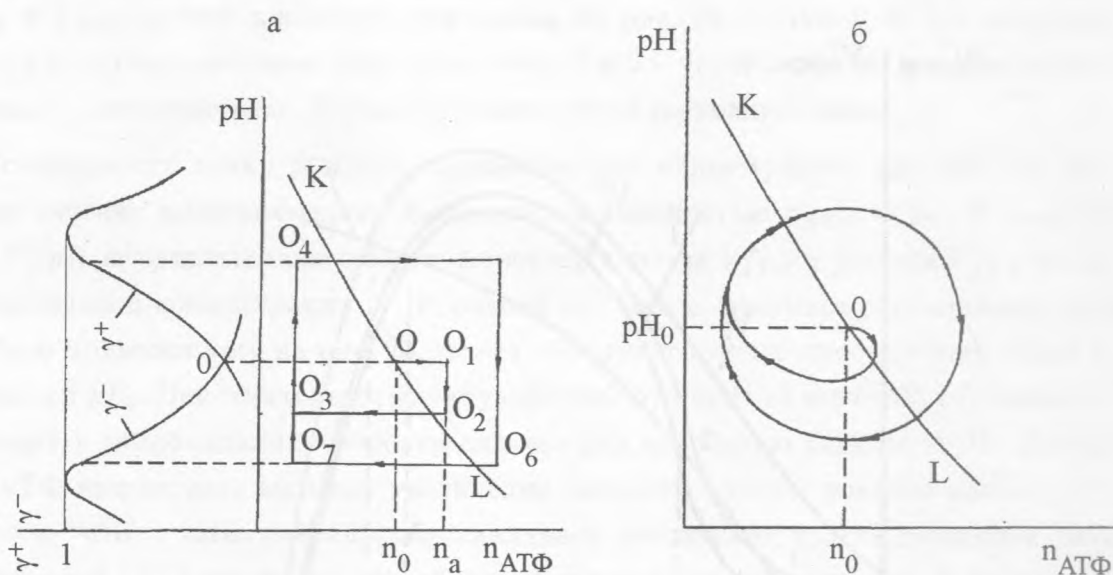


Рис. 4. Фазовый портрет цикла активности клетки; а) идеализированный цикл. Величины  $\gamma^+$  и  $\gamma^-$  характеризуют эффективность метаболических процессов энерговыделений и энергозатрат клетки; б) реальный цикл активности клетки.  $KL$  – кривая постоянства количества липидов в клетке.

вызванное усилением работы  $K^+/Na^+$  АТФ – азы (ионных насосов) и накоплением кислых продуктов утилизации энергосубстратов, идет по отрезку  $O_1O_2$ . На отрезке  $O_2O_3$  клетка тратит энергию накопленного АТФ на синтез гликогена (у простейших) и функцию (у клеток специализированных тканей). По мере выхода из клетки конечных продуктов окислительных реакций цитоплазма подщелачивается, чему соответствует отрезок  $O_3O_4$ . Далее следуют процессы синтеза АТФ (отрезок  $O_4O_5$ ), но уже в более щелочных условиях, чем в состоянии покоя. При этом достигаются большие концентрации АТФ, чем на отрезке  $OO_1$ . Процессу последующего закисления соответствует отрезок  $O_5O_6$ . Из-за более интенсивного накопления кислых продуктов реакций и значительного роста трансмембранной разности потенциалов, вызванного увеличением скорости работы ионных насосов, достигаются более низкие, чем на отрезке  $O_1O_2$ , значения  $pH$  цитоплазмы. Накопление более значительных запасов АТФ и в более кислой среде, чем в состоянии покоя, позволяет клетке на отрезке  $O_6O_7$  эффективно тратить энергию на свою синтетическую и функциональную деятельность. Далее вновь следует подщелачивание цитоплазмы (отрезок  $O_7O_4$ ). Сформировавшийся цикл активности клетки может повторяться множество раз по замкнутой траектории  $O_4-O_5-O_6-O_7-O_4$ .

Для того, чтобы клетка сохраняла свою целостность в режиме активности, в длительных процессах своего становления и эволюционного совершенствования, время прохождения по указанным отрезкам фазовой траектории, их длина, а также интенсивности сменяющих друг друга процессов были сбалансированы таким образом, что прирост липидной массы на ветви траектории справа от кривой  $KL$  стал в точности равен ее убыли на левой ветви. Более того, на отрезках  $O_2O_3$  и  $O_6O_7$  процессы распада аденозинового пула макроэргов, по мере приближения к конечным точкам  $O_3$  и  $O_7$ , интенсифицируются. Начиная с утилизации АТФ, эти процессы в дальнейшем включают в себя цепочки реакций распада всех аденилатов вплоть до превращения аденозина в другие нуклеотиды. Необходимые для этих целей ферменты зарезервированы во всех без исключения клетках, способных к нормальной жизнедеятельности. Эти реакции обеспечивают снижение трансмембранной разности потенциалов в поворотных точках  $O_3$ ,  $O_7$  и постепенное подщелачивание цитоплазмы. При приближении к точке  $O_4$  необходимая скорость подщелачивания поддерживается за счет комплекса реакций синтеза органических соединений, идущих с поглощением ионов  $H^+$ . Ферменты, катализирующие эти реакции, также всегда присутствуют во всех клетках.

На рис. 4а в координатах  $(\gamma^+\gamma^-; pH)$  представлены также зависимости  $\gamma^+ = V_{AT\Phi}^+/V_{AT\Phi max}^+$  и  $\gamma^- = V_{AT\Phi}^-/V_{AT\Phi max}^-$  от  $pH$ , где  $V_{AT\Phi}^+$  и  $V_{AT\Phi max}^+$  – величины текущей и максимальной скоростей синтеза АТФ при любом фиксированном значении  $n_{AT\Phi}$ , а  $V_{AT\Phi}^-$  и  $V_{AT\Phi max}^-$  – величины текущей и максимальной скоростей затрат АТФ на нужды клетки также при любом  $n = const$ . Эти величины характеризуют скорости процессов синтеза и распада АТФ в клетках. Видно, что в циклическом режиме активности эти скорости почти максимальны, в то время как в состоянии покоя она намного ниже (ордината точки пересечения кривых  $\gamma^+$  и  $\gamma^-$ ).

Итак, в работе предложена модель, описывающая кинетику двух подготовительных к делению режимов метаболизма клетки: активность и состояние покоя, которые существенным образом отличаются. Появление этих отличий биологически целесообразно и нашло свое закрепление в процессе естественного отбора.

Активность клетки ставит целью достижение максимально возможной в данных условиях мощности метаболических процессов, требующих соответствующих энергозатрат. Цикличность режима активности позволяет разобщить по времени две группы противоположно направленных энергозависимых процессов: синтеза основного макроэрга и его траты на насущные нужды клетки. При этом, во-первых, исключается конкуренция указанных групп за основной макроэрг, и во-вторых, обеспечиваются наиболее

благоприятные (по  $pH$  и  $n_{ATP}$ ) условия протекания метаболических процессов. Таким образом достигается наиболее эффективное использование энергоемких субстратов и пластических материалов для подготовки к делению в благоприятные для жизнедеятельности периоды у простейших и максимальная функциональная мощность у специализированных клеток высших животных.

Режим покоя предназначен для устранения неизбежно возникающих при других функциональных режимах структурных дефектов, что не требует столь высоких мощностей и энергозатрат. Показано, что только в режиме покоя реализуется проточный гомеостаз основных метаболических параметров на значительно более низком по скоростям процессов уровне, что позволяет простейшим пережить неблагоприятные по субстратному предложению периоды. Однако при этом у них восстанавливаются адаптационные структуры, а в клетках высших животных – специализированные, поскольку освобождаемая в цитоплазме химическая энергия не отвлекается на синтез полисахаридов (гликогена и крахмала).

#### ЛИТЕРАТУРА

- [1] М э з и я Д. Как клетки делятся. Сборник “Живая клетка” под ред. академика Франка Г. М., М., Мир, 1966, с. 67.
- [2] Ш а р д е н П. Т. Феномен человека. М., Наука, 1987.
- [3] Ф о к М. В., З а р и ц к и й А. Р. Авторегуляция как основа гомеостаза клеток. М., Космосинформ, 1997.

Поступила в редакцию 3 июля 2006 г.