

9. Larionov S. A., Loskutov A., Ryadchenko E. V. // (Готовится к публикации).

10. Лобзин В. В., Четчин В. П. Порядок и корреляции в геномных последовательностях // УФН. 2000. Т. 170. С. 57–81.

11. Loskutov A., Postnikov E. B., Larionov S. A., Ryadchenko E. Analysis of DNA structure as a 2d walk by complex wavelet transform // Proc. Int. Conf. «Wavelets and Applications – 2006» (July 10–14, 2006, EPFL, Lausanne, Switzerland).

12. Larionov S. A., Loskutov A., Ryadchenko E. V., Rybalko S. Visual genomics: Gigantic palindrome diffusion and certain features of genomes evolution // Proc. Int. Symp. Evolution of Biomolecular Structure (University of Vienna, Austria, 25–27 May 2006).

13. Manneville P. Intermittency, self-similarity and 1/f spectrum in dissipative dynamical systems // J. Physique. 1980. V. 41. P. 1235–1243.

14. Allegrini P., Barbi M., Grigolini P., West B. J. Dynamical model for DNA sequences // Phys. Rev. E. 1992. V. 52. P. 5281–5297.

15. Toth T. I., Liebovitch L. S. Models of ion channels kinetics with chaotic subthreshold behaviour // Z. Angew. Math. Mech. 1996. V. 76. P. 523–524.

16. Bugatti M., Grigolini P., Palatella L. Nonextensive approach to the entropy of symbolic sequences // Physica A. 1999. V. 268. P. 214–221.

17. Gaspard P., Wang X.-J. Sporadicity: between periodic and chaotic dynamical behaviours // Proc. Natl. Acad. Sci. (USA). 1988. V. 85. P. 4591–4602.

РОЛЬ НЕУСТОЙЧИВОСТЕЙ, НЕЛИНЕЙНЫХ КОЛЕБАНИЙ И ВОЛН В РЕГУЛЯЦИИ ТУБУЛИНОВОГО ЦИТОСКЕЛЕТА

Е. А. Камруха, Г. Т. Гурия

1. Введение

Колебания и волны играют ключевую роль в процессах передачи информации в пространственно протяженных биологических системах. После того как Герман Гельмгольц установил, что скорость распространения нервного импульса у лягушки составляет 26,2 м/с [1], эстафетные механизмы передачи сигнала в биологических, химических и физических системах стали предметом интенсивного экспериментального и теоретического изучения [2–5]. Наиболее значительные «подвижки» во взглядах на природу механизмов генерации и распространения нервных импульсов произошли после знаменитой работы А. Л. Ходжкина и А. Ф. Хаксли [6]. Оказалось, что распространение возбуждения в нерве опосредуется трансмембранной электрической деполяризацией, распространяющейся по нервному волокну в соответствии с так называемыми телеграфными уравнениями [7]. Формально распространение нервного импульса описывается параболическими уравнениями подобно фронтам горения [4] и концентрационным волнам в реакционно-диффузионных системах [8, 9]. За работы по развитию основ неравновесной термодинамики реакционных систем с диффундирующими реагентами И. Р. Пригожину в 1977 году была присуждена Нобелевская премия по химии [10].

Анализ широкого класса моделей активных сред показал, что в системах, далеких от термодинамического равновесия, могут спонтанно возникать устойчивые пространственные, временные (колебания) и пространственно-временные структуры (волны) [11, 12]. Помимо актуальных проблем в индивидуальном развитии [13] и морфогенезе [14–16], реакционно-диффузионные модели стали широко использоваться в клеточной биологии для интерпретации колебательных процессов в гликолизе [17], в регуляции цитоплазматических колебаний ионов Ca^{2+} [18–19].

После выхода в свет книги Г. Хакена [20] стало ясно, что достаточно широкий круг явлений самоорганизации в природе может трактоваться с единых идейных позиций. В некотором смысле можно сказать, что Хакену выпала честь указать на правомерность распространения методов классической теории колебаний и волн [21, 22] за рамки радиотехники и физики в целом.

С математической точки зрения в основе ключевых процедур синергетики лежат асимптотические методы (методы многих масштабов), перенесенные с систем обыкновенных дифференциальных уравнений [23], на уравнения в частных производных, описывающих эволюцию про-

странственно протяженных реакционно-диффузионных систем, в духе, принятом в механике «сплошных сред» [24, 25].

Применительно к «биологическим» системам «математическое» свойство «сплошности» принято толковать как отсутствие сингулярностей, внутренних особенностей в рассматриваемом объекте [26—28]. В свете вышеизложенного внутриклеточные процессы не вполне корректно описывать в рамках реакционно-диффузионного приближения, т. к. наряду с биохимическими, её динамике свойственны и механо-химические степени свободы [29]. Последние обуславливаются наличием в клетке цитоскелета. Армирующий внутриклеточное пространство цитоскелет представляет собой ажурную трехмерную сеть, сформированную полимерными микротрубочками, состоящими из молекул тубулина и актина [31].

Цитоскелет обладает чертами лабильности и способен претерпевать значительные трансформации в ходе клеточного цикла и при воздействии на клетку внешними агентами [31—33]. Пронизывающее внутриклеточное пространство полимерные волокна способны удлиняться (или укорачиваться) в результате реакций сорбции (или же десорбции) мономеров на их активные участки. Последние выступают при этом как центры поглощения — своеобразные сингулярные стоки (источники) мономеров из жидкой фазы при полимеризационном росте (распаде) элементов цитоскелета.

О «сингулярности» цитоскелетных структур на фоне достаточно плавных концентрационных структур, имеющих место в жидкой фазе цитоплазмы, представляется уместным говорить в силу масштабных различий. Поперечные размеры у актиновых и тубулиновых нитей составляют 10 и 25 нм соответственно, в то время как характерные концентрационные структуры в клетках, формирующиеся за счет микродиффузии, обычно соизмеримы по масштабу с размерами самих клеток, т. е. превышают микрометры [34, 35].

С математической точки зрения при анализе неравновесных концентрационных структур в клетке мы имеем дело со структурами, существующими не всюду, а «почти всюду» в рассматриваемой области [30]. Размерность множества, занимаемого цитоскелетом, формально может полагаться при таком подходе равной нулю. Сосуществование в клетке нитевидных цитостатических (цитоскелетных) структур с концентрационными, как несложно понять, взаимообусловлено.

Выяснение того, какую роль способны играть нестабильности, колебания и волны в динамических механизмах трансформации тубулинового цитоскелета, является предметом данной работы.

2. Строение и функции цитоскелета

Цитоскелет представляет собой клеточную органеллу, состоящую из трех основных компонентов: актиновых волокон, промежуточных фила-

ментов и тубулиновых микротрубочек. Тонкие актиновые волокна концентрируются на периферии клетки у внешней мембраны и участвуют в сократительной деятельности клетки и ее движении как целого. Промежуточные филаменты расположены кольцом вокруг ядра клетки. Микротрубочки расходятся преимущественно радиально от ядра к периферии клетки. Именно из них образуется так называемое «веретено деления», отчетливо наблюдающееся при видеомикроскопии элементарных стадий клеточного деления (рис. 1) [31, 33].

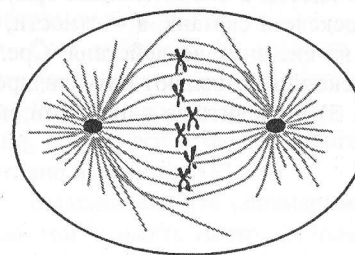


Рис. 1. Схематическое изображение делющейся клетки (стадия метафазы). Микротрубочки (показаны серым цветом), формирующие веретено деления, радиально расходятся от центросом. В центральной области клетки их свободные концы «захватывают» хромосомы.

Микротрубочки представляют собой полые цилиндрические супрамолекулярные структуры с внешним диаметром 24 нм, внутренним диаметром 13 нм и длиной до 100 мкм, состоящие из молекул белка тубулина (рис. 2) [36]. Микротрубочки в норме представляют собой 13-заходную правозакрученную спиральную структуру. В силу химической анизотропии, свойственной отдельным молекулам тубулина и стерическим ориентационным эффектам при их полимеризации, у каждой микротрубочки принято различать «плюс» и «минус» концы. Минус-конец обычно закрепляется вблизи ядра, на центросоме, а плюс-конец — у внешней мембраны. Помимо участия в перераспределении хромосом в процессе деления, микротрубочки выполняют в клетке ряд других физиологических функций. Вместе с актиновыми филаментами тубулиновые микротрубочки принимают участие в движении клетки как целого [31].

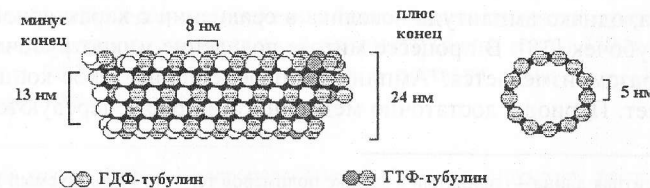


Рис. 2. Структура и характерные размеры микротрубочки и составляющих ее элементов

Кроме того, сеть из микротрубочек, проникая во все области клетки, служит «рельсами» для активного внутриклеточного транспорта (молекулярных моторов), а также сигнальной системой, реагирующей на изменения окружения [31]. Микротрубочки — достаточно жесткие по полимерным меркам структуры, их персистентная длина¹ в зависимости от условий может достигать 5 мкм [37]. Поскольку представляющие для нас интерес эукариотические клетки имеют характерные размеры от 5 мкм до 100 мкм, то преимущественное радиальное расположение микротубулиновых волокон позволяет им исполнять роль каркаса, обеспечивая устойчивость формы клетки [38]. Способность клеток к значительным трансформациям структуры тубулинового цитоскелета связана, в частности, с необходимостью адаптивно реагировать на внешние воздействия. Средства современной флуоресцентной микроскопии позволяют визуализировать микротубулиновый цитоскелет (рис. 3) и следить за динамикой его трансформаций.

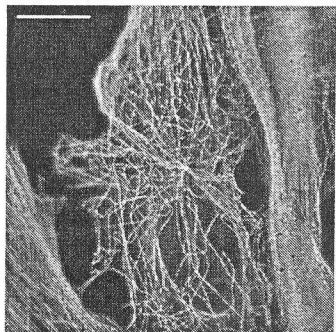


Рис. 3. Радиальная система флуоресцирующих микротрубочек в клетках Vero (эпителий почки зеленой африканской макаки)². Размер светлого прямоугольника в левом верхнем углу соответствует 10 мкм.

3. Феноменологические черты динамики микротрубочек

Наблюдение за поведением плюс-концов *in vivo*, показывает, что на всех стадиях клеточного цикла, за исключением митоза, они обычно расположены на периферии клетки. То есть, как правило, наблюдаются квазистатические распределения микротрубочек по длинам, в которых преобладают протяженные экземпляры. При этом местоположение плюс-концов незначительно колеблется за счет локальной сорбции/десорбции тубулина, однако амплитуда невелика в сравнении с характерной длиной микротрубочек [38]. В процессе митоза поведение микротрубочек коренным образом изменяется. Амплитуда перемещений плюс-концов резко возрастает. Периоды достаточно медленного их роста чередуются со ста-

¹ Персистентная длина — принятый в физике полимеров термин, используемый для обозначения расстояния вдоль полимерной цепи, на котором утрачивается ориентационная корреляция между звеньями [50].

² Фотография публикуется с разрешения О. В. Коваленко, лаборатория молекулярной биологии цитоскелета, НИИ физико-химической биологии, Институт белка, Пушкино.

диями стремительной деполимеризации [46]. Переключения между стадиями роста и деполимеризации микротрубочек происходит внешне случайным, нерегулярным образом.

По-видимому, подобного рода нестационарная динамика микротрубочек имеет важное физиологическое значение. За счет «трепетаний» плюс-концов осуществляется эффективный пространственный поиск хромосом [39]. Как только плюс-конец микротрубочки достигает центромеры¹ (кинетохора) хромосомы, он крепится к ней и прекращает движение. На следующей стадии митоза происходит растаскивание хромосом к центрам дочерних клеток.

Сеть тубулиновых волокон в живой клетке находится под управлением ряда биохимических факторов [31, 35, 40]. Механизмы, приводящие к переключению цитоскелета из квазистационарного режима в динамический, скорее всего, носят пороговый характер [41] и в настоящее время активно изучаются [33, 34].

Выяснилось, что соизмеримые с размером микротрубочек «трепетания» могут иметь место не только в живых клетках (т. е. в системах *in vivo*), но и в искусственных, так называемых реконструированных биохимических системах², т. е. системах *in vitro* [42]. По-видимому, впервые в системе *in vitro*, представляющей собой водный раствор молекул тубулина, магния и гуанозинфосфата, колебания оптической плотности были зарегистрированы в работе [43] (рис. 4).

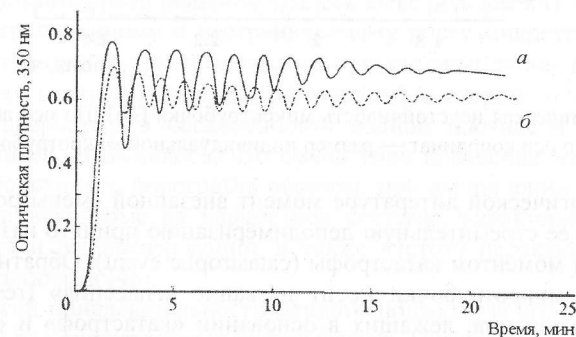


Рис. 4. Кривые изменения во времени общего количества полимеризованного тубулина, определяемого по оптической плотности (длина волны 350 нм), в системе *in vitro* [43]. Концентрация тубулина в растворе равна: а — 150 мкМ, б — 100 мкМ (1 М = 1 моль/л).

¹ Центромера (кинетохор) — макромолекулярная белковая структура, расположенная в механическом центре хромосомы. Образует перетяжку, разделяющую хромосому на два плеча (две части).

² Реконструированными системами *in vitro* в современной биологии и биохимии называются искусственные системы, содержащие строго определенный набор элементов реальных систем.

Обнаружилось, что при определенных начальных концентрациях ГТФ (гуанозинтрифосфат) и тубулина в системе имеют место колебания, которые постепенно затухают, что связывают с исчерпанием молекул ГТФ и постепенным накоплением в растворе молекул ГДФ (гуанозиндифосфат). Добавление в раствор биохимической системы регенерации ГТФ из ГДФ значительно увеличивает продолжительность колебаний [44].

Удалось выяснить, что описанные выше объемные колебания связаны с нестационарным изменением длины отдельных микротрубочек, содержащихся в растворе (рис. 5) [42, 45]. Явление, в ходе которого отдельные микротрубочки проходят через сменяющие друг друга фазы роста и деполимеризации, получило в литературе название динамической неустойчивости (dynamic instability) [42].

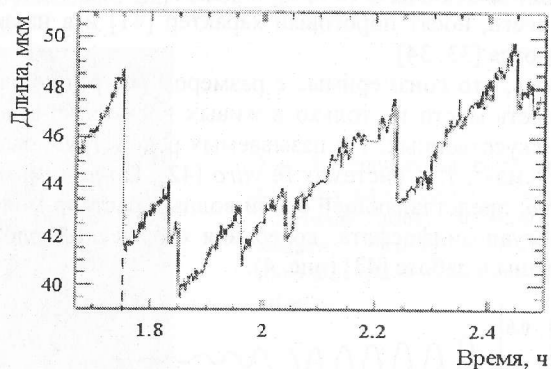


Рис. 5. Динамическая неустойчивость микротрубочки [45]. По оси абсцисс отложено время, по оси координат — размер индивидуальной микротрубочки.

В биологической литературе момент внезапной смены роста микротрубочки на ее стремительную деполимеризацию принято называть катастрофой или моментом катастрофы (catastrophe event). Обратное событие в динамике микротрубочки носит название «спасения» (rescue event). Природа механизмов, лежащих в основании «катастроф» и «спасений», на протяжении двадцати лет широко обсуждается [47]. Большое число работ посвящено обсуждению гипотезы о существовании «ГТФ-крышки».

Суть гипотезы сводится к следующему. Молекулы ГТФ и ГДФ в растворе способны связываться с молекулами тубулина с приблизительно равными константами скоростей. Однако рост микротрубочек происходит только за счет присоединения к их плюс-концу молекул тубулина, связанных с ГТФ (тубулин-ГТФ). После присоединения молекулы тубулин-ГТФ к полимеру, связанная с тубулином молекула ГТФ способна гидролизаться, превращаясь в ГДФ. В соответствии с обсуждаемой гипоте-

зой полагается, что микротрубочка, состоящая только из молекул тубулина-ГДФ, является нестабильной. Микротрубочку же от деполимеризации предохраняет своеобразная «крышка» из молекул тубулина-ГТФ, образующаяся на растущем конце благодаря тому, что гидролиз происходит с некоторым запаздыванием после присоединения очередной молекулы. За двадцать лет было предложено значительное количество моделей, в основе которых лежит гипотеза ГТФ-крышки [42, 46, 47].

Помимо этого круга моделей, явно основанных на гипотезе о существовании ГТФ-крышки, для описания колебаний было предложено несколько моделей феноменологического характера [48, 56]. Исторически одной из первых была модель М. Доджером и С. Лейблера [48]. В ней аксиоматически постулируется, что микротрубочки могут находиться только в двух состояниях — растущем и деполимеризующемся. Частота переключений между ними полагается изменяющейся стохастически. Делается предположение лишь о виде зависимости частоты переключений от концентрации тубулина-ГТФ в растворе. Скорость же процесса полимеризации полагается независимой от концентрации тубулина, связанного с ГТФ в растворе. На основании изложенных выше соображений авторы составили систему кинетических уравнений, описывающих динамику плюс-концов растущих и деполимеризующихся микротрубочек [48]. Решения системы находились методами Монте-Карло и среднего поля в неограниченной по пространству области.

В результате среди решений удалось выделить два класса, соответствующих ограниченному и неограниченному росту микротрубочки. Первый характеризуется стохастическими пульсациями длины микротрубочки в области центра нуклеации (центросомы), а второй — бегущей с постоянной скоростью в бесконечность волной плотности плюс-концов микротрубочек. Выяснилось, что смена типа поведения микротрубочки должна происходить пороговым образом, при выполнении специальных условий на некоторые из параметров системы, характеризующих скорость роста и деполимеризации, а также частоту переключения между двумя состояниями [48].

При всей привлекательности данного подхода, за его рамками остается целый ряд существенных обстоятельств. Прежде всего, не раскрывается природа пульсаций микротрубочек, так как их нестабильность просто аксиоматически постулируется. Наблюдающееся в решениях нестационарное поведение априори присуще системе, а не является результатом процессов взаимодействия ее частей. Постулирование всего двух состояний (роста и деполимеризации) не объясняет присутствие в ансамбле микротрубочек, не растущих и не деполимеризующихся, хотя таковые наблюдаются экспериментально и могут составлять заметную долю от общего числа [46, 49].

Концентрация тубулина-ГТФ в растворе полагается однородной и постоянной во времени, что также не соответствует экспериментальным фактам [49, 57]. По сути, игнорируется роль пространственных градиентов концентраций веществ, участвующих в полимеризации. Как показали последние исследования, в клетках существует диффузионный механизм авторегуляции, лимитирующий и направляющий рост ансамбля микротрубочек [34, 35]. Он активно используется клеточной системой регуляции сети тубулиновых полимеров при переходе от стационарной к ярко выраженной неравновесной динамике, наблюдаемой на стадии митоза. Повисают в «воздухе» и такие, казалось бы, «законные» вопросы, как: «Каким образом и за счет чего происходит внезапное переключение динамических режимов? Существует ли возможность управления переключением?»

Размышления о возможной роли диффузионных факторов в нетривиальной динамике микротрубочек начинаются с, казалось бы, естественных аналогий. Внешне пространственные смещения плюс-концов микротрубочек, происходящие за счет элементарных актов агрегации-дисагрегации молекул тубулина, во многом напоминают процессы, наблюдаемые при так называемой лимитированной диффузией агрегации (DLA — Diffusion Limited Aggregation) [51]. В ряде случаев при лимитированности процессов агрегации диффузией имеет место образование достаточно сложных структур, к которым применимы методы фрактальной геометрии. Однако в системах, к которым применима концепция DLA, таким как ветвящиеся полимеры, образование трещин, сорбция «мономерных звеньев», как правило, идет необратимо, в то время как при росте микротрубочек имеют место как прямые, так и обратные процессы десорбции. Поэтому перенос развитых методов теории DLA на интересующую нас систему «в лоб» не проходит. Возникает вопрос, существует ли в принципе в динамике микротрубочек какое-либо ограничение, может быть вызванное и не диффузией, а обусловленное чем-то иным? Если да, то какова его роль и может ли оно приводить к неустойчивостям и нестационарному поведению?

Кроме диффузии, рост микротрубочек непосредственно зависит также от кинетических особенностей распределения в системе запасенной в ГТФ энергии. Стоит заметить, что ГТФ играет в биологии роль химического носителя энергии, как и хорошо всем известный АТФ (аденозинтрифосфат). Энергия выделяется в реакциях гидролиза, при которых ГТФ превращается в ГДФ. Без запаса энергии, либо без постоянного ее поступления извне полимеризационный рост микротрубочек невозможен. Поэтому возникает еще один крайне интересный вопрос: может ли агрегация и образование структур в ансамбле микротрубочек каким-либо образом лимитироваться или же модулироваться энергетическими факторами? Если да, то каким образом такого рода лимитация связана с диффузионными и прочими реакционными процессами?

Совокупность приведенных выше соображений и вопросов подтолкнула авторов к поиску новых путей описания динамики микротрубочек. С физической точки зрения система микротрубочек представляет собой нитевидную распределенную систему, демонстрирующую черты колебательной и стохастической динамики. Общие механизмы формирования неоднородных пространственных распределений, проявляющиеся в виде концентрационных волн и диссипативных структур, в реакционно-диффузионных системах (т. е. «сплошных», по сути, системах) хорошо изучены применительно к целому ряду физико-химических и биологических систем [8, 52—54]. Поэтому нам представлялось актуальным проанализировать динамику роста и деполимеризации микротрубочек в свете идей теории неравновесных процессов.

В данной работе мы исходили из того, что микротрубочки и реакционные компоненты раствора, в котором они находятся, представляют собой взаимосвязанную пространственно распределенную «почти всюду сплошную» систему. Необходимым условием существования автоколебаний и автоволн в далеких от равновесия системах является, как известно, наличие в кинетическом механизме *запаздывающей отрицательной обратной связи* [21, 55]. Последняя, в принципе, может реализовываться как за счет процессов, происходящих в самой микротрубочке (к примеру, за счет задержки гидролиза ГТФ в ГТФ-крышке), так и быть результатом взаимодействия микротрубочек и компонентов окружающего их раствора, т. е. вызываться внешними, по сути, кинетическими причинами. Действительно, из общих соображений ясно, что при росте микротрубочки за счет сорбции молекул тубулина-ГТФ в растворе должно происходить локальное понижение концентрации в окрестности ее плюс-конца. Очевидно, что если такое локальное обеднение раствора не вполне компенсируется в каждый момент времени за счет диффузии, то скорость сорбции тубулина-ГТФ из раствора должна замедляться. Иными словами, наличие элементов отрицательной запаздывающей обратной связи в регуляции роста микротрубочек наверняка должно иметь место в тех случаях, когда диффузия молекул тубулина-ГТФ в растворе не является «мгновенной»¹.

В пользу того, что рост трубочек на самом деле лимитируется процессами диффузии и реакциями присоединения молекул тубулина-ГТФ к плюс-концам, говорит ряд экспериментальных данных. Прежде всего, твердо установлено, что скорость присоединения молекул тубулина-ГТФ из раствора к плюс-концам микротрубочек действительно определяется локальной концентрацией этих молекул [42]. Соответственно рост микротрубочек непосредственно регулируется концентрационными градиентами веществ, участвующих в реакциях полимеризации [34, 35]. Сверх того, было установлено, что рост микротрубочек сам по себе приводит к образованию в окружающем микротрубочку растворе пространственных гра-

¹ Корректней, видимо, говорить «происходящей быстрее характерной скорости роста микротрубочки».

диентов концентраций [57]. Круг замкнулся. Из всего вышеизложенного ясно, что скорость роста микротрубочек на самом деле регулируется по типу отрицательной обратной связи за счет относительно медленных диффузионно лимитируемых процессов перераспределения молекул тубулина-ГТФ в жидкой фазе [57].

Несложно убедиться, что рост микротрубочек лимитируется энергетическими факторами по типу отрицательной обратной связи. Действительно, количество энергоресурсов, в данном случае молекул ГТФ, в клетке не может быть неограниченным. Поскольку для процесса полимеризации необходимо потребление энергоресурсов, то рост тубулиновых волокон будет приводить к общему уменьшению количества молекул ГТФ, что, в свою очередь, приведет к замедлению роста. Можно сказать, что таким образом в соответствии с принципом Ле-Шателье система реагирует на рост микротрубочек.

Понятно, что энергорегуляция динамики микротрубочек определяется, с одной стороны, диффузионными градиентами энергетически богатых молекул тубулина-ГТФ в окрестности плюс-концов, а с другой, градиентами десорбированных из микротрубочек энергетически бедных молекул тубулина-ГДФ. Интенсивность протекания процессов доставки вещества, наделенного соответствующим энергетическим потенциалом, так же как и интенсивность процессов «отведения отработанного материала», в принципе может быть нестационарной. Наличие в рассматриваемой системе регуляции элементов отрицательной запаздывающей обратной связи наводит на мысль, что при определенных условиях в ней может иметь место потеря устойчивости стационарного состояния по А. А. Андронову с последующим рождением предельного цикла! Иными словами, из достаточно общих «нелинейных» соображений следует, что фазы интенсивного роста микротрубочек могут чередоваться с фазами их деполимеризации. Представляет большой интерес нахождение области параметров, в которых динамика микротрубочек будет иметь такого рода колебательные или же хаотические черты.

Понятно, что построение параметрических диаграмм состояния невозможно без построения физико-математической модели рассматриваемой системы. В силу сложности системы еще раз перечислим те ее элементы, которые будут нами постоянно держаться в поле зрения. Итак, мы будем рассматривать в простейшем одномерном приближении реакционную систему особого типа, у которой имеется:

а) концентрационная подсистема с диффундирующими в растворе компонентами;

б) один из компонентов раствора (тубулин-ГТФ) способен к динамической преципитации¹ («выпадению в осадок»), т. е. переходу из жидкой фазы в форму жесткой полимерной микротрубочки;

¹ Преципитация — образование твердой фазы (нерастворимого осадка) в жидкости (растворе) в результате химической реакции между растворенными компонентами.

в) рост микротрубочек есть следствие реакций присоединения к ним молекул тубулина-ГТФ из раствора, сокращение — реакций десорбции;

г) рост микротрубочки имеет место лишь в том случае, если в окрестности плюс-конца локально выполняются условия «пересыщенности» жидкой фазы, т. е. процессы сорбции доминируют над процессами десорбции;

д) энергообеспеченность роста микротрубочек обуславливается диффузионными процессами и реакциями с участием молекул тубулина, связанных с ГТФ и ГДФ, в растворе.

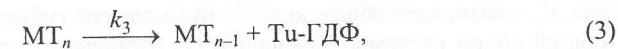
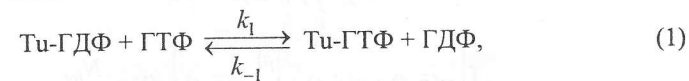
Поскольку рост и деполимеризация микротрубочек определяются локальными значениями концентрации молекул тубулина в окрестности плюс-концов, то динамика микротрубочек должна непосредственно быть связанной с сопутствующими концентрационными волнами в растворе. Для систем без преципитации (так называемых реакционно-диффузионных) механизмы возникновения и распространения концентрационных волн подробно изучены [8, 9]. Известно, что появление автоволн и пространственно неоднородных стационарных структур в неравновесных реакционно-диффузионных системах может быть следствием потери устойчивости стационарного состояния [15]. (К слову, и системы с выпадением в осадок, так же как и системы, в которых наблюдаются явления колебательной поверхностной кристаллизации, к настоящему времени изучены неплохо [58, 59]).

В свете вышеизложенного представлялось целесообразным понять, в какой мере масштабные трансформации в динамике микротрубочек, проявляющиеся в форме своеобразных «трепетаний тубулиновых нитей», могут быть следствием потери устойчивости в регуляции рассматриваемой реакционно-диффузионной-преципитационной системы.

Построенная ниже простая математическая модель позволила качественно изучить проблему параметрической устойчивости микротрубочек. Удалось построить диаграмму состояний и выяснить условия перехода от стационарных к динамическим режимам поведения микротрубочек.

4. Математическая модель

В данной работе мы будем полагать, что ключевую роль в динамике микротрубочек играют следующие реакции [67]:



где MT_n обозначает микротрубочку, содержащую n молекул тубулина, Tu -ГТФ и Tu -ГДФ обозначают растворенный тубулин, связанный соответственно с молекулами ГТФ и ГДФ. В ходе реакции с константой скорости k_1 в растворе происходит обмен связанной с тубулином молекулы ГДФ на молекулу ГТФ. Обратная реакция (с константой скорости k_{-1}) отображает обмен связанной с тубулином молекулы ГТФ на ГДФ, также происходящий в растворе. Реакция (2) описывает удлинение микротрубочки при полимеризации тубулина. Последняя реакция соответствует деполимеризации, при которой из микротрубочек высвобождается тубулин, связанный с молекулой ГДФ. Предполагается, что молекулы тубулина способны диффундировать в растворе.

Перейдем к построению кинетических уравнений, описывающих динамику микротрубочек в растворе. Будем полагать, что миграция плюскокцов, в силу жесткости микротрубочки, происходит радиально, от центра к периферии клетки. Система кинетических уравнений, учитывающая реакции (1)—(3), в общем случае имеет вид

$$\frac{\partial p(\vec{r}, t)}{\partial t} = \beta \operatorname{div}(k_3 p - k_2 u p), \quad (4)$$

$$\frac{\partial u(\vec{r}, t)}{\partial t} = D \Delta u - k_2 u p + k_1 [\Gamma \text{ТФ}] v - k_{-1} [\Gamma \text{ДФ}] u, \quad (5)$$

$$\frac{\partial v(\vec{r}, t)}{\partial t} = D \Delta v + k_3 p - k_1 [\Gamma \text{ТФ}] v + k_{-1} [\Gamma \text{ДФ}] u, \quad (6)$$

где $u(\vec{r}, t)$ соответствует значению концентрации молекул Tu -ГТФ в точке с радиус-вектором \vec{r} в момент времени t , $v(\vec{r}, t)$ — концентрации молекул Tu -ГДФ, $p(\vec{r}, t)$ — плотности вероятности нахождения плюскокца микротрубочки, деленной на число Авогадро N_A ; k_1 [$M^{-1} \cdot c^{-1}$], k_{-1} [$M^{-1} \cdot c^{-1}$], k_2 [$M^{-1} \cdot c^{-1}$], k_3 [c^{-1}] обозначают константы скоростей соответствующих реакций (1)—(3), β [м] — стерический фактор, равный приращению длины микротрубочки при присоединении к ней одной молекулы тубулина [36]. Концентрации молекул ГТФ и ГДФ выступают в качестве параметров.

Также необходимо выполнение дополнительных условий:

$$N_A \cdot \int_V p(\vec{r}, t) dV = 1, \quad (7)$$

$$\int_V \left[u(\vec{r}, t) + v(\vec{r}, t) + \frac{|\vec{r}|}{\beta} p(\vec{r}, t) \right] dV = \frac{N_{tot}}{N_A}, \quad (8)$$

где N_{tot} обозначает общее количество молекул тубулина в системе, а V — общий объем системы. Уравнение (7) отображает полноту рассматриваемой

системы событий. Соотношение (8) отражает сохранение в ходе реакций (1)—(3) общего количества молекул тубулина. Инициация полимеризации предполагается происходящей на затравке, расположенной в начале координат, т. е. при $\vec{r} = 0$. Рост микротрубочек происходит в радиальном направлении. Оказывается удобным для дальнейшего рассмотрения ввести также дополнительный параметр $Tu = N_{tot} / V N_A$, равный общему количеству молекул тубулина, деленному на число Авогадро и объем системы, и по смыслу соответствующий «общей молярной концентрации» молекул тубулина в растворе.

Наиболее простым представляется псевдоодномерное приближение, рассматриваемое в области, параллельной оси абсцисс, с сечением S и длиной L . Рост микротрубочек происходит в положительном направлении вдоль оси абсцисс. Правая граница $x = L$ соответствует местоположению клеточной стенки, которая считается непроницаемой. Система кинетических уравнений (4)—(8) в этом случае принимает вид

$$\frac{\partial p(x, t)}{\partial t} = \beta \frac{\partial}{\partial x} (k_3 p - k_2 u p), \quad (9)$$

$$\frac{\partial u(x, t)}{\partial t} = D \frac{\partial^2 u}{\partial x^2} - k_2 u p + k_1 [\Gamma \text{ТФ}] v - k_{-1} [\Gamma \text{ДФ}] u, \quad (10)$$

$$\frac{\partial v(x, t)}{\partial t} = D \frac{\partial^2 v}{\partial x^2} + k_3 p - k_1 [\Gamma \text{ТФ}] v + k_{-1} [\Gamma \text{ДФ}] u, \quad (11)$$

$$N_A S \cdot \int_0^L p(x, t) dx = 1, \quad (12)$$

$$\int_0^L \left[u(x, t) + v(x, t) + \frac{x}{\beta} p(x, t) \right] dx = \frac{N_{tot}}{N_A}. \quad (13)$$

5. Диаграмма состояния

Анализ системы уравнений (9)—(13) проводился численно [68]. Результаты расчетов представлены на диаграмме, изображенной на рис. 6. По оси абсцисс отложена безразмерная общая концентрация молекул тубулина в системе:

$$Tu^0 = \frac{k_2}{k_3} Tu, \quad (14)$$

а по оси ординат — величина

$$\gamma = \frac{k_{-1} [\Gamma \text{ДФ}]}{k_1 [\Gamma \text{ТФ}]}. \quad (15)$$

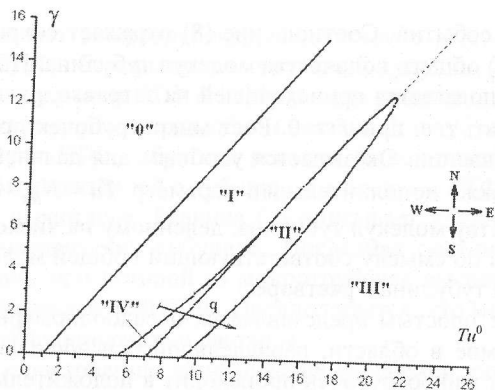


Рис. 6. Диаграмма состояний, построенная в соответствии с системой уравнений (9)–(13). Линии границ разбивают параметрическую плоскость на пять областей: зоны стационарных режимов «0», «I», «III», зону нестационарных режимов «II», а также метастабильную зону «IV».

Выяснилось, что параметрическая плоскость (Tu^0, γ) (см. рис. 6) разбивается семейством найденных нами кривых на пять областей, каждой из которых соответствует свой динамический режим. Области значений параметров, обозначенной на диаграмме символом «0», соответствует наличие в системе единственного решения в виде унимодального устойчивого распределения микротрубочек по длинам с выраженным максимумом на левой границе. Фактически это соответствует существованию в системе только затравки (центросомы) и полному отсутствию полимеризовавшихся микротрубочек.

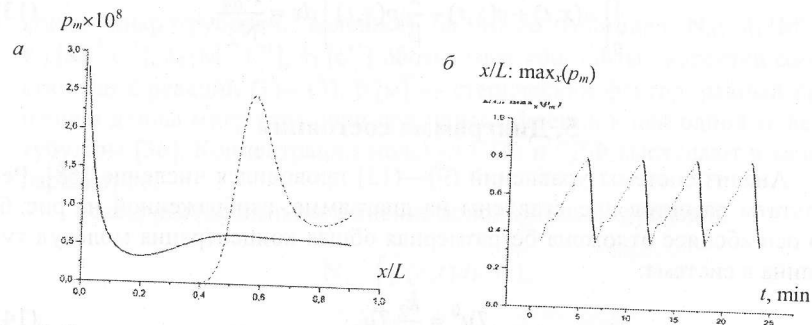


Рис. 7. Решения, соответствующие областям «I» (сплошная линия) и «III» (пунктирная линия) на диаграмме состояния (а). Изменение во времени положения максимума нестационарного распределения плотности плюс-концов микротрубочек, характерное для режимов, соответствующих области «II» (б): периоды медленной полимеризации (сплошная линия) чередуются с волнами быстрой деполимеризации (пунктирная линия).

Областям решений «I» и «III» соответствуют стационарные устойчивые решения (рис. 7, а). В области значений параметров «I» распределение микротрубочек по размерам характеризуется наличием отчетливо выраженного пика на левом крае (часть коротких микротрубочек у центросомы) и локального максимума, расположенного на существенном удалении от левого края (остальная часть, на удалении от центра клетки) (см. рис. 7, а). В области параметров «III» характерные распределения микротрубочек по размерам, как видно из рис. 7, а, имеют минимум на левой границе ($x = 0$), экстремум примерно в центре рассматриваемой области и локальный максимум на границе $x = L$. Это говорит о том, что при значениях параметров из данной области в системе должны доминировать протяженные микротрубочки, сопоставимые по размерам с размером клетки. Фактически данное решение отвечает распределениям микротрубочек, наблюдающимся на всех стадиях клеточного цикла, за исключением митоза.

Область «II» соответствует нестационарным режимам, проявляющимся в виде периодически бегущих справа налево волн деполимеризации микротрубочек, чередующихся с фазами их медленного полимеризационного роста (рис. 7, б). На границе области «II» имеет место параметрическая неустойчивость стационарных решений.

Представляется, что отвечающие данной области параметров режимы наблюдаются в динамике реальных микротрубочек как *in vitro* [43, 46], так и *in vivo* на определенных стадиях клеточного деления [60, 61].

Для параметров из области «II» рассмотрим поведение изображающей систему точки на плоскости, где по оси абсцисс отложен «центр масс» плотности вероятности нахождения плюс-концов, а по оси ординат — концентрации тубулина-ГТФ (рис. 8). Видно, что на указанной плоскости имеет место предельный цикл Пуанкаре. То есть в системе явным образом реализуются автоколебания! Более тщательный анализ показывает, что по мере роста микротрубочек (движение по нижней ветви цикла) «центр масс» концентрации тубулина-ГТФ начинает смещаться к центру нуклеации (центросоме). Это соответствует обеднению концентрации способного к полимеризации тубулина в области правой границы, образованию там «провала» за счет диффузионного размытия. Поэтому в момент, когда микротрубочки достигают правой границы, локальное пресыщение в области плюс-конца приводит к тому, что запускается процесс деполимеризации (верхняя ветвь на рис. 8).

В области «IV» рассматриваемая система имеет два типа решений. Наряду со стационарными метастабильными решениями, имеют место и нестационарные решения, схожие с наблюдаемыми в области «II». В зависимости от истории эволюции значений параметров в системе может установиться либо стационарный, либо нестационарный режим. Если параметры (Tu^0, γ) будут медленно изменяться так, что на диаграмме состояния (см. рис. 6) изображающая точка будет плавно перемещаться из

области «I» в область «IV», то система будет оставаться в стационарном метастабильном состоянии до тех пор, пока параметры не пересекут границу между областями «IV» и «II». Пересечение последней повлечет за собой «жесткое» возбуждение пространственных осцилляций и волн, характерных для всей области «II». Примечательно, что при изменении параметров в обратном направлении, т. е. движении изображающей точки из зоны «II» в зону «IV», система сохранит нестационарное поведение вплоть до границы между зоной «IV» и зоной «I». Иными словами, в области значений параметров «IV» система демонстрирует отчетливо выраженное гистерезисное поведение.

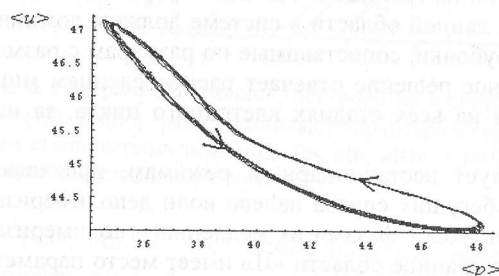


Рис. 8. Зависимость от времени «центров масс» концентрации тубулина-ГТФ и плотности плюс-концов при величинах параметров, соответствующих зоне «II».

Качественно поведение системы показано на рис. 9, а. Вдоль оси абсцисс отложено изменение параметров Tu^0 и γ вдоль вектора q , проходящего через четыре разные области на диаграмме состояний (см. рис. 6). По оси ординат отложен средний радиус кривизны $\langle R \rangle$ решения дискретного аналога системы (9)–(13) $p_m(t)$, $u_m(t)$, $v_m(t)$, $m \in \{1, M\}$, представляющего однопараметрическую кривую в $3M$ -мерном пространстве [62]. Для режимов, характерных для областей параметров «I» и «III» на диаграмме состояний, справедливо $\langle R \rangle = 0$. Было обнаружено, что при проходе из области «III» в область параметров «II» в системе мягко возбуждаются автоколебания. О величине амплитуды соответствующего предельного цикла можно судить по среднему значению радиуса кривизны $\langle R \rangle$ за период. При антипараллельном вектору q движению из зоны «III» в зону «II» амплитуда $\langle R \rangle$ растет как квадратичный корень величины за критичности (расстояния от $q = q^*$, т. е. границы областей «II» и «III», до текущей изображающей точки на диаграмме состояний). Иными словами, при переходе системы через границу областей «III» и «II» имеет место критическая бифуркация Андронова — Хопфа [20].

При антипараллельном вектору q изменении параметров в точке $q = q_1$ происходит бифуркация удвоения цикла (рис. 9, б). Однако перехода к каскаду удвоений Фейгенбаума не наблюдается [63], так как далее,

при $q = q_2$, наблюдается бифуркация схлопывания «удвоившегося ранее цикла» к однопериодичному решению (уменьшение периода вдвое), которое продолжает существовать при дальнейшем изменении параметров вплоть до границы областей «IV» и «I».

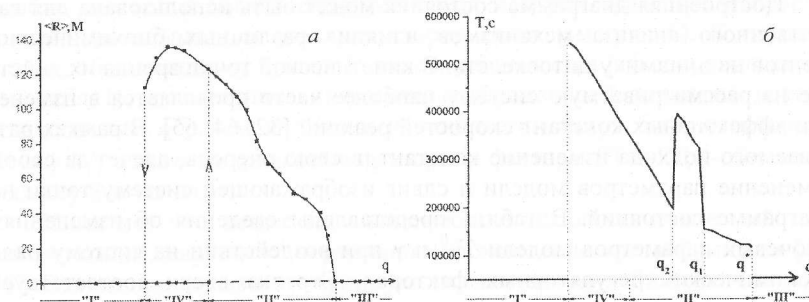


Рис. 9. Зависимости: а — среднего радиуса кривизны $\langle R \rangle$ траектории решения системы (9)–(13); б — периода предельного цикла T от изменения параметров Tu^0 и γ вдоль вектора q (см. рис. 6).

Из рис. 9, а видно, что в области «I» величина $\langle R \rangle$ равняется нулю, что соответствует устойчивому стационарному решению. Дальнейшее медленное изменение параметров вдоль вектора q оставляет решение системы на нижней ветви $\langle R \rangle = 0$ вплоть до границы с областью «II». Как уже отмечалось, пересечение этой границы приводит к жесткому возбуждению колебаний, что выражается в скачкообразном увеличении величины $\langle R \rangle$. Система переходит на верхнюю ветвь (см. рис. 9, а), отвечающую ненулевым значениям $\langle R \rangle$. Отметим, что во всей области значений параметров «II» стационарное решение системы (9)–(13) существует, но оно неустойчиво (обозначено горизонтальной пунктирной линией на рис. 9, а).

При изменении параметров из области «II» в противоположном вектору q направлении система остается на верхней ветви до тех пор, пока изображающая точка не пересечет границу областей «IV» и «I». При пересечении этой границы происходит потеря устойчивости нестационарного решения, и система возвращается на нижнюю ветвь. Таким образом, история изменения параметров определяет ветвь, на которой будет находиться система при значении параметров из области «IV».

Наличие целой области метастабильных состояний у системы регуляции микротубулинового цитоскелета может играть важную биологическую роль. При определенных условиях микротубулиновый цитоскелет находится в покое, но «взведенном» состоянии [41]. Небольшого

внешнего воздействия, иногда укола клетки иглой, достаточно для мгновенного перехода цитоскелета к масштабной перестройке.

6. Классификация цитостатических воздействий

Построенная диаграмма состояния может быть использована для качественного анализа механизмов влияния различных биохимических агентов на динамику цитоскелета. С кинетической точки зрения их действие на рассматриваемую систему наиболее часто проявляется в изменении эффективных констант скоростей реакций [32, 64, 65]. В рамках развиваемого подхода изменение констант, в свою очередь, влечет за собой изменение параметров модели и сдвиг изображающей систему точки на диаграмме состояний. В табл. 1 представлены сведения об изменениях ключевых параметров модели Tu^0 и γ при воздействии на систему ряда биохимических регуляторных факторов. Стрелка вверх соответствует увеличению значения параметра при действии соответствующего фактора, вниз — уменьшению.

Таблица 1

Название фактора	k_1 [ГТФ]	k_2	k_3	k_{-1} [ГДФ]	Tu	$\frac{[ГТФ]}{[ГДФ]}$	Tu^0	γ	Класс
Таксол, доцетаксел	—	↑	↓	—	—	—	↑	—	E
Тау, MAP2, MAP4	—	↑	↓	—	—	—	↑	—	E
Колхицин, винбластин	—	↓	↑	—	—	—	↓	—	W
Ор18/статмин	—	—	↑	—	↓	—	↓	—	W
Митохондриальные факторы	↑	—	—	↓	—	↑	—	↓	S
Факторы ГТФ-ГДФ-обмена (GEFs)	↑	—	—	↓	—	↑	—	↓	S
Малые ГТФазы (rho, rap, rac)	↓	—	—	↑	—	↓	—	↑	N
Активирующие ГТФазы белки (GAPs)	↓	—	—	↑	—	↓	—	↑	N

Из табл. 1 видно, что рассмотренные нами факторы могут быть разбиты на две группы. Одни оказывают влияние на параметр Tu^0 , а дру-

гие — на γ . Каждая из групп, в свою очередь, разбивается на два класса в зависимости от того, к увеличению или уменьшению соответствующего параметра приводит действие входящих в данный класс агентов. В рамках модели действие агентов сводится к смещению изображающей точки на диаграмме состояний в направлении, параллельном осям, поэтому удобно соотнести обозначения указанных четырех классов с направлениями, принятыми для указания сторон света (см. рис. 6). К первому классу, обозначаемому буквой E, относятся вещества (таксол, доцетаксел, см. табл. 1), вызывающие смещение изображающей точки на восток. Аналогичным образом колхицин и винбластин могут быть отнесены к классу W, а митохондриальные факторы и факторы ГТФ-ГДФ-обмена — к классу S и так далее.

Известно, что вещества, оказывающие цитостатическое действие (цитостатики), нарушают нормальное прохождение клеткой митоза [32, 66]. Эти агенты подавляют высокую динамическую лабильность микротрубочек, необходимую для пространственного разделения хромосом. Таким образом, цитостатики блокируют ту фазу митоза, в которой клетка находилась бы в области параметров, отвечающей нестационарным режимам, т. е. области «II».

В рамках предложенного подхода зона «II» соотносится с состояниями, в которых тубулиновый цитоскелет демонстрирует макроскопические трансформации. Выше отмечалось, что клетка на определенных стадиях митоза должна проходить через области нестационарного поведения. Вследствие этого понятно, что более эффективными следует считать те цитостатические препараты (либо их сочетания), которые при прочих равных условиях вызывают большее смещение изображающей точки на диаграмме состояния из областей нестационарного поведения микротрубочек. Кратчайшим путем является смещение вдоль нормали к оси области «II» (см. рис. 6). Например, за счет одновременного смещения вверх и влево (что характерно для совместного действия веществ из классов W и N), или же вниз и вправо (при сочетании веществ S- и E-классов). Это означает, что при использовании указанных веществ в приведенных сочетаниях требуемый цитостатический эффект будет достигаться при меньших дозировках. Откуда непосредственно следует, что сопутствующая токсичность противоопухолевых цитостатических препаратов при одновременном их применении также будет снижена. В табл. 2 представлены данные о совместном действии веществ (сочетаемость), принадлежащих различным из перечисленных классов (знаком + обозначены сочетания, при которых имеет место эффект взаимного усиления воздействия препаратов. Прочерк обозначает отсутствие эффекта).

Взаимное усиление (синергизм) действия различных цитостатических агентов достигается лишь в тех случаях, когда имеет место влияние одного агента на «тубулиновую» составляющую (т. е. на изменение ско-

рости реакций полимеризации/деполимеризации), а другого — на «энергетическую», т. е. на баланс между концентрациями молекул ГТФ и ГДФ.

Таблица 2

	N	S	E	W
N	+	-	-	+
S	-	+	+	-
E	-	+	+	-
W	+	-	-	+

7. Дискуссия

В связи с биологическими и медицинскими приложениями проблема регуляции динамических трансформаций микротубулинового цитоскелета представляет большой научный и практический интерес [33, 41]. К настоящему времени исследован широкий класс биохимических веществ, обладающих цитостатическим регуляторным действием [32, 34]. Разработанный нами подход позволил расклассифицировать регуляторные воздействия на четыре основных типа. При этом открылась возможность, опираясь на диаграмму состояния микротубулинового цитоскелета, судить об эффективности совместного действия разных регуляторов (см. табл. 2).

Микротубулиновый цитоскелет клетки высокочувствителен к условиям проведения эксперимента. Наибольшие экспериментальные затруднения возникают при отыскании условий, при которых проявляется динамическая нестабильность микротрубочек [42, 49]. В свете проведенного анализа эти наблюдения становятся понятными. Дело в том, что области, отвечающие нестационарным режимам на построенной нами диаграмме состояния, представляют собой узкие полосы (см. рис. 6). Поэтому случайное попадание параметров в эти обладающие малой площадью области маловероятно.

Намного проще направленная постановка опытов по регистрации неустойчивостей в динамике микротрубочек в системах *in vitro*. Достаточно задать высокую начальную концентрацию тубулина и ГТФ и дожидаться возбуждения колебаний в ходе естественного понижения уровня ГТФ [44]. Отметим, что снижение уровня ГТФ со временем на диаграмме состояния (см. рис. 6) соответствует движению изображающей точки снизу вверх. При этом, как несложно видеть, система микротрубочек на границе между зонами «III» и «II» должна претерпевать переход из стационарного состояния в нестационарное. Таким образом, ясно, что в системах *in vitro* появление неустойчивостей в динамике микротрубочек обусловлено рождением предельного цикла (см. рис. 8). В терминах теории катастроф, при

переходе системы через границу областей «III» и «II» имеет место закритическая бифуркация Андронова — Хопфа [21].

Природа нестационарных пульсаций микротрубочек, при которых стадии полимеризационного роста внезапно сменяются стадиями деполимеризации, интенсивно обсуждается более 25 лет [42, 46]. Наиболее широко дебатруется гипотеза о существовании в окрестности плюс-конца микротрубочки так называемой ГТФ-крышки (GTP-cap). Согласно данной гипотезе, гидролиз присоединенной к тубулину молекулы ГТФ происходит не сразу после присоединения очередного димера к микротрубочке, а спустя некоторое время [46]. Образующийся слой молекул тубулина-ГТФ в окрестности плюс-конца предотвращает деполимеризацию и стабилизирует всю микротрубочку [46]. Переход от роста микротрубочки к ее деполимеризации связан с исчезновением ГТФ-крышки.

Нельзя исключить, что в определенных экспериментальных условиях задержка гидролиза ГТФ, в принципе, способна вызвать неустойчивость в динамике микротрубочек [42, 46]. Однако проведенный выше анализ показал, что, и не прибегая к этой гипотезе (опираясь только на реакционно-диффузионные представления в рамках модели (9)—(13)), удается получить решения, соответствующие динамическим неустойчивостям тубулиновых микротрубочек. Попутно заметим, что в рамках нашего подхода сам собой снимается активно обсуждаемый в альтернативных подходах вопрос о виде частотного спектра случайных событий «переключения» микротрубочек с роста на деполимеризацию и обратно [56].

В рамках развитого нами подхода динамика плюс-конца микротрубочки определяется исключительно реакциями сорбции/десорбции молекул тубулина. При этом скорость реакции сорбции зависит от локальной концентрации молекул тубулина, связанных с ГТФ. В этом смысле изменение размера микротрубочки регулируется реакционно-диффузионными процессами в окружающей системе. Проведенный анализ показал, что рост микротрубочки связан с распространением концентрационных автоволн молекул тубулина в растворе. Бегущая слева направо автоволна ГТФ вызывает рост микротрубочек, а распространяющаяся справа налево волна ГДФ сопровождает деполимеризацию. По аналогии с упоминавшимися ранее диффузионно-лимитированными процессами (DLA [51]) можно сказать, что критические явления в динамике микротрубочек относятся к энергетически лимитированным процессам агрегации-дисагрегации (ELAD).

Вопрос о роли концентрационных автоволн в динамике микротрубочек, насколько нам известно, не рассматривался ранее теоретически. Однако в пользу влияния концентрационных градиентов на динамику микротрубочек *in vivo* свидетельствуют недавно опубликованные экспериментальные данные [35, 57]. Это позволяет надеяться, что полученные нами теоретические результаты могут оказаться небезынтересными специалистами в области клеточной биологии.

Стоит заметить, что в предпринятой в данной работе попытке описания критических явлений в динамике микротрубочек развиваются общие физико-химические положения теории диссипативных структур [52]. Распределение реагентов в растворе, в котором формируются микротрубочки, описывается в рамках реакционно-диффузионного приближения. А сами микротубулиновые нити трактуются как «преципитат» из жидкой фазы, т. е. как выпавшее в осадок вещество. В рамках такого подхода проблема роста микротрубочек по своей физико-химической сути предстает как проблема конденсации молекул тубулина из одной фазы в другую. Несмотря на то что построенная нами кинетическая реакционно-диффузионно-преципитационная (РДП) модель, вне всякого сомнения, является сильно упрощенной и ухватывает лишь часть из наиболее характерных черт реальной системы, на ее основе удалось построить диаграмму состояния рассматриваемой системы.

В физике переход вещества из одной формы пространственного упорядочения в другую принято рассматривать в рамках теории фазовых переходов с термодинамических позиций [69]. Традиционный взгляд на явления смены агрегатного состояния связан с выяснением условий термодинамической устойчивости фаз [73]. Существование двух фаз возможно лишь в случае, если на границе раздела фаз химические потенциалы равны. О спектре агрегатных состояний системы и возможных переходах между ними при изменении термодинамических параметров принято судить по виду «диаграммы состояния» [73]. Поэтому построение таких диаграмм является одной из ключевых задач в физике конденсированного состояния. Надо сказать, что диаграммы состояния широко используются и в физической химии, например, при изучении термодинамических условий выпадения в осадок растворенных в жидкой фазе солей [74]. Применительно к рассмотренной нами ELAD-системе уместно говорить о неравновесных переходах, поскольку в ходе формирования и роста микротрубочек имеет место энергопотребление — расходуются молекулы ГТФ.

Ввиду того что тубулиновые микротрубочки способны формироваться и в реконструированных биохимических системах, нам представлялось естественным рассматривать их с позиций современной неравновесной физической химии [72]. С этой точки зрения реконструированная система может рассматриваться как состоящая из двух взаимодействующих между собой подсистем (рис. 10). В «концентрационной» подсистеме молекулы тубулина, ассоциированные с ГТФ или ГДФ, способны индивидуально перемещаться в пространстве. Напротив, в «преципитационной» подсистеме отдельные молекулы тубулина плотно упакованы в цилиндрическую 13-заходную спиральную структуру (см. рис. 2). В этом смысле тубулиновая микротрубочка представляет собой элемент конденсированной фазы. При этом условная «граница раздела фаз» представляет собой

кольцо с внешним размером 24 нм и внутренним 13 нм, лежащее в торцевом сечении микротрубочки, в зоне местоположения ее плюс-конца. Понятно, что указанная «граница раздела фаз» должна быть в равновесной ситуации неподвижной (испытывать только флуктуационное дрожание), так как при этом скорости прямых и обратных процессов (сорбции/десорбции) должны быть равны.

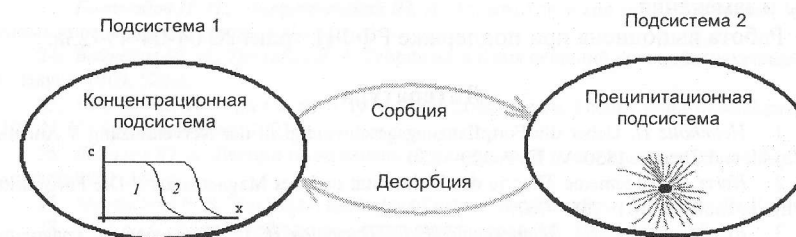


Рис. 10. Принципиальная схема рассмотренной реакционно-диффузионно-преципитационной системы.

Однако взаимное действие указанных выше подсистем в неравновесных условиях может быть, вообще говоря, и нескомпенсированным. Например, в условиях, когда доминируют процессы сорбции молекул тубулина, будет иметь место рост микротрубочки. Как следствие, будет смещаться граница раздела фаз. При доминировании процессов десорбции, трубочки будут укорачиваться, а концентрационная фаза насыщаться молекулами тубулина-ГДФ. Действие подсистем друг на друга, как выяснилось, не всегда бывает компенсаторно сбалансированным в каждый момент времени. Наряду с режимами, которым отвечают стационарные распределения микротрубочек по длинам, имеющими место в зонах «0», «I» и «III» (см. рис. 6), возможны и нестационарные режимы, которым отвечают областям «II» и «IV» на параметрической диаграмме состояния (см. рис. 6). Как мы видели, в последнем случае поведение системы определяется наличием в фазовом пространстве предельного цикла А. Пуанкаре. Представляется важным подчеркнуть, что при этом масштабные периодические изменения длины микротрубочек оказываются сопряженными с концентрационными автоволнами в растворе. В физике широко известно, что при приближении к критическим состояниям имеет место нарастание крупномасштабных флуктуаций и увеличение радиуса корреляции (второго корреляционного момента) [75, 76]. В рассмотренной нами неравновесной системе увеличение пространственно-временной корреляции в критических условиях обеспечивается за счет автоволновых процессов и сопряженных с ними процессов полимеризации-деполимеризации.

В определенной области параметров (см. «II», «IV», рис. 6) имеет место своеобразная взаимная синхронизация в поведении подсистем, кото-

рая проявляется в виде взаимообусловленной пространственно-временной ритмики. Рождение предельного цикла и связанных с ним пространственно-временных форм трансформации элементов тубулинового цитоскелета идет в полном соответствии с открытым А. А. Андроновым механизмом (см. рис. 9, а).

Выражаем благодарность профессору И. А. Воробьеву за ценные советы и замечания.

Работа выполнена при поддержке РФФИ, грант № 04-04-49423а.

Литература

1. *Helmholtz H.* Ueber die Fortpflanzungsgeschwindigkeit der Nervenreizung // *Annalen der Physik und Chemie.* 1850. V. 79. P. 329—330.
2. *Hertz H.* Allgemeine Theorie der Electricität und des Magnetismus // *Die Fortschritte der Physik.* 1880. V. 36. P. 765—767.
3. *Колмогоров А. Н., Петровский И. Г., Пискунов Н. С.* Исследование уравнения диффузии, соединенной с возрастанием количества вещества, и его применение к одной биологической проблеме // *Бюлл. МГУ. Сер. А.* 1937. Вып. 6. С. 1—16.
4. *Зельдович Я. Б., Франк-Каменецкий Д. А.* Теория теплового распространения пламени // *Журн. физической химии.* 1938. Т. 12, вып. 1. С. 100—105.
5. *Wiener N., Rosenblueth A.* The Mathematical Formulation of the Problem of Conduction of Impulses in a Network of Connected Excitable Elements, Specifically in Cardiac Muscle // *Arch. Inst. Cardiol Mex.* 1946. V. 16. P. 205—265 [Русский перевод: *Винер Н., Розенблют А.* Проведение импульсов в сердечной мышце: Математическая формулировка проблемы проведения импульсов в сети связанных возбудимых элементов, в частности в сердечной мышце // *Кибернетический сборник.* 1961. Вып. 3. С. 7—86].
6. *Hodgkin A. L., Huxley A. F.* A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve // *J. Physiology.* 1952. V. 117. P. 500—544.
7. *Scott A.* Active and Nonlinear Wave Propagation in Electronics. N. Y.: Wiley, 1970 [Русский перевод: *Скотт Э.* Волны в активных и нелинейных средах в приложении к электронике. М.: Советское радио, 1977. 368 с.].
8. *Жаботинский А. М.* Концентрационные колебания. М.: Наука, 1974.
9. Колебания и бегущие волны в химических системах / Под ред. Р. Филд, М. Бургер. М.: Мир, 1988. 720 с.
10. *Пригожин И.* Время, структуры и флуктуации // *УФН.* 1980. Т. 131, вып. 2. С. 185—207.
11. Автоволновые процессы в системах с диффузией / Под ред. М. Т. Греховой. Горький: ИПФ АН СССР, 1981.
12. *Васильев В. А., Романовский Ю. М., Яхно В. Г.* Автоволновые процессы. М.: Наука, 1987. 240 с.
13. *Wolpert L.* Principles of development. Oxford: University Press, 1998.
14. *Koch A. J., Meinhardt H.* Biological pattern formation — from basic mechanisms to complex structures // *Rev. Modern Physics.* 1994. V. 66. P. 1481—1507.
15. *Turing A. M.* The chemical basis of morphogenesis // *Phil. Trans. R. Soc. London.* 1952. V. 237. P. 37—72.
16. *Thom R.* Mathematical models of morphogenesis. N. Y.: Halsted Press, 1982 [Русский перевод: *Том Р.* Математические модели морфогенеза. М.: РХД, 2006. 136 с.].
17. *Иваницкий Г. Р., Кринский Б. И., Сельков Е. Е.* Математическая биофизика клетки. М.: Наука, 1978. 308 с.
18. *Leitcher J., Girard S., Peralta E., Clapham D.* Spiral calcium wave propagation and annihilation in *Xenopus laevis* oocytes // *Science.* 1991. V. 252. P. 123—126.
19. *Gorbunova Y. V., Spitzer N. C.* Dynamic interactions of cyclic AMP transients and spontaneous Ca²⁺ spikes // *Nature.* 2002. V. 418. P. 93—96.
20. *Haken H.* Synergetics, an introduction. Nonequilibrium Phase-Transitions and Self-Organization in Physics, Chemistry and Biology. Springer, 1977 [Русский перевод: *Хакен Г.* Синергетика. М.: Мир, 1980.].
21. *Андронов А. А., Витт А. А., Хайкин С. Э.* Теория колебаний. 2-е изд. М.: Физматгиз, 1959. 926 с.
22. *Горелик Г. С.* Колебания и волны. М.: Физматгиз, 1959.
23. *Боголюбов Н. Н., Митропольский Ю. А.* Асимптотические методы в теории нелинейных колебаний. М.: Наука, 1974.
24. *Вайнберг М. М., Треногин В. А.* Теория ветвления решений нелинейных уравнений. М.: Наука, 1969. 529 с.
25. *Sattinger D. H.* Topics in stability and bifurcation theory. Lecture notes in Mathematics, N309. N. Y.: Springer-Verlag, 1973.
26. *Данилов Ю. А.* Лекции по нелинейной динамике. Элементарное введение. М.: Постмаркет, 2001. 184 с.
27. *Mandelbrot B. B.* The fractal geometry of nature. San Francisco: Freeman, 1982.
28. *Де Жен П.* Идеи «скейлинга» в физике полимеров. М.: Мир, 1987. 368 с.
29. *Wang N., Naruse K., Stamenovic D., Fredberg J. J., Mijailovich S. M., Tolic-Norrelykke M., Polte T., Mannix R., Ingber D. E.* Mechanical behavior in living cells consistent with the tensegrity model // *PNAS.* 2001. V. 98. P. 7765—7770.
30. *Халмош П.* Теория меры. М.: Факториал, 2003. 256 с.
31. *Alberts B., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K., Walter P.* Molecular Biology of Cell. N. Y.: Garland Science, 2002.
32. *Wilson L., Panda D., Jordan M.* Modulation of microtubule dynamics by drugs: a paradigm for the actions of cellular regulators // *Cell structure and function.* 1999. V. 24. P. 328—335.
33. *Potapova T. A., Daum J. R., Pittman B. D., Hudson J. R., Jones T. N., Sattinover D. L., Stukenberg P. T., Gorbsky G. J.* The reversibility of mitotic exit in vertebrate cells // *Nature.* 2006. V. 440. P. 954—958.
34. *Niethammer P., Bastiaens P., Karsenti E.* Stathmin-tubulin interaction gradients in motile and mitotic cells // *Science.* 2004. V. 303. P. 1862—1866.
35. *Caudron M., Bunt G., Bastiaens P., Karsenti E.* Spatial coordination of spindle assembly by chromosome-mediated signaling gradients // *Science.* 2005. V. 309. P. 1373—1376.
36. *Li H., DeRosier D. J., Nicholson W. V., Nogales E., Downing K. H.* Microtubule structure at 8 Å resolution // *Structure.* 2002. V. 10. P. 1317—1328.
37. *Janson M. E., Dogterom M.* A bending mode analysis for growing MT // *Biophys. J.* 2004. V. 87. P. 2723—2736.
38. *Воробьев И. А., Григорьев И. С., Борису Г. Г.* Динамика микротрубочек в культивируемых клетках // *Онтогенез.* 2000. Т. 31, № 6. С. 420—428.
39. *Holy T. E., Leibler S.* Dynamic instability of microtubules as an efficient way to search in space // *PNAS.* 1994. V. 91. P. 5682—5685.
40. *Grigoriev I., Borisy G., Vorobjev I.* Regulation of microtubule dynamics in 3T3 fibroblasts by Rho family GTPases // *Cell Motility and the Cytoskeleton.* 2006. V. 63. P. 29—40.
41. *Karsenti E., Vernos J.* The mitotic spindle: a self-made machine // *Science.* 2001. V. 294. P. 543—547.
42. *Mitchison T. J., Kirschner M. W.* Dynamic instability of microtubule growth // *Nature.* 1984. V. 312. P. 237—242.
43. *Carlier M. F., Melki R., Pantaloni D., Hill T. L., Chen Y.* Synchronous oscillations in microtubule polymerization // *PNAS.* 1987. V. 84. P. 5257—5261.
44. *Melki R., Carlier M. F., Pantaloni D.* Oscillations in microtubule polymerization: the rate of GTP regeneration on tubulin controls the period // *EMBO J.* 1988. V. 7. P. 2653—2659.
45. *Fygenson D. K., Braun E., Libchaber A.* Phase diagram of microtubules // *Phys. Rev. E.* 1994. V. 50. P. 1579—1588.

46. *Desai A., Mitchison T. J.* Microtubule polymerization dynamics // *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 1997. V. 13. P. 83—117.
47. *Janosi I. M., Chretien D., Flyvbjerg H.* Structural microtubule cap: stability, catastrophe, rescue, and third state // *Biophys. J.* 2002. V. 83. P. 1317—1330.
48. *Dogterom M., Leibler S.* Physical aspects of the growth and regulation of microtubule structures // *Phys. Rev. Lett.* 1993. V. 70. P. 1347—1350.
49. *Caudron N., Valiron O., Usson Y., Valiron P., Job D.* A reassessment of the factors affecting microtubule assembly and disassembly in vitro // *J. Mol. Biol.* 2000. V. 297. P. 211—220.
50. *Волькенштейн М. В.* Биофизика. М.: Наука, 1988. 592 с.
51. *Vicsek T.* Fractal Growth Phenomena. World Scientific, 1992. 400 p.
52. *Николис Г., Пригожин И.* Самоорганизация в неравновесных системах. М.: Мир, 1979.
53. *Эбеллинг В.* Образование структур при необратимых процессах. Введение в теорию диссипативных структур. М.: РХД, 2004. 256 с.
54. *Koch A. J., Meinhardt H.* Biological pattern formation — from basic mechanisms to complex structures // *Rev. Modern Phys.* 1994. V. 66. P. 1481—1507.
55. *Guria G. T., Livshits M. A.* Nonequilibrium spatio-temporal selforganization due to delayed negative feedback // *Z. Phys. B. Condensed Matter.* 1982. V. 47. P. 71—77.
56. *Houchmandzadeh B., Vallade M.* Collective oscillations in microtubule growth // *Phys. Rev. E.* 1996. V. 53. P. 6320—6324.
57. *Pearson C. G., Gardner M. K., Paliulis L. V., Salmon E. D., Odde D. J., Bloom K.* Measuring nanometer scale gradients in spindle microtubule dynamics using model convolution microscopy // *Mol. Biol. Cell.* 2006. V. 17. P. 4069—4079.
58. *Ross J., Muller S., Vidal C.* Chemical waves // *Science.* 1988. V. 240. P. 460—465.
59. *Буравцев В. Н.* Периодический фазовый переход в растворе аммиака // *Журн. физической химии.* 1983. Т. 57. С. 1822—1824.
60. *Sammak P. J., Borisov G. G.* Direct observation of microtubule dynamics in living cells // *Nature.* 1988. V. 332. P. 724—726.
61. *Grill S. W., Gonczy P., Stelzer E. H., Hyman A. A.* Polarity controls forces governing asymmetric spindle positioning in the *C. elegans* embryo // *Nature.* 2001. V. 409. P. 630—633.
62. *Гельфанд И. М.* Лекции по линейной алгебре. М.: Наука, 1970. 273 с.
63. *Feigenbaum M. J.* Quantitative universality for a class of nonlinear transformations // *J. Stat. Phys.* 1978. V. 19, № 1. P. 25—52.
64. *Andersen S. S. L.* Spindle assembly and the art of regulating microtubule dynamics by MAPs and Stathmin/Op18 // *Trends Cell Biol.* 2000. V. 10. P. 261—267.
65. *Rubin C. I., Atweh G. F.* The role of stathmin in the regulation of the cell cycle // *J. Cell Biochem.* 2004. V. 93. P. 242—250.
66. *Honore S., Pasquier E., Braguer D.* Understanding microtubule dynamics for improved cancer therapy // *Cell Mol. Life Sci.* 2005. V. 62. P. 3039—3056.
67. *Nucleation theory and applications / Ed. by Schmelzer J.W.P., Ropke G., Priezzhev V.R.* Dubna: JINR, 1999.
68. *Катруха Е. А., Гурия Г. Т.* Динамические нестабильности тубулинового цитоскелета. Диаграмма состояния // *Биофизика.* 2006. Т. 51, вып. 5. С. 885—893.
69. *Ландау Л. Д., Лившиц Е. М.* Статистическая физика. М.: Наука, 1964. 568 с.
70. *Геккель Э.* Красота форм в природе. СПб, 1907.
71. *Вейль Г.* Симметрия. М.: Наука, 1968. 192 с.
72. *Пригожин И., Кондегуди Д.* Современная термодинамика. От тепловых двигателей до диссипативных структур. М.: Мир, 2002. 464 с.
73. *Gibbs J. W.* The Collected Works. Thermodynamics. N. Y.: Longmans, Green and Co., 1928. V. 1.
74. *Мелвин-Хьюз Э.-А.* Физическая химия: В 2 т. М.: Изд-во иностранной литературы. 1962.
75. *Ма Ш.* Современная теория критических явлений. М.: Мир, 1980. 299 с.
76. *Балеску Р.* Равновесная и неравновесная статистическая механика: В 2 т. М.: Мир, 1978.

АЭРОИОНЫ ЧИЖЕВСКОГО И ЯВЛЕНИЕ СВЕЧЕНИЯ ВЛАЖНОГО ВОЗДУХА

В. Л. Воейков, С. Ф. Чалкин, Р. Р. Асфарамов

1. Введение

Александр Леонидович Чижевский сообщил о роли отрицательно заряженных ионов воздуха в поддержании жизненно важных функций организма более 80 лет тому назад [1]. Предложенная им искусственная аэроионизация воздуха успешно применяется как в промышленности, так и в быту [2, 3]. Надежно подтверждены полученные А. Л. Чижевским свидетельства благотворного действия отрицательных аэроионов на здоровье человека, животных и растений [4—7]. Однако, несмотря на бесспорные доказательства того, что присутствующие в природном воздухе аэроионы абсолютно необходимы для нормальной жизнедеятельности, что их дефицит во вдыхаемом человеком воздухе служит одной из существенных причин возникновения и развития хронических и инфекционных заболеваний, масштабы использования аэроионотерапии в медицине далеко не соответствуют ее эффективности.

Что же сдерживает применение аэроионов для профилактики и лечения заболеваний? Нередко представители академической биологии и медицины, которые сами аэроионизации не используют, относятся к утверждениям о важной биологической функции отрицательно заряженных ионов воздуха скептически. Во-первых, исходя из обычных представлений биохимии и физиологии, из-за ничтожности содержания отрицательно заряженных ионов в «свежем» воздухе (сотни — тысячи частиц ионов в 1 см^3 , тогда как содержание кислорода в том же объеме воздуха порядка 10^{18} молекул) рассматривать их в качестве действующего фактора не представляется возможным. А с точки зрения физики, время жизни частиц, полученных при ионизации молекул газов, столь мало, что трудно себе представить, как ионы, генерируемые ионизаторами, находящимися на расстоянии метров от объекта воздействия, могут оказывать на него хоть какое-то действие.

Со всеми этими возражениями встретился еще А. Л. Чижевский. Естественно, он задумывался и о механизме действия аэроионов, генерируемых его «электроэфлювиальными люстрами», и о том, почему они достигают своих мишеней. Чижевский пришел к мысли, что отрицательно заряженный кислород (действующее начало ионизированного воздуха) обладает высокой биологической активностью не за счет электрического заряда, а поскольку представляет собой некую активированную форму кислорода, которая запускает некие лавинообразные процессы, реализующиеся в физиологические эффекты. Предположение, что биологическое действие ионизированного воздуха как-то связано со свободными