



УДК 612.017+007

© 2008

Р. Д. Григорян, Е. Г. Лябах

Формализованный анализ адаптивного реагирования клетки на дефицит энергии

(Представлено академиком НАН Украины А. А. Мойбенко)

To find causal relations between the cellular energy, alterations of mitochondria, and the cellular mechanism of reactive adaptation (MRA) under exogenous stimuli, a formal analysis is performed. It is shown that there are four main consumers (biosynthesis, homeostasis, reparative and compensatory syntheses) of cell energy. Violating the cellular homeostasis, the exogenous factors decrease the part of energy necessary to provide the biosynthesis. Intermediate chemical agents of the strangled biosynthesis activate a cascade of transformations leading to an enlargement of both the mitochondrial power and the energy production intensity. This negative feed-back contour is the essence of MRA that maintains the process of decentralized adaptation of a multicellular organism to environmental shifts.

Способность организма адаптироваться к изменениям среды существования является одним из фундаментальных свойств жизни. Биохимия и описательная физиология, использующие в основном эмпирические методы, накопили большой фактический материал об адаптации разных организмов к изменениям в среде [1–7]. Но вопрос, почему происходит адаптация, в рамках эмпирической биологии остается открытым. Ограниченность экспериментальных исследований привела к формированию, на наш взгляд, не совсем адекватных представлений о механизме взаимодействия организма со средой. Была преувеличена роль ЦНС в процессе адаптации высокоорганизованных форм жизни [8, 9]. Но исследования внутриклеточных процессов адаптации [2–4, 6, 10] склоняют биологов к тому, что клетка обладает существенной автономией.

Анализ проблемы адаптации с применением методов кибернетики и математического моделирования привел к формулировке концепции децентрализованной адаптации [11]. В основе концепции лежит постулат о том, что в клетке существует механизм реактивной адаптации (МРА), действие которого направлено на устранение дефицита энергии, вызванного экзогенными факторами. Моделирование [12, 13] помогло раскрыть механизм появления и исчезновения движущих сил адаптации в многоклеточном организме, оставляя в стороне вопрос о внутренней организации МРА, связанной с ним вариабельности

физиологической нормы и вроде бы исподволь развивающихся болезней (гипертония, кардиомиопатия, некоторые формы диабета и др.). То, что эти болезни можно рассматривать как итог патологической адаптации — дизадаптации [8, 9], не устраняет неясности в понимании общего механизма адаптивного реагирования и порождает проблемы в диагностике и лечении болезней. Чтобы приблизить теорию децентрализованной адаптации к медицинским проблемам, необходимо связать клеточный МРА с системным реагированием на экзогенные стимулы. На наш взгляд, основой этой связи является чувствительность энергетического состояния клетки к изменениям внешней среды. Учитывая роль энергии в жизни [9, 14], для понимания адаптивного реагирования клетки необходимо рассмотреть ее энергетический баланс. Наша цель — дать формальный анализ механизма появления энергетического дефицита и показать основные способы его естественного устранения.

Виды адаптации, энергетическая теория реактивной адаптации. Для приспособления к средовым условиям высшие организмы используют поведенческую, физиологическую и биохимическую адаптацию. В работе речь идет о двух последних разновидностях, причем акцент делается на клеточных механизмах.

Известно, что синтез энергии в клетке может осуществляться с использованием различных субстратов, энергетическая ценность которых неодинакова. Поэтому изменения пропорции субстратов практически мгновенно изменяют соотношение разных способов синтеза общего количества конечного продукта. В этом и состоит суть одного из типичных механизмов биохимической — переключательной адаптации.

Сложный процесс физиологической адаптации клетки к локальному окружению включает в себя реакции, развивающиеся в ответ на перемены в темпе поступления субстратов, и на экзогенные стимулы, не имеющие прямого отношения к биосинтезу, который зависит не только от концентрации субстратов. Колебания скорости биосинтеза в разных фазах жизненного цикла клетки на фоне стабильного поступления исходных субстратов связаны с работой ядерного механизма программной адаптации (МПА). Характерной особенностью МПА является его способность как ускорять темп синтеза, так и замедлять его.

Из всех форм приспособительных реакций целесообразно выделить клеточное реагирование или специфическую форму реагирования клетки на индуцированный средой дефицит энергии. Выше упоминалось, что специфический комплекс реакций, развиваемых клеткой при дефиците энергии, получил название механизма реактивной адаптации (МРА) [11]. Следует отметить, что для активации МРА важна не столько абсолютная величина энергии, сколько появление дефицита баланса между ее синтезом и расходом.

Механизмы адаптации организма к возросшим или к сниженным экзогенным нагрузкам имеют существенные различия. Если темп синтеза энергии остается на прежнем уровне, возросшая нагрузка приводит к увеличению энергетических трат клетки и порождает в ней дефицит энергии. Нехватка энергии тормозит биосинтез при неизменных деструкциях биомолекул. Поэтому адаптация к возросшему потреблению энергии имеет охранительный характер. Снижение нагрузки в клетке на фоне ее прежних возможностей производить энергию приводит к потенциальному избытку энергии. Накопление специфических химических агентов в этом случае будет снижать скорость биосинтеза по отрицательной обратной связи. Со временем общая масса митохондрий будет постепенно уменьшаться благодаря естественному (термодинамическому) распаду макромолекул. Поскольку темпы наращивания и разрушения структур в клетке различны, механизм МРА асимметричен. Механизм деструкции биологических макромолекул будет рассмотрен позже. Пока заметим, что

в силу асимметричности МРА динамика адаптации организма к росту или к снижению индуцированных средой энергетических потерь также асимметрична. Понимание этой закономерности может иметь прикладное значение (например, при разработке алгоритмов борьбы с ожирением).

Согласно энергетической теории реактивной адаптации (ЭТРА), как длительный баланс между синтезом и расходом, так и превышение скорости синтеза над расходом энергии могут существовать на фоне разных скоростей биосинтеза. Это утверждение зиждется на том, что механизм программной адаптации — не единственный детерминант скорости биосинтеза. Ее определяет также лабильная внеклеточная среда, а путь воздействия локальной межклеточной среды на биосинтез клетки лежит через МРА.

Теоретически возможны минимум две стратегии сохранения структурно-функциональной целостности клетки в нестабильной среде. Первая стратегия могла бы включать две ступени эволюции. На первой формируются узкоспециализированные сенсоры для определения конкретной внешней угрозы, на второй — также специализированные механизмы противодействия этим угрозам. Представим себе альтернативную стратегию, объединяющую эти два механизма. Для этого достаточно, чтобы различные угрожающие факторы приводили бы к общему конечному результату — клеточному неблагополучию. Тогда клетка могла бы устранить его без дифференцировки причин. Мы не располагаем сведениями относительно того, какие формы жизни используют первую стратегию. Есть основания полагать, что у подавляющего большинства, если не у всех организмов, имеет место вторая стратегия. Причем искомое обобщенное неблагополучие — это дефицит энергии. Он приводит к росту концентрации цитоплазматических веществ, непосредственно участвующих в синтезе энергии. Так, факторы адаптации (HIF — hypoxia inducible factors [10], GF — growth factors [2, 15]) являются макромолекулярными образованиями, концентрация которых возрастает в клетке в ответ на дефицит энергии. Они запускают каскад трансформаций, охватывающих ядерные процессы экспрессии генов и последующие процессы биосинтеза, выражающихся в увеличении максимальной производительности митохондрий. Итак, если среда вынуждает клетку тратить энергию в темпе, превышающем скорость ее производства, запускается МРА, что увеличивает темп производства энергии до установления нового равновесия. Без МРА ни одна клетка не может длительно функционировать в среде со стохастической динамикой.

Синтез и расходование энергии в клетке. Чтобы понять механизм связи между энергетикой клетки и состоянием ее локального окружения, проанализируем динамику биохимической энергии. Клетка не создает больших запасов макроэргов. Непрерывный расход энергии на поддержание ряда энергозависимых процессов запускает механизм ее синтеза. Скорость синтеза может увеличиваться (уменьшаться) посредством МПА, а посредством активации МРА — только увеличиваться. Важно обратить внимание на то, что как величина общей энергопродукции, так и текущая доля каждого потребителя переменны. Проанализируем условия перераспределения энергетических потоков между потребителями.

Первым (основным) потребителем энергии является биосинтез, скорость которого переменна в разных фазах жизненного цикла клетки. Однако приходящаяся на долю биосинтеза энергия уменьшается с ростом ее потребления другими конкурирующими процессами. Можно выделить два процесса, конкурирующих с основным биосинтезом: поддержание гомеостаза и повторный синтез. Более детально рассмотрим их ниже.

Гомеостаз клетки — устойчивое неравновесие между составами цитоплазмы и внеклеточной жидкости, является неременным условием нормального метаболизма клетки и ее

реагирования на экзогенные стимулы. Для создания клеточного гомеостаза требуются затраты энергии на трансмембранный перенос веществ в направлении против существующих электрохимических и концентрационных градиентов. В реальных условиях разные экзогенные возмущения нарушают гомеостаз клетки. Для его восстановления требуется дополнительная трата внутренней энергии. При повторяющихся деструктивных экзогенных возмущениях потеря клеточной энергии пропорциональна их длительности и амплитуде. Строгой оценки затрат энергии на поддержание клеточного гомеостаза на фоне различных флуктуаций E_f^u мы предложить не можем, но энерготраты, обусловленные деятельностью нервной системы, поддаются оценке. Обозначим через E_h^u порцию энергии для восстановления гомеостаза клетки, нарушенного нервным импульсом. Тогда при частоте F дошедших до мембраны клетки эфферентных импульсов величина энерготрат на восстановление гомеостаза клетки равна $FE_h^u t$. Зная потребность энергии на достижение гомеостаза E_{0h}^u , можно выразить суммарные энергетические затраты $E_H^u(t)$ на поддержание гомеостаза в условиях экзогенных нагрузок:

$$E_H^u(t) = E_{0h}^u + E_f^u + FE_h^u t. \quad (1)$$

Таким образом, в нестабильной среде клеточный гомеостаз является вторым после биосинтеза самостоятельным потребителем энергии в клетке.

Если бы все синтезированные молекулы не имели дефектов и не распадались, не было бы и дополнительных энерготрат. Но в действительности есть два разных механизма, вынуждающих клетку тратить дополнительную энергию на повторный синтез. Первый механизм — термодинамический распад третичных и четвертичных структур биологических макромолекул [14]. За неимением точных данных, величину энергии $E_T^u(t)$, необходимую для компенсаторного синтеза макромолекул из-за их термодинамического распада, можно считать пропорциональной средней температуре T^m :

$$E_T^u(t) = \alpha T^m t. \quad (2)$$

Второй дополнительный механизм деструкций молекул связан с низкой надежностью генетического аппарата репликации. Случайные мутагенные факторы нарушают нормальный синтез, порождая дефектные (мутантные) биомолекулы. В норме механизм иммунного контроля их распознает и разлагает. На синтез новых молекул для замещения дефектных требуется часть энергии $E_R^u(t)$, ее можно связать со средней частотой f_R ошибок репликации выражением

$$E_R^u(t) = \beta f_R t. \quad (3)$$

Пусть $v^s(t)$, $v^u(t)$ — скорости синтеза и утилизации энергии клетки соответственно. Тогда, с учетом (1)–(3), энергетические траты клетки опишем выражением

$$E^u(t) = \int_0^t v^u(t) dt = E_{0h}^u + E_f^u + (\alpha T^m + \beta f_R + FE_h^u)t. \quad (4)$$

Полная динамика энергии $E(t)$ в клетке определяется как:

$$E(t) = E(0) + \Delta E(t), \quad \text{где} \quad \Delta E(t) = \int_0^t (v^s(t) - v^u(t)) dt. \quad (5)$$

Адаптация клетки как процесса продолжительностью τ предполагает, что для $t \geq \tau$ $\Delta E = 0$. При возросшем расходе энергии это условие достижимо при соответствующем увеличении компонента $\int_0^{\tau} v^s(t) dt$. Из (4) и (5) получаем

$$E(t) = E(0) + \int_0^t v^s(t) dt - E_{0h}^u - (\alpha T^m + \beta f_R + F E_h^u)t. \quad (6)$$

Согласно (6), стартовое значение энергии $E(0)$, константа E_{0h}^u , характеризующая энергозатраты на поддержание базового уровня гомеостаза клетки, а также четыре независимых переменных — v^s , T^m , f_R , F определяют полную динамику $E(t)$ в любой момент жизни каждой клетки многоклеточного организма. Для нормального функционирования клетки необходимо, чтобы $E(t) \geq E_c$, где E_c — некий уровень минимальной энергии, специфичный для разных типов клеток и зависящий от фазы клеточного цикла. Состояние $E(t) < E_c$ нежелательно для клетки, против него направлено действие эволюционно закрепленного МРА.

Внутренняя организация МРА клетки. Размеры, производительность митохондрий и их количество варьируют в некотором генетически предопределенном диапазоне. Проводимый анализ базируется на ключевом утверждении ЭТРА: изменения в митохондриях обусловлены энергетическими нуждами клетки. Чтобы объяснить внутреннюю организацию МРА клетки в ответ на дефицит энергии, рассмотрим упрощенно j -ю митохондрию, участвующую в окислении субстратов $[S_{ij}]$ (жирные кислоты, глюкоза и др.) при концентрации кислорода $[O_2]$. Согласно [5], скорость фосфорилирования (v_j) регулируется концентрациями аденозиндифосфата, неорганического фосфата P_i , кислорода $[O_2]$ и NADN выражением

$$v_j \approx \frac{V_{j \max}}{1 + \frac{k_1}{[ADP]} + \frac{k_2}{[P_i]} + \frac{k_3}{[O_2]} + \frac{k_4}{[NADN]}} \quad (7)$$

где k_1-k_4 — константы, а максимальная скорость фосфорилирования $V_{j \max}$ зависит от состояния митохондрии, устройства и концентраций дыхательных ферментов. Формула (7) описывает регуляцию окислительного метаболизма с учетом концентрации реагентов (O_2 и S_{ij}), входящих в реакцию через митохондриальный комплекс-регулятор использования субстратов. Текущую скорость v_j лимитирует наименьшая из концентраций доступных реагентов (O_2 и S_{ij}). При фиксированных $[P_i]$ и $[ADP]$ можно записать

$$v_j = a \cdot V_{j \max} \cdot \Phi_j([S_{ij}], [O_2]),$$

где

$$\Phi_j([S_{ij}], [O_2]) \approx \frac{1}{1 + \frac{k_1}{[ADP]} + \frac{k_2}{[P_i]} + \frac{k_3}{[O_2]} + \frac{k_4}{[NADN]}}. \quad (7a)$$

В (7a) $\Phi_j \leq 1$, где неравенство имеет место, если концентрация хотя бы одного реагента в j -й митохондрии меньше критического значения. Суммарное значение клетки, имеющей n митохондрий, будет

$$V_E \leq \sum_{j=1}^n a V_{j \max} \Phi([S_{ij}], [O_2]). \quad (8)$$

В формуле (8) знак равенства означает, что все митохондрии полностью задействованы в синтезе энергии. Из (8) следует, что скорость аэробной энергопродукции определяется количеством и мощностью митохондрий в клетке. Увеличение митохондриальной мощности в клетке, необходимое для борьбы с недостатком энергии, приводит к росту максимальной скорости дыхания клетки. Биосинтез, направленный на рост митохондриальной мощности в определенной группе клеток, повысит возможный темп утилизации субстрата и кислорода, усилит энергопродукцию этой группы. Поскольку локальные концентрации реагентов в данной группе будут снижаться [12, 13], возникнет рост притока субстратов к местам усиленного биосинтеза. Хотя формула (8) не учитывает гетерогенности $[S_{ij}]$ и $[O_2]$ в пространстве локализации отдельных митохондрий в цитоплазме, тем не менее она дает ключ к пониманию энергетического смысла гиперплазии (рост числа n) и гипертрофии митохондрий (рост $V_{j\max}$).

Мы уделили основное внимание раскрытию адаптационного потенциала митохондрий в ответ на экзогенный дефицит энергии. Формула (8) охватывает полный набор участников процесса производства энергии в клетке, раскрывая потенциальные возможности перераспределения потока реагентов внутри клетки. Если концентрации этих реагентов меньше потребности в них, возникает борьба за субстраты и кислород. Фактически, эта конкуренция и заставляет многоклеточный организм как единое целое адаптироваться к изменениям среды. При этом возможен известный феномен перекрестной адаптации организма [2].

Новизна и потенциал ЭТРА. Как интегральная, общебиологическая теория существования организма в нестабильной среде, ЭТРА формирует новый взгляд на частные проявления адаптации. Например, проявления адаптации к гипоксии, к гипогликемии, к холоду, к повышенным физическим или эмоциональным нагрузкам и др. ЭТРА рассматривает на единой основе. Все формы адаптации связаны с энергетикой клетки. В рамках ЭТРА широко известный феномен васкуляризации солидных раковых опухолей можно рассматривать как частный механизм борьбы с дефицитом энергии при гипоксии в зоне опухоли. Согласно ЭТРА существует также возможность наследования через цитоплазму дочерними клетками свойств материнской клетки, у которой в ходе адаптации изменились митохондрии. При сохранившихся средовых условиях дочерние клетки оказываются лучше приспособленными к этим условиям. Хотя в работе акцент был смещен на процессы в отдельной клетке, проведенный анализ позволяет рассматривать закономерности адаптации многоклеточного организма к изменениям в среде.

Энергетическая концепция реактивной адаптации клетки к среде показывает, что реактивная адаптация имеет охранительную направленность. МРА стремится привести многоклеточный организм к состоянию, при котором в максимальном количестве его клеток дефицит энергии минимален. Таким образом, организм децентрализованно адаптируется к экзогенным возмущениям целиком. Каждое метастабильное состояние организма есть результат приближения клеток организма к идеальному состоянию равновесия между производством и потреблением энергии. Таких состояний может быть бесконечно много. Проведенный анализ служит ключом для раскрытия механизмов физиологической адаптации многоклеточного организма к изменениям во внешней среде, что позволит в будущем управлять этим механизмом. Полученные результаты совместно с результатами, изложенными в [11–13], переводят адаптационную физиологию из описательной в разряд объясняющих наук, что дает возможность приблизиться к созданию эффективных алгоритмов управления процессом адаптации.

1. *Fregly M. J., Blatteis C. M.* Environmental Physiology. Handbook of Physiology: Section 4. – New York: Oxford University Press, 1996. – 1626 p.
2. *Hargens A. R., Takeda N., Singal P. K.* Adaptation Biology and Medicine: Current Concepts. – New Delhi: Narosa Publ. House, 2005. – Vol. 4. – 342 p.
3. *Меерсон Ф. З.* Общий механизм адаптации и роль в нем стресс-реакции, основные стадии процесса // Физиология адаптационных процессов. – Москва: Наука, 1986. – С. 77–124.
4. *Meerson F. Z.* Essentials of Adaptive Medicine: Protective Effects of Adaptation. – Moscow: Hypoxia Medical LTD, 1994. – 384 p.
5. *Chance B., Leigh J., Kent J., McCully K.* Metabolic control principles and P NMR // Fed. Proc. – 1986. – **45**, No 13. – P. 2915–2920.
6. *Bizeau M., Willis W., Hazel J. R.* Differential responses to endurance training in subsarcolemmal and intermyofibrillar mitochondria // J. Appl. Physiol. – 1998. – **85**. – P. 1279–1284.
7. *Mankovskaya I. N., Serebrovskaya T. V., Nosar V. I., Lyabakh K. G.* Oxygen-dependent processes in tissues under adaptation to intermittent hypoxia and their clinical significance // Adaptation Biology and Medicine: New Frontiers / Eds. A. Hargens N. Takeda, P. K. Singal. – New Delhi: Narosa Publ. House, 2001. – Vol. 3. – P. 122–129.
8. *Селье Г.* Очерки об адаптационном синдроме: Пер. с англ. – Москва: Медгиз, 1960. – 254 с.
9. *Крыжановский Г. Н.* Детерминантные структуры и патология нервной системы: Генератор, механизмы нейропатологических синдромов. – Москва: Медицина, 1980. – 358 с.
10. *Wenger H. R.* Cellular adaptation to hypoxia: O₂-sensing protein hydroxylases, hypoxia-inducible transcription factors, and O₂-regulated gene expression // FASEB Journal. – 2002. – **16**. – P. 1151–1162.
11. *Григорян Р. Д.* Самоорганизация гомеостаза и адаптации. – Киев: ИД “Академперіодика”, 2004. – 501 с.
12. *Grygoryan R. D., Hargens A. R.* A virtual multi-cellular organism with homeostatic and adaptive properties // Adaptation Biology and Medicine: Health Potentials / Eds. L. Lukyanova, N. Takeda, P. K. Singal. – New Delhi: Narosa Publ. House, 2008. – Vol. 5. – P. 261–282.
13. *Григорян Р. Д., Аксенова Т. В.* Моделирование реагирования организма на экзогенные воздействия // Кибернетика и систем. анализ. – 2008. – № 1. – С. 127–135.
14. *Хочачка П., Сомеро Дж.* Стратегия биохимической адаптации. – Москва: Мир, 1977. – 398 с.
15. *Hoppeler H., Fluck M.* Plasticity of skeletal muscle mitochondria: structure and function // Med. Sci. Sports Exerc. – 2003. – **35**, No 1. – P. 95–104.

*Институт программных систем
НАН Украины, Киев
Международный научно-учебный центр
информационных технологий и систем
НАН и МОН Украины, Киев*

Поступило в редакцию 03.03.2008