



Math-Net.Ru

Общероссийский математический портал

М. Б. Беркинблит, Ю. М. Васильев, М. Л. Шик, О работах И. М. Гельфанда по биологии, *УМН*, 1974, том 29, выпуск 1, 232–240

Использование Общероссийского математического портала Math-Net.Ru подразумевает, что вы прочитали и согласны с пользовательским соглашением

<http://www.mathnet.ru/rus/agreement>

Параметры загрузки:

IP: 185.54.136.27

22 декабря 2023 г., 20:22:13



М. Б. Беркинблит, Ю. М. Васи́льев, М. Л. Шик

I

Биологией И. М. Гельфанд начал заниматься в 1958 г. До 1960—1961 гг. эти занятия носили теоретический характер: И. М. Гельфанд вел небольшой семинар, в котором разбирались конкретные исследования по физиологии движений и физиологии сердца. Первая работа по физиологии, выполненная И. М. Гельфандом вместе с М. Л. Цетлиным, завершала этот период. Она была посвящена анализу распространения активности в нервных волокнах и сердечной мышце, которые рассматривались как непрерывные среды. Развита в этой статье теория послужила в дальнейшем толчком для целой серии исследований по распространению активности в различных возбудимых структурах. Следует, однако, отметить, что это — единственная работа И. М. Гельфанда по физиологии, выполненная, как это принято было в те годы: удачно выбранный экспериментальный материал пришелся впору уже существовавшему математическому аппарату. Работа И. М. Гельфанда в биологии только начиналась.

Очень быстро И. М. Гельфанд заметил, что физиологи, хотя и являются экспериментаторами, часто склонны к формальному подходу в своей работе. Повседневное имея дело с живыми организмами или по крайней мере с живыми органами и тканями, физиологи, по существу, игнорируют «живые» их свойства. Клетки для физиолога обладают размерами, мембраной с определенными электрическими свойствами, сократимостью или другими механическими

свойствами, но практически нацело лишены целого ряда других качеств, изучаемых отдельно другими научными дисциплинами: биохимией, иммунологией, эмбриологией и т. д.

Пребывание в мире условных представлений обычно не вредит работе экспериментаторов, так как в ходе опытов — при непосредственном исследовании живого объекта — вносятся необходимые коррективы — «неожиданности» все время «заземляют» мир представлений. Однако при получении описаний свойств живого объекта из вторых рук — путем изучения публикаций других исследователей — возникает реальная опасность существенного искажения картины.

Поэтому И. М. Гельфанд организует, вместе с М. Л. Цетлиным, В. С. Гурфинкелем и С. В. Фоминым, лабораторию, в которой физиологи, физики и математики взаимодействуют на всех этапах исследования. Продумывание основ, планирование эксперимента, его проведение, анализ и интерпретация результатов измерений, разработка непротиворечивого описания результатов (модели) и его обобщение — все здание научной работы возводится совокупным трудом.

Лаборатория эта была вначале (1960—1967) в Институте биологической физики АН СССР, а затем вошла в состав Института проблем передачи информации АН СССР. В этой лаборатории был выполнен ряд работ по управлению движениями и физиологии мозжечка. В дальнейшем основным увлечением И. М. Гельфанда в биологии стало поведение клеток. Эта тема является основной в организованной им, вместе с Ю. М. Васильевым, Межфакультетской лаборатории математических методов в биологии МГУ.

II

В первой работе И. М. Гельфанда и М. Л. Цетлина, как мы уже говорили, была предложена формальная модель возбудимых тканей, которые рассматриваются как непрерывные среды [149].

В этой модели точки среды обладают состоянием покоя и возбуждения, абсолютной рефрактерностью (когда точку нельзя возбудить никаким воздействием) и относительной рефрактерностью (когда для возбуждения точки требуется воздействие большее, чем в покое). Учитывалось, что скорость распространения возбуждения по среде зависит от фазы относительной рефрактерности. Рассматривался также вариант модели, когда точки среды обладают спонтанной активностью, т. е. каждая точка через определенное время после последнего возбуждения вновь возбуждается, даже при отсутствии внешнего стимула. Таким образом, эта модельная среда обладала основными свойствами, присущими реальным возбудимым тканям.

Теоретический анализ, проведенный И. М. Гельфандом и М. Л. Цетлиным, показал, что распространение возбуждения в таких средах обладает рядом интересных свойств. Так, например, процесс распространения импульсов в однородном кольце из активной ткани является автосинхронизирующимся: независимо от начальных фаз и начальной расстановки импульсов

в кольце устанавливается такой режим, что импульсы расстановиваются в кольце эквидистантно и распространяются с постоянной скоростью.

Рассматривая двумерную возбудимую ткань, точки которой спонтанно активны, И. М. Гельфанд и М. Л. Цетлин показали, что такая ткань обладает свойством, аналогичным памяти — среда «запоминает» фазу и место нанесения внешнего стимула [149].

Если точки активной среды имеют разные периоды спонтанной активности, в установившемся режиме период возбуждения любой точки среды будет равен минимальному периоду спонтанной активности — среда будет синхронизована наиболее активной точкой. Возможность того, что ведущий узел сердца синхронизуется автоматически активной клеткой, работающей с наибольшей частотой, экспериментально проверялась в работе И. М. Гельфанда и др.

Работы И. М. Гельфанда и М. Л. Цетлина породили большое «дочернее» направление исследований — моделирование при помощи непрерывных возбудимых сред патологических режимов в сердечной мышце. Интересно заметить, что некоторые теоретические результаты о циркуляции и взаимодействии волн возбуждения, полученные для сердечной мышцы, оказались применимы и к распространению депрессии в коре больших полушарий, как это было показано известным чешским физиологом Я. Бурешом.

В области нейрофизиологии И. М. Гельфанд, вместе с М. Л. Цетлиным, начал с рассмотрения оперативного управления движениями. В это время они занимались задачей поиска экстремума функции многих переменных.

Но построение (реализацию) движения можно рассматривать как минимизацию отклонений кривой, представляющей для определенности, движение конечности в фазовом пространстве, координатами которого являются углы в суставах этой конечности и скорости их изменения, от идеальной кривой в том же пространстве, от эталона. Для общего случая, безотносительно к физиологии движений, И. М. Гельфанд и М. Л. Цетлин предложили так называемый «метод оврагов», дающий тем большее сокращение перебора, чем лучше «организована» функция. Под «хорошо организованной» понимается такая функция, для которой можно разделить переменные, от которых она зависит, на две группы: небольшое число существенных, от которых она зависит слабо, и несущественные, от которых она зависит сильно и которых может быть много. Это понятие организации, таким образом, связано с «эффективной размерностью» функции. Напомним, что еще в 1935 г. Н. А. Бернштейн указал, что координация движений — это не что иное, как уменьшение числа степеней свободы двигательного аппарата. И. М. Гельфанд и М. Л. Цетлин предположили, что нервная система использует при построении движений «метод оврагов» [149]. Эта гипотеза оказалась эвристически полезной в течение 5—7 лет работы новорожденной лаборатории физиологии движений. Она стимулировала экспериментальные работы по изучению механизмов сохранения вертикальной позы, физиологического тремора, простейших произвольных движений человека и, наконец, по управлению локомоцией (ходьбой и бегом) животных, результатом которых было установление

ряда новых фактов, и, главное, формирование понятия синергии [150], [183] (сам термин заимствован из классической неврологии, почти «увидевшей» его, как ни странно, в ряде патологических ситуаций). Синергией будем называть совокупность суставов (мышц), которые в данном классе движений меняются (работают) связанным образом, хотя, вообще говоря (например, при движениях другого типа), могут быть независимыми. Таким образом, синергия — понятие функциональное. Ясно, что формирование синергий резко уменьшает число степеней свободы двигательного аппарата и делает движение «хорошо организованным».

Однако возникает вопрос, как формируются синергии. И. М. Гельфанд и М. Л. Цетлин работали тогда над теорией игр автоматов. Имелась в виду система элементов, имеющих простые правила индивидуального поведения и переменную матрицу взаимодействия. Саму матрицу можно мыслить как реализованную на таких же автоматах, образующих второй уровень системы; изменения этой матрицы — как осуществляемые автоматами, образующими третий уровень системы и т. д. Замечательное свойство так устроенной системы состоит в том, что адаптивность ее поведения в меняющейся внешней среде может быть достигнута путем неиндивидуализированного управления деятельностью элементов нижележащего уровня. Достаточно изменить систему их взаимодействия, что является для вышележащего уровня задачей несравненно более простой, чем генерация программы специализированного управления каждым из элементов нижележащего уровня.

Нечто близкое к такому представлению физиологи имели в виду, описывая тонические воздействия головного мозга на активность автоматизмов спинного мозга. Но в теории Гельфанда — Цетлина эта идея сформулирована куда более отчетливо, что позволило увидеть ряд увлекательных преимуществ такой системы по сравнению с индивидуализированным контролем над невзаимодействующими элементами. Идея эта стимулировала экспериментальные исследования системы управления произвольными движениями человека и локомоцией животных.

Было показано, что у кошки с удаленными большими полушариями и промежуточным мозгом, не способной стоять и ходить ни произвольно, ни под влиянием натуральных раздражений, можно вызывать локомоцию электрическим раздражением определенной «локомоторной» области среднего мозга. Меняя силу раздражения, можно управлять скоростью передвижения и походкой кошки, переводя ее с ходьбы на рысь и в галоп. Эта вызванная локомоция уступает по изящности произвольной ходьбе кошки с целым мозгом, однако все основные кинематические и электромиографические характеристики ее сохранены.

Разработка препарата с управляемой локомоцией позволила применить современную технику изучения импульсной активности одиночных нервных клеток не на обездвиженном животном, а во время двигательной деятельности, имитирующей естественную. Это позволило продвинуться в решении ряда задач нейрофизиологии и физиологии движений.

Развитые И. М. Гельфандом и М. Л. Цетлиным представления о многоуровневой системе неиндивидуализированного управления, в которой

верхние уровни не занимаются разработкой программ для отдельных исполнительных элементов, естественно приводили к мысли о том, что и сигналы снизу поступают к самым верхним уровням не от исполнительных элементов, а от промежуточных уровней. В частности, при управлении движениями верхние этажи нервной системы могут получать сигналы не от мышц или сухожилий, а, например, от аппарата спинного мозга. Однако эти общие соображения не давали указаний, какие конкретные нервные пути могут передавать такие сигналы.

Шведские нейрофизиологи А. Лундберг и О. Оскарссон на основании аналитического изучения восходящих путей спинного мозга у обезьян выдвинули гипотезу, что некоторые из этих путей не являются обычными афферентными трактами, передающими вверх сигналы от мышц, кожи и т. д., а сообщают вышележащим уровням нервной системы сведения о состоянии спинного мозга. Для проверки этой гипотезы было необходимо исследовать поведение этих конкретных путей во время движения животного.

Такое исследование было выполнено И. М. Гельфандом и др. на препарате с управляемой локомоцией [224]—[226]. В этой серии работ были изучены сигналы, поступающие по восходящим путям в мозжечок во время ходьбы кошки. При этом было показано, что в соответствии с представлениями об индивидуализированном управлении и гипотезой Лундберга — Оскарссона существуют такие тракты в спинном мозге, по которым передаются вверх в мозжечок сигналы о процессах, происходящих в спинном мозге при локомоции. Характер этих сигналов слабо меняется даже после полной перерезки всех чувствительных волокон, идущих в спинной мозг от кожи, мышц, суставов и др., если только животное после такой операции продолжает идти [226]. В этой серии работ были также изучены и другие пути спинного мозга, которые передают во время локомоции вверх сигналы о работе отдельных мышц, т. е. о поведении исполнительного аппарата [224], [236].

Если в указанных выше работах И. М. Гельфанда изучалось различие сигналов, поступающих в мозжечок по разным путям, то в другой серии его работ [159], [181], [194], [198] было показано, что в самой коре мозжечка сигналы, приходящие по разным путям, обрабатываются разными способами. В частности, при этом было показано, что сигналы, приходящие в кору мозжечка через ретикулярную формацию, регулируют интенсивность сигналов, приходящих по другим путям [198], [208], [218].

Конечно, мы не имеем здесь возможности изложить содержание всех работ по физиологии, выполненных И. М. Гельфандом. Еще менее возможно изложить в одной статье результаты, полученные в работах, в которых И. М. Гельфанд формально не принимал участия, но которые были выполнены под влиянием личных бесед с ним разных людей или под влиянием разговоров на физиологическом семинаре, который он в течение ряда лет вел. Для всех физиологов, как бы не сложилась в дальнейшем их судьба как экспериментаторов, общение с Израилем Моисеевичем было и остается важнейшей школой мышления.

III

В течение последних 10 лет И. М. Гельфанд ведет работу по клеточной биологии. Эти исследования проводятся вместе с группой сотрудников лаборатории математических методов в биологии МГУ и Института экспериментальной и клинической онкологии АМН СССР. Основным направлением этих работ стало изучение реакций клетки на окружающую ее среду, в том числе на другие клетки. Интерес к этой проблеме связан прежде всего с тем, что нарушение взаимодействий с внешней средой является, по-видимому, главным отличием опухолевой клетки от нормальной. Несмотря на все успехи биологии, мы до сих пор умеем отличать опухолевые клетки от нормальных лишь по их поведению на тканевом уровне, лишь по их измененным взаимоотношениям с другими клетками. Остается не ясным, какие клеточные изменения определяют нарушенное поведение опухолевой клетки в многоклеточной системе. На первом этапе работ важно было понять, какие компоненты клетки могут быть ответственны за взаимодействия этой клетки со средой. Анализ имеющихся данных привел к выводу о том, что такой структурой является клеточная поверхность — мембрана клетки и связанные с ней образования. Были высказаны и обоснованы представления о том, что стойкие наследуемые изменения клеточной поверхности являются основой ненормального поведения опухолевой клетки, в том числе нерегулируемого размножения и нарушенных контактных взаимодействий. За последние годы взгляды такого рода стали почти общепринятыми; изучение поверхности опухолевой клетки стало сейчас одним из главных направлений биологии опухолей.

Собственная экспериментальная работа И. М. Гельфанда и сотрудников началась с изучения своеобразного и ранее не исследованного объекта: клеточных комплексов в асцитной опухоли печени (гепатоме) мышей [136], [141], [145]. Речь идет об опухолевых клетках, сохранивших присущую их нормальным предкам (эпителиальным клеткам печени) способность образовывать простейшие многоклеточные образования: клеточные комплексы из 2, 3, реже 4—5 клеток. Эти небольшие группы клеток оказались очень удобной системой для изучения клеточных взаимодействий. Несмотря на то, что клетки асцитной опухоли активно размножаются, соотношение между долей единичных клеток и долей клеток, образующих различные комплексы, оказалось постоянным. Анализ статистического распределения делящихся клеток в комплексах разных типов позволил установить те периоды жизненного цикла клетки, в которых происходит образование и разрушение комплексов. Оказалось, что комплексы образуются в результате нерасхождения дочерних клеток после деления. Когда две контактирующие клетки комплекса вступают синхронно в следующее деление, то комплекс обычно распадается. Исследование асцитных гепатом выявило два новых типа контактных межклеточных взаимодействий:

1) Синхронизацию митотических циклов у контактирующих клеток. Это выражается в том, что большинство клеток в комплексах синхронно проходит фазу синтеза ДНК и синхронно вступают в митоз.

2) Контактное ускорение размножения. У контактирующих клеток в комплексах фаза G_1 митотического цикла сокращается до 10—11 часов по сравнению с 17—18 часами у единичных клеток.

Обнаружение этих феноменов свидетельствует о том, что даже в опухолевой ткани размножение может регулироваться своеобразными контактными взаимодействиями с другими клетками. Возможно, что эти взаимодействия имеют здесь патологический характер: каждая клетка ускоряет размножение своих соседей, а синхронизация митозов может способствовать распаду межклеточных связей и, следовательно, разрушению тканевых структур.

После работ с асцитной гепатомой И. М. Гельфанд и сотрудники начали исследования нормальных и опухолевых клеток в другой экспериментальной системе: в культурах фибробластов. Преимуществом этой системы является возможность разнообразных прямых и длительных наблюдений за клетками, а также возможность сравнивать поведение нормальных клеток с поведением многих различных линий опухолевых клеток, возникших из этих нормальных клеток.

Нормальные фибробласты образуют в культуре подобие организованной ткани: они вытягиваются параллельно друг другу и структурам подложки, на которой они растут. Одним из направлений работ И. М. Гельфанда и сотрудников стало изучение процессов, определяющих вытянутую форму и правильное расположение фибробластов. Были выявлены две группы таких морфогенетических процессов. Первую группу образуют процессы, связанные с прикреплением клетки к подложке, на которой она растет. В культуре такой подложкой чаще всего бывает поверхность стекла или пластинка. Когда клетка расплывается на подложке, у нее образуется по периферии особая тонкая пластинчатая структура, поверхность которой прочно прикреплена к подложке. Эта структура была названа «ламеллярной цитоплазмой» [222].

Второй основной группой морфогенетических процессов являются процессы поляризации клетки, вытягивание ее в определенном направлении. Важным результатом работы И. М. Гельфанда и сотрудников было обнаружение особого внутриклеточного процесса, приводящего к стойкой поляризации клетки. Этот процесс, названный «стабилизацией клеточной поверхности», связан с образованием в клетке особых структур — микротрубочек. Было показано, что вещество, избирательно разрушающее микротрубочки (колцемид), нарушает поляризацию клетки, делает движения поверхности клетки беспорядочными. У обработанной колцемидом клетки исчезает разделение поверхности на неподвижные и подвижные участки; все участки ее поверхности становятся подвижными. Таким образом, чувствительный к колцемиду процесс стабилизации клеточной поверхности определяет не только форму клетки, но и способность к упорядоченным направленным движениям. Стабилизирующий механизм, обнаруженный в опытах на фибробластах, несомненно, играет важную роль и в поляризации многих других типов клеток. Речь идет, по-видимому, об одном из центральных механизмов, определяющих форму и упорядоченное расположение клеток в ходе эмбрионального развития.

Процессы такого рода, определяющие форму клетки в целом, детерминируют и ориентированное расположение органоидов в такой клетке, и в первую очередь расположение ядра. Направление длинной оси ядра, по-видимому, может служить показателем внутренней ориентировки структур в клетке [209]. Например, как показал проведенный недавно И. М. Гельфандом и сотрудниками анализ микрокинофильмов, в которых сняты клеточные культуры, по положению длинной оси ядра интерфазной клетки можно довольно точно предсказать направление борозды ее последующего деления. Эти работы создают предпосылки для нового направления исследований: изучения внутренней поляризованной организации клетки.

Как уже говорилось, в культурах опухолевых клеток упорядоченное расположение этих клеток резко нарушается. В литературе до последнего времени было общепринятым мнение, согласно которому эти нарушения являются результатом нарушения так называемого контактного торможения движений; предполагалось, что опухолевые клетки, в отличие от нормальных, способны свободно двигаться по поверхности других клеток. Однако микрокинематографический анализ столкновений между клетками, проведенный И. М. Гельфандом и сотрудниками, показал, что это неверно: у опухолевых клеток полностью сохраняется способность к торможению движений при контакте.

Нарушение упорядоченного расположения в культуре опухолевых клеток оказалось связанным с другой их особенностью, а именно, с нарушением упомянутого выше процесса прикрепления клеток к подложке и образования ламеллярной цитоплазмы [222], [237]. Исследование семи линий трансформированных фибробластов при помощи растровой электронной микроскопии показало, что у всех линий в той или иной степени нарушено формирование ламеллярной цитоплазмы. Худшее расплывание клеток на подложке влияет на характер межклеточных столкновений; именно это, по-видимому, определяет измененную морфологию культуры. Если вырастить смешанную культуру из опухолевых и нормальных фибробластов, то хуже прикрепленные опухолевые клетки оттесняются от подложки лучше прикрепленными нормальными [240]. Эта экспериментальная система (смешанная культура), по-видимому, воспроизводит в упрощенной форме взаимоотношения между опухолевыми и нормальными клетками в организме. Возможно, что опухолевые клетки, плохо прикрепленные к естественным подложкам (коллагеновым волокнам, базальным мембранам и т. д.), могут выталкиваться из связанных с такими подложками пластов нормальных клеток; после этого опухолевые клетки могут распространяться по поверхностям таких пластов. Таким образом, особенности опухолевых клеток, обнаруженные в культуре, могут быть основой одной из наиболее характерных черт поведения злокачественных клеток: их инвазивности, т. е. способности проникать между нормальными структурами.

Другим основным направлением исследований нормальных и опухолевых фибробластов в культурах стало изучение регуляции размножения в этой системе. Рост нормальной культуры прекращается после того как клетки достигнут до определенной плотности популяции, измеряемой числом клеток

на единицу поверхности подложки. Механизмы регулирующего влияния плотности популяции на размножение неясны. В первых работах [148], [213], посвященных этому вопросу, было доказано, что такая регуляция имеет локальный характер: интенсивность размножения клетки определяется числом клеток лишь в ее непосредственной окрестности. Этот вывод был сделан в результате опытов, в которых был использован новый метод «ранения культуры»: оказалось, что если небольшую часть клеточного пласта в густой культуре удалить, то клетки мигрируют из оставшейся части пласта на освободившийся участок подложки. Через несколько часов такие клетки начинают синтезировать ДНК, а затем делиться. Размножение расположенных рядом клеток, оставшихся в густом участке культуры, остается заторможенным.

Методика «ранения» дает возможность сравнивать клетки, находящиеся в идентичных условиях питания, но в разном локальном окружении; такая методика полезна для изучения широкого круга вопросов.

Теоретические соображения о регуляции размножения клеток через изменения поверхности, разработанные Ю. М. Васильевым и И. М. Гельфандом [166], [170], дали основание полагать, что синтез ДНК и деление клеток в густой культуре можно стимулировать не только ранением, но и многими другими воздействиями, обратимо меняющими состояние поверхности.

Эти предположения удалось подтвердить экспериментально [174], [182], [193]. Было показано, что синтез ДНК в густых культурах нормальных фибробластов можно стимулировать агентами различной природы: ферментами (гиалуронидаза, рибонуклеаза), детергентами (дигитонин) и агентами, разрушающими микротрубочки (колцеид, винбластин). Обнаружение стимулирующего действия этих разнообразных агентов открывает возможности для поисков общих для всех этих факторов изменений, приводящих к активации размножения.

Размножение густых культур опухолевых клеток нельзя стимулировать многими из тех воздействий, которые активируют нормальные культуры.

Как видно из сказанного, работы И. М. Гельфанда и сотрудников по биологии клетки, проведенные до настоящего времени, дали уже ряд существенных результатов.

В этих работах выявлен и проанализирован ряд процессов, регулирующих форму клетки, ее способность к направленным движениям, а также интенсивность размножения. Значительно изменены и уточнены представления о том, какие клеточные реакции нарушаются при опухолевом превращении. Работы эти продолжаются.

Уже в течение ряда лет И. М. Гельфанд ведет семинар по клетке, в котором участвуют биологи, работающие в разных учреждениях Москвы. Уникальность этого семинара в том, что здесь на самом высоком уровне обсуждаются работы, относящиеся ко многим областям биологии: биохимии, цитологии, иммунологии и др. Для многих участников семинар стал настоящей школой общепромеисловеского мышления.