

## МОДЕЛИРОВАНИЕ ВРЕМЕННОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ГИСТОГЕНЕЗА

© 2018 г. Г.Ю. Мальцев

*Федеральный исследовательский центр питания и биотехнологии, 115446, Москва, Каширское шоссе, 21*

*E-mail: malcev.07@mail.ru*

Поступила в редакцию 17.06.17 г.

После доработки 16.07.17 г.

Представлена дискретная модель гистогенеза печеночной балки на основе диссимметричного распределения времен клеточных циклов. Основанием модели явилось предположение о конечности клеточного времени как внутреннего параметра единого цикла биологического времени–пространства. Другим предположением явилась делимость клеточного времени материнской клетки пополам между дочерними клетками, что позволяет рассматривать макроцикл стволовой клетки в гистогенезе как систему вложенных, прогрессивно убывающих по времени клеточных циклов. Кроме того, предполагалось, что на каждом шаге клеточного деления в однородном гистогенезе имеется асимметричное распределение системы отсчета клеточного времени, управляющей митозами или дифференцировкой, которое связано с интронной областью генома. Полученная численная модель согласуется с особенностями архитектоники печени, лимитом числа делений клеток, распределением частот митозов и старением, как процессом вымирания клеток с короткими циклами.

*Ключевые слова: клеточная биология, гистогенез печени, время клеточного цикла.*

Существующая модель гистогенеза основана преимущественно на системе симметричного деления клеток с передачей идентичных геномов дочерним клеткам. Предполагается, что последующее управление работой генов в клетках формирующейся ткани осуществляется эпигенетическими факторами. Однако наличие внешнего управления не объясняет ни стационарности клеточного состава тканей, ни наличия различных классов клеток, ни запрограммированного характера апоптоза. Симметричные циклические процессы деления клеток в силу изотропности не имеют морфофункционального вектора в гистогенезе. Это не исключает фундаментальной роли симметрии в поддержании тканевого гомеостаза на более высоком уровне.

В.И. Вернадский предположил, что биологическое время и пространство неразрывны, из чего следует, что диссимметрия должна существовать не только в строении пространства, но и в строении времени [1]. Пригожин отмечал, что необратимость приводит к изменению структуры пространства–времени и появлению внутреннего времени, которое отражает нарушение временной симметрии в биологических системах на микроскопическом уровне [2,3].

Тем не менее, внутреннее биологическое время не используется в качестве параметра структурно-функционального развития биологических систем. Одной из причин является

неясность самого определения биологического времени.

В основу настоящего исследования положена гипотеза, согласно которой биологическое время является внутренним временем единого циклического биологического времени–пространства. Циклический характер биологического времени позволяет использовать его в качестве конечного параметра при описании динамики клеточных популяций, включая гистогенез. Принципиальным предположением является то, что при известном условии лимита числа делений клетки в тканях [4] гистогенез обусловлен диссимметричным распределением времен клеточных циклов от стволовых до дифференцированных клеток.

Целью исследования явилось простое дискретное моделирование клеточной динамики гистогенеза морфофункциональной единицы печени на основе сделанных предположений.

### ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ

Одним из первых исследований по численному моделированию обновляющихся клеточных популяций с разделением времен жизни материнской и дочерних клеток является работа [5]. В ней на основе изучения морфологии делящихся популяций эпителиальных желез и органов была представлена дискретная числен-

ная модель временной организации камбиального пролиферативного пула морфофункциональной единицы. Были сформулированы следующие начальные условия: 1) дочерние клетки имеют неравные между собой и отличные от материнской клетки времена клеточных циклов; 2) одна дочерняя клетка имеет по времени вдвое короткий, а другая – вдвое длинный клеточный цикл, чем материнская клетка; 3) клетки, достигшие минимальной временной протяженности цикла, погибают в митозе; 4) клетка с длинным циклом прочнее связана с базальной мембраной и обладает большей «адгезией», чем ее сестра с коротким циклом, и поэтому остается на месте материнской клетки.

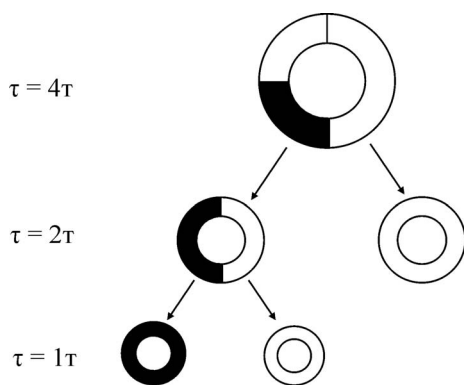
Модель была представлена в виде дискретной последовательности клеточных рядов в виде чисел, характеризующих времена клеточных циклов. Алгоритм модели начинался с одной исходной клетки с целым значением времени клеточного цикла и разворачивался во времени с длиной шага, кратной одной условной биологической единице времени. Были сделаны следующие заключения: 1) при изменении правил деления клеток удается имитировать каскадность распределения времен клеточных циклов от максимально коротких вымирающих циклов до длинных циклов; 2) в однорядной структуре с учетом адгезии возможно перемещение клеток; 3) старение связано с увеличением среднего клеточного времени за счет вымирания клеток с короткими циклами. Отмечены следующие нерешенные проблемы: разделение клеточной популяции на зоны камбиальных и дифференцированных клеток, характер зонального сигнала к дифференцировке клеток, природа конечности числа проделанных делений. Высказано предположение, что смена нестареющей циклической организации на стареющую ациклическую организацию приводит к стабилизации роста, а нарушение правила асимметричного деления приводит к неограниченному росту клеток в популяции.

Основой настоящего исследования являются некоторые предположения относительно модели гистогенеза однородных клеточных систем, основанные на циклических свойствах биологического времени. В этом случае биологическое время выступает как внутреннее время разворачивания единого цикла биологического времени–пространства. Поскольку биологический цикл обычно представляет последовательность событий от формирования до гибели биоструктуры и/или начала нового воспроизводства, то можно отметить еще некоторые дополнительные свойства биологического времени. Во-первых, как циклическое время оно

является конечным и, во-вторых, является неразрывным с биологическим пространством, которое представлено совокупностью биоструктур различного уровня. Проявлением неразрывности может служить дополнительность биологического времени и общей скорости внутренних процессов. Формально возможны биологические системы с длинными временными циклами и невысокой скоростью биогенеза внутренних структур и системы с короткими временными циклами, но с высокой скоростью оборота биоструктур. Важно то, что в таких системах сохраняется постоянство клеточного гомеостаза, т.е. проявление симметрии более высокого порядка.

В процессе гистогенеза однородных клеточных систем имеются различные варианты временной организации. Практически неделиющиеся во взрослом состоянии ткани, например нервная и мышечная ткань, имеют пик клеточной пролиферации в раннем эмбриогенезе, а дифференцированные клетки обладают продолжительными временами жизни. Слабоделящиеся ткани, включая печень и эпителий желез, имеют соизмеримые времена жизни пролиферирующих и дифференцирующихся клеток. Быстроделящиеся ткани, включая эпителий тонкого кишечника и кроветворную ткань, находятся в постоянно пролиферирующем состоянии с генерацией дифференцированных клеток. Таким образом, при прямо пропорциональном соотношении биологического и физического времени в онтогенетической шкале развития пролиферативный потенциал может сдвигаться в зависимости от типа ткани.

Исходя из гипотезы цикличности биологического времени, можно предположить, что в основе однородного гистогенеза лежит макроцикл стволовой прогениторной клетки. Ее образование происходит в органогенезе и затем реализуется через систему последовательных клеточных делений вплоть до терминального деления, апоптоза или образования полиплоидной клетки. Поскольку время клеточного цикла стволовой клетки конечно, как и число клеточных делений [4], то возникает другое предположение о том, что схема деления стволовой клетки диссимметрична по временам клеточных циклов и сопровождается последовательным уменьшением времен клеточных циклов вплоть до минимального клеточного цикла. В этом случае число промежуточных дискретных классов клеток будет определяться характером схемы деления времен клеточных циклов и максимальным временем цикла стволовой клетки. Таким образом, время общего клеточного цикла стволовой клетки будет представ-



Гипотетическая схема распределения времени клеточного цикла. Обозначения:  $\tau$  – время клеточного цикла;  $1\tau$ ,  $2\tau$ ,  $4\tau$  – такты. Времена циклов представлены в виде колец различного диаметра. Черный сегмент обозначает инвариантную часть генома, соответствующую  $\tau_{\min}$ .

лять систему вложенных времен клеточных циклов транзиторных клеток, причем для каждого внутреннего цикла должен соблюдаться принцип сохранения клеточного гомеостаза.

Доказательства существования вертикальной диссимметрии времен клеточных циклов, возможно, следует искать в эволюции однородных клеточных систем. Если предположить, что образование многоклеточных систем происходило при объединении элементарных кольцевых геномов прокариот, то формально в объединенной гипотетической клетке должно наблюдаться удвоение общего времени цикла. Перегруппировка генома, например, с построением структур гетеродуплексного типа, а также с появлением реплицирующего и митотического механизма, могла далее привести к закреплению схемы клеточного деления времени цикла материнской клетки на два равных по продолжительности дочерних цикла. Дальнейшее объединение клеток с короткими циклами могло приводить к образованию более протяженных по времени длинных клеточных циклов, но с сохранением схемы деления времени цикла пополам между дочерними клетками. Удлинение времени цикла прогениторных стволовых клеток связано, очевидно, с тем, что при этом возникают эволюционные преимущества, как по потенциалу формообразования, так и по более тонкой настройке физиолого-биохимических процессов. Естественно, что в данной схеме гипотетических преобразований должны происходить изменения в регуляторной части генома, отвечающей за отсчет времени цикла и числа делений, которая задает определенный темп транскрипционной активности. Формальный переход от «быстрых» к «медленным» кле-

точным часам можно представить в виде редукции и перегруппировки набора повторяющихся последовательностей в интронной части генома, которая, предположительно, выполняет функцию отсчета биологического времени. Есть мнение [6], что эволюционное включение избыточных последовательностей нуклеотидов в исходный геном-предшественник стабилизировало заключенную в нем генетическую информацию и создало необходимые условия для возникновения многоклеточности в природе.

Другой особенностью объединения было отсутствие необходимости использовать обе смысловые матрицы. В этом случае при самоорганизации объединенного генома гипотетически могло происходить вырождение одной из них в комплементарную рабочую спираль ДНК. Формально такой процесс мог привести к асимметрии в распределении программы-таймера для отсчета времени цикла и управления митозами в одной линии клеток и формированию программы дифференциации клеток с включением группы стадийных генов, в другой линии клеток. Иными словами, консервативное распределение программы-таймера в митозе могло сопровождаться разделением стволового и дифференцированного ряда клеток. Такая дихотомия должна соблюдаться на каждом шаге деления, что в целом связано с ограничением полуконсервативного способа репликации ДНК на клеточном уровне.

На рис. 1 представлен фрагмент гипотетической схемы распределения времен клеточного цикла ( $\tau$ ). Минимальное время клеточного цикла (черный сегмент) соответствует одной условной единице времени цикла для однородного ряда – одному такту ( $\tau_{\min} = 1\tau$ ). Схема деления представляет собой равнопропорциональное деление времен клеточных циклов:  $\tau_i = 2\tau_{i-1}$ , где  $i$  представляет собой порядковый номер члена каскада времен клеточных циклов. В этом случае образуется геометрическая прогрессия  $N\tau$ , ...,  $4\tau$ ,  $2\tau$ ,  $1\tau$  со знаменателем 2, где  $N\tau$  для простоты можно обозначить, как номер клетки. Таким образом, на рисунке представлен фрагмент деления клетки с исходным номером 4 ( $\tau = 4\tau$ ) до минимального номера 1 со временем цикла 1 такт ( $\tau_{\min} = 1\tau$ ).

Предполагается, что  $\tau_{\min}$  условно соответствует времени клеточного цикла гипотетической клетки, являющейся предшественницей однородной многоклеточной системы. С учетом неразрывности данная клетка имеет максимальную скорость цикла считывания смысловой части генома при минимальном времени клеточного цикла. При объединении двух аналогич-

ных геномов с  $\tau_{\min}$  один из геномов вырождается в неуправляющую комплементарную последовательность, а второй остается инвариантным по скорости цикла считывания генома. Общее время клеточного цикла объединенного генома удваивается, так же как и соотношение  $\tau/\tau_{\min}$ . Дальнейшее усложнение биологической формы путем объединения геномов короткоживущих клеток приводит к дальнейшему увеличению  $\tau/\tau_{\min}$  за счет вырождения одного из геномов. Параллельно нарастанию номера стволовой клетки происходит замедление скорости цикла считывания генома.

Обратная последовательность событий, представляющая собой однородный гистогенез, представляет систему диссимметричных делений стволовой прогениторной клетки с прогрессивным укорочением времен клеточных циклов транзиторных клеток. При наличии горизонтальной диссимметрии распределения программ-таймеров система перестает быть мультипликативной, поскольку одна из образующихся клеток лишена митотического механизма и дает начало дифференцированной ветви клеточного ряда. Таким образом, следует, что полуконсервативный путь репликации ДНК контролируется на клеточном уровне. Возможно, что комплементарная хроматида, лишенная программы отсчета времени цикла и инициации митозов, содержит другие функции программы-таймера, которые связаны с управлением транскрипцией различных стадийных групп генов, а также с включением механизма апоптоза.

Если воспользоваться принципом неразрывности, то можно предположить, что клеточное время связано с клеточной структурой через скорость транскрипции генов. В этом случае число инициаций транскрипции генов за цикл биологического времени является постоянной величиной, как и следовало бы при сохранении клеточного гомеостаза. Тогда характер клеточных часов определяется частотой инициаций транскрипции генов в физической шкале времени. Вопрос о характере связи генов-регуляторов инициации транскрипции ДНК с комбинацией повторяющихся последовательностей остается открытым, хотя не исключено, что механизм укорочения теломер [7] является частью общего механизма отсчета циклического времени с участием повторов в интронной области генома.

В целом представляется, что тканевые стволовые прогениторные клетки хранят программу развертывания каскада делений всего клеточного ряда. Предполагаемая конфигурация образуемых однородных клеточных рядов напоминает геометрическую конфигурацию дерева.

Максимальный номер однородной клеточной структуры будет принадлежать стволовой прогениторной клетке, а промежуточные номера – транзиторным стволовым клеткам. Таким образом, весь стволовой ряд представляет каскад делящихся транзиторных клеток с прогрессивно уменьшающимися временами клеточных циклов. Дифференцированный ряд представлен ветвями клеточных рядов, причем время жизни дифференцированной ветви соответствует времени клеточного цикла параллельной сестринской клетки стволового ряда. Формально, время цикла стволовой клетки последовательно «исчерпывается» в системе прогрессивно укорачивающихся вложенных клеточных циклов и в системе дифференцированных рядов клеток. Предполагается также, что апоптоз является завершением программы существования дифференцированных клеток, в то время как судьба клетки после терминального деления недостаточно ясна. Накопление клеток различной плоидности при старении ткани косвенно подтверждает наличие связи терминальных делений с полиплоидизацией клеток.

Таким образом, предполагается, что наличие двойной диссимметрии деления стволовой клетки в процессе однородного гистогенеза обеспечивает весь макроцикл стволовой клетки. В этом случае приток прогениторных стволовых клеток на этапе формирования ткани будет приводить к построению линейных тканевых структур. Ясно, что поддержание пула стволовых клеток должно обеспечиваться мультипликативной системой другого уровня на этапе органогенеза. Для практически непролиферирующих и постоянно пролиферирующих тканей во взрослом состоянии указанная схема также является справедливой. В первом случае после интенсивной мультипликации стволовых прогениторных клеток на ранних номерах клеточного цикла происходит переход к дифференцирующей схеме с образованием клеток, время жизни которых соизмеримо с продолжительностью жизни организма. Во втором случае мультипликация идет постоянно на протяжении жизни и регулируется временем жизни постоянно образующихся дифференцированных клеток.

Все представленные предположения и гипотезы были использованы далее в дискретном моделировании гистогенеза в печени.

## МОДЕЛИРОВАНИЕ ГИСТОГЕНЕЗА ПЕЧЕНОЧНОЙ БАЛКИ

Печеночная балка имеет следующие особенности: 1) в двумерной проекции представляет собой два сдвоенных клеточных ряда непре-

Алгоритм дискретной структуры печеночной балки в различных фазах гистогенеза

τ, такт	Ряд	Позиционные клеточные циклы (τ) (ось «триада – центральная вена»)														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	1	8 <sub>8</sub>														
	2	8 <sub>8</sub>														
2	1	8 <sub>8</sub>	8 <sub>7</sub>													
	2	8 <sub>8</sub>	8 <sub>7</sub>													
...																
15	1	8 <sub>8</sub>	8 <sub>7</sub>	8 <sub>6</sub>	8 <sub>5</sub>	8 <sub>4</sub>	8 <sub>3</sub>	8 <sub>2</sub>	8 <sub>1</sub>	4 <sub>4</sub>	4 <sub>3</sub>	4 <sub>2</sub>	4 <sub>1</sub>	2 <sub>2</sub>	2 <sub>1</sub>	1 <sub>1</sub> <sup>4сo</sup>
	2	8 <sub>8</sub>	8 <sub>7</sub>	8 <sub>6</sub>	8 <sub>5</sub>	8 <sub>4</sub>	8 <sub>3</sub>	8 <sub>2</sub>	8 <sub>1</sub> #	4 <sub>4</sub>	4 <sub>3</sub>	4 <sub>2</sub>	4 <sub>1</sub> #	2 <sub>2</sub>	2 <sub>1</sub> #	1 <sub>1</sub> #
16	1		8 <sub>8</sub>	8 <sub>7</sub>	8 <sub>6</sub>	8 <sub>5</sub>	8 <sub>4</sub>	8 <sub>3</sub>	8 <sub>2</sub>	8 <sub>1</sub>	4 <sub>4</sub>	4 <sub>3</sub>	4 <sub>2</sub>	4 <sub>1</sub>	2 <sub>2</sub>	2 <sub>1</sub> <sup>8сo</sup>
	2		8 <sub>8</sub>	8 <sub>7</sub>	8 <sub>6</sub>	8 <sub>5</sub>	8 <sub>4</sub>	8 <sub>3</sub>	8 <sub>2</sub>	8 <sub>1</sub> #	4 <sub>4</sub>	4 <sub>3</sub>	4 <sub>2</sub>	4 <sub>1</sub> #	2 <sub>2</sub>	2 <sub>1</sub> #
...																
18	1				8 <sub>8</sub>	8 <sub>7</sub>	8 <sub>6</sub>	8 <sub>5</sub>	8 <sub>4</sub>	8 <sub>3</sub>	8 <sub>2</sub>	8 <sub>1</sub>	4 <sub>4</sub>	4 <sub>3</sub>	4 <sub>2</sub>	4 <sub>1</sub> <sup>16сo</sup>
	2				8 <sub>8</sub>	8 <sub>7</sub>	8 <sub>6</sub>	8 <sub>5</sub>	8 <sub>4</sub>	8 <sub>3</sub>	8 <sub>2</sub>	8 <sub>1</sub> #	4 <sub>4</sub>	4 <sub>3</sub>	4 <sub>2</sub>	4 <sub>1</sub> #
...																
22	1								8 <sub>8</sub>	8 <sub>7</sub>	8 <sub>6</sub>	8 <sub>5</sub>	8 <sub>4</sub>	8 <sub>3</sub>	8 <sub>2</sub>	8 <sub>1</sub> <sup>32сo</sup>
	2								8 <sub>8</sub>	8 <sub>7</sub>	8 <sub>6</sub>	8 <sub>5</sub>	8 <sub>4</sub>	8 <sub>3</sub>	8 <sub>2</sub>	8 <sub>1</sub> #

Примечания. \* 1 – стволовой клеточный ряд, 2 – дифференцированный клеточный ряд; # – гибель дифференцированных клеток в апоптозе; 1<sub>1</sub><sup>4сo</sup>, 2<sub>1</sub><sup>8сo</sup>, 4<sub>1</sub><sup>16сo</sup> и 8<sub>1</sub><sup>32сo</sup> – терминальные митозы с образованием соответствующих полиплоидов. В качестве шага выполнения алгоритма используется один такт, минимальное время клеточного цикла. Основной характеристикой является время клеточного цикла (или номер), подстрочный индекс характеризует реальное тактовое биологическое время.

рывного и прерывистого характера с общей длиной примерно 15 клеток; 2) радиальное перемещение клеток по оси триада (печеночная артерия, портальная вена и желчный проток) – центральная вена; 3) наличие каскадной организации, начиная с прогениторных стволовых клеток в области триад и заканчивая терминально дифференцированными клетками в области центральной вены [8].

Клеточные ряды печеночной балки воспроизводятся с помощью митотических делений гепатоцитов, частота которых во взрослом состоянии составляет около 0,012%. Во взрослой печени имеются также полиплоидные (4с–16с, до 40%), двухядерные (до 20%) и двухядерно-полиплоидные клетки [9].

Если считать, что печеночная балка состоит из каскада клеточных циклов в виде геометрической прогрессии со знаменателем 2, то клеточный состав печеночной балки можно представить простым способом в виде структуры 8(8) : 4(4) : 2(2) : 1(1). Здесь число перед скобкой

представляет время клеточного цикла (τ) или номер клетки (Nτ), а в скобках – количество позиций клетки с данным номером в печеночной балке. В данном случае суммарное количество клеток по числу позиций составляет 15, что примерно соответствует длине клеточного ряда печеночной балки. Отсчет нумерации клеток осуществляется от минимального клеточного цикла (номера 1), равного одному такту дискретной пошаговой программы развертывания клеточных рядов.

В таблице представлен алгоритм дискретной потактовой структуры печеночной балки в различных фазах гистогенеза.

Формально алгоритм начинается с диссимметричного деления стволовой прогениторной клетки 16<sub>1</sub> на две клетки 8<sub>8</sub>, лежащие в основе стволового и дифференцированного рядов. На втором такте обе клетки смещаются в следующую позицию, а их место занимает следующая пара клеток 8<sub>8</sub>. Всего для заполнения балки необходимо 8 клеток с номером 16.

В фазе формирования печеночной балки (такты 1–15) происходит перемещение клеток по оси «триада – центральная вена» и заполнение клеточных позиций балки вплоть до терминального митоза клеток в позиции  $1_1$  стволового генерирующего ряда и апоптоза в дифференцированном ряду. Фактически 15 тактов необходимо для полного прохождения балки клеткой с номером 16. В представленном ряду клеток имеются три позиции, связанные с митотическим делением: в 8-й, 12-й и 14-й позициях печеночной балки. В 15-й позиции происходит удвоение генетического материала, но не происходит деления. Таким образом, имеются основания считать, что в этой позиции могут образовываться тетраплоидные клетки (4с). Апоптозы дифференцированных клеток отмечаются в позициях:  $8_1$  – на 8-м такте,  $4_1$  – на 12-м такте,  $2_1$  – на 14-м такте,  $1_1$  – на 15-м такте. Таким образом, в сформированной печеночной балке отмечаются четыре группы дифференцированных клеток.

Дальнейшее выполнение алгоритма с 16-го такта характеризует начало фазы старения печеночной балки. Наиболее вероятным механизмом раннего старения является вымирание короткоживущих классов клеток. На модели это соответствует последовательному удалению позиций 1, 2 и далее, со сдвигом рядов вправо. При этом на 16-м такте следует ожидать образования октаплоида (8с) из клетки  $2_1$  и других полиплоидов из клеток  $4_1$  и  $8_1$ . Дальнейшая судьба полиплоидных клеток остается неясной.

На 22-м такте две исходные клетки  $8_8$ , происходящие из первого деления прогениторной клетки  $16_1$ , заканчивают существование. Таким образом, происходит полное завершение цикла стволовой клетки с номером 16. На 30-м такте два клеточных ряда печеночной балки, сгенерированных 8 прогениторными стволовыми клетками с номером 16, исчерпывают свое внутреннее циклическое время.

Появление прогениторных стволовых клеток с номером 16, возможно, является следствием недифференцирующего мультиплицирующего деления клетки с номером 32 на этапе органогенеза. Если экстраполировать этот процесс далее, то следует, что источником восьми клеток с номером 16 являются четыре клетки с номером 32, две клетки с номером 64 и, наконец, одна клетка с номером 128. Таким образом, одна клетка с относительным номером 128 может являться прародительницей полной спаренной печеночной балки. Кроме того, если принять, что одна клетка с циклом 8 проходит 3 деления, то 16 клеток с циклом 8 или одна клетка с циклом 128 проходят 48 делений, что

весьма близко к литературному числу лимита делений [4].

Основными признаками верификации полученной модели являются: 1) характерная архитектура печеночных долек в виде спаренных непрерывных и прерывистых клеточных рядов с ветвлениями; 2) перемещение клеток вдоль оси «триада – центральная вена» с промежуточными и терминальными апоптозами в области бассейна центральной вены; 3) близкий к тримодальному распределению характер частот митозов в печеночной балке у экспериментальных крыс [10]; 4) накопление клеток различной ploidy во взрослой печени; 5) конечное число делений стволовой клетки-предшественницы спаренной печеночной балки, близкое к литературным значениям лимита делений.

Как известно, развитие печени идет из печеночного дивертикула, скопления клеток каудальной части передней кишки, причем в образующемся трубчатом выпячивании первой начинается дифференцироваться вентральная часть поджелудочной железы, затем желчного пузыря и, в последнюю очередь, непосредственно паренхимы печени. При этом идет строго временное взаимодействие между образующимися гепатоцитами и мезенхимными клетками с образованием сосудистых комплексов [11,12]. Можно предположить, что взаимодействие клеток из различных зачатков идет в соответствии с номерами клеток. Однако для исследования этой возможности необходимо, во-первых, унифицирование шкалы клеточных временных циклов в масштабах организма, а, во-вторых, надо допустить наличие механизма распознавания клеток с одинаковыми номерами, например за счет экспрессии синтеза поверхностных маркеров из кластера дифференциации. Что касается органогенеза печени, то инициатором взаимодействия, очевидно, могут выступать более дифференцированные мезенхимные клетки, имеющие одинаковый номер с соответствующими гепатоцитами из пролиферативного пула.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Представленная модель гистогенеза печеночной балки основана на изменениях симметрии биологического времени и является альтернативным подходом к нестохастическому моделированию структурно-функциональной организации ткани. Основанием для использования биологического времени в моделировании явились некоторые предположения относительно его свойств. Предложено рассматривать биологическое время как внутреннее время единого цикла биологического пространства–времени.

В этом случае оно выступает как конечное, циклическое время и, с другой стороны, неразрывно с динамикой биологических структур через скорость их воспроизведения.

Наличие особой метрики биологического времени как времени биологического цикла, позволяет по-новому подойти к описанию онтогенеза биологических структур. Однако для этого необходимо использовать новые представления о диссимметрии биологического времени в процессах развития. Применительно к клеточным системам это означает рассмотрение правомерности традиционной схемы симметричного деления клеток. В соответствии с предложенной гипотезой максимальный по продолжительности клеточный цикл прогениторной стволовой клетки уменьшается в поколениях делящихся клеток вплоть до минимального времени цикла. Можно сказать, что элементарный цикл гистогенеза в виде макроцикла стволовой клетки представляет систему вложенных клеточных циклов. Нелишне упомянуть, что автор гипотезы преформизма А. Вейсман в начале 1900-х годов предполагал, что число поколений соматических клеток и продолжительность их жизни дано уже в зародышевой клетке. Расчет показывает, что если исходить из геометрической прогрессии со знаменателем 2, то для 41-го поколения количество клеток составляет примерно  $10^{12}$ .

В соответствии с предложенной гипотезой, развертывание времени исходного клеточного цикла осуществляется путем чередования мультипликативной и дифференцирующей форм деления клеток на различных этапах органо- и гистогенеза. При этом, пользуясь терминологией номерной системы, чем выше номер клетки, выходящей в дифференцировку на этапе гистогенеза, тем выше продолжительность ее жизни. Но это не исключает появления дифференцированных клеток с меньшими номерами. В исследованиях на рекомбинантной эпителиально-мезенхимной системе на основе эпителия зачатка молочной железы была установлена определяющая роль мезенхимы молочной или слюнной желез в морфогенезе характера железы, однако функциональный профиль в любом случае соответствовал молочной железе [13]. Если предположить, что дифференцировка эпителия молочной железы началась ранее контакта с мезенхимой, то следует допустить, что мезенхимная клетка начинает взаимодействовать с эпителиальной клеткой после того, как она проделает определенное число делений и приобретает определенный номер. Можно предположить, что координация взаимодействия клеток из различных зачатков мо-

жет осуществляться в соответствии с их номерами.

Представления о дискретности времен клеточных циклов в эмбриогенезе были выдвинуты ранее [14,15]. В дальнейшем были предложены условные единицы минимального клеточного цикла [16] и минимального цикла дифференцирования сомитов [17]. В исследованиях на культуре клеток в период дробления установлено также, что длительность клеточных циклов в эмбриогенезе изменяется с характерным для вида минимальным шагом, причем в неделящихся клетках циклически повторяются морфогенетические события [18]. Не исключено, что при этом происходит перепрограммирование и изменение номера клетки, которое необходимо для поддержания клеточной культуры.

Предположение о делимости времени цикла материнской клетки требует дополнительных доказательств, в том числе в исследованиях на индивидуальных геномах клеток. Ясно, что подобная схема не может существовать без таймера – механизма отсчета времен клеточных циклов, управляющего митозами в транзиторных стволовых клетках и апоптозами в дифференцированных клетках. Можно представить, что система перекодируемых повторяющихся последовательностей интронной области генома может выполнять функции внутренних биологических часов, изменяющих скорость хода в зависимости от номера клетки. При этом должно происходить не только переключение общей частоты инициаций транскрипции генов при посредничестве генов-регуляторов, но и включение стадийных групп генов. Следует сказать, что наличие интронного механизма отсчета и управления клеточным временем не противоречит множеству обнаруженных недавно внутриклеточных систем регуляции с участием сигнальных белков, например белков семейства Wnt [19], секретируемых sFRPs [20],  $\beta$ -катенина [21] и других регуляторов морфогенеза. Проблема заключается лишь в механизме передачи сигнала с программы отсчета времени на сигнальную систему дифференцировки. Дополнительное включение механизма альтернативного сплайсинга транскриптов также придает гибкость системе дифференцирования клетки.

Очевидно, что предположения о горизонтальной диссимметрии вследствие перераспределения программ отсчета времени цикла и управления митозами между дочерними клетками являются весьма гипотетическими. Ранее предполагалось, что транзиторные клетки, способные в дальнейшем к дифференциации, образуются в результате асимметричного деления

стволовых клеток, но в тех случаях, когда по какой-либо причине возникает дефицит стволовых клеток, они могут делиться симметрично, восполняя число стволовых клеток [22]. Многие авторы также не исключают асимметричного деления, однако причиной их рассматривают внешние условия, включая условия микросреды [23–26]. Такие представления не являются убедительными и требуют поиска более адекватных внутренних механизмов асимметрии.

В заключение следует остановиться на клеточно-опосредованном метаболизме, который представляет наиболее важный функциональный аспект гистогенеза. Наличие зональной организации печеночной дольки было предложено ранее в работе [27]. При этом различали две зоны: 1) перипортальную зону с преимущественным расположением ферментов  $\beta$ -окисления, катаболизма аминокислот, мочевиногенеза, глюконеогенеза, синтеза глюкозы и гликогена, синтеза холестерина, формирования желчи; 2) периферическую зону с преобладанием ферментов гликолиза, липогенеза, кетогенеза, синтеза глутамина, и особенно, метаболизма ксенобиотиков [28]. Формально можно констатировать наличие снижающихся внутривенных градиентов по перипортально-периферической оси по базальному метаболизму глюкозы, жирных кислот и аминокислот и повышающемуся градиенту тканеспецифической активности метаболизма ксенобиотиков, конъюгации желчных кислот и образованию глутамина. Можно предположить, что зональная организация метаболизма в печени связана с иерархией клеточных классов по временам клеточных циклов, и, следовательно, по интенсивности и характеру метаболизма. В этом случае исследования по биологическому моделированию гистогенеза и гистотипических культур должны учитывать временную организацию рядов стволовых и дифференцированных клеток. Дальнейший прогресс исследований, возможно, в значительной степени будет связан с использованием моделей на одиночных клетках многоклеточных организмов.

Выражаю благодарности Н.П. Сугоняевой и В.М. Жминченко, бывшим сотрудникам лаборатории Н.Н. Пятницкого, за консультирование и поддержку в подготовке данной работы.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. В. И. Вернадский, *Философские книги натуралиста* (Наука, М., 1988), сс. 210–296.
2. И. Пригожин, *От существующего к возникающему: время и сложность в физических науках* (Наука, М., 1985).
3. И. Пригожин и И. Стенгерс, *Порядок из хаоса* (Прогресс, М., 1984).
4. L. Hayflick and P. S. Moorhead, *Exp. Cell Res.* **253**, 585 (1961).
5. Н. Н. Пятницкий, В. М. Жминченко, Н. П. Сугоняева и В. В. Касьяненко, в кн. Доклады Московского общества испытателей природы (Наука, М., 1981), сс. 214–217.
6. Л. И. Патрушев, *Экспрессия генов* (Наука, М., 2000).
7. А. М. Оловников, Докл. АН СССР **201** (6), 1496 (1971).
8. S. H. Sigal, S. Brill, A. S. Fiorino, and L. M. Reid, *Am. J. Physiol.* **263**, G139 (1992).
9. V. Y. Brodsky and I. V. Uryvaeva, *Genome multiplication in growth and development* (Cambridge Univ. Press, 1985).
10. Н. Н. Пятницкий, В. М. Жминченко, В. В. Касьяненко и Н. П. Сугоняева, Бюлл. эксперим. биологии и медицины **81** (5), 606 (1976).
11. N. Le Douarin, *Devel. Biol.* **17** (1), 101 (1968).
12. E. Houssaint, *Cell Differentiation* **9** (5), 269 (1980).
13. T. Sakakura, Y. Nishizuka, and C. J. Dawe, *Science* **194** (4272), 1439 (1976).
14. H. E. Kubitschek, *Nature* **195**, 350 (1962).
15. R. R. Klevecz, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **73**, 4012 (1976).
16. Т. А. Детлаф, *Онтогенез* **20** (6), 647 (1989).
17. Ю. Н. Городилов, Докл. АН СССР **251** (2), 462 (1980).
18. Ю. К. Доронин и В. А. Голиченков, *Временный модуль онтогенеза* (Изд-во МГУ, М., 2006).
19. H. Clevers and R. Nusse, *Cell* **149**, 1192 (2012).
20. Y. Kawano and R. Kypta, *J. Cell Sci.* **116**, 2627 (2003).
21. B. T. McDonald, K. Tamai, and X. He, *Dev. Cell.* **17** (1), 9 (2009).
22. E. E. Osgood, *J. Nat. Cancer Inst.* **18**, 155 (1957).
23. E. Farber, In *The Role of Cell Types in Hepatocarcinogenesis*, Ed. by A. E. Sirica (CRC Press, Boca Raton, 1992), pp. 1–28.
24. S. Kennedy, S. Rettinger, M. W. Flye, and K. P. Ponder, *Hepatology* **22** (1), 160 (1995).
25. G. K. Michalopoulos and M. C. DeFrances, *Science* **276**, 60 (1997).
26. L. M. Reid, N. Moss, and H. Kubota, Patent US N 20020182188 A1 (2000).
27. K. Jungermann, *Enzyme* **35** (3), 161 (1986).
28. E. L. LeCluyse, R. P. Witek, M. E. Andersen., and M. J. Powers, *Crit. Rev. Toxicol.* **42** (6), 501 (2012).



## Modeling Temporal Organization of Histogenesis

G.Yu. Maltsev

*Federal Research Center of Nutrition and Biotechnology, Kashirskoe shosse 21, Moscow, 115446 Russia*

A discrete model of the histogenesis of the hepatic plate, based on asymmetric cell divisions, is represented. The model was designed relying on assumption that cell-cycle time as an internal parameter of a single cycle of the biological time-space is finite. Another hypothesis was that the cell cycle time of the mother cell can be divided equally between the daughter cells, thus making it possible to consider macrocycle of stem cells in histogenesis as a system of nested cell cycles which progressively decrease with a time course. In addition, it was expected that in every round of cell division in the homogeneous histogenesis there exists an asymmetric distribution of timing for mitosis or differentiation, which is related to the introne region of the genome. The obtained numerical model is consistent with the characteristics of the architectonics of the liver, the limit of the number of cell divisions, the frequency distribution of mitosis and aging as a process of extinction of cells with short cycles.

*Keywords: cell biology, histogenesis of the liver, time of the cell cycle*