

УДК 577.1

## ФОРМУВАННЯ ТА СТІЙКІСТЬ МОРФОГЕНЕТИЧНОГО ПОЛЯ ІММОБІЛІЗОВАНИХ КЛІТИН БІОРЕАКТОРА

В.Й. ГРИЦАЙ

Інститут теоретичної фізики ім. М.М. Боголюбова НАН України, вул. Метрологічна 116, 03143 Київ

e-mail: [vgrytsay@bitp.kiev.ua](mailto:vgrytsay@bitp.kiev.ua)

Розглядається математична модель реакційно-дифузійного середовища біореактора, утвореного іммобілізованими клітинами в пористому гелі. Вивчаються структурно-функціональні зв'язки, відповідно яким відбувається самоорганізація в біосистемі, формуються просторові структури, їх відповідність внутрішній динаміці метаболічного процесу клітин. Проаналізовано основні фактори, що впливають на формування морфогенетичного поля біосистеми, його залежність від дифузійного процесу та краєвих умов. Досліджується функціональна стійкість морфогенетичного поля після його становлення при руйнації цілостності структури біосистеми.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** математична модель, біореактор, реакційно-дифузійне середовище, дисипативна структура, самоорганізація, морфогенетичне поле, позиційна інформація.

Дослідження реакційно-дифузійних середовищ біокатализаторів спонукає їх математичне моделювання [1-6]. Побудована математична модель [7-16] дозволила теоретично зробити ряд узагальнюючих висновків відносно протікання біофізичних процесів в таких середовищах, про самоорганізацію в біосистемах та нестійкість і прогнозованість еволюційного розвитку біосистем.

В даній роботі продовжується дослідження протікання біохімічного процесу трансформації стероїдів в реакційно-дифузійному середовищі, утвореного в макропористому гелі біореактора іммобілізованими клітинами *Arthrobacter globiformis*. На прикладі цієї системи досліджується формування морфогенетичного поля, закономірність становлення виду його структури. Це зачіпає одне з основних питань еволюційної біології - що впливає на формування саме такої біоструктури і чому ті чи інші функції в живих системах виконуються саме даною біоструктурою. Яким чином відбувається відбір тих чи інших форм? Адже саме під дією випадкових факторів неможливо спрогнозувати конкретний стан біосистеми після точки біфуркації, від тієї чи іншої її дисипативної структури. Мікрофлуктуації, що присутні в системі, підсилюються і перетворюються в макроструктури, визначаючи загальний кінцевий вид структурно-функціональних зв'язків біосистеми. В ході морфогенеза протікає деяка послідовність біфуркацій, від якої залежить становлення кінцевого виду морфогенетичного поля. Дослідження закономірності їх утворення проводиться на прикладі цієї моделі. Крім того, досліджується зберігання функціональної стійкості просторово-неоднорідних стаціонарних структур даного сформованого поля при частковій руйнації структури. Цей ефект спостерігається в різних біосистемах.

### МАТЕМАТИЧНА МОДЕЛЬ

Математична модель реакційно-дифузійного середовища біореактора побудована відповідно загальній схемі метаболічних процесів трансформації стероїдів іммобілізованими клітинами та умов дифузійного масообміну між ними [7-16].

$$\frac{\partial G(x,t)}{\partial t} = D_G \frac{\partial^2 G(x,t)}{\partial x^2} + \frac{G_0}{N_3 + G + \gamma_2 \psi} - I_1 V(E_1) V(G) - \alpha_3 G, \quad (1)$$

$$\frac{\partial P(x,t)}{\partial t} = D_P \frac{\partial^2 P(x,t)}{\partial x^2} + I_1 V(E_1) V(G) - I_2 V(E_2) V(N) V(P) - \alpha_4 P, \quad (2)$$

$$\frac{\partial B(x,t)}{\partial t} = D_B \frac{\partial^2 B(x,t)}{\partial x^2} + I_2 V(E_2) V(N) V(P) - k_1 V(\psi) V(B) - \alpha_5 B, \quad (3)$$

Формування та стійкість морфогенетичного поля іммобілізованих клітин біореактора.

$$\frac{\partial N(x,t)}{\partial t} = -l_2V(E_2)V(N)V(P) - l_7V(Q)V(N) + k_{16}V(B) \frac{\psi}{K_{10} + \psi} + \frac{N_0}{N_4 + N} - \alpha_6N, \quad (4)$$

$$\frac{\partial E_1(x,t)}{\partial t} = E_{10} \frac{G^2}{\beta_1 + G^2} \left(1 - \frac{P + mN}{N_1 + P + mN}\right) - l_1V(E_1)V(G) + l_4V(e_1)V(Q) - \alpha_1E_1, \quad (5)$$

$$\frac{\partial e_1(x,t)}{\partial t} = -l_4V(e_1)V(Q) + l_1V(E_1)V(G) - \alpha_1e_1, \quad (6)$$

$$\frac{\partial Q(x,t)}{\partial t} = 6lV(Q^0 + q^0 - Q)V(O_2)V^{(1)}V(\psi) - l_6V(e_1)V(Q)_1 - l_7V(Q)V(N), \quad (7)$$

$$\frac{\partial O_2(x,t)}{\partial t} = D_{O_2} \frac{\partial^2 O_2(x,t)}{\partial x^2} + \frac{O_{20}}{N_5 + O_2} - lV(Q^0 + q^0 - Q)V(O_2)V^{(1)}V(\psi) - \alpha_7O_2, \quad (8)$$

$$\frac{\partial E_2(x,t)}{\partial t} = E_{20} \frac{P^2}{\beta_2 + P^2} \frac{N}{\beta + N} \left(1 - \frac{B}{N_2 + B}\right) - l_{10}V(E_2)V(N)V(P) - \alpha_2E_2, \quad (9)$$

$$\frac{\partial \psi(x,t)}{\partial t} = l_5V(E_1)V(G) + l_9V(N)V(Q) - \alpha\psi. \quad (10)$$

де  $V(X) = X/(1+X)$  - функція, що враховує адсорбцію ферменту в області локального зв'язку;  $V^{(1)}(\psi) = 1/(1+\psi^2)$  - функція, що характеризує вплив кінетичного мембранного потенціалу на дихальний ланцюг клітин.

Реакційно-дифузійне середовище представляє собою одновимірну просторову систему [1, 10], активна область якої займає  $x \in [2, 23]$ , а пригранична -  $x \in [1, 2]$  та  $x \in [23, 24]$ .

Граничні умови мають вид:

$$\left. \frac{\partial U}{\partial x} \right|_{x=1} = \left. \frac{\partial U}{\partial x} \right|_{x=24} = 0, \quad (11)$$

для усіх функцій в системі параболічних диференціальних рівнянь (1)-(10).

Змінні рівнянь обезрозмірено і прийнято рівними [7-16]:

$$\begin{aligned} l = l_1 = k_1 = 0.2; \quad l_2 = l_{10} = 0.27; \quad l_5 = 0.6; \quad l_4 = l_6 = 0.5; \quad l_7 = 1.2; \quad l_8 = 2.4; \quad k_2 = 1.5; \quad E_{10} = 3; \\ \beta_1 = 2; \quad N_1 = 0.03; \quad m = 2.5; \quad a_1 = 0.007; \quad \alpha_1 = 0.0068; \quad E_{20} = 1.2; \quad \beta = 0.01; \quad \beta_2 = 1; \\ N_2 = 0.03; \quad \alpha_2 = 0.02; \quad G_0 = 0.019; \quad N_3 = 2; \quad \gamma_2 = 0.2; \quad \alpha_5 = 0.014; \quad \alpha_3 = \alpha_4 = \alpha_6 = \alpha_7 = 0.001; \quad (12) \\ O_{20} = 0.015; \quad N_5 = 0.1; \quad N_0 = 0.003; \quad N_4 = 1; \quad K_{10} = 0.7. \end{aligned}$$

Рівняння (1)-(9) описують зміну концентрацій: (1)- гідрокортизону ( $G$ ); (2)- преднізолону ( $P$ ); (3)- 20 $\beta$ - оксипохідної преднізолону ( $B$ ); (4)-  $NAD \cdot H$  (відновлювальної форми нікотинамідаденіндинуклеотиду) ( $N$ ); (5)- окисленої форми 3-кетостероїд- $\Delta'$ -дегідрогенази ( $E_1$ ); (6)- відновлювальної форми 3-кетостероїд- $\Delta'$ -дегідрогенази ( $e_1$ ); (7)- окисленої форми дихального ланцюга ( $Q$ ); (8)- кисню ( $O_2$ ); (9)- 20 $\beta$ -оксистероїд-дегідрогенази ( $E_2$ ). Рівняння (10) описує зміну рівня кінетичного мембранного потенціалу ( $\psi$ ). Коефіцієнти дифузії реагентів у цьому випадку приймаються рівними між собою за величиною і для стислого викладення позначаються одним символом  $D$  ( $D = D_G = D_P = D_B = D_{O_2}$ ).

Чисельні розв'язки системи (1)-(10) були отримані методом кінцевих різниць. До нелінійної кінцево-різницевої системи було застосовано метод Рунге-Кута-Мерсона. Точність розв'язку задавалась -  $10^{-12}$ .

## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Проведені за допомогою даної моделі розрахунки [16], довели наявність невизначеності в протіканні еволюції біохімічного процесу. Отримані просторово-неоднорідні стаціонарні структури були нестійкими і миттєво змінювалися завдяки біфуркацій Тьюрінга. Один із розглянутих випадків – зміна коефіцієнта дифузії в інтервалі: 0,04018326822 – 0,04018326823. На рис.1.а-к показано відповідна зміна всіх просторово-неоднорідних стаціонарних структур реагентів біосистеми та приведено їх кінетичні криві, які описують реагенти під час протікання метаболічного процесу в кожній з іммобілізованих клітин, коли  $\alpha = 0.0345$ . Постає питання, що саме впливає на морфогенез та утворення тієї чи іншої структури біосистеми, як відбувається просторово-часова самоорганізація в початково-однорідному реакційному середовищі?

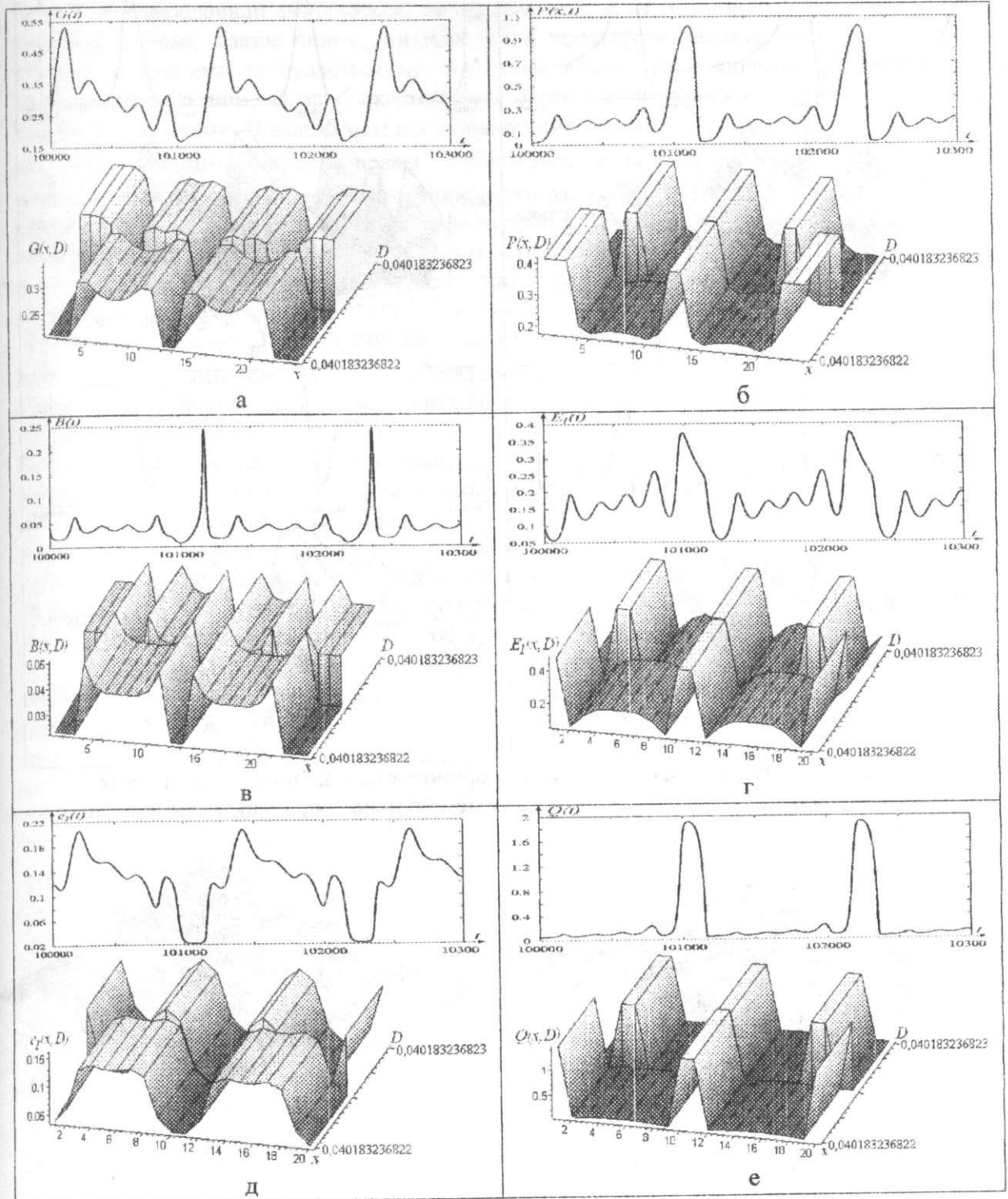
Морфогенетичне поле нашої біосистеми визначається просторовими структурами рівнів величин компонентів клітин, що характеризують метаболічний процес даних клітин, а саме:  $E_1(x)$ ,  $e_1(x)$ ,  $E_2(x)$ ,  $Q(x)$ ,  $N(x)$  та  $\psi(x)$ . Просторові ж структури вхідних  $G(x)$ ,  $O_2(x)$  і вихідних продуктів  $P(x)$  та  $B(x)$  реакції описують позиційну інформацію біосистеми.

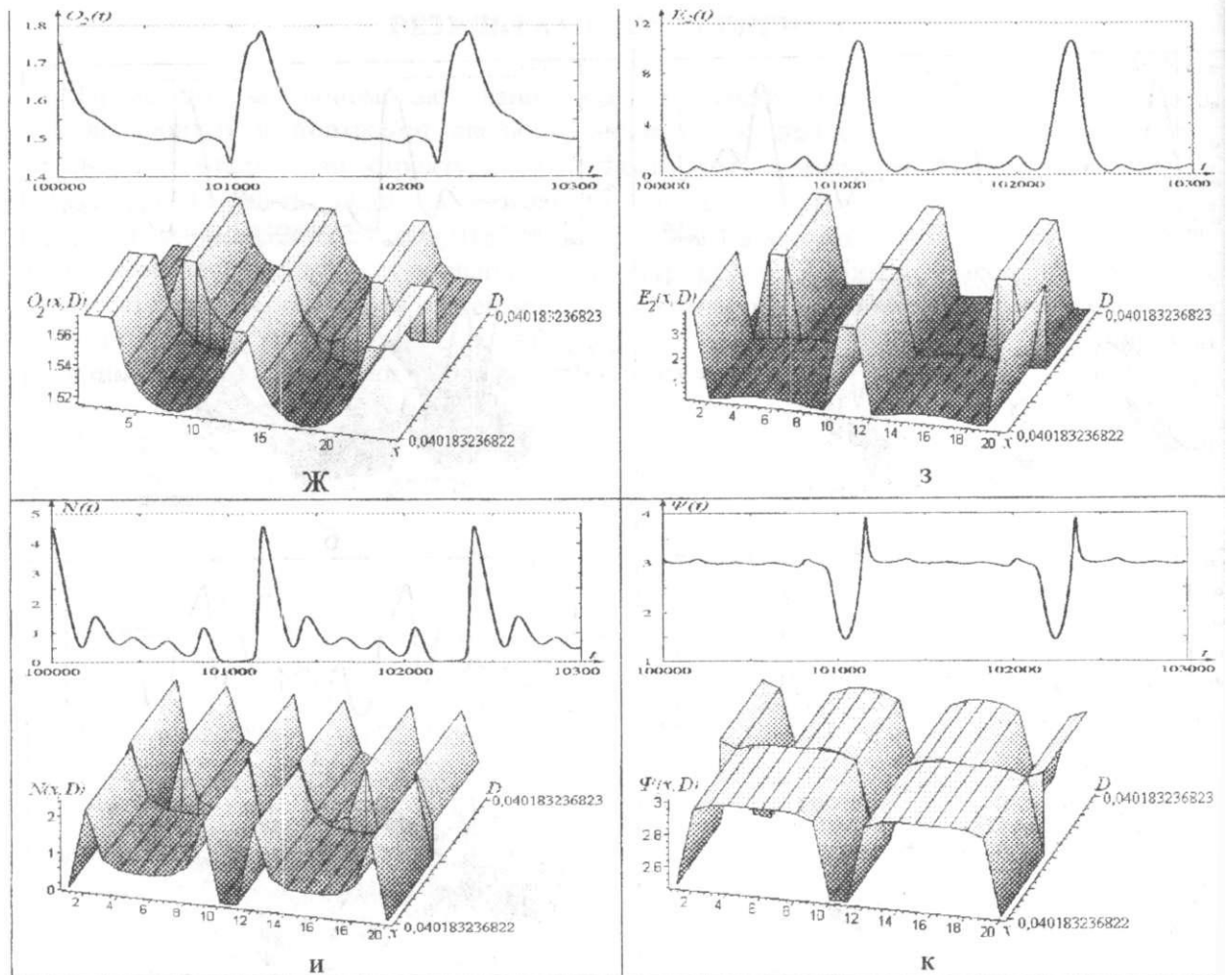
При чисельному розв'язку, дана нелінійна диференціальна система рівнянь представляється у вигляді нелінійної кінцево-різницевої системи. Була вибрана сітка вузлових точок (в даному випадку  $n=24$ ). Це можна вважати як розбиття негомогенної реакційно-дифузійної області біореактора на  $n$  гомогенних підсистем, між якими за рахунок дифузії відбуваються процеси масопереносу. Первинна позиційна інформація до них надходить рівномірно, за рахунок подачі гідрокортизону ( $G_0$ ), ендогенних субстратів ( $N_0$ ) та кисню ( $O_{20}$ ) і не спонукає до зміни просторових структур. Дисипація ж в підсистемах, по кожній із компонент, відбувається також рівномірно по всьому реакційному середовищу. Оскільки при даних граничних умовах (11), потоки на границі відсутні, це означає, що надходження і дисипація продуктів реакції в кожній з підсистем, незалежно від її просторового розміщення, відбувається однаково. Тому і однакова, кінетика метаболічних процесів усіх іммобілізованих клітин біосистеми, вона залежить лише від заданих внутрішніх параметрів (12). Біореактор можна вважати як активне реакційне середовище.

Іммобілізовані клітини в пористому середовищі біореактора представляють собою дифузійно зв'язаними біоосциляторами, в метаболічному процесі яких, при даних параметрах, встановлюються автоперіодичні режими аттрактора  $5 \times 2^0$  [16].

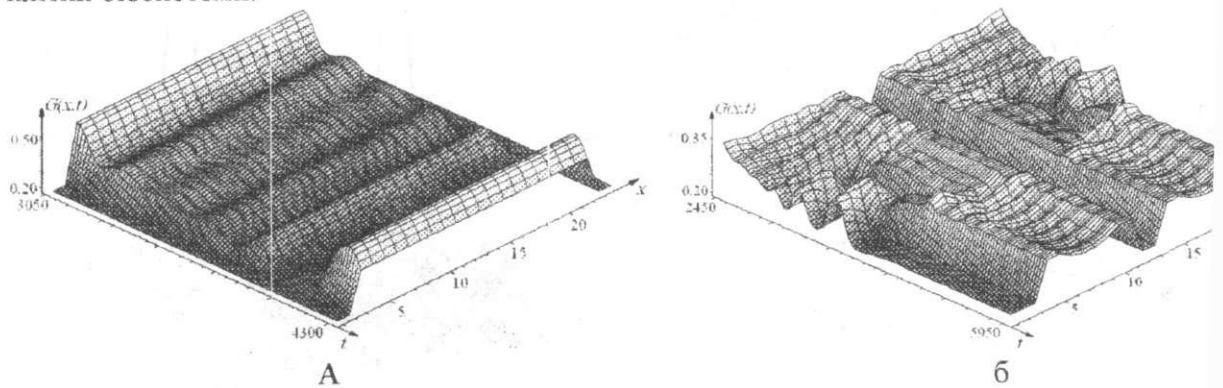
При заданих однакових початкових умовах і відсутності дифузійного масопереносу ( $D=0$ ), в усьому реакційному середовищі встановлюється синхронний автоколивний режим  $5 \times 2^0$  рис.2а. Якщо ж в реакційному середовищі коефіцієнт дифузії  $D=0,04018326822$ , то, при тих же початкових умовах, спостерігається формування просторово-неоднорідної стаціонарної дисипативної структури. Кінетика перехідної початкової фази цього режиму для  $G(x,t)$  показана на рис.2.б, яка після 100000 ітерацій розрахунку виходить на режим просторово-неоднорідної стаціонарної структури рис.1 а-к. При зміні ж коефіцієнта дифузії в інтервалі 0,04018326822 – 0,04018326823, після 100000 ітерацій спостерігається утворення іншої просторово-неоднорідної стаціонарної дисипативної структури рис.1.а-к, хоча початкова кінетика перехідного процесу їх формування була однаковою.

Формування та стійкість морфогенетичного поля іммобілізованих клітин біореактора.





**Рис.1.** Дифузійна нестійкість просторово-неоднорідних стаціонарних дисипативних структур, представлено по кожній із компонент метаболічного процесу іммобілізованих клітин біосистеми.



**Рис.2.** Просторово часові структури:

а – синхронний автоколивний режим біосциляторів  $5 \times 2^0$  ( $D=0$ );

б – перехідна початкова фаза формування просторово-неоднорідної стаціонарної дисипативної структури ( $D=0,040183236822$ ).

## Формування та стійкість морфогенетичного поля іммобілізованих клітин біореактора.

Оскільки, при зміні коефіцієнта дифузії концентрації продуктів масопереносу в реакційному середовищі змінюються, це означає про зміну позиційної інформації морфогенетичного поля. Таким чином, миттєва зміна просторово-неоднорідних стаціонарних структур біосистеми відбувається не від зміни внутрішньої динаміки метаболічного процесу клітин, а лише за рахунок утворення організуючих хвиль позиційної інформації між біосциляторами. В залежності від співвідношення концентрацій:  $G(x)$ ,  $O_2(x)$ ,  $P(x)$  та  $B(x)$  між сусідніми біосциляторами відбувається додаткова активація або репресія метаболічного процесу відповідного біосцилятора, тобто ініціюється морфогенетичний сигнал. Але, оскільки кінетика метаболічного процесу кожної клітини визначається тільки внутрішніми параметрами, то при відсутності потоків на границі (11), утворюються жорсткі умови синхронізації в усьому просторі реакційно-дифузійного середовища, відбувається зміщення фаз коливань біосциляторів одного відносно іншого по всьому простору біосистеми. При цьому вид аттрактора кожного з біосциляторів системи залишається незмінним -  $5 \cdot 2^0$ . В границях активного реакційно-дифузійного середовища відбувається самоорганізація біосциляторів в цілому. Відповідно синхронізації зміщення їх фаз, характеризується і просторово-часова структура системи. При відсутності або слабкій синхронізації, утворюються просторово-часові хаотичні або автохвильові дисипативні структури. Спостерігається перенос у вигляді хвиль позиційної інформації від одного біосцилятора до іншого. При повній синхронізації між біосциляторами, встановлюється жорстка миттєва взаємодія між ними, формуються просторово-неоднорідні стаціонарні дисипативні структури, які від незначної флуктуації проявляють свою нестійкість. Так, у випадку рис.1а-к спостерігається дифузійна нестійкість даних стаціонарних структур, при зміні коефіцієнта дифузії лише на  $10^{-12}$ .

Вид отриманих просторових структур, на перший погляд різний, але для них характерна одна і та ж закономірність свого формування. Це добре видно при порівнянні кінетики кожної із компонент метаболічного процесу з її просторовою структурою для того чи іншого коефіцієнта дифузії. Просторове формування їх максимумів і мінімумів характеризується розміщенням максимумів і мінімумів на кінетичній кривій даної компоненти. Відбувається зміщення фаз біосциляторів так, що вони без порушень свого циклу синхронізуються в усьому активному середовищі біореактора і функціонують в одному ритмі. Просторова структура кожної із компонент відповідає саме своїй функціональній залежності від виду кінетики метаболічного процесу по цій компоненті. Спостерігається структурно-функціональна відповідність внутрішніх процесів клітини і виду просторових структур усєї біосистеми. Таким чином, загальний вид структури морфогенетичного поля біосистеми відповідає динаміці внутрішніх метаболічних процесів клітин і набуває свого кінцевого виду в залежності від величини коефіцієнта дифузії реагентів. Така структурно-часова відповідність характеризує причинно-наслідкові зв'язки процесу самоорганізації клітин в біосистемі.

Було проведено дослідження – як зміниться вид і властивості морфогенетичного поля при порушенні цілостності його структури. Для цього, в чисельному експерименті, після отримання стійкої просторово-неоднорідної стаціонарної структури, виділялася деяка її частина, кінетика якої в подальшому розрахунку не розраховувалася, наприклад вибиралася область:  $x \in [15, 20]$ ,  $D = 0,04018326822$ , див. Рис.1а-к. При цьому величини змінних для  $x = 15$  і  $x = 20$ , отримані на останній ітерації розрахунку зберігалися, а розраховувалися змінні лише для інших значень  $x$ . В даному випадку концентрації

відповідних величин в цих точках рівні. Такий чисельний експеримент досліджує видалення або шунтування частини біосистеми, під час її стійкого стаціонарного періоду життєдіяльності, при цьому коефіцієнт дифузії цієї області може вважати рівним 0 або  $\infty$ .

Розрахунки показали, що просторово-часові стаціонарні структури усіх компонент поза цієї області, при подальшому розрахунку, залишаються незмінними. Морфогенетичне поле біосистеми, що залишилося, не відчуває видаленої її частини, тобто зберігає свою функціональність по відношенню до зовнішнього середовища.

На практиці це спостерігається таким чином. Під час протікання біотехнологічного процесу, в макропористих гранулах відбувається кристалізація преднізолону, що порушує дифузійну проникність пор гранул та механічно розламує їх, але, при цьому, каталітична активність диференційованих іммобілізованих клітин, не пошкодженої частини гранул, залишається не змінною. Цим також можна пояснити зберігання та відновлення своїх властивостей і іншими активними реакційно-дифузійними середовищами, якими як приклад є живі тканини організму.

Якщо ж коефіцієнт дифузії, вибраної нами області, змінюється так, що на її границях:  $x = 15$  і  $x = 20$ , утворюються градієнти концентрацій вхідних і вихідних продуктів реакції, тобто виникає додаткова позиційна інформація, відбувається зміна в кінетиці метаболічних процесів іммобілізованих клітин і становлення іншої їх диференціації. Відбувається порушення стійкості даної просторово-неоднорідної структури. Змінюється морфогенетичне поле біосистеми і його властивості в цілому. Аналогічно відбувається і при захворюванні або старінні живих тканин організму, коли зміни в деякій області впливають природні властивості всієї тканини.

## ВИСНОВКИ

Використовуючи математичну модель реакційно-дифузійного активного середовища іммобілізованих клітин біореактора, досліджено формування морфогенетичного поля біосистеми, вплив на нього позиційної інформації. Знайдено причинно-наслідкові зв'язки структурно-функціональної відповідності, коли в результаті самоорганізації встановлюються просторово-часові хаотичні, автохвильові та просторово-неоднорідні стаціонарні структури. Вид морфогенетичного поля залежить від степені синхронізації біоосциляторів. Досліджено умови зберігання та зміни біосистемою своїх властивостей, при порушенні цілостності її структури (у нашому випадку в результаті кристалізації преднізолону в порах гелю). Результати узагальнюються і можуть бути використані при дослідженні причин самоорганізації морфогенетичних полів інших біосистем: біотехнологічних процесів та живих тканин організму.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Gachok V.P., Arinbasarova A.Yu., Medentsev A.G., Koshcheyenko K.A., Akimenko V.K. // *Biotechnology and Bioengineering*. - 1989. - **33**. - P.661-667.
2. Gachok V.P., Grytsay V.I., Arinbasarova A.Yu., Medentsev A.G., Koshcheyenko K.A., Akimenko V.K. // *Biotechnology and Bioengineering*. - 1989. - **33**. - P. 668-680.
3. Гачок В.П., Грицай В.И. // Докл. АН СССР. - 1985. - **282**. - N: 1. - С. 51-53.
4. Гачок В.П., Аринбасарова А.Ю., Кошеченко К.А., Меденцев А.Г., Акименко В.К. // *Прикладная биохимия и микробиология*. - 1988. - **XXIV**. - Вып.3. - С. 380-388.

### Формування та стійкість морфогенетичного поля іммобілізованих клітин біореактора.

---

5. Гачок В.П., Аринбасарова А.Ю., Грицай В.И., Меденцев А.Г., Коцеев К.А., Акименко В.К. // Прикладная биохимия и микробиология. - 1988, - **XXIV** - Вып.3. - С. 389-399.
6. Грицай В.И., Гачок В.П., Прилуцкий Ю.И. и др. // Тез. IV Международной конференции "Математические модели нелинейных возбуждений, переноса, динамики управления в конденсированных системах и других средах". М.: Изд. "Станкин", - 2000. - С.38.
7. Грицай В.И. // Доклады НАН Украины. - 2000. №2. - С.175-179.
8. Грицай В.И. // Доклады НАН Украины. 2000. №3. - С.201-206.
9. Грицай В.И. // Доклады НАН Украины. 2000. №11. - С. 112-116.
10. Grytsay V.I., Gachok V.P., Prylutsky Yu.I., Kucherenko M.E., Matyshevska O.P., Prylutyska S.V. and Scharff P. // EUROCARBON 2000, 1-st World Conference on Carbon, Germany, Berlin. - 2000. - P.969-970.
11. Грицай В.И. // Украинский физический журнал. - 2001. №1. - С.124-127.
12. Грицай В.И. // Вестник Киевского университета. 2002. №2. - С. 394-400.
13. Андреев А.А., Грицай В.И. // Математическое моделирование. 2005.17, №2. - С. 57-64.
14. Андреев В.В., Грицай В.И. // Математическое моделирование. 2005.17, №6. - С. 3-12.
15. Грицай В.И., Андреев В.В. // Математическое моделирование. - 2006. - **18**, №12. - С. 88-94.
16. V.Grytsay // Romanian J. Biophys., Vol. 17, # 1, 2007, P. 55-62.