

ВВЕДЕНИЕ В ТЕОРЕТИЧЕСКУЮ БИОЛОГИЮ. ТЕХНОЛОГИЯ И МЕТОДОЛОГИЯ НАУКИ.

Переверзев Борис Леонидович, докт. мед. наук, г. Москва
Тел. 8 962 918 63 07, E-mail: pereverzeva-ella@yandex.ru

«Время разбрасывать камни»

«Теоретическая наука» - это «наука», в которой познание законов природы осуществляется не путем непосредственного изучения того или иного явления, а опосредованно, «теоретически», с помощью моделей, которые внешне могут не иметь ничего общего с изучаемым явлением. В точных научных дисциплинах чаще используют математические модели. В биологии, являющейся неточной, описательной наукой, существует понятие «теоретическая биология», но смысл его иной – это, всего лишь, некая сумма разнородных по качеству и достоверности сведений о специфике предмета изучения с его историей. В этой статье мы рассмотрим условия, при которых «теоретическая биология» становится реальной производительной силой, такой же, как «теоретическая физика».

Обычно тему о будущем биологии поднимают философы, представители точных наук (назову их «физиками») или философствующие биологи. На этот раз – врач-онколог с опытом работы в академической науке и практической онкологии. Для меня эта тема является продолжением борьбы, которая началась в середине прошлого века с момента массового исхода физиков в биологию и медицину. Так случилось, что я был не только свидетелем этой борьбы, но и вовлечен в неё. Как выразился один из оппонентов моей докторской диссертации (1983 г. и 1989 г.), я попал «меж двух поездов» - академической и медицинской науки. В моем случае конфликт обусловлен тем, что я получил сведения, которые противоречили убеждениям значительной части моих коллег, при этом заговорил на непонятном для них языке. Конфликт закономерный – такое случается, когда затрагивают методологию науки. Чтобы внести ясность, мне придется затронуть историю науки и события из собственной жизни.

Современная биология и медицинская наука, как одно из её прикладных направлений, являются мощной индустрией, решающей задачи научного и прикладного характера. Это особый мир со своими приоритетами и ценностями, отличными от тех, которые приняты в физике и химии. Недаром, некоторые их представители считают, что «биология», это вообще не наука. У врачей ответная реакция – они традиционно с пренебрежением относятся к «чужакам», вторгающимся в сферу их интересов. Является ли биология «наукой» или нет, решается просто. Для этого достаточно «науку» воспринимать как «процесс познания», у которого есть начальный, промежуточный и зрелый периоды. На начальном этапе происходит ознакомление с предметом исследований и накопление первичных сведений об его особенностях. В этот период основным источником информации являются описательные и аналитические методы. Обычно, каждый исследователь, обнаруживший новую особенность предмета, высказывает идеи или предположения о её назначении («функции»). На такой основе создаются представления о мире, возникают всевозможные учения. По мере появления новых данных, представления могут меняться, но не меняется главное – незаконченность процесса познания. Если по тем или иным причинам начальный период затягивается, то у специалистов вырабатывается относительно устойчивая система научных ценностей, которая определяет их логику мышления. Так формируется методология науки. В современной биологии царствующей методологией является «феноменология». Её особенность – это вероятностный характер знаний предмета и отсутствие четких представлений о способах достижения желаемого результата.

Слово наука имеет много значений. В нашем случае – это сфера деятельности человека, направленная на установление законов природы и стратегии достижения конечной цели. Цель науки ясна – это получение знаний, позволяющих делать точные предсказания и на их основе создавать новые технологии. Известно, что успех любого мероприятия зависит от стратегии (плана), в которой определяющей является точность формулировки задачи и условий, необходимых для её решения. На раннем этапе процесса познания стратегии не существует. В биологии практически все рабочие слова трактуются по-разному. Такими являются: «биология», «наука», «закон», «закономерность», «теория», «клетка», «геном», «дифференцировка», «норма», «патология», «структура», «функция», «рак» и т.д. Так что будущее биологии во многом зависит от степени решения терминологической проблемы. В результате изменится и её качество, как науки.

Методология «зрелой» или «точной» науки базируется на правилах или принципах математики. Для биологов и, особенно, врачей-исследователей, знания математики в том объеме, которым владеют физики, не обязательны – достаточно мыслить, как они. Современные биологи и медики признают значение математики для процесса познания, но формально. Практически вся математика, которую они используют, сводится к статистике. Заметим, что выводы, которые получаются на основании статистических расчетов, как и у «феноменологии», всегда вероятностные. Никакой дополнительной информации статистика не несет. Иное дело - кинетика.

Современные биологи используют кинетику в качестве технологического приема для решения прикладных задач. Основная идея, которую я хотел бы донести в этой статье, заключается в том, что кинетика несет в себе ещё и функцию методологии. В биологии практически всё является непостоянным во времени. Иными словами, все явления живой природы является закономерными «биологическими процессами». Чтобы познать их природу, а затем с предсказуемым результатом влиять на них, необходимо учитывать факторы, которые на них влияют. В таких случаях в химии говорят о «механизмах» химических реакций. Критика современной биологии сводится к тому, что на современном этапе её развития создается обобщенный, стационарный «образ» заведомо непостоянных во времени объектов исследований. Например, всем ясно, что живая клетка, как и любой другой живой организм, не постоянная во времени. Словами мы можем описать все её варианты, но дальше слов дело не идет. Дальше - тупик, который некоторые «критически мыслящие» ученые называют «кризисом» биологии. Преодолеть кризис призвана «теоретическая наука». Ниже я покажу, что пресловутая «проблема рака», которую называют «кладбищем научных авторитетов», не сложнее и не легче уже решенных проблем ядерной физики. Просто биологи и медики на «рак» смотрят глазами практиков, у которых в памяти есть примеры успешной борьбы с болезнями типа оспы. Из истории науки (когда-то химия и физика также были описательными науками) известно, что задача изучения механизмов химических реакций привела к появлению новой науки - «химической физики», в которой кинетика, с её формальными математическими методами и приемами, играет решающую роль. Кинетика опирается на количественные методы. В результате устанавливаются «объективные количественные закономерности», а это уже условие, позволяющее изучать «механизмы» интересующих нас явлений.

В кинетике имеют дело с графиками, на которых по оси абсцисс отложено время либо его эквивалент, а по оси ординат – результаты измерений какого-либо параметра объекта. Полезную информацию несет в себе «кинетическая кривая», отражающая изменение параметра во времени. Её геометрические особенности - форма, размеры и углы наклона в определенных условиях эксперимента постоянные. Их значения устанавливают с помощью обычной линейки. Условия опыта можно изменить и проследить, как при этом меняются показатели. Так проверяют верность исходных идей («теории» - это руководящие идеи).

Мои взгляды на «науку» оформились под влиянием учения академиков - Н.Н. Семенова и Н.М. Эмануэля об универсальной роли кинетики в процессе познания механизмов химических и биологических процессов.

Н.Н. Семенов является одним из создателей «химической физики» и автором знаменитой теории «цепных химических реакций», которая сыграла важную роль в овладении человечеством атомной энергией. Он основал Институт химической физики АН СССР, который ныне носит его имя. В 1956 году он предложил своему ученику – будущему академику Н.М. Эмануэлю, заняться проблемами биологии. Через год в Институте было сформировано научное подразделение, в котором стали целенаправленно изучать «кинетику биологических процессов». В настоящее время имя Н.М. связывают со становлением биофизики и одного из её направлений - «кинетики биологических процессов», а также «физико-химической биологии и медицины».

В 1977г опубликована книга Н.М. Эмануэля - «Кинетика экспериментальных опухолевых процессов». Её появление стало событием для биологии – в ней представлены «объективные количественные закономерности». По-моему, в истории биологии был только один случай, когда опытным путем была установлена такого же рода закономерность – это опыты Г. Менделя, в которых выводы были сделаны на основании анализа числовых соотношений, указывающих на распределение признаков родителей в ряду поколений. Здесь будет уместно напомнить о непростой истории с признанием открытия Г. Менделя.

В настоящее время «кинетику биологических процессов» преподают на кафедрах биофизики в соответствующих ВУЗ,ах. Дело Н.М. продолжают, в основном, биофизики. Их интересы ограничиваются изучением кинетики биохимических реакций. Важность такого направления работ очевидная, но это не совсем то, о чем мечтал Н.М. и в чем нуждается биология и медицина. Н.М. шире воспринимал понятие «биологические процессы».

Я работал в ИХФ АН СССР с 1964/6 по 1993 гг. в коллективе, созданным Н.М. Эмануэлем, К моменту поступления у меня был небольшой опыт научных исследований и даже имел собственные «идеи». Будучи студентом медицинского института, в лаборатории цитогенетики ОНЦ АМН СССР под руководством Н.С. Киселевой, я провел сравнительный анализ анеуплоидии (нарушение числа хромосом) в клетках одной из перевиваемых опухолей животных (гепатомы Зайделя). В норме число и форма хромосом являются постоянными - это видовой признак. Для выбранной модели рака характерен большой разброс в числах, но суммарная характеристика «анеуплоидии», оцениваемая по форме их распределения на гистограммах, относительно стабильная. Тогда же возник вопрос - можно ли искусственно изменить степень «анеуплоидии» и как это отразится на «биологических свойствах» опухоли (длительность жизни привитых животных, скорость накопления асцита, особенности распространения метастазов и т.п.)? Появилось также желание вместо подсчета хромосом измерять массу ДНК в них. Для того времени идеи были смелыми. Некоторые из них мне удалось реализовать в условиях ИХФ АН СССР.

Со своими идеями я поделился с Н.М. Эмануэлем. Он принял меня на работу с условием: «Измеряй что хочешь, но работай с кинетическими кривыми». Эти слова физика, обращенные к врачу, адресуются всем биологам и медикам, мечтающим повысить эффективность своей профессии.

Мне была предоставлена свобода выбора темы. Вместе с Н.В. Николаевой (биохимик, ученица академика А.Н. Белозерского) мы приступили к физико-химическому изучению нуклеиновых кислот в нормальных и злокачественных клетках. Учитывая прошлый опыт, было решено, что исследования будут проводиться на клеточном уровне. В ту пору появлялись пионерские исследования в области «количественной цитохимии». Мы пытались воспроизвести некоторые из них, но вскоре убедились, что данные либо не воспроизводятся, либо точность измерений не соответствует нашим требованиям. Они были предопределены особенностями выбранного объекта - набор хромосом (кариотип) –

это тетраплоидный геном клетки, видимый во время митоза. В ту пору «случайная» ошибка метода измерений, которая определяется путем повторных измерений одной и той же клетки, превышала 50%. Нас это не устраивало, поэтому мы занялись отработкой всех этапов метода, начиная с выделения клеток и техники приготовления мазков, до изготовления специального измерительного прибора. Считается, что молекула ДНК во всех клетках организма одинаковая. Что же касается массы «генома», то она варьирует в зависимости от плоидности клеток и фазы синтеза, если клетки «пролиферирующие» (размножающиеся). В гаплоидных (половых), диплоидных (обычных, чаще всего встречающихся) и тетраплоидных клетках (фигурах митоза), соотношение массы генома равно 1:2:4. Эти показатели я рассматриваю в качестве «биологических констант», а сами клетки использовались в качестве «тест-объектов». С методами мы разобрались - «случайную» ошибку нам удалось снизить до нескольких процентов. Главное, чего мы добились, занимаясь методическими разработками, это научились оценивать ошибки метода (физические, химические и биологические). В результате мы можем считать, что наши исследования соответствуют определению «количественная», а не «полуколичественная» цитохимия, какой она была и кое-где остается до сих пор. Из нововведений отмечу лишь создание условий окраски клеток, позволивших нам нормировать единицы измерений ДНК и РНК. Их мы выражаем в единых весовых единицах - единицах плоидности (с). До сих пор их измеряют в разных единицах.

Конфликт возник после того, как мы установили прямую зависимость между содержанием ДНК и РНК в нормальных пролиферирующих (размножающихся) клетках, находящихся в фазе синтеза и митоза. Противники считают, что такая связь не существует. Спор методологический (мировоззренческий), а потому очень жесткий. У конфликта есть свое объяснение и предыстория.

В конце первой половины прошлого века, когда только формировались современные представления о биологической роли нуклеиновых кислот, ученые (биохимики) считали, что изучение количественных связей между ДНК и РНК ведет к управлению наследственностью. Это сверхзадача, стоящая перед человечеством и наукой! Поиски связей велись интенсивно. С этой целью использовали метод Шмидта и Таннгаузера (1945 г.), но безуспешно. Заметим, что биохимики имеют дело с большими массивами клеток (клеточными популяциями), выделенными из органов и тканей. Клетки размельчают (гомогенизируют), выделяют ДНК и РНК и производят их замеры. Так устанавливают соотношение масс ДНК/РНК или РНК/ДНК в клетках. Очевидно, что в данном случае речь идет о «средней клетке» в популяции. Ценность этой информации такая же, как у средней температуры по больнице. Мы тоже работаем с клеточными популяциями, но отношение РНК/ДНК определяем в каждой клетке, при этом учитываем их морфологию и стадию митотического цикла. В обычных клеточных популяциях преобладают диплоидные, не пролиферирующие клетки. В них, действительно, нет «никакой, а тем более прямой связи» между ДНК и РНК. «Наших» клеток мало, поэтому они теряются в общей массе. Постепенно интересы биохимиков сместились в сторону изучения биосинтеза белка и структуры генома. От поиска путей решения «сверхзадачи» биохимики не отказались, но теперь их надежды связаны с успехами «молекулярной биологии», которая занимается изучением «структуры и функции генома клетки». На данный момент «молекулярная биология» представляет собой самое успешное направление в современной биологии, но её возможности не выходят за рамки «феноменологии» - её методы позволяют изучать «структуру», при этом о «функции» ученые судят опосредованно, по конечному результату. Так что конфликт не является частным эпизодом, от его исхода зависит дальнейшая судьба биологии. Природа конфликта точно такая же, какая существует между «анатомией» и «физиологией».

Так что же означает «управлять наследственностью»? – Вот здесь-то мы должны вспомнить о «физиках», овладевших атомной энергией. Чтобы ответить на этот вопрос,

нам придется, если не самим стать «физиками», то мыслить, как они. Рассмотрим наш экспериментальный материал и то, что я называю «руководящими идеями».

Методы количественной цитохимии позволяют подбирать из всегда сложных по составу клеточных популяций группы клеток, одинаковых по морфологическим признакам и «биологическим свойствам». В цитологии принято работать с «мертвыми» или «фиксированными» клетками. Для нас группа (популяция) однотипных клеток («лимфоциты», «нейтрофилы», «гепатоциты» и т.д.) является моделью одной живой клетки определенного типа. Каждая клетка в ней – это клетка, находящаяся в определенный момент её жизненного цикла, а соседняя – это та же клетка, но находящаяся в иной момент её жизненного цикла. Если клетки расположить в хронологическом порядке, то представится возможность проследить её жизненный путь, а заодно и изучить кинетику внутриклеточных процессов. Результаты измерений ДНК и РНК в клетках мы наносим на график с соответствующими координатами. В результате получается некое двумерное распределение точек, где каждая точка – это результаты измерений одной клетки.

Что такое «морфологические признаки» - известно, но что такое «биологические свойства»? - На одной из научных конференций, посвященных «биологическим свойствам злокачественных клеток» (Ленинград, 1981 г.), встал вопрос об определении понятия. Я предложил следующее: – «... это любые проявления жизнедеятельности клетки, характеризующиеся количественными и качественными особенностями функционирования (работы) генома (или новообразования РНК)». Размышления на эту тему привели к мысли о том, что определение «биологическое» по отношению к слову «свойство», практически нивелирует различия между такими распространенными выражениями, как «биологические свойства», «биологические явления» и «биологические процессы». – За каждым из них стоит название самостоятельной биологической проблемы, например, «проблема рака», «проблема клеточной дифференцировки» и т.д.

Мы исследовали клетки разного типа, отдельно популяции «функционирующих» клеток (выполняющих функции, соответствующие их специализации), а также популяции размножающихся (пролиферирующих) и дифференцирующихся клеток.

В первых же опытах на клетках здоровых и больных злокачественными новообразованиями животных было замечено, что границы двумерных распределений однотипных по морфологическим признакам клеточных популяций (только для нормы!) напоминают простые геометрические фигуры типа эллипса или трапеции. Их положение и размеры на графиках одинаковые для клеток одного типа, разные для клеток разного типа и это не зависит от вида экспериментального животного. Если же в популяции присутствуют клетки разного типа (костный мозг), то форма распределения соответствует сумме из нескольких простых фигур. Различия между «геометрическими фигурами» настолько велики, что появилась возможность на качественном уровне (без каких-либо расчетов) прийти к выводу о существовании двух основных способов «функционирования генома». В популяциях «функционирующих» клеток новообразование РНК происходит по типу «количества» (масса РНК меняется в зависимости от «функциональной» нагрузки органа или клеток; тогда как ДНК остается неизменной), а в «пролиферирующих» - по типу «качества», причем новообразование РНК происходит синхронно с редупликацией ДНК.

Знания ошибок метода позволяют считать, что двумерные распределения – это, всего лишь, «фактура». На самом деле вместо геометрических фигур есть линии - в случае с не пролиферирующими клетками – вертикально расположенные линии, в которых значимыми являются пределы варьирования содержания РНК в клетках определенного типа, а в случае с пролиферирующими клетками – наклонно расположенные линии, отражающие жизненный путь клетки и, одновременно, процесс клеточной дифференцировки. По углу наклона линий можно судить об относительной скорости

новообразования (биосинтеза) РНК – это уже кинетический параметр! Наша задача установить эти линии и оценить их геометрические параметры.

Работая с тимоцитами - классическая модель для изучения процесса клеточной дифференцировки, было замечено, что форма их распределений соответствует трапеции, причем верхняя граница приходится на биссектрису координатного угла. На неё приходится результаты измерений так называемых «больших» тимоцитов. Цитологии их называют наименее дифференцированными, «стволовыми» клетками. Тогда же возникло предположение о слоистой структуре «трапеции», то есть, в популяции существует несколько групп клеток, которые имеют строго определенное соотношение РНК/ДНК. Эти идеи легли в основу созданной нами совместно с А.А. Конрадовым и В.М. Максимовым (1981 г.) кинетической модели живой клетки (тимоцита), которая одновременно, отражает процесс клеточной дифференцировки. Были рассчитаны ориентировочные параметры этого процесса. В последующих экспериментах удалось подтвердить верность исходных идей. Так впервые в мировой практике нами были установлены кинетические параметры процесса клеточной дифференцировки (см. текст, сопровождающий рисунок). Дальнейшие работы в этом направлении были прекращены по независящим от меня обстоятельствам.

Что для биологии означают «кинетические параметры процесса клеточной дифференцировки»? – Замечу, что наши сведения не имеют аналогии в науке, информация принципиально новая, а последствия сравнимы с ящиком Пандоры... Здесь сразу же надо заявить, что данные требуют независимой проверки – это условие для дальнейшей работы в этом направлении. Допустим, что все верно и что установленные нами параметры являются «объективными количественными закономерностями», новой разновидностью «биологических констант» и даже «биологическими законами». Что из этого следует? – Вот здесь-то мы и подошли к «управлению наследственностью». Фактом является то, что мы имеем дело с «кинетикой биологических процессов». Н.М. Эмануэль, внедряя кинетику в биологию, рассчитывал на скорую победу над «раком». Он предложил «биофизическую теорию» рака (в ней основное внимание уделяется «свободным радикалам»), но судьба этой теории повторила судьбу всех прошлых, настоящих и, возможно, будущих «теорий» – они закономерным образом становятся лишь достоянием истории. Я эти теории, считаю верными и неверными одновременно. Все их авторы делают одну ошибку – они называют очередную «причину» рака, которых заведомо множество.

Свое определение слову «рак» я привожу в приложении. Для меня «рак» - это закономерный биологический процесс и всё. Далее, можно привести много слов, но последнее слово за кинетикой. В работах Н.М. кинетика выступает в роли «технологии» научного процесса. В нашем случае, она превратилась в «методологию», из средства познания в цель познания. С новых позиций решение проблемы рака становится зависимым от решения глобальной проблемы – «изучения структуры и функции генома». То, что сделано нами – это создан оригинальный подход к изучению непосредственно «функции» генома клетки. Это уже «функциональная генетика»! Чтобы доказать верность или неверность наших идей, необходимо не просто воспроизвести наши данные, полученные при исследовании «нормы», но и изучить «патологию». В новых условиях вопрос об «управлении наследственностью» становится технологической проблемой.

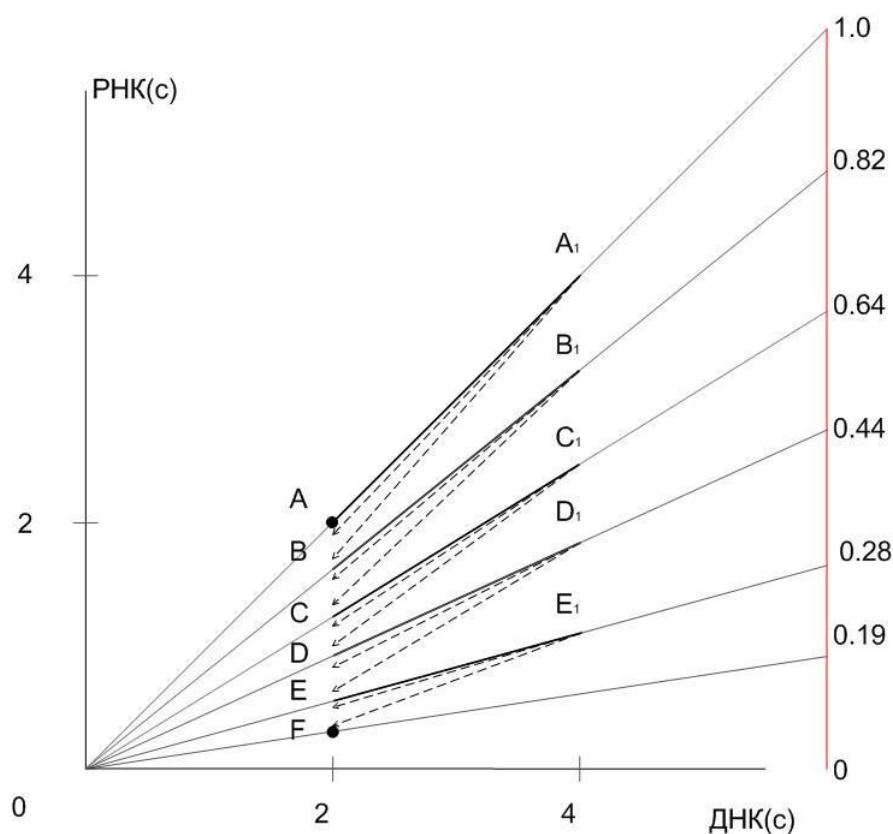


Рис. 1 Процесс дифференцировки тимоицита в координатах ДНК-РНК.

Процесс начинается с лимфоцитоподобной диплоидной клетки (тимоицита) – точка А. У этой клетки есть только один путь – вступить в фазу синтеза. Во время митоза (А) она делится на две дочерние клетки. Прямая линия и есть этот путь. Во все моменты фазы синтеза соотношение массы РНК и ДНК в ней остается равным 1. После деления одна из дочерних клеток с некоторой вероятностью (p) возвращается в исходное положение, а другая, вступившая на путь дифференцировки, попадает в начало ниже расположенной прямой линии – в точку В (события отражены тонкими пунктирными линиями со стрелками). Соотношение массы РНК к ДНК в этой клетке равно 0,82. Аналогичных актов или циклов равно пяти ($p=5$) и каждый раз соотношение РНК к ДНК уменьшается на некую величину. Их значения составляют: $a_1 = 1$; $a_2 = 0,82$; $a_3 = 0,64$; $a_4 = 0,44$; $a_5 = 0,28$ и $a_6 = 0,19$. В конце процесса образуются так называемые малые тимоициты (F), это наиболее «дифференцированные» - «функционирующие» клетки. Параметр « p » рассчитан по данным измерений РНК/ДНК в клетках, находящихся в митозе и в стадии синтеза. Его усредненное значение $\sim 0,75$.

Словарь

1. «Количественная цитохимия» – культура цитологических исследований, основанная на измерениях, а также знаниях ошибок, свойственных методу исследований в целом (физических, химических и биологических) и умении минимизировать их влияние на конечный результат.

2. «Рак» (бытовое название группы заболеваний многоклеточных организмов) – биологический процесс, проявляющийся в особой, не свойственной «норме» жизнедеятельности клеток, обладающих генетической нестабильностью и большей

жизнеспособностью части из них, при полной или частичной утрате обычных для нормальных клеток функций, что, в конечном счёте, приводит к разрушению организма хозяина и его гибели.

3. «Биологические константы» – любые постоянные величины – числа, их соотношения и действия с ними, отражающие законы живой природы.

4. «Функциональная генетика» – направление в биологии (генетики), изучающее механизмы функционирования (работы) наследственного аппарата клетки (генома) в связи с различными проявлениями жизнедеятельности живых объектов (биологическими процессами). - В ней естественной методологией является «кинетика», составляющая основу «теоретической биологии».

5. «Методология» (в науке) - это комплекс научных ценностей, который определяет логику мышления исследователей и стратегию решения научной задачи.

6. «Закономерность» – детерминанта в проявлении какого-либо явления или связей между явлениями. В отличие от «закона» этот термин допускает неопределённость в существовании события. «Объективная закономерность» обладает силой «закона».

7. «Закон природы» – некая постоянная физическая сущность природного явления или связей между природными явлениями, изменение которых неизбежно влечёт за собой строго определённые последствия.

8. «Медицинская наука» – комплекс знаний (информации), который обслуживает интересы практической медицины. Знания разделяются на «фундаментальные», опирающиеся на законы природы или закономерности (собственно, «научные» знания), и эмпирический опыт (традиции). От качества и полноты «научных знаний» зависит эффективность «медицинской науки».

9. «Клетка» – простейший объект (организм) живой природы, с не постоянной во времени многоуровневой организацией, требующий для своего существования определённых условий и претерпевающий определённые периоды своего развития, включая «рождение», «зрелость», «старение», «смерть».

10. «Кинетическая модель клетки» – представительная по численности группа (популяция) однотипных фиксированных (мёртвых) клеток, содержащая основные разновидности одной клетки в её жизненном цикле. В нашем случае, кинетическим «образом» такой клетки является график, на котором изображены результаты измерений содержания ДНК и РНК в каждой клетке, в соответствующих координатах, причем показатели выражены в единых весовых единицах – единицах плоидности. Масса ДНК (ось абсцисс) указывает на положение клеток в фазе синтеза – показатель «биологического» времени – t .

11. «Норма» – условное понятие, означающее относительно устойчивое, свойственное виду генетически предопределённое состояние живого объекта и его реакции на окружающую среду.

12. «Патология» – состояние живого организма или его частей, которое (-ые) временно или постоянно ограничивает (-ют) свойственные виду генетически предопределённые реакции живого организма на окружающую среду.