

Domniemania i hipotezy w zjawiskach biologicznych

Agnieszka JANIĄK-OSAJCA, ANNA TIMOSZYK, Zielona Góra

Matematyka jest nauką abstrakcyjną, ale dostarcza narzędzi do badania rzeczywistości. Choć jest to prawidłowość powszechnie znana, to często zaskakuje zastosowanie matematyki w ekonomii, biologii, a nawet w naukach humanistycznych.

Jednym z młodych, bo powstałych nieco ponad sto lat temu, działów matematyki, który przeżywał niebywały rozkwit w XX wieku jest topologia. Nazwa ta często dziwi osoby niemające do czynienia z matematyką. Matematyka kojarzy się z algebrą, geometrią, rachunkiem różniczkowym i całkowym, ale topologia... Szczególnie dla biologa brzmi to dziwnie, egzotycznie i tajemniczo. W rozumieniu ogólnym topologia kojarzona jest raczej z pojęciem sieci komputerowych. Biolog natomiast używając słowa topologia myśli o rozmieszczeniu w przestrzeni np. białek, lipidów czy innych cząsteczek.

Bardzo upraszczając, topologia, rozumiana przez matematyka, bada te własności figur, które nie zmieniają się przy bardzo ogólnych deformacjach nazywanych homeomorfizmami. W topologii pojęcie kształtu odbiega istotnie od tego, do jakiego przyzwyczailiśmy się na przykład na geometrii, gdzie trójkąt, kwadrat i koło uważane są za figury o różnych kształtach. Odpowiednio deformując trójkąt można uzyskać kwadrat albo koło względnie jeszcze coś zupełnie innego i z punktu widzenia topologii będzie to cały czas to samo. Podobnie dziwacznie mogą wyglądać deformacje homeomorficzne sfery, gdy wyobrazimy sobie ją jako balonik wykonany ze specjalnej bardzo cienkiej, rozciągliwej lecz wytrzymałej błony gumowej.

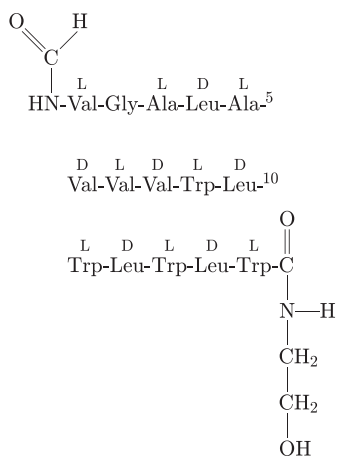
Pomysły i konstrukcje topologów wykorzystuje się do modelowania przeróżnych procesów między innymi w biologii. Jednym z takich procesów jest fuzja błon biologicznych oraz przemieszczanie się monomerów polipeptydowych w błonie podczas tego procesu.

Błony biologiczne pełnią funkcje niezbędne do życia. Są zorganizowanymi warstwowymi układami makromolekularnymi, złożonymi głównie z białek i lipidów. Błony nadają komórkom indywidualność przez oddzielenie ich od środowiska. Są wysoce selektywnymi barierami przepuszczalności. Nie są natomiast całkowicie izolującymi ścianami, ponieważ zawierają specyficzne kanały, przenośniki i pompy. Rozróżniamy również błony wewnętrzne, które wytyczają granice organelli (np. mitochondria, chloroplasty, lizosomy) w komórkach eukariotycznych (komórki eukariotyczne, to komórki jądrzaste mogące być samodzielnymi organizmami, tworzyć kolonie lub agregaty wielokomórkowe). Błony odgrywają zasadniczą rolę w komunikacji biologicznej ponieważ zawierają specyficzne receptory bodźców zewnętrznych. Dzięki nim kontrolują przepływ informacji między komórką i jej środowiskiem.

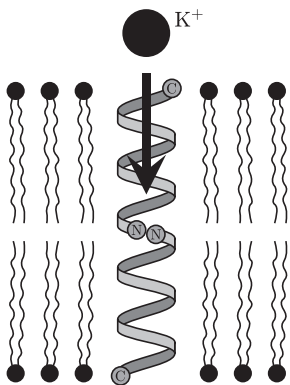
Błony są też strukturą, w której zachodzą dwa najważniejsze procesy przekształcenia energii, swoiste dla układów biologicznych. Procesami tymi są: fotosynteza, w której energia świetlna zostaje przekształcona w energię wiązań chemicznych oraz fosforylacja oksydacyjna, w której energia uzyskana z utleniania substratów oddechowych użyta jest do syntezy adenozyntrifosforanu (ATP).

Podsumowując możemy powiedzieć, że błony biologiczne, pomimo zróżnicowania zarówno pod względem struktury, jak i funkcji, wykazują wiele istotnych cech wspólnych:

- Są strukturami warstwowymi.
- Zbudowane są głównie z lipidów i białek, ale zawierają także cukrowce z nimi związane.
- Lipidy wchodzące w skład błony są stosunkowo małymi cząsteczkami zawierającymi reszty hydrofobowe („nie lubiące wody”) i hydrofilowe („lubiące



Rys. 1. Budowa cząsteczki gramicydyny A, która zawiera naprzemiennie reszty aminokwasów L i D. Końcowa grupa aminowa gramicydyny związana jest z grupą karboksylową, a końcowa grupa karboksylowa – z etanolaminą [1].



Rys. 2. Schemat kanału gramicydyny A utworzonego przez połączenie dwóch polipeptydów ich końcami N.

wodę”). W środowisku wodnym lipidy te spontanicznie tworzą zasklepiające się w pęcherzyki warstwy bimolekularne. Dwuwarstwy lipidowe stanowią barierę dla przepływu cząstek polarnych.

- W charakterystycznych funkcjach błon pośredniczą specyficzne białka, które działają jako pompy, kanały, przenośniki, receptory, transformatory energii, i enzymy.
- Tworzące błonę cząsteczki białek i lipidów są połączone ze sobą przez liczne oddziaływania niekowalencyjne o charakterze kooperatywnym.
- Błony są asymetryczne i obie powierzchnie są zawsze różne.
- Błony są strukturami płynnymi. Cząsteczki lipidów mogą szybko dyfundować wzdłuż błony, podobnie jak białka, jeśli nie są zakotwiczone specyficznymi oddziaływaniami. Natomiast nie mogą one obracać się w poprzek błony.
- Większość błon jest spolaryzowana elektrycznie, z ładunkiem ujemnym (zazwyczaj -60 miliwoltów) od strony wnętrza zamkniętego przedziału. Potencjał błonowy ma kluczowe znaczenie w procesach transportu przekształceń energii i pobudliwości [1].

Fosfolipidy stanowiące główną klasę lipidów błonowych są cząsteczkami biologicznymi nierozpuszczalnymi w wodzie, a dobrze rozpuszczalnymi w rozpuszczalnikach organicznych. W środowisku wodnym fosfolipidy w naturalny sposób i samoistnie mają tendencję do formowania tak zwanych dwuwarstw lipidowych. Ten fakt ma zasadnicze znaczenie biologiczne, ponieważ dwuwarstwy mają naturalną tendencję do samouszczelniania się, a co za tym idzie są wysoce nieprzepuszczalne dla jonów i większości cząsteczek polarnych. Na szczęście jest wiele substancji umożliwiających jonom przejście przez dwuwarstwy lipidowe. Należą do nich jonofory (definiowane jako nośniki – akceptory cząstek naładowanych tj. Na^+ , K^+ , czy Ca^{2+}), które tworzą z jonami kompleksy mające zdolność do dyfuzji przez hydrofobowe wnętrze błony. Do takiej grupy jonoforów możemy zaliczyć np. walinomycynę. Inną grupą substancji umożliwiających transport jonów przez dwuwarstwy są cząsteczki pochodzenia naturalnego lub syntetyczne, tworzące hydrofilowe kanały np. gramicydyna A (rysunek 1).

Gramicydyna A to antybiotyk peptydowy działający na bakterie gramdodatnie, otrzymywany z *Bacillus brevis* (bakterie gramdodatnie dość szeroko rozpowszechnione w przyrodzie). Z uwagi na dużą toksyczność stosowany miejscowo w leczeniu infekcji skóry i błon śluzowych. Antybiotyki są to substancje działające hamująco na procesy ważne dla życia drobnoustrojów. Poznano już około dwóch tysięcy substancji antybiotycznych wytwarzanych przez bakterie, pleśnie, grzyby, porosty, glony, rośliny wyższe i zwierzęta. Większość antybiotyków jest wytwarzana przez drobnoustroje zaliczane do promieniowców, pleśni i laseczek. Niektóre antybiotyki udało się otrzymać całkowicie syntetycznie, inne zaś półsyntetycznie.

Procesem kluczowym dla funkcjonowania wielu typów komórek jest fuzja (łączenie się, zlewanie) błon. Proces ten jest istotny nie tylko w zjawisku fuzji błon dwóch komórek, np. podczas procesu zapłodnienia, lecz również w transporcie wewnątrzkomórkowym na drodze pęcherzykowej. Fuzja pęcherzyków transportowych wydaje się mechanizmem głównym dla procesów takich jak biogeneza błon, wydzielanie oraz wchłanianie. Fuzja zachodzi też w procesach patologicznych, np. podczas wnikania do komórki wirusów z otoczką [2, 3, 4].

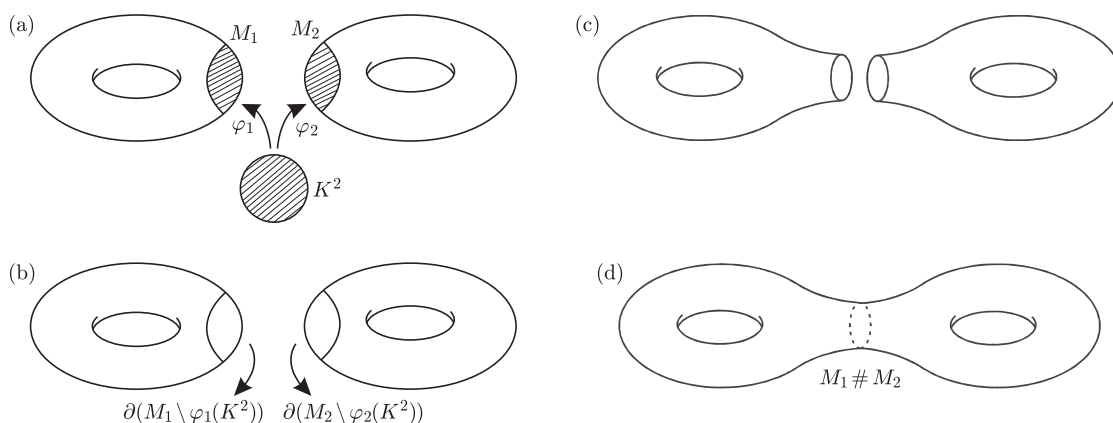
Podczas procesu fuzji dwóch pęcherzyków translukacji mogą ulegać fosfolipidy tworzące ich błony, jak również polipeptydy zanurzone w tych błonach. Zmiany topologicznej lokalizacji polipeptydów w błonie w wyniku procesu fuzji można prześledzić na przykładzie gramicydyny A. Ten antybiotyk jest kanałem dla jednowartościowych kationów (np. K^+ , czy Na^+). Za pomocą badań spektroskopowych i modyfikacji chemicznych wykazano, że kanał transportowy powstaje z dwóch cząsteczek gramicydyny A. Każda z cząsteczek tworząca przewodzący kationy dimer znajduje się w innej warstwie błony, łącząc się ze sobą końcem z końcem (rysunek 2).

Problem, jaki zostanie niżej opisany, dotyczy możliwości utworzenia takiego dimeru podczas procesu fuzji.

Proces fuzji w znacznym uproszczeniu można opisać topologiczną operacją sumy spójnej. W przybliżeniu błonę biologiczną można traktować jako powierzchnię względnie układ dwóch lub kilku powierzchni. Nie mamy tu do czynienia ze specjalnie wyszukanyymi powierzchniami. Ze względu jednak na co najmniej dwuwarstwową strukturę błony konieczne jest rozbitcie procesu fuzji na kilka etapów i wielokrotne zastosowanie sumy spójnej.

W tym miejscu celowe wydaje się przypomnienie definicji operacji sumy spójnej (na rysunku będzie to przedstawione na przykładzie dwóch torusów).

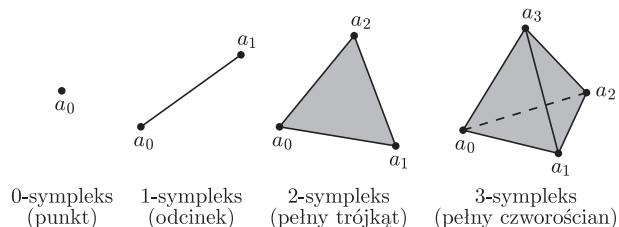
Niech M_1 i M_2 będą powierzchniami, a K^2 kołem (dwuwymiarową kulą) jednostkowym. Dalej niech $\varphi_1 : K^2 \rightarrow M_1$ i $\varphi_2 : K^2 \rightarrow M_2$ będą homeomorfizmami przekształcającymi koło na obrazy zawarte w odpowiednich rozmaitościach. Wycinamy wnętrza zbiorów $\varphi(K_1)$ oraz $\varphi(K_2)$. Następnie skleamy punkty zbioru $\partial(M_1 \setminus \varphi_1(K^2))$ oraz $\partial(M_2 \setminus \varphi_2(K^2))$ (rysunek 3). Zbiory te są homeomorficzne z okręgami, istnieje zatem wiele sposobów ich utożsamienia. Suma spójna nie zależy więc od wyboru kółek na powierzchniach oraz od sposobu sklejanie powierzchni [2, 5, 6].



Rys. 3. Konstrukcja sumy spójnej [2].

Problem, którym będziemy się zajmować dotyczy zmian topologicznej lokalizacji monomerów polipeptydowych w błonie w wyniku procesu fuzji. Analiza ta będzie wykorzystywać topologiczny model procesu fuzji zaproponowany już we wcześniejszych pracach (np. patrz [2]). Przyjmijmy dodatkowo, że monomer polipeptydowy modelować będziemy za pomocą sympleksu jednowymiarowego zorientowanego.

Przypomnijmy teraz jak definiuje się sympleks i jego orientację.

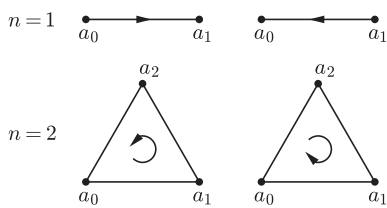


Rys. 4. Sympleks n -wymiarowy $\Delta(a_0, a_1, \dots, a_n)$, dla $n = 0, 1, 2, 3$ [7].

Niech punkty a_0, a_1, \dots, a_n przestrzeni euklidesowej m -wymiarowej tworzą zbiór afinicznie niezależny. Najmniejszy zbiór wypukły $\text{conv}\{a_0, a_1, \dots, a_n\}$ zawierający punkty a_0, a_1, \dots, a_n nazywamy sympleksem n -wymiarowym o wierzchołkach a_0, a_1, \dots, a_n (rysunek 4) i oznaczamy przez $\Delta(a_0, a_1, \dots, a_n)$. Wymiar sympleksu oznaczamy będziemy przez $\dim \Delta$ [7].

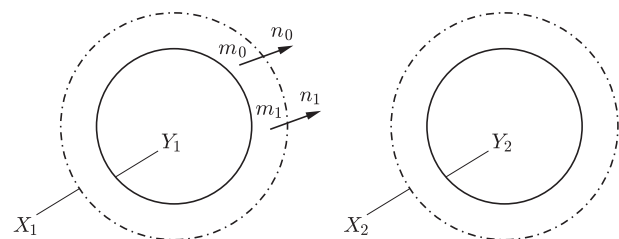
Tak więc sympleks 0-wymiarowy $\Delta(a_0)$ jest zbiorem złożonym z jednego punktu a_0 ; sympleks 1-wymiarowy $\Delta(a_0, a_1)$ jest niezdegenerowanym odcinkiem o końcach a_0, a_1 ; sympleks 2-wymiarowy $\Delta(a_0, a_1, a_2)$ jest trójkątem o niewspółliniowych wierzchołkach a_0, a_1, a_2 ; sympleks 3-wymiarowy $\Delta(a_0, a_1, a_2, a_3)$ jest czworościanem o wierzchołkach a_0, a_1, a_2, a_3 nie leżących w jednej płaszczyźnie. Przyjmuje się ponadto, że zbiór \emptyset jest jedynym sympleksem (-1) -wymiarowym.

Zbiór wierzchołków n -wymiarowego sympleksu można uporządkować na $(n + 1)!$ sposobów. Dwa uporządkowania nazywamy równoważnymi, jeżeli

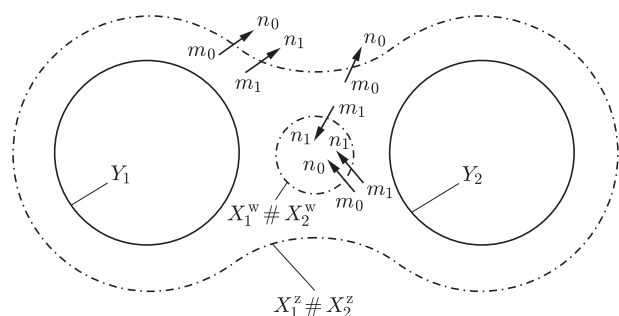


Rys. 5. Orientacje sympleksów 1-wymiarowych $\Delta(a_0, a_1)$ i 2-wymiarowych $\Delta(a_0, a_1, a_2)$.

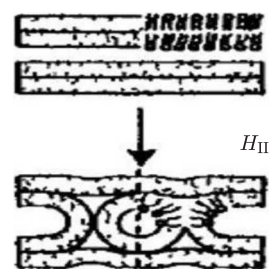
różnią się parzystą liczbą przestawień. Zbiór uporządkowań wierzchołków rozpada się na dwie klasy uporządkowań równoważnych, które nazywamy orientacjami. Sympleks n -wymiarowy z wybraną orientacją nazywamy *sympleksem zorientowanym* i oznaczamy przez $\Delta[a_0, a_1, \dots, a_n]$. Każdy sympleks dodatniego wymiaru ma dokładnie dwie orientacje, które nazywamy wzajemnie przeciwnymi. Sympleks przeciwnie zorientowany względem sympleksu $\Delta[a_0, a_1, \dots, a_n]$ oznacza się $-\Delta[a_0, a_1, \dots, a_n]$. Jeżeli sympleks Δ jest 0-wymiarowy, to przyjmujemy $\Delta = -\Delta$. Sympleksu (-1) -wymiarowego nie orientujemy. Zmiana orientacji sympleksu na przeciwną powoduje zmianę orientacji każdej jego ściany zorientowanej [7]. Dla wymiarów 1 i 2 sympleksu orientację przedstawia rysunek 5.



Rys. 6. Etap pierwszy procesu fuzji: $X_i, i = 1, 2$ – rozmaitości modelujące warstwy zewnętrzne błon pęcherzyków przed procesem fuzji, $Y_i, i = 1, 2$ – odpowiednio rozmaitości modelujące warstwy wewnętrzne błon, $\Delta_i[m_i, n_i]$, gdzie $i = 0, 1$ – sympleksy o zgodnej orientacji dodatniej ułożone w warstwie zewnętrznej błony pierwszego pęcherzyka.



Rys. 7. Etap czwarty procesu fuzji: $X_1^z \# X_2^z$ – rozmaitość modelująca warstwę zewnętrzną błony pęcherzyka po procesie fuzji, $X_1^w \# X_2^w$ – rozmaitość modelująca fazę HII powstającą podczas procesu fuzji, Y_1, Y_2 – rozmaitości modelujące warstwy wewnętrzne pęcherzyków, $\Delta_i[m_i, n_i]$, gdzie $i = 0, 1$ – sympleksy, które mogą pozostać w warstwie zewnętrznej lub zmienić swoją lokalizację. Przy zmianie lokalizacji ulega też zmianie orientacja sympleksu.



Rys. 8. Schemat pokazujący powstanie fazy heksagonalnej odwróconej HII podczas procesu fuzji.

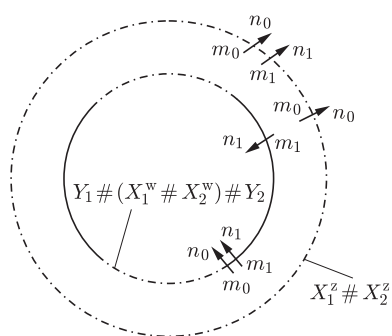
Jak wcześniej zostało wspomniane monomer polipeptydowy modelować będziemy za pomocą sympleksu jednowymiarowego zorientowanego.

Operacja sumy spójnej oraz wykorzystanie zorientowanego sympleksu jednowymiarowego modelującego monomer polipeptydowy z powodzeniem może być zastosowana do geometrycznej interpretacji pewnych zjawisk odległych od matematyki. Błonę komórkową, czy też inną błonę biologiczną, możemy przedstawić w dużym uproszczeniu jako układ dwóch sfer, zatem komórkę schematycznie opisujemy w postaci dwóch koncentrycznych sfer. Wykorzystując wyniki obserwacji i analizując eksperymenty, proces fuzji rozbijamy na kilka podstawowych etapów. W tej pracy istotny nie będzie jednak sam model fuzji, ale możliwości przemieszczania się monomerów polipeptydowych w warstwach błony podczas tego procesu. Rozważmy sytuację, w której monomery polipeptydowe umieszczone są w tej samej warstwie błony jednego z pęcherzyków. Nie mogą więc przy takim ułożeniu tworzyć kanału. Takiego kanału nie będzie również wtedy, kiedy monomery nie będą mogły związać się końcami N (patrz rysunek 1 i 2). Dlatego istotne jest założenie o orientacji sympleksu. Przyjmijmy, że koniec N monomeru modeluje początek sympleksu a koniec C jego końca (zaznaczony grotem). Dla naszego modelu należy również przyjąć, że zwrot zorientowanego sympleksu od środka na zewnątrz pęcherzyka będzie dodatni, natomiast w odwrotnym kierunku, tzn. z zewnątrz do środka pęcherzyka – ujemny.

Na rysunku 6 widzimy etap pierwszy naszego modelu gdzie sympleksy Δ_0 i Δ_1 mają zgodną orientację dodatnią i ułożone są w warstwie zewnętrznej pierwszego pęcherzyka przed procesem fuzji.

W kolejnym etapie, gdy proces fuzji został już zapoczątkowany ułożenie sympleksów w warstwach błony może ulec zmianie. Również ich orientacja nie pozostaje bez zmian. Przyjrzyjmy się temu bliżej.

Na rysunku 7 widzimy, że już podczas pierwszych etapów procesu fuzji, kiedy do połączenia dochodzi tylko na poziomie warstw zewnętrznych, lokalizacja monomerów w błonie może ulec zmianie. Możemy założyć, że w sytuacji pierwszej monomery pozostaną w warstwie zewnętrznej oraz ich orientacja nie ulegnie zmianie. W przypadku drugim jeden monomer utrzyma swoje położenie, natomiast drugi przemieści się do powstającej chwilowo warstwy modelowanej przez $X_1^w \# X_2^w$. Rozmaitość ta opisuje powstanie fazy heksagonalnej odwróconej (HII) (patrz [2], rysunek 8.) i świadczy o tym, że część lipidów z warstw zewnętrznych błon pęcherzyków przed procesem fuzji znajdzie się w warstwie wewnętrznej powstającego pęcherzyka po fuzji.



Rys. 9. Etap końcowy procesu fuzji: $(X_1^z \# X_2^z)$ – rozmaitość modelująca warstwę zewnętrzną błony pęcherzyka po procesie fuzji, $Y_1 \# (X_1^w \# X_2^w) \# Y_2$ – rozmaitość modelująca warstwę wewnętrzną błony pęcherzyka po procesie fuzji, $\Delta_i[m_i, n_i]$, gdzie $i = 0, 1$ – sympleksy modelujące monomery polipeptydowe ulokowane w błonie.

W przypadku ostatnim oba monomery przemieściły się do warstwy modelowanej przez $X_1^w \# X_2^w$. Należy również zauważyć, że przemieszczające się monomery zmieniły swoją orientację z dodatniej na ujemną.

Analiza kolejnych etapów dotyczy fuzji warstw wewnętrznych pęcherzyków przed tym procesem i warstwy modelującej fazę III. Ostatecznie otrzymujemy pęcherzyk, którego warstwa zewnętrzna modelowana jest przez $X_1^z \# X_2^z$ oraz warstwę wewnętrzną opisaną jako $Y_1 \# (X_1^w \# X_2^w) \# Y_2$. Rysunek 9 przedstawia tę sytuację oraz to, jak zachowują się po procesie fuzji monomery polipeptydowe.

Przypomnijmy, że początkowe ulokowanie monomerów polipeptydowych w warstwie zewnętrznej błony pierwszego pęcherzyka nie dawało możliwości na powstanie kanału. Po przeprowadzonej analizie dochodzimy do wniosku, że sytuacja ta może ulec zmianie lub pozostać niezmienną. Zmiana lokalizacji powodująca ulokowanie się pęcherzyków w warstwie wewnętrznej błony po procesie fuzji nie jest dla nas zadowalająca. Orientacja monomerów jest zgodna (choć przeciwna do wyjściowej) i nie może doprowadzić do połączenia końców N monomerów ze sobą. Jednak trzeci opisany przypadek świadczy o tym, że możliwe jest powstanie interesującego nas kanału. Wymagane jest jednak przejście jednego z monomerów polipeptydowych z warstwy zewnętrznej do warstwy wewnętrznej pęcherzyka powstającego po procesie fuzji, przy jednoczesnej zmianie jego orientacji na przeciwną. W tym przypadku zmiana orientacji monomeru jest bardzo korzystna, ponieważ możliwe staje się połączenie końców N ze sobą. Połączenie takie jest warunkiem koniecznym dla powstania dimeru, przez który będą mogły przedostawać się przez błonę np. jony K^+ , tak jak to się dzieje w przypadku gramicydyny A.

Zaproponowany model zwrócił uwagę na bardzo istotny fakt, na przemieszczanie się cząsteczek w błonie. Przemieszczeniu ulegają fosfolipidy (z warstwy zewnętrznej do wewnętrznej), ale również polipeptydy zakotwiczone w warstwach błony. Przemieszczenie monomerów polipeptydowych związane jest również ze zmianą ich orientacji. W zaproponowanym modelu możemy analizować różne pierwotne ulokowanie monomerów w warstwach błony. Na jego podstawie możemy wnioskować, że monomery umieszczone w warstwie zewnętrznej dodatnio zorientowane, mogą w wyniku zajścia procesu fuzji tworzyć dimer aktywny. Analizując inne przypadki dochodzimy do wniosku, że jeśli przed procesem fuzji monomery tworzyły aktywny dimer, to po zajściu tego procesu mogą rozpaść się na dwa monomery. W przypadku, kiedy oba monomery znajdują się w warstwie wewnętrznej, po zajściu procesu fuzji nie mogą tworzyć dimeru aktywnego.

Analiza taka wydaje się istotna dla dalszych badań doświadczalnych dotyczących działania antybiotyków. Dokładne poznanie istoty procesów fuzji oraz przemieszczania się cząsteczek podczas tego procesu ma zasadnicze znaczenie dla zrozumienia procesów życiowych a także w walce z różnymi patologiami. Poza tym projektując różne cząsteczki nośnikowe można w znaczny sposób wpłynąć na rozwój zjawisk transportowych, co pociąga za sobą odkrywanie lepszych i skuteczniejszych farmaceutyków.

Literatura

- [1] Stryer, L., *Biochemia*, PWN, Warszawa 1999.
- [2] Janiak-Osajca, A., *Sumy spójne w biologii*, Matematyka Społeczeństwo Nauczanie, nr 30 (I 2003), 38–43, Wydawnictwo Akademii Podlaskiej, Siedlce 2003.
- [3] Alberts, B., Bray, D., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. i Watson, J.D., *Molecular biology of the cell*, Garland Publishing Inc., New York 1994.
- [4] Fuller G. M. i Shields D., *Podstawy molekularne biologii komórki*, PZWL, Warszawa 2000.
- [5] Hirsch, M. V., *Differential topology*, Springer 1976.
- [6] Jänich, K., *Topologia*, PWN, Warszawa 1991.
- [7] Engelking, R. i Sieklucki, K., *Wstęp do topologii*, PWN, Warszawa 1986.