

Аппроксимация кривой роста и выживания непересеваемой культуры клеток при моделировании процессов старения

Научный руководитель – Хохлов Александр Николаевич

Моргунова Г.В.¹, Клебанов А.А.¹

1 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Лаборатория клеточной биологии старения и развития, Москва, Россия

Самым надёжным способом тестирования геропротекторов является построение кривых выживания организмов. Долгое время феномен нашей модели "стационарного старения" рассматривался как накопление в культивируемых клетках, пролиферация которых заторможена каким-либо способом (например, контактным торможением), "возрастных" повреждений, сходных с возрастными изменениями *in vivo*. В то же время в нашей клеточно-кинетической модели оценивались лишь скорость роста культуры и величина достигаемой ей насыщающей плотности, характеризующей "биологический возраст" клеток, при этом кинетика их гибели не рассматривалась. Однако впоследствии нами было показано, что при "стационарном старении" клетки, накапливая "возрастные" повреждения, вымирают в соответствии с уравнением Гомпертца, т.е. действительно стареют, а вероятность их гибели со временем увеличивается экспоненциально, как и у стареющих животных/людей. Таким образом, кривые роста и гибели непересеваемой культуры можно было аппроксимировать двумя разными уравнениями. В то же время целый ряд данных свидетельствовал о том, что обе части кривой могут быть взаимосвязаны. Мы предположили, что создание одного уравнения, описывающего и начальный рост культуры, и гибель клеток в стационарной фазе, могло бы значительно улучшить эффективность тестирования на данной модельной системе различных геропротекторов и геропротомоторов.

Соответствующие кривые роста и гибели непересеваемой культуры получали, используя трансформированные клетки китайского хомячка линии B11-dii FAF28, которые инкубировали при 37°C в модифицированной Дульбекко среде Игла с добавлением 10% сыворотки крови крупного рогатого скота в герметически закрытых флаконах в течение 40-55 сут. Для последующей математической обработки использовали как новые собственные данные по влиянию буферной ёмкости среды и экзогенного 8-оксо-2'-дезоксогуанозина на рост и "стационарное старение" клеток, так и ранее полученные результаты, касающиеся эффектов C₆₀-фуллерена и препарата Quinton Marine Plasma в данной модельной системе. Аппроксимацию проводили, используя либо встроенные в программу SigmaPlot 12.0 (Systat Software Inc.), либо самостоятельно разработанные уравнения.

Оказалось, что из встроенных в SigmaPlot уравнений лучше всего наши экспериментальные данные удается аппроксимировать с помощью уравнения 4-параметрического логарифмически-нормального распределения. Однако при этом практически исчезает "плато" на ростовой кривой. Этой проблемы удается избежать при использовании разработанного нами уравнения, в основе которого лежит значительно модифицированное уравнение Ферхюльста-Пирла. В результате значительно повышается надёжность сравнения контрольных и опытных кривых. В частности, нам удалось продемонстрировать достоверное влияние на кинетику роста и гибели клеток буферной ёмкости культуральной среды и отсутствие такого влияния в случае экзогенного 8-оксо-2'-дезоксогуанозина, что не было очевидным без использования аппроксимации.