**М. Г. Таирбеков**

# ГРАВИТАЦИОННАЯ БИОЛОГИЯ КЛЕТКИ

**(теория и эксперимент)**

**МОСКВА 1997**

УДК 574.68
ББК 28.089
М. Г. Таирбеков.
Гравитационная биология клетки
(теория и эксперимент).
М., 1997- 128 с.
ISBN 5-207-00-456-14

Книга — итог многолетней работы автора в области гравитационной и космической биологии. В нее вошли результаты экспериментальных исследований, некоторые предположения и гипотезы, сформулированные на основе анализа этих результатов, литературных данных и современного состояния проблемы.

Работа выполнена в Государственном научном центре Российской Федерации — Институте медико-биологических проблем.

M. G. Tairbekov. "Gravitational cell biology".

This book is the result of long-term works of the author in the field of gravitational and space biology. The book involves theoretical aspects and data derived from experimental research as well as assumptions and hypotheses put forward after analyzing experimental results and published data with consideration of the current state of the problem.

This research conducted at the State Scientific Center of Russia, Institute of Biomedical Problems.

ISBN 5-207-00-456-14
© М. Г. Таирбеков, 1997 (текст)
© И.А.Ушаков, 1997 (оригинал-макет)

# СОДЕРЖАНИЕ

**ВВЕДЕНИЕ** **4**

***Часть 1.*** **БИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ СИЛЫ ТЯЖЕСТИ** (Теория вопроса)

**Физический мир клетки** **8**

**Морфо-функциональный статус клетки в гравитационном поле** **13**

Клетка как биомеханическая конструкция **15**

Роль биомембран и элементов цитоскелета в гравиперцепции клетки **20**

Форма клетки как регулятор ее функционального состояния **23**

**Вероятные механизмы восприятия и реализации гравитационного стимула в клетке** **25**

Механизмы гравирецепции в растительной клетке **26**

Роль систем внутриклеточной сигнализации и межклеточных контактов в проведении гравитационного импульса **29**

**Закономерности распределения и поведенческие характеристики одноклеточных организмов в гравитационном поле** **31**

**Эволюция живых систем в гравитационном поле Земли** **41**

Возникновение клетки и переход к многоклеточности **42**

Пути и способы адаптации живых организмов к силе тяжести **47**

***Часть 2.*** **ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ**

**Эксперименты в лабораторных условиях на Земле** **55**

Исследования на одноклеточных организмах (in vivo) **55**

Исследования на растительных клетках (in situ) **62**

**Эксперименты в условиях микрогравитации на космических летательных аппаратах** **68**

Исследования на инфузориях. Эксперимент «Cytos» **68**

Исследования на плазмодии миксомицета *Physarum policephalum* **74**

Исследования на культуре клеток растений in vitro (эксперимент «Протопласт» **77**

Исследования на культуре клеток животных in vitro (эксперимент «Фибробласт») **82**

Исследования на растительных клетках (in situ) **91**

**Возможные механизмы адаптации клетки к условиям измененной силы тяжести** **103**

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ** **110**

**ЛИТЕРАТУРА** **118**

# ВВЕДЕНИЕ

В последние десятилетия нашего века на памяти одного поколения возникла и сформировалась самостоятельная научная дисциплина — космическая биология. Будучи неотъемлемой частью гравитационной биологии, она была призвана сыграть важную роль в выявлении и осмыслении значения силы тяжести в эволюции живых систем на Земле.

Современное состояние космической биологии и медицины достаточно наглядно отражает ту степень внимания, которую проявляли к ним специалисты различных направлений естествознания, и в общем соответствует ходу развития любой отрасли науки.

Интерес к изучению преимущественно интегральных показателей функционального состояния организма в первом десятилетии освоения космического пространства был продиктован, прежде всего, практической необходимостью нормализации процессов жизнедеятельности и сохранения высокой степени работоспособности человека, совершающего космический полет. Что же касается выяснения причин, приводящих к нарушению физиологического статуса организма в условиях резкого снижения величины силы тяжести (микрогравитация), а тем более объяснения клеточных и молекулярных механизмов, лежащих в основе этих изменений, то решение этих задач требовало проведения более глубоких фундаментальных исследований с привлечением всего арсенала знаний и методических подходов современной биологии.

Несмотря на весьма солидный «банк данных», созданный на основе результатов экспериментальных исследований в области гравитационной биологии клетки, эта проблема до последнего времени находилась на стадии умозрительных заключений и спекулятивных концепций, часто разноречивых, а иногда и противоречивых. Достаточно сослаться на следующие утверждения, чтобы проиллюстрировать сказанное выше и показать полярность мнений ведущих специалистов в этой области знаний.

«Эксперименты с одноклеточными организмами показывают, что невесомость не влияет на их выживаемость, скорость размножения, частоту возникновения мутаций и биохимические процессы. В этом отношении эксперименты дают ясный ответ — свойства и морфология клеток остаются неизменными» (Парфенов, 1988).

«Изменение веса клетки в диапазоне ускорений силы тяжести $10^{-6}$ — 5 g не оказывает прямого (непосредственного) воздействия на фундаментальные процессы, протекающие в клетке на молекулярном уровне: внутриклеточный транспорт веществ, кинетику биохимических реакций и ультраструктурную топографию клетки» (Таирбеков, 1988).

«Эксперименты, выполненные на индивидуальных клетках на борту космических аппаратов, показали, что основные клеточные функции изменяются в условиях микрогравитации» (Cogoli et al, 1990).

«Микрогравитация влияет на функциональные характеристики про- и эу-кариотических клеток» (Mesland, 1990).

Такое положение, с нашей точки зрения, объясняется не только и не столько нестабильными условиями проведения полетных экспериментов, неадекватностью применения методов их подготовки на Земле и вариабильностью самого биологического материала, а, прежде всего, отсутствием единого методологического подхода к проблеме и четко обозначенных ориентиров на пути этих исследовании. Очевидно, что одним из основных принципов в решении данной задачи должен быть выбор соответствующих объектов исследования и адекватных методов сравнительного анализа морфофункционального состояния клетки или организма в целом в условиях нормальной силы тяжести и при изменении ее величины до $10^{-5}$ -$10^{-6}$ g в условиях космического полета.

Центральной проблемой гравитационной биологии является обоснование роли и оценка значимости силы тяжести в ряду факторов окружающей среды, действующих на живой организм в процессе его развития. Ключевым вопросом этой проблемы следует считать выявление механизмов восприятия и реализации гравитационного стимула в биологических системах в зависимости от уровня их организации. Ответ на этот вопрос,

очевидно, заключается в расшифровке и классификации сенсоров гравитации, изучении особенностей их функционирования. В этой связи, одной из принципиальных задач должно быть определение глубины преобразовательных процессов, происходящих в организме, начиная от системных регуляторных механизмов, действующих на уровне высокоразвитых многоклеточных организмов, до молекулярных процессов, протекающих в микроскопическом объеме клетки.

Следует отметить, что подавляющее большинство существовавших до настоящего времени предположений и гипотез относительно гравичувствительности и адаптивных возможностей биологических, систем к изменению напряженности гравитационного поля было сформулировано на основе результатов экспериментальных исследований, выполненных на организменном уровне. Вместе с тем, для более глубокого изучения механизмов гравирецепции и всесторонней оценки ответной реакции живой системы на гравистимул необходимо было провести крупномасштабные и систематизированные исследования на клеточном уровне, с использованием различных типов клеток, отличающихся по среде обитания, физиологическим и морфологическим характеристикам. Конечная цель этих исследований заключалась в том, чтобы на различных биологических объектах: прокариотических и эукариотических одноклеточных организмах, культуре клеток и клетках, функционирующих в составе единого многоклеточного организма, изучить природу и закономерности структурных и функциональных перестроек, происходящих в условиях измененной силы тяжести и на их основе сформулировать общие принципы механизма восприятия и реализации гравитационного стимула на клеточном уровне.

Стоящую перед нами задачу мы рассматривали как часть общебиологической проблемы взаимоотношения живых систем с факторами окружающей среды в гравитационном поле. В этом контексте предметом изучения была клетка, на которой и будет сосредоточено наше внимание. На протяжении всего дальнейшего обсуждения будет рассматриваться проблема взаимоотношения клетки с одним из глобальных факторов окружающей среды — гравитацией — в двух аспектах: эволюционно-экологическом и физиологическом.

Изучение структурно-функционального состояния клетки, процессов морфогенеза, роста и развития в условиях измененной силы тяжести преследует двуединую цель: с одной стороны, выявление биологической роли гравитации в возникновении и развитии живых систем на Земле (эволюционно-экологический аспект), с другой — определение критериев и закономерностей структурно-функциональных преобразований для формулировки и обоснования комплекса изменений при ответной реакции организма в процессе его адаптации к измененной силе тяжести (физиологический аспект).

# ЧАСТЬ 1. БИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ СИЛЫ ТЯЖЕСТИ (Теория вопроса)

Взаимодействие разнообразных факторов (физических или химических) с телами (живыми или неживыми) реализуется благодаря наличию сил, природу которых можно свести к трем основным категориям. Силы ядерных взаимодействий (слабые или сильные), которые не имеют прямого отношения к биологическим процессам. Электромагнитные силы, благодаря которым осуществляется весь спектр молекулярных взаимодействий в живых системах, возникают и разрушаются связи различных уровней. Гравитационные силы, создающие гравитационное поле и оказывающие воздействие на тела: живые или неживые.

Каждая из перечисленных сил имеет свою компетенцию и свою сферу влияния. Если в макромире иерархию сил венчает гравитация, то в микромире все наоборот, здесь гравитация — самая малая из сил.

Под гравитационным полем Земли подразумевается распределение силы тяжести на ее поверхности или в ее непосредственной близости. Абсолютное значение силы тяжести принято считать равным 9,8127 микрогалл (1 мкГ=10 эрг/см$^2$). Сила тяжести на Земле создает ускорение (g) равное 9,81 м/с и формирует физический смысл понятия веса P=mg, где m — масса тела, а g — ускорение свободного падения.

Вес — это сила, с которой тело определенной массы давит на неподвижную опору. Реакция опоры проявляется лишь в месте контакта и передается другим частям тела через внутреннее напряжение. По этой причине действие силы тяжести вызывает деформацию тела и ведет к появлению напряженности в его структуре. Влияние силы тяжести на все без исключения физические тела (живые или неживые) на поверхности Земли и околоземном пространстве постоянно и неизбежно. Полностью избавиться от силы тяжести невозможно. Однако можно создать условия так называемой динамической невесомости на борту космического летательного аппарата, совершающего полет в режиме свободного падения. При полете на космическом корабле вес тела не исчезает, но может уменьшиться до 10" от исходного. Поэтому условия, в которых пребывают физические тела, в том числе и живые организмы, в космическом полете принято называть состоянием микрогравитации.

До начала космической эры мало кто из естествоиспытателей думал о силе тяжести как о физическом факторе, величина и направление которого могут быть изменены или полностью устранены. Хотя понятие о космической среде хорошо было знакомо астрономам уже многие тысячелетия, до последнего времени оно было чуждо биологам. Еще в прошлом веке Чарльз Дарвин писал: «...мы не в состоянии избавиться от силы тяжести и поэтому навсегда останемся невежественными относительно ее роли в эволюции». Увы, даже гении не всегда оказываются пророками!

Естественно поэтому, большой интерес к этой проблеме возник тогда, когда были созданы управляемые космические летательные аппараты, которые позволили проводить исследования в условиях динамической невесомости. Микрогравитация — один из главных факторов космического полета — имеет ряд особенностей, изучение которых представляет исключительный интерес для биологов по следующим причинам: во-первых, действие этого фактора непрерывно и практически неизменно на протяжении всего срока полета, во-вторых, пребывание в условиях микрогравитации не вызывает немедленной гибели организма и не приводит к острой патологии. Эти особенности открывают широкие перспективы и возможности для проведения фундаментальных исследований в космическом полете.

Большинство биологических экспериментов, выполненных в первое десятилетие в космосе, строились таким образом, чтобы выяснить, функционируют ли нормально в условиях микрофавитации механизмы, осуществляющие те или иные жизненно важные функции. Как показали результаты предварительных исследований, многие из этих механизмов оказались малочувствительными или вовсе нечувствительными к отсутствию силы тяжести. Однако в ходе этих исследований обнаружилось, что хотя микрофавитация

не оказывает прямого разрушительного действия на биологические структуры, она, тем не менее, способна изменить нормальный ход тех процессов, для осуществления которых необходим гравитационный стимул.

Рассмотрим проблему взаимоотношения клеток с одним из глобальных факторов среды — гравитацией с позиций биофизики и биомеханики.

## Физический мир клетки

Огромное разнообразие клеточных форм, возникших в ходе эволюции, основывается на двух значительно различающихся между собой типах клеток: прокариотическом и эукариотическом. Клетки, относящиеся к первому типу, представлены в природе бактериями и сине-зелеными водорослями. В этих клетках отсутствуют четко оформленное ядро и высокоорганизованные элементы внутриклеточных структур. Тем не менее, они имеют достаточно четкий и эффективный механизм передачи наследственной информации. Материал, содержащий генетический код прокариотической клетки расположен свободно в цитоплазме и представлен гигантской молекулой ДНК. Система транспорта электронов у прокариотов связана с плазматической мембраной, а пигментная система фотосинтезирующих клеток размещена в ламеллярных структурах или везикулах, сосредоточенных в цитоплазме. Подавляющее большинство прокариотических клеток не превышает в диаметре 1 мкм.

Все остальные клетки, от одноклеточных простейших организмов до соматических и специализированных клеток животных и растений, относятся к эукариотическому типу. Эукариоты имеют высокую степень организации и компартментализации, четко обособленное ядро, в котором сосредоточена наследственная информация, митохондрии, пластиды и целый ряд специализированных структур. Благодаря высокой степени внутренней организации, эукариотические клетки способны изменять форму и передвигаться в пространстве. Средние размеры эукариотов колеблются в диапазоне от 10 до 60 мкм. Превышают эти размеры яйцеклетки амфибий, рептилий и птиц. Кроме того, в природе существуют гигантские клетки, размеры которых могут достигать 1 см и более. Но это — лишь исключение из правил, установленных природой.

Размер — важнейший фактор, определяющий строение и поведенческие характеристики живых систем, в том числе и клеток. Размеры клеток катастрофически малы по сравнению с привычными для нас масштабами макромира. Уже одно это обстоятельство отчуждает от нас микромир клеток и сильно затрудняет постижение тех инженерных решений, которые заложены природой в принципы построения различных клеток. Теоретические основы этой проблемы в современном изложении представлены в работе Albrecht-Buechler (1990).

Для того, чтобы обсуждать физический мир клетки, мы должны в большой степени игнорировать ее специфические биологические свойства и представить ее в виде идеальной сферы $R=5\cdot10^{-4}$ см в радиусе. В соответствии с представлениями нашего привычного макроскопического мира, вообразим себе идеальную сферу диаметром R=50 см, которая в 100.000 раз будет больше, чем «идеальная» клетка. В соответствии с этим, объем и поверхность этих сфер могут быть вычислены по известной формуле $V = 4_{\pi} / R^3$ ; $S = 4_{\pi} R^2$ , соответственно.

Каковы же будут взаимодействия этих сфер с внешними силами? Для выяснения предложенных вопросов проведем сравнительный анализ, используя теоретические выкладки для двух объектов, отличающихся по размерам. Сравним клетку, представляющую собой идеальную сферу микромира с представителем макромира, такой же идеальной сферой, но имеющей размеры в 100.000 раз больше. В соответствии с заданными радиусами R=5 мкм для клетки и R=50 см для сферы, объемы и площади поверхности, вычисленные по формулам, приведенным выше, будут равны $V_k = 5,23 \bullet 10^{-10} см^3$, $S_k = 3,14 \bullet 10^{-6} см^2$ и $V_m = 5,23 \bullet 10^5 см^3$, $S_m = 3,14 \bullet 10^4 см^2$. Радиус 5 мкм взят произвольно и объем такой клетки будет равен 523 мкм$^3$. Истинные размеры реальных

клеток, как уже было отмечено выше, могут варьировать в очень широком диапазоне от 300 мкм до 600000 мкм$^3$. Однако наиболее существенным моментом в этих расчетах является величина отношений площади поверхности к объему (S/V), которая составила 3/R. Биологическое значение этого коэффициента очень велико даже если клетка имеет форму идеальной сферы, так как изменение соотношения S/V в истинной клетке влечет за собой кардинальные изменения веса клетки и сил поверхностного натяжения, что имеет непосредственное отношение к интересующей нас проблеме. Сравним для примера две эти величины; вес W = grV, где g=9,81 см/сек$^2$, г =1 см (плотность воды с поверхностным натяжением A=2sR (s=73 г/s$^2$). В этом случае идеальная клетка весом $W_k=5\cdot10^{-7}$ дин и $A_k=2\cdot10^{-2}$ дин будет иметь силу поверхностного натяжения в 400.000 раз больше, чем ее вес. Очевидно, что такая клетка не может быть деформирована не только тяжестью собственного веса, но и при гораздо больших нагрузках. В другом случае, с большей сферой, где вес $W_m=5\cdot10^8$ дин и $A_m=7\cdot10^3$ дин, имеет место диаметрально противоположная ситуация. Если попытаться поместить такую гигантскую «кашпо» диаметром в 1 м на твердую ровную поверхность, то вес такой сферы будет в 100000 раз больше, чем поверхностное натяжение, т.е. она будет раздавлена своим весом.

Более того, если принять во внимание, что средой обитания почти всех клеток является жидкость, то вязкость жидкости, как окружающей эти сферы, так и составляющей их внутреннее содержимое, будет разной для идеальной микроскопической сферы — клетки и макросферы. В первом случае вязкость жидкости будет несравненно выше. Образно говоря, для клетки, имеющей микроскопический объем, вязкость жидкости внутри ее представляет собой «патоку», движущуюся толчками или непрерывно. Этот феномен хорошо известен как броуновское движение, в результате которого из-за неравномерного распределения тепла происходят флуктуации в жидкости. Качественная характеристика этого феномена выражается формулой кТ, где к — константа Больцмана, Т — абсолютная температура 293 К. При комнатной температуре тепловая энергия одной молекулы при снижении ее свободной энергии составляет $4.10^{-14}$ эрг или 2 Ккал/Моль. Если сравнить эту энергию с гравитационной энергией dE, которую испытывает клетка, помещенная в жидкость (воду) на глубину одного ее диаметра, то энергетическая разница в этом случае будет $dE=2R(r-l)/V_kg$ или приблизительно 2,5kT (5 Ккал/моль). Другими словами, тепловая энергия, выделенная при столкновении 2-3 молекул, может полностью нейтрализовать (сбалансировать) эффект гравитационной энергии на клетку, находящуюся в жидкости. Правда, клетка, имеющая больший диаметр, будет испытывать и несколько больший гравитационный стимул. Таким образом, из сказанного можно заключить, что гравитация в масштабах, свойственных истинной клетке, не может конкурировать с другими силами.

Таким образом, очевидно, что тепловая энергия оказывает мощное влияние на клетку и поэтому имеет большое значение для механической стабильности клетки. Количественное значение тепловой энергии может быть гораздо больше, чем 2 Ккал/Моль. Это необходимо иметь в виду, так как именно высокий уровень энергии является причиной превалирования химических процессов в клетке над другими. Энергия ковалентных связей в клетке составляет в среднем 90 Ккал/Моль, ионных — 80 Ккал/Моль, а водородных всего лишь 4 Ккал/Моль. Тем не менее, если сравнить энергию только лишь одной химической связи с минутным воздействием гравитационной энергии, равной приблизительно 5 Ккал/Моль, принимая во внимание при этом, что внутриклеточный континуум содержит примерно триллион химических связей, то можно легко придти к выводу о колоссальном различии между микромиром клетки и привычным для нас макромиром, в котором доминирует энергия гравитационного поля. Хорошей иллюстрацией мощности и доминантности химической энергии в клетке (в микроскопическом мире) служит феномен мышечного сокращения. Единичная клетка мышечной ткани содержит сотни саркомеров, которые, сокращаясь, преобразуют химическую энергию в механическую. Сила сокращения одного саркомера приблизительно равна $6\cdot 10^{-6}$ дин. По сравнению с этим сила, с которой вес находящейся в жидкости (воде) клетки давит на нее, составит $10^{-7}$ дин. Это означает, что

даже один саркомер может поддерживать клетку на поверхности (на плаву).

Другой доминантной силой в мире клетки, которую мы почти не замечаем в макроскопическом мире, является сила электрического взаимодействия между двумя зарядами Q и q. В самой простой форме это взаимодействие проявляется как «кулоновская сила», которая пропорциональна продуцирующему ее взаимодействию зарядов Q и q. Эта сила увеличивается обратно пропорционально квадрату расстояния $F_{кул}=Qq/r^2$. Следовательно, электрический заряд становится довольно существенной силой на малых расстояниях г, что мы и имеем в клетке. Превалирование влияния электрических полей в микромире клетки зачастую является основной причиной возникновения коллоидов — частиц, размеры которых сильно превышают размеры обычных молекул. Именно взаимное отталкивание одноименных электрических зарядов держит коллоидные частицы на расстоянии друг от друга, вопреки гравитационному притяжению, и позволяет тем самым имитировать свойства истинных растворов во многих отношениях, например, в случае с белковыми растворами. Электрическое отталкивание между макромолекулами настолько велико, что для его нейтрализации требуется приложить гигантские гравитационные силы (центрифугирование при ускорениях 100.000 g и более в течение 1 часа) для осаждения таких белков, как актин или миозин. Отсюда, по-видимому, вытекает, что даже такие гигантские молекулы, как актин и миозин, нечувствительны к гравитации.

Еще одной из заметных сил, которую мы обнаруживаем в мире клетки и которую нельзя выявить в макроскопическом мире, является сила полимеризации. Обычно добавление более одной субъединицы к стабильному полимеру внутри клетки приводит к образованию биологической сетки. Обозначим энергию полимеризации через q. Эта энергия используется для прикрепления конца одного полимера к другому. Так как большинство клеточных полимеров, таких как микротрубочки или микрофиламенты, промежуточные филаменты, толстые нити и другие, удерживаются в связанном состоянии силами Ван-дер-Ваальса, то можно определить (вычислить), что $\Delta q$ составляет от 6 до 30 Ккал/Моль или $0{,}4\cdot10^{-12}$ эрг/связь. Так как размеры субъединиц колеблются в диапазоне 30А ($3\cdot10^{-7}$ см), то эти значения для определенных полимеров будут равны

$$\mathbf{F=0{,}52\cdot10^{-12}/3\cdot10^{-7}=1{,}6\cdot10^{-6}\ дин}$$

что в несколько раз больше веса клетки. Поэтому сила, приложенная только к одной субъединице, в десять раз больше веса всей клетки. Другими словами, присоединение одной субъединицы к полимеру достаточно по затраченной силе для того, чтобы поднять 10 клеток на расстояние длины их диаметра. Предположим, что силы поверхностного натяжения удерживают клетку или разворачивают ее вокруг собственной оси на расстояние радиуса ее поверхности R=0,1 мкм ($10^{-5}$ см). Если даже это очень мощные силы, то они не превышают $F=10^{-4}$ дин. Другими словами, если 30-60 полимеров соединить и заставить их действовать вместе и одновременно, то каждый акт полимеризации будет намного мощнее сил, развиваемых при поверхностном натяжении $F=6\cdot10^{-6}$ дин. В самом общем виде филоподии, соединенные с не менее чем 100 микрофила-ментами, создают такое же напряжение, как силы поверхностного натяжения, и представляют собой цитоскелет клетки.

Цитоплазму, исходя из рассуждений, приведенных выше, можно рассматривать со следующих позиций: как коллоидный раствор свободно плавающих молекул — «цитозоль», как «цитогель», состоящий из плотных полимерных структур, образующих сплошной континуум — цитоскелет, или, наконец, как решетку из гидратированных белков, в ячейках которых находятся ионы малых молекул. Внутри клетки молекулы в основном включены в полимерные структуры (цитоскелет, мембраны), поэтому их окружает крайне неоднородная среда, которая принципиально меняет их поведение по сравнению со свободно реагирующими молекулами, например, в лабораторной пробирке (in vitro). Поэтому, очевидно, в отличие от химического реактора, в клетке скорость большинства реакций не зависит от подвижности реагентов. Предполагается, что вдоль

профиламентов микрофибрилл и микротрубочек распространяются волны flip-переходов, в частности «a-b-димеры», состоящие из "a" и "b" мономеров тубулина, переходят в "b-a" форму и обратно. Двойная спираль ДНК, гигантская полукристаллическая структура, должна обладать особыми свойствами, обеспечивающими распространение по ней волн. Например, локальное плавление (разобщение) пар нуклеотидов может быстро распространяться вдоль двойной спирали ДНК, как пузырек газа в трубке. Не могут ли такие волны использоваться для передачи сигналов внутри клетки? Стоит специально поискать в клетке такие надмолекулярные физические и химические процессы. Физика и химия описывают системы через энергию и пограничные условия. Деятельность биологических систем в значительной степени определяется также информацией. Информационно-зависимые системы не нарушают законов физики и химии, но и не исчерпываются ими. Поэтому, первейшая задача на пути объединения физики, химии и биологии — это понять физические «энергозависимые» системы, как частный случай «информационнозависимых» систем (Albreht-Buechler, 1990).

## Морфофункциональный статус клетки в гравитационном поле

Изучение процессов обмена у самых разных типов клеток показало, что почти все они обладают системой, служащей для переноса тех веществ, которые должны получать из внешней среды.

Проникновение молекул в клетку и выход из нее, а также перенос их из одной части клетки в другую, в основном осуществляется благодаря следующим процессам: простой диффузии, пассивному и активному транспорту через мембраны. Эти процессы протекают в клетке одновременно, противоположно направлены, имеют единую молекулярную основу, но разные конечные цели. Если первые два из них, простая диффузия и пассивный транспорт, не требуют затрат энергии, ведут к уравниванию концентрационных градиентов и, повышая энтропию системы, постепенно приводят ее в равновесие с окружающей средой, то третий — активный транспорт — стремится постоянно поддерживать систему на определенном уровне неравновесного состояния путем создания разности концентраций веществ между клеткой и окружающей средой за счет непрерывной затраты энергии системы.

Работа клетки по созданию концентрационных градиентов и поддержанию динамического равновесия между внутренней и внешней средой или между отдельными компартментами клетки является одной из самых главных задач и требует значительных затрат энергии. Энергией клетка, как и любая биологическая система, «расплачивается» за возможность как можно дольше находиться дальше от равновесной точки и тем самым сохранять относительную независимость от окружающей среды.

Наиболее точно и образно, с нашей точки зрения, эта мысль была высказана недавно В. Я. Александровым (1985): «Живые системы существуют не только благодаря окружающей среде, но и несмотря на ее наличие».

Вместе с тем, диффузия, протекающая с невысокой скоростью в клетке, имеет существенные пространственные ограничения. Максимальное расстояние для эффективной диффузии не должно превышать 1 мм. Только при этом условии диффузия может обеспечить доставку веществ во все регионы клетки с одинаковой вероятностью и скоростью. Таким образом, для эффективной диффузии клетка должна быть офаничена по объему. Отсюда важно, чтобы в процессе роста клетки коэффициент показателя объема к площади поверхности оставался постоянным. При изменении этого показателя в сторону увеличения объема существенно затрудняется транспорт веществ внутри клетки. Другими словами, для обеспечения эффективной диффузии размеры и форма клетки должны быть таковыми, чтобы ни одна точка внутри клетки не была удалена от поверхности мембраны более чем на 1 мм (Farish, 1978). Эти требования, предъявляемые клетке, в природе, как правило, соблюдаются. Средние размеры прокариотических клеток не превышают 1 мкм, а средние размеры подавляющего большинства эукариотов колеблются от 40 до 100 мкм.

Почти во всех случаях соблюдается также принцип соотношения объема поверхности клетки (рис. 1).

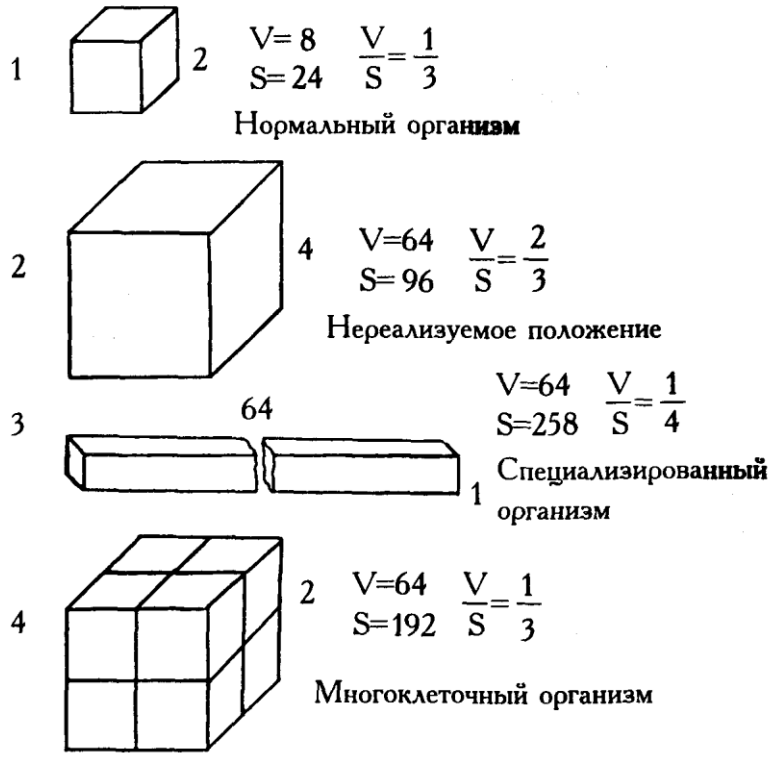


Рис. 1. *Схема, иллюстрирующая обязательность реализации принципа соотношения объема (S) к площади поверхности клетки, необходимого для ее нормального функционирования*

Гравитация имеет постоянную величину и ничтожно малое влияние на расстояниях, соизмеримых с размерами клетки, поэтому она не может конкурировать с другими силами.

Все вышеприведенные аргументы, казалось бы, свидетельствуют о том, что гравитацию вряд ли можно рассматривать как серьезный фактор, способный повлиять на закономерности протекания внутриклеточных процессов. Вместе с тем, при изменении величины или направления силы тяжести возможно косвенное проявление этого фактора на кинетику некоторых внутриклеточных процессов. В частности, наличие силы тяжести является одним из условий агрегации простейших соединений в более сложные. Мел (Mel, 1954) считает, что «в системе, где дискретность движущихся вертикальных потоков поддерживается соответствующим градиентом плотности, существует избирательное движение молекул вдоль гравитационного поля. В этом случае, — продолжает автор, — взаимодействие частиц и среды может привести к объединению молекул в комплексы, которые по своим размерам могут быть чувствительными к гравитации». Кроме того, гравитационнозависимыми могут быть и некоторые физические характеристики клеточных компонентов, такие как вязкость, плотность, размеры. Косвенное влияние силы тяжести может быть связано также с активностью транспортных процессов. Хотя в клетке они в основном обеспечиваются диффузией, однако нельзя скидывать со счетов и гравитационно-опосредованную конвекцию, играющую важную роль, особенно в быстро растущих системах (Kessler, Beer, 1977).

## Клетка как биомеханическая конструкция

Одним из основоположников гравитационной биологии клетки по праву считается Эрнст Поллард. Ему принадлежит ряд теоретических работ, в которых детально рассматриваются

принципиальные вопросы возможного механизма влияния силы тяжести непосредственно на клетку и ее основные компоненты. В ранних работах автора (Pollard, 1965,1968) было показано, что транспорт и последующий синтез основных веществ в бактериальной клетке осуществляется исключительно путем диффузии. Расчеты скоростей синтеза белков, нуклеиновых кислот в рибосомах показали, что в клетках, имеющих малые размеры, случаи столкновения молекул возрастают в очень большой степени. Это означает, что энергия активации молекул тесно связана с концентрацией веществ в данном объеме. Следовательно, для надежной работы бактериальной клетки необходима высокая концентрация молекул на единицу объема. В синтезе белка и нуклеиновых кислот большое значение приобретает скорость теплового движения молекул, обеспечивающая высокую степень их беспорядочного (хаотического) столкновения (random collision) и специфического отбора (specific selection). Процессы столкновения и отбора при определенных константах диффузии являются одинаково важными для обеспечения необходимых скоростей синтеза. Для увеличения вероятности столкновения требуется образование временных, короткоживущих компонентов, которые в свою очередь увеличивают эту вероятность столкновения и синтеза необходимых молекул. Ведущую роль в такого рода процессах играет температура. Исходя из этого, автор делает заключение, что в гравитационной биологии температура должна рассматриваться при расчетах как переменный параметр (Pollard, 1965).

Суть следующей работы Полларда (Pollard, 1968) состоит в том, что для клеток, линейные размеры которых не превышают 1 мкм, влияние силы тяжести на статистическое распределение молекул будет слабым. Это означает, что гравитационные эффекты для прокариотических клеток не имеют практического значения для их функционирования. Вероятно, что для более крупных эукариотических клеток с относительно большими по размерам и плотности органеллами положение будет иным. В этих клетках влияние силы тяжести на распределение крупных органелл, например митохондрий, потенциально может иметь значение. Однако при сравнительных расчетах степени влияния величины силы тяжести на скорость седиментации клеточных компонентов со скоростью конвективного потока в клетке, вызванного различными внутренними или внешними причинами, становится очевидным, что изменение величины этого фактора не может существенным образом повлиять на характер пространственного распределения клеточных органелл в ограниченном объеме цитоплазмы и оказать тем самым непосредственное воздействие на внутриклеточный метаболизм. Более того, теоретический анализ, выполненный автором несколько позже (Pollard, 1971), полностью подтвердил это предположение. Остановимся на этой работе подробнее и приведем расчеты Полларда для обоснования закономерностей распределения молекул, больших и малых, а также клеточных компонентов в гипотетической (идеальной) клетке. Для этого автор использовал известное в статистической механике уравнение Пири, описывающее распределение молекул в газовой среде

$$n / n_0 = e^{-mgh/kT} = e^{-v(p-1)gh/kT},$$

где $n/n_0$) — отношение числа молекул (или органелл) в определенном объеме при высоте h к числу молекул (или органелл) при высоте равной нулю, m — масса, T — абсолютная температура, k — константа Больцмана ($1{,}3810^{16}$ эрг/град.), p — плотность, g — ускорение силы тяжести (9,81 м/сек$^2$), V — объем.

Используя эту формулу, можно показать, что наибольшее значение для скоростей движения частиц в процессе диффузии или конвекции будет иметь высота h, точнее разница высот (или длин) соответствующая длине свободного пробега молекулы, то есть, чем больше эта разница, тем больше расстояние свободного пробега. Тем большее значение для внутриклеточных процессов будет иметь конвекция, а, следовательно, и больше преимуществ перед диффузией. Но при значениях h близких к нулю главенствующую роль в распределении внутриклеточных компонентов будет иметь диффузия.

Скорость диффузии в клетках, имеющих малые (до 1 мкм) размеры, несравненно выше

скорости конвективного потока. Чтобы убедиться в этом, последуем дальше за Поллардом в его теоретических расчетах, используя следующее уравнение $\delta^2=2D^t$, где δ — расстояние для эффективной диффузии, D — константа диффузии, равна $10^{-6}$ см/сек$^2$ , t — время.

Пользуясь приведенным уравнением, можно доказать, что расстояние, равное $10^{-4}$ см или 1 мкм, такая, относительно крупная частица, как рибосома, пройдет за $5\cdot10^{-3}$ сек, т.е. будет диффундировать в клетке с очень большой скоростью (1,2 м/с).

Теперь определим время передвижения для той же рибосомы в клетке, имеющей те же размеры, но уже под действием конвективного потока. Для этого используем уравнение

$$4/3\pi R^3(p-l)g=6\pi\eta/rV$$

где r — радиус рибосомы, p — ее плотность, g — сила тяжести, η — вязкость, 1 — плотность воды.

Подставляя значения этих параметров, мы найдем, что время пробега для рибосомы расстояния в 1 мкм в этом случае будет равно 2 мин, т.е. более чем в 2000 раз медленнее.

Таким образом, в клетках, размеры которых не превышают 1 мкм, процесс конвекции не выдерживает конкуренции с диффузией. Отсюда, совершенно справедливо звучит тезис Полларда о том, что использование прокариотических клеток бесполезно для выявления гравитационных эффектов на клеточном уровне, ибо независимый от силы тяжести процесс диффузии на таких малых расстояниях настолько превосходит направленную седиментацию частиц под действием силы тяжести, что не оставляет места для гравитационных эффектов. Многочисленные эксперименты, проведенные с прокариотическими, в частности, бактериальными клетками в условиях измененной силы тяжести, включая и космический полет, подтверждают эти теоретические расчеты (Парфенов, 1975).

В той же работе Поллардом (Pollard, 1971) было высказано предположение о возможных последствиях действия «гидростатического стресса» (термин автора) непосредственно на базальную мембрану гипотетической клетки при двух различных положениях: при ориентировании клетки перпендикулярно к вектору силы тяжести и при ориентировании ее продольно к нему. Автор считает, что, когда направление вектора силы тяжести совпадает с продольной осью клетки, давление, производимое массой клетки на опору, может привести к деформации ее базальной мембраны. Логика рассуждений Полларда, в принципе, не противоречит теоретическим положениям о возможной деформации мембраны при механических нагрузках. Однако вывод автора нуждается, на наш взгляд, в некоторых уточнениях. Во-первых, величина деформирующего воздействия, обусловленного силой тяжести, будет зависеть от размеров и массы клетки, степени ее подвижности и других характеристик. Во-вторых, как известно, биомембраны представляют собой высокодинамичные структуры, а конформационные изменения, происходящие в мембранах постоянно, являются главным условием их нормального функционирования.

Для количественной оценки значений механических деформаций, вызываемых весом клетки в базальной мембране, нами были произведены расчеты нагрузок на мембрану в зависимости от формы клетки при относительно постоянных ее размерах и массе (Таирбеков, 1987). Согласно этим данным, давление, производимое весом клетки на базальную мембрану, в среднем не превышает $10^4$ дин/см$^2$. Сравнивая эти значения со значениями модуля упругости мембраны — $10^6$-$10^8$ дин/см$^2$ (Пасечник 1980, Evans et al, 1980), можно заключить, что у клеток обычных размеров запас прочности мембраны, по крайней мере, на два порядка величины превышает давление, оказываемое на эту мембрану собственным весом клетки. Однако не следует забывать, что с увеличением линейных размеров и объема клетки эти соотношения будут меняться. То есть при постоянной прочности мембраны масса клетки, а, следовательно, и нагрузки на ее базальную мембрану, будут возрастать.

Обсуждая проблемы биологической физики, Л.А. Блюменфельд (1977) подчеркивает,

что «живые системы представляют собой конструкции, то есть структуры, построенные для выполнения определенных функций. Если бы для описания клетки нам пришлось выбирать между двумя крайними моделями, — продолжает автор, — часовым механизмом и гомогенной химической реакцией в газовой среде, выбор был бы однозначен; клетка несравненно ближе к часовому механизму, чем к чисто статистической системе».

Существование клетки, или ее структурно-функциональную организацию, с нашей точки зрения, следует рассматривать с двух позиций: с одной стороны, клетка представляет собой химический реактор, функционирующий в полном соответствии с законами биологической термодинамики, с другой — это механическая конструкция, которая находится в напряженном состоянии в гравитационном поле вследствие постоянного сопротивления силе тяжести. В обоих случаях для сохранения жизнедеятельности (внутреннего гомеосгаза) клетка нуждается в энергии. Энергия необходима клетке как для сохранения термодинамического равновесия, так и для поддержания механической (структурной) целостности. Работа по созданию и сохранению концентрационных и химических градиентов, безусловно, одна из наиболее энергоемких и значительно превышает затраты энергии на поддержание механической прочности клетки в гравитационном поле. Тем не менее, очевидна и необходимость энергозатрат клетки для достижения ею стабильного пространственного положения — позиционного гомеостаза. Термин «позиционный гомеостаз», введенный в гравитационную биологию Нейсом (Nace, 1983), означает сохранение стабильного положения и оптимальной ориентации клетки в поле силы тяжести. В этой работе автор исходил из того, что функциональное предназначение клетки зачастую диктует ее форму и размеры, которые, в свою очередь, лимитируются силой тяжести. Кроме того, напряженное состояние клетки в поле силы тяжести обусловлено двумя противоположно направленными тенденциями: с одной стороны, клеточные компоненты сильно различаются по своему удельному весу и поэтому асимметрично распределяются в объеме клетки, с другой — наличие в клетке микротрубочек и других сократительных элементов цитоскелета создает противодействие этому явлению и приводит к компартментизации внутриклеточного содержимого. Благодаря этим противодействующим процессам в клетке, находящейся в поле силы тяжести, возникают механические напряжения.

Известно, что нормальная билатеризация большинства типов зародышевых клеток в поле силы тяжести сопровождается такими механическими явлениями, как скручиванием при вращении, сдвигом напряжения и давления, действующими на клетку, которая не имеет еще прочного цитоскелета. В момент установления билатеральности клетка определенным образом ориентируется по отношению вектора силы тяжести, в то время как гравитационные силы, индуцируя и, в дальнейшем, определяя пространственную ориентацию клетки, могут привести к деформации и изменению ее положения в пространстве. Поэтому энергия для поддержания позиционного гомеостаза используется прежде всего на синтез структур, придающих клетке прочность и подвижность (микротрубочек и микрофибрилл), что позволяет клетке, сохраняя структурную целостность, одновременно находиться в определенной, единственно нужной для оптимального взаимодействия с внешней средой, позиции.

Таким образом, механические напряжения, возникающие в клетке в поле силы тяжести, есть результат двух противоположно направленных процессов: пространственной рандомизации внутриклеточных включений и стремления их к седиментации. Степень напряженности клетки в гравитационном поле сильно варьирует в зависимости от ее размеров и количества содержащихся в ней неоднородных по массе внутриклеточных компонентов. Нейсу в той же работе (Nace, 1983) удалось количественно оценить значение напряженности в клетках в зависимости от их размеров. Так, в клетках, имеющих размеры от 6,4 мкм до 30 мм, эти значения колеблются от $2{,}5 \cdot 10^{-13}$ до $8 \cdot 10^{-1}$ дин/см. Следовательно, с увеличением размеров клетки и неоднородности внутриклеточных включений напряженность ее конструкции в поле силы тяжести растет. Одновременно повышаются и

энерготраты. Эффективность энергозатрат можно, в принципе, оценить, поместив клетку (или клетки) в условия измененной силы тяжести (микрогравитации). Если удастся обнаружить и количественно определить степень и глубину изменений в структуре и функциях клетки, то можно было бы оценить, количественно, и энерготраты на перестройку метаболизма.

Изучение механической прочности и стабильности клетки в гравитационном поле требует привлечения ряда теоретических положений и экспериментальных методов, используемых в пограничных дисциплинах: биофизике, биомеханике, молекулярной биологии и других. Известно, например, что морфогенезу с последующей дифференциацией клетки предшествует возникновение в ней химических и биологических градиентов в результате появления во внешней среде неоднородностей, как следствие изменения физических характеристик, в частности, величины силы тяжести (Регирер, Штейн, 1985). Отсюда следует, что изменения, происходящие в окружающей клетку среде, могут привести к нарушению ее пространственной ориентации. Эти вопросы обсуждаются довольно подробно в рамках концепции «позиционной информации». В соответствии с этой концепцией предусматривается получение клеткой в силу присутствия физических полей во внешней среде информации о своем положении относительно окружающей среды (Вольперт, 1970). При изменении параметров физического поля клетка соответствующим образом корректирует свое положение, затрачивая на это определенную энергию. Способ восприятия клеткой этой информации зависит от индивидуальных или групповых характеристик. Такая ситуация, по-видимому, наиболее характерна для одноклеточных свободноживущих организмов или клеток, функционирующих в культуре, средой обитания которых является жидкость или, точнее, граница фаз газ-жидкость. Поэтому, изменение состояния клеток в культуре, или сообщества одноклеточных организмов, темпов их роста, скорости накопления биомассы и других параметров в условиях измененной силы тяжести можно, по-видимому, объяснить изменениями условий культивирования, обеспечивающими их существование, как целостной системы. Вместе с тем, наблюдаемые сдвиги в морфологии и функциональной активности клеток могут бьпъ вызваны нарушением характера взаимодействия отдельно взятой клетки с окружающей средой. Если рассматривать последнее с точки зрения биомеханики клетки, то, безусловно, следует обратить самое серьезное внимание на структуры, ответственные за поддержание механической целостности клетки, а именно, систему мембран и элементов цитоскелета.

## Роль биомембран и элементов цитоскелета в гравиперцепции клетки

Необходимость возникновения на самых ранних этапах биологической эволюции селективной мембраны, ограничивающей клетку от внешнего окружения, диктовалась, прежде всего, тем обстоятельством, что живые системы хотя и должны быть открытыми относительно окружающей среды для обмена с ней веществом и энергией, но эта «открытость» должна быть дифференцированной. Другими словами, мембрана, ограничивающая объем клетки, обязана обладать свойствами, позволяющими ей свободно пропускать одни вещества как во внутрь клетки, так и во внешнюю среду, но быть закрытой для других.

По современным данным биологические мембраны имеют сложную гетерогенную структуру и представляют собой гликофосфолипидньй димер, в который включены агрегаты белковых молекул, определяющие ее основные функции (Кагава, 1985). Биомембрана находится в квазикристаллическом состоянии и по своим механическим свойствам представляет собой вязкоупругое тело, что придает ей динамизм, эластичность и прочность (Глазер, 1988). Исходя из молекулярной организации биомембран, можно сделать ряд предположений относительно ее механических характеристик, главная из которых заключается в том, что, хорошо работая на изгиб, мембрана чрезвычайно чувствительна к растяжению. Образно говоря, биомембрана по своему поведению больше напоминает стальную пластину, чем резиновый шнур. Как было отмечено выше, диапазон

упругости биологической мембраны, оцениваемой модулем Юнга, колеблется от $10^6$ до $10^8$ дин/см$^2$ .

Таким образом, механические свойства, проявляемые мембраной, характеризуют ее как непрерывную структуру. Отсюда следует, что для того, чтобы флуктуации в структуре биомембраны, происходящие вследствие подвижности отдельных молекул, были незначительными, она должна быть составлена из довольно большого числа молекул. Очевидно, что функциональные свойства мембран в некоторой степени будут зависеть от количества молекул, расположенных внутри и на поверхности непрерывного континуума. Поэтому, поверхностные свойства мембран и эффекты внешних сил на мембрану в значительной степени обусловлены состоянием самих мембран, их химическим составом и молекулярной организацией.

Если биомембраны являются, главным образом, инструментом регуляции клеточного метаболизма, то решающая роль в поддержании структурной целостности клетки принадлежит комплексу сократительных элементов, образующих цитоскелет. Роль цитоскелета в обеспечении заданной структуры клетки хорошо изучена и в настоящее время общеизвестна (Фултон, 1985). Цитоскелет определяет форму клетки, ее способность к свободному передвижению, эффективность межклеточных контактов, степень взаимосвязи с субстратом, а также транспорт различных веществ во внутриклеточном объеме (Seagull et al, 1987). С функциональной точки зрения, цитоскелет представляет собой совокупность элементов, ответственных за пространственную организацию клетки, и состоит из трех основных сократительных структур: микротрубочек, микрофиламентов и промежуточных филаментов, содержащих, главным образом, актин, миозин и тубулин. Миозин — это единственный из белков, способный генерировать механическую работу за счет гидролиза АТФ в клетке. Эта реакция универсальна для всех видов биологической подвижности — от сложного акта мышечного сокращения до различных видов подвижности у самых примитивных форм. В ходе эволюции все большее значение цитоскелет приобретает в осуществлении локомоции и сенсорной функции клетки. Как известно, все без исключения свободноплавающие одноклеточные организмы имеют собственный двигательный аппарат, анатомическим выражением которого является жгутик (или реснички, представляющие собой видоизмененные жгутики). Эти структуры непосредственно связаны с сократительными элементами цитоскелега и приводятся в движение вышеназванными белками. Первым и наиболее древним был, очевидно, протон, переносящий белок, — тубулин. Этот белок, вероятно, входил в состав структуры самых древних прокариотов. Эукариоты, унаследовав от них тубулин, добавили к нему ряд новых белков: актин, миозин, динеин и др. (Винников, 1995).

Цитоскелет является чрезвычайно динамичной системой. Структуры цитоскелета способны перестраиваться в течение долей секунды. Даже в стационарном состоянии происходит непрерывный обмен между полимерным комплексом цитоскелета и пулом свободных мономеров. Это относится, в первую очередь, к микротрубочкам и микрофиламентам. В случае с промежуточными филаментами, обмен происходит гораздо медленнее. Динамика перестроек цитоскелета может регулироваться различными факторами: эндогенными (изменением структуры и активности ассоциированных белков, степенью их фосфорилирования, экспрессией генов), а также внешними, физическими или J химическими факторами, способными изменить ход метаболических процессов в клетке. Отсюда, можно ожидать, что изменение величины силы тяжести через те или иные метаболические реакции может влиять на динамику активности актиновых или тубулиновых комплексов. Вместе с тем, если принять во внимание, что цитоскелет — это эластичный каркас клетки, то есть основание считать, что сила тяжести может оказывать на эти структуры непосредственное механическое давление. Наиболее явственно прямое влияние силы тяжести будут ощущать клетки, развивающиеся на твердом субстрате в культуре in vitro.

Таким образом, определенная область клетки, окруженная мембранами и сократительными структурами цитоскелета, может выполнять роль рецептора физических сигналов, поступающих из внешней среды. В частности, была выявлена высокая чувствительность этой области клетки к звуковым раздражителям. Этот пример показывает, что альтерация механического состояния микротрубочек, в частности, их возбуждение под действием факторов внешней среды, может быть трансформирована на мембраны и стать причиной изменения их структурно-функционального состояния. Цитоскелет во многих случаях может выполнять роль гравирецептора (Таирбеков, 1988; Mesland, 1992). Предполагается, что гравитационные «возмущения» в результате неоднократных обратимых деформаций могут привести к перестройкам цитоскелета и тем самым воздействовать на функциональную активность клетки и, в итоге, к появлению изменений приспособительного характера. В частности, такие изменения могут иметь место в динамике и скорости клеточного деления, двигательной активности или даже в форме и размерах клетки.

Если рассматривать клетку как однородное тело, то в этом случае, находясь в жидкой среде, она не испытывает деформирующего влияния силы тяжести. Однако клетка имеет гетерогенную структуру, включает большое количество элементов, сильно различающихся по размерам и массе, среди которых, в первую очередь, следует назвать ядро, плотность которого в 1,5 раза превышает плотность цитоплазмы. Поддержание нормального положения ядра в клетке имеет большое значение для реализации «алгоритма» клеточного деления и представляет одно из главных условий «позиционного гомеостаза». Более того, полученные ранее экспериментальные данные (Bershadsky, Vasilev, 1988) дают основание утверждать, что ядро может содержать структуры очень сходные, или даже идентичные цитоплазматическим элементам цитоскелета. В частности, в ядрах некоторых типов клеток обнаружен полимеризированный или неполимеризированный актин, входящий в состав нуклеоцитоскелета. Однако взаимосвязь его с элементами цитоплазматического цитоскелета остается невыясненной.

Процессы морфогенеза, включая и эмбриогенез, сопровождаются различными механическими движениями на разных структурных уровнях. Клеточные движения вызываются возникновением как активных сил в самой клетке, так и сил взаимодействия клетки с факторами окружающей среды. При этом в напряженном состоянии находятся элементы, образующие цитоскелет. Механические силы могут не только осуществлять и контролировать локомоторные функции клетки, но и выступать в качестве регулятора внутриклеточного метаболизма. Следовательно, механохимическая система клетки по своей природе и молекулярной организации может обеспечивать протекание авторегуляторных, сопряженных с деформацией процессов по принципу обратной связи (Таирбеков, 1990).

## Форма клетки как регулятор ее функционального состояния

Для клеток в культуре можно назвать следующие три морфогенетические состояния, определяющие их форму: сферическое — при нахождении в жидкости (это состояние в основном характерно для одноклеточных свободноплавающих организмов), поляризованное — при неодинаковом распределении массы внутриклеточного содержимого (что присуще, главным образом, зародышевым клеткам амфибий, птиц и земноводных) и радиально распластанное, для клеток, развивающихся на твердом субстрате в лабораторных условиях. Переход клетки из одного состояния в другое и перемещение по субстрату является результатом последовательных морфогенетических движений, которые описываются с учетом полей напряжения внутри и вне клетки. В ходе этих трансформаций изменяется и форма клеток (Регирер, Штейн, 1985).

Взаимоотношение между формой клетки и ее функциональным состоянием — одна из кардинальных проблем современной клеточной биологии. Эта проблема имеет самое непосредственное отношение к обсуждаемой нами теме. Еще Д'Арси Томсон, один из

основоположников гравитационной биологии, считал, что разработка данной темы даст значительный толчок в понимании фундаментальных проблем взаимодействия клетки с силой тяжести (D.Thompson, 1966).

За последнее время накопилось несколько сотен публикаций, объясняющих накопленный экспериментальный материал, относящийся к проблеме взаимосвязи формы и функциональной активности клетки. Основные теоретические положения по данной теме систематизированы в книге «Форма клетки» (Cell Shape, 1989), где собраны статьи различных ведущих специалистов, объясняющие тонкие механизмы регуляции функциональной активности клетки особенностью их формы. В монографии рассматриваются основные факторы (внешние и внутренние), которые могут определять форму клетки, значение физических и механических констант (в том числе и силы тяжести) для молекулярных механизмов, обеспечивающих взаимосвязь между формой клетки и ее функциональным состоянием.

Итак, может - ли форма клетки определять ее функции, и если да, то каким образом это достигается? Ингберг и Фолькман (lngberg, Folkmann, 1989) в статье, озаглавленной «Напряжение и сжатие как основные факторы, определяющие форму клетки и ее функции», пытаются ответить на этот вопрос, анализируя механизм детерминации клеточной формы. По их мнению, напряжения в клетке могут возникать в результате либо взаимодействия сил, генерированных деятельностью внутриклеточных сократительных элементов цитоскелета, либо внешних сил. Для выяснения этого вопроса авторы сконструировали специальную трехмерную модель клетки с целью анализа роли механических сил в процессе модификации формы клетки. Клеточные модели, предложенные Ингбергом и Фолькманом, содержат различные типы взаимосвязанных элементов клетки, находящихся в напряженном состоянии и обеспечивающих стабильность таких типов архитектурной системы, и вследствие этого определяющих форму клетки. Авторы предполагают, что рост клеток — формозависимый процесс. Эта гипотеза основана на факте, что акт деления клетки, развивающейся на твердой среде, требует большего, чем контакт с субстратом. Клетка в этом случае должна быть распластана и изменить свою форму, и только после этого перейти к первой фазе деления.

Как было отмечено ранее теми же авторами (lngberg, Folkmann, 1989), синтез ДНК увеличивается экспоненциально в ответ на линейное увеличение проекции клетки и области, занимаемой ядром. Другой аспект метаболизма ядра, такой, как синтез РНК и репликация ДНК, регулируется также путем изменения клеточной конфигурации, хотя цитоплазматические функции, такие, как синтез белка и ци-топлазматической РНК, контролируются независимо от формы клетки. Механические силы, как биологический регулятор, играют очень важную роль в процессах роста клетки. Показано (Oster, 1989), что метаболизм сильно различающихся между собой типов клеток зависит от сходных причин, в основе которых лежит механическое напряжение. Есть прямые экспериментальные доказательства влияния механических сил на клетку, обусловленных изменением напряженности гравитационного поля. В частности, показано (Cogoli, 1987), что в условиях микрогравитации (космический полет) происходит резкое снижение метаболической активности лейкоцитов, развивающихся в культуре (in vivo), коррелирующее с изменением формы клеток. Отсюда важную роль играет форма клетки, как регулятор ее функциональной активности.

Таким образом, исследования с клеточными моделями позволили сделать заключение о том, что регуляторные функции в клетке могут выполнять механохимические механизмы посредством изменения формы клетки. Другими словами, изменение напряженности внутриклеточных элементов может привести к изменению активности метаболизма клетки. В этом случае физический стимул воспринимается специальными рецепторами, расположенными на поверхности клетки. Наличие непрерывной структурной целостности элементов, обеспечивающее механизм передачи сигналов от поверхности клетки в область ядра и от ядра к поверхности клетки, способствует непосредственной и немедленной

передаче информации между цитоплазмой и ядром. Это, в свою очередь, вызывает изменения в процессах, происходящих в клетке.

Физические и химические процессы, которые управляют локомоцией клетки, так же, как и координирующие поддержание и пространственное распределение клеточных структур, очень сложны и разнообразны. Эти процессы имеют значение особенно на ранних этапах развития и представляют несомненный интерес для биологии развития. В этом направлении наиболее актуальной проблемой, стоящей перед специалистами, является объяснение закономерностей взаимосвязи между формой клетки, морфогенезом и процессами метаболизма.

Процесс образования тканей генерируется активностью межклеточных контактов (Avizi Ben-Zeev, 1989). Автор изучал принцип организации цитоскелета и роль сократительных белков. Главное направление работ — это определение элементов белков цитоскелета, участвующих в поддержании формы и подвижности клетки. На основании проведенных исследований было сделано предположение, что трансмембранные связи элементов цитоскелета, наряду с возникновением межклеточных контактов, являются необходимым условием для роста клетки. В этом процессе главенствующую роль играют трансмембранные белки-рецепторы.

## Вероятные механизмы восприятия и реализации гравитационного стимула в клетке

Подавляющее большинство живых организмов выработало в ходе эволюционного развития специальные приспособления, воспринимающие гравитационный стимул, и физиологические реакции для реализации этого стимула — гравирецепторные механизмы. Одной из наиболее важных и, в то же время, сложных задач современной гравитационной биологии является познание механизмов гравирецепции в биосистемах.

Очевидно, в связи с этим, одной из актуальных проблем является выявление и изучение клеточных и молекулярных механизмов восприятия и реализации гравитационного стимула. Кардинальными в этой проблеме следует считать вопросы классификации сенсоров гравитации и расшифровки особенностей их функционирования. Наше внимание было сосредоточено на следующих вопросах: во-первых, на изучении клеточных и молекулярных механизмов явления геотропизма у растений, во-вторых, на выявлении роли и систем внутриклеточной сигнализации и межклеточных контактов в восприятии, передаче и реализации гравитационного стимула, в-третьих, на установлении закономерностей распределения и поведения свободноплавающих одноклеточных организмов в гравитационном поле, и, в-четвертых, на объяснении приспособительных механизмов, позволяющих клеткам, развивающимся в культуре на твердом субстрате, воспринимать и реализовывать гравитационный импульс.

Все перечисленные вопросы будут рассмотрены нами с позиций структуры и функционального состояния клеток, в первую очередь, специализированных и неспециализированных гравирецепторов, морфофизиологические параметры которых в процессе длительной эволюции адаптировались к функционированию в поле силы тяжести Земли.

## Механизмы гравирецепции в растительной клетке

У растений существует эволюционно закрепленный комплекс реакций, объединенный под общим названием явления геотропизма. Под геотропизмом понимают физиологическую реакцию растений на действие силы тяжести, проявляющуюся в ростовых движениях. Внешне эта реакция выражается в изгибе осевых органов растения, совпадающая с направлением вектора гравитации (корни) и противоположная этому направлению (стебли). В первом случае принято говорить о положительном геотропизме, во втором — об отрицательном.

Понятие геотропической реакции у растений включает различные последовательно протекающие фазы: раздражение, возбуждение, передачу гравитационного стимула и его реализацию, в результате которой происходит изгиб органа (Таирбеков, Парфенов, 1978). В общем виде геотропическая реакция у растений представляет собой следующую цепь последовательных событий: геотропический стимул воспринимается специальной группой клеток — статенхимой, расположенной в центре корневого чехлика, и трансформируется в физиологический импульс — перцепция силы тяжести. Это, в свою очередь, служит предварительным условием для направленного (ориентированного) роста корня. Анатомические особенности строения статенхимы придают ее клеткам форму вращающегося параболоида, где каждая клетка аранжирована в плоскости радиальной симметрии. Гравирецепторные клетки — статоциты — строго поляризованы, а специфика распределения внутриклеточных органелл является структурной основой восприятия силы тяжести. Эти клетки различаются и по ультраструктурной организации (Sievers, Volkmann, 1972, 1977, a,b). Если в меристематических клетках ядро занимает, как правило, центральное положение, а окружающие ядро органеллы не проявляют специфической ориентации, то в статоцитах эмбриональная ось уже в первые сутки после прорастания семян ориентируется в направлении гравитационного вектора. Одновременно с этим, внутри клеток возникает поляризация в пространственном распределении клеточных органелл. Ядро, в подавляющем большинстве случаев, локализуется недалеко от проксимального конца клетки. Ближе к дистальному концу клетки располагаются многочисленные пластинки гладкого эндоплазматиче-ского ретикулума, под которыми находятся амилопласты. Другие клеточные органеллы: митохондрии, диктиосомы и мелкие вакуоли, как правило, не участвующие в геотропической реакции, распределяются как в обычных меристематических клетках. Микротрубочки и другие элементы цитоскелета локализуются поближе к плазмалемме. Благодаря параболической форме статоцитов, периклинальные стенки каждой из них образуют угол 55-60$^0$ с клетками меристемы корневого чехлика (Sievers et al, 1976).

В период нормальной ориентации корня в вертикальном положении, совпадающим с направлением вектора силы тяжести, амилопласты, осаждаясь на дистально расположенный комплекс эндоплазматического ретикулума (ЭР), оказывают постоянное давление на мембраны, что и является физическим сигналом для непрерывного роста корня. Такая ситуация сохраняется во всех статоцитах, где производимое амилопластами давление на комплекс ЭР распределяется равномерно по всей клетке. Однако малейшее отклонение от перпендикуляра, совпадающего с направлением вектора гравитации, вызывает нарушение этого равновесия. Инициируемое изменением направления вектора силы тяжести нарушение симметрии в расстановке клеточных органелл в статоцитах и представляет собой первичную стадию изгиба корня (Perbal, 1978; Perbal et al, 1978,1983,1984,1990).

Осаждение амилопластов является лишь предварительным «событием» в возникновении геотропической реакции. Как известно, скорость и дальнейшее развитие этой реакции связаны с транспортом ростовых гормонов (ауксинов) от места их синтеза к центру роста корня. Два основных химических соединения принимают непосредственное участие в реакциях растений, вызванных геостимулом: индолилуксусная кислота (ИУК) и абсцизовая кислота (АБК). «Игрой» этих двух гормонов и регулируются, в конечном счете, физиологические процессы, управляющие геотропической реакцией. Дело в том, что деятельность этих гормонов диаметрально противоположна не только по направлению движения (транспорт ИУК в клетке происходит всегда снизу вверх — акропитально, а АБК сверху вниз — базипитально), но и по принципу действия. ИУК и ее производные являются стимуляторами ростовых процессов, тогда как АБК — типичный ингибитор. Изучению роли ростовых гормонов в геотропической реакции у растений посвящены работы Pilet (1982,1983, 1984).

Таким образом, гравитационнозависимый изгиб осевых органов растения

рассматривается как цепь строго последовательных событий. Как уже было сказано, первичный гравистимул, возникший в результате непосредственного воздействия силы тяжести на клетки статенхимы, индуцирует серию механических актов, в результате чего изменяется ультраструктурная топография статоцитов. Одновременно происходят изменения и на уровне мембран: нарушается проницаемость мембран ЭР для ионов, главным образом $Ca^{++}$, происходит их деполяризация. Однако все эти изменения носят обратимый характер и в процессе дальнейшего роста восстанавливаются (Таирбеков, 1987).

Современный взгляд на механизм восприятия и реализации гравитационного стимула на растительный организм есть, по сути дела, результат синтеза и дальнейшего совершенствования двух основополагающих гипотез — «статолитной» (механической), предложенной в начале века Геберландом и Немецем (Heberland, 1900; Nemec, 1902), и «ауксиновой» (гормональной), сформулированной несколько позже Холодным и Вентом (Холодный, 1922; Went, 1928). В основе этих гипотез лежит клеточный механизм, объясняющий явление геотропического изгиба осевых органов растения активным перераспределением активных компонентов клетки в ответ на гравитационный стимул.

Вместе с тем, долгое время оставался невыясненным центральный вопрос в интепретации механизма геотропической реакции у растений — каким образом физический сигнал гравитационного поля трансформируется в физиологический импульс, вызывающий, в свою очередь, перестройку метаболических процессов в клетке и формирующих ответную реакцию? Хотя к настоящему времени имеется относительно полное представление о механизме пространственной ориентации растений в поле силы тяжести, ряд элементов в развитии геотропизма требует уточнения.

Очевидно, что взаимодействие амилопластов с мембранами ЭР в процессе их седиментации под действием силы тяжести служит пусковым механизмом (триггером) геотропической реакции в клетке. Одним из важных следствий этого акта является экскреция связанного с мембранами ионов $Ca^{++}$ в цитоплазму. Как было показано (Hensel, Sievers, 1983; Buckhort, 1983), увеличение концентрации $Ca^{++}$ в цитоплазме вызывает довольно быструю деполяризацию мембраны.

За последние годы собраны многочисленные факты, которые свидетельствуют о том, что характер распределение ионов $Ca^{++}$ в клетке играет определяющую роль в процессах роста и метаболической активности (Edwards, 1985; Evans, Hesenstein, 1985; Moore, 1985; Stiwemetz, Evans, 1985; Roux, Danwalder, 1985; Evans et al, 1992). Эти данные показывают, что основным следствием изменения концентрационных градиентов ионов $Ca^{++}$ в клетке является перераспределение производного ростового гормона ИУК, что, в свою очередь, ведет к изменению роста клетки.

На основании анализа данных, имеющихся в литературе, и результатов собственных исследований нами сформулирована рабочая гипотеза, предусматривающая общий механизм и последовательность приспособительных реакций, протекающих в гравирецепторных клетках в процессе восприятия и реализации гравитационного стимула у растений. Согласно этой гипотезе, самые начальные этапы сложного и многоступенчатого механизма реализации гравитационного стимула у растений осуществляются на уровне мембран по следующей схеме: при изменении положения клеточных органелл в момент получения гравитационного стимула их давление на мембраны ЭР вызывает обратимые конфигурационные изменения в мембранах, что, в свою очередь, ведет к неравномерному распределению активных физиологических соединений в клетке, в том числе ростовых гормонов. В результате в определенных участках клетки активизируется рост, интенсифицируется растяжение клеточной стенки. Это неизбежно приводит к неравномерному росту клетки и, как результат, к изгибу органа (корня или колеоптиля) проростка. Как было показано нами, степень и скорость, с которой протекают стимулированные силой тяжести ростовые процессы, зависят, прежде всего, от активности метаболизма клетки, обусловленного молекулярными процессами на уровне мембран.

## Роль систем внутриклеточной сигнализации и межклеточных контактов в проведении гравитационного импульса

Вместе с тем, большинство свободноплавающих и пассивно распределенных в воде одноклеточных организмов (in vivo), а также клетки, развивающиеся в культуре: в жидкой среде или на твердом субстрате (in vitro) — не имеют специализированных гравирецепторов. Каковы же в этих случаях механизмы передачи информации об изменениях величины и направления гравитационного стимула в клетке? Учитывая определяющую роль мембран в регуляции клеточного метаболизма, основное внимание следует уделить передаче сигнала от внешней клеточной мембраны к цитоплазматическим структурам в ответ на связывание гормонов и других медиаторов. При этом можно четко проследить прямую связь между действием механического стимула и изменением метаболической активности клетки. В большинстве случаев мембранные структуры, взаимодействуя с элементами цитоскелета, выполняют функции механорецепторов. При этом любой механорецептор, в том числе и гравирецептор, представляет собой динамический преобразователь энергии, трансформирующий механический импульс в химическую энергию метаболизма клетки и оказывающий тем самым воздействие на эти процессы (Черниговский с соавт., 1977). Именно в сочетании с сократительными элементами цитоскелета, мембраны успешно осуществляют регуляторные и рецепторные функции в клетке.

Теоретические и экспериментальные исследования, выполненные в последнее время, показали, что вариации в величине и направлении гравистимула четко коррелируют с чувствительностью молекулярных механизмов в системе внутриклеточной сигнализации. Так, например, при измерении одиночных каналов фосфолипидной (искусственной) мембраны было показано (Schatz et al, 1990, 1992), что в зависимости от того, в каком положении находится мембрана: горизонтальном или вертикальном — обнаруживается 20%-ная разница в толщине ионных каналов. Исследования на нервно-мышечных препаратах лягушки выявили, что в условиях скомпенсированной силы тяжести (клиностатирование) заметно снижается активность взаимодействия нейрона с миоцитом (Gruener, Hoegel, 1990, 1991). Исходя из этого, авторы считают, что факторы космического полета (в частности, микрогравитация) могут наложить запрет на процессы синаптогенеза, что, в свою очередь, приведет к блокированию ацетилхолинового рецептора и тем самым существенно повлияет на проведение нервного импульса. Убедительные доказательства участия цитоскелета в трансформации сигналов гравитационного стимула во внутриклеточном континууме на разных типах клеток представлены в работе Cipriano (1991).

Как известно, гравитационное поле является источником очень слабых сигналов в биологических системах такого уровня, как клетка. Для того, чтобы эти сигналы были восприняты клеткой и были транслоцированы на внутриклеточные комплексы, они (эти сигналы) должны быть многократно усилены и отфильтрованы. А для этого в клетке должны существовать механизмы, способные специфическим образом усиливать слабые сигналы, поступающие из окружающей среды, накапливать их в клетке и выводить на более высокий уровень, превышающий, по крайней мере, уровень «шума».

Такое усиление сигнала (амплификация) может быть достигнуто при выполнении ряда условий: во-первых, при фокусировании — аккумуляции сигналов одного и того же типа в небольшой точке («пятнышке»), сравнимой по размерам с точкой сфокусированного светового луча. Такая возможность рассматривается в работах Месланда (Mesland, 1990,1992). Автор считает, что гравитационное возмущение, несущее очень незначительное количество энергии (около 40 кал.) с помощью фокусирования на мембране может быть усилено почти в 60 раз, что существенно превысит уровень «шума». Далее автор приводит доказательства того, что энергия, сфокусированная в определенной точке клеточного континуума, может достигнуть довольно большой величины, достаточной, например, для полимеризации белковых мономеров в локальном участке клетки. Однако для этого

необходимо выполнение второго условия, а именно, совпадение по времени процесса фокусирования с переходными состояниями в клетке, которые сами по себе чрезвычайно чувствительны к воздействиям факторов внешней среды. Считается, что длительность переходных процессов (их временной период) может сильно различаться в зависимости от напряженности гравитационного поля. Эти так называемые «временные окна» повышенной гравитационной чувствительности могут составлять в условиях микро-гравитации от нескольких минут до часа, тогда как при нормальной силе тяжести их временной период не превышает нескольких секунд.

Третье вероятное условие для передачи функционально значимого гравитационного стимула — случайные бифуркации (возмущения) в системе (Konde-pudi, 1992). Вполне естественно, что эти возмущения также способны импрегнировать (усиливать) слабые сигналы, поступающие в клетку извне. А действуя многократно в одной и той же точке, они способны вызывать весьма заметные перестройки в молекулярной организации элементов цитоскелета, стимулируя тем самым изменения в морфофункциональном статусе клетки.

Существующие на сегодняшний день теоретические предположения о возможности прямого (непосредственного) воздействия силы тяжести на клетку, по сути дела, основаны на правилах, описывающих клетку как неспециализированный гравирецептор (Nace, 1983; Mesland, 1990; Tairbekov, 1992).

С нашей точки зрения воздействие силы тяжести — гравистимул в данном случае — воспринимается комплексом внутриклеточных структур (цитоскелет, ядро, пластиды, митохондрии), а изменение пространственного расположения этих органелл в клетке и их контактного взаимодействия приводит к сдвигу энергетического пула и алгоритма метаболических процессов. В качестве «биологической антенны» в этом случае выступают механорецепторы, расположенные на поверхности внешней мембраны. Возможные комбинации взаимодействия внутриклеточных элементов в процессе восприятия и реализации гравитационного стимула в схематическом виде представлены на рис. 2.

## Закономерности распределения и поведение одноклеточных организмов в гравитационном поле

Функционирование одноклеточных организмов, динамика роста и особенности их распределения в среде в условиях нормальной и измененной силы тяжести представляют не только теоретический интерес, но и требуют самого пристального внимания специалистов, решающих практические задачи космической биологии и медицины.

Остановимся на основных теоретических положениях данной проблемы, рассмотрим закономерности распределения одноклеточных организмов и их взаимосвязь со средой в гравитационном поле Земли. Как известно, значение силы тяжести определяет вес среды и величину ее гидростатического давления. Величина гидростатического давления воды при нормальной силе тяжести (1 g) равна величине атмосферного давления ($10^5$ Н/м$^2$ ) на глубине 10 м, а при увеличении силы тяжести в n раз, возрастает на n (10 Н/м$^2$ ).

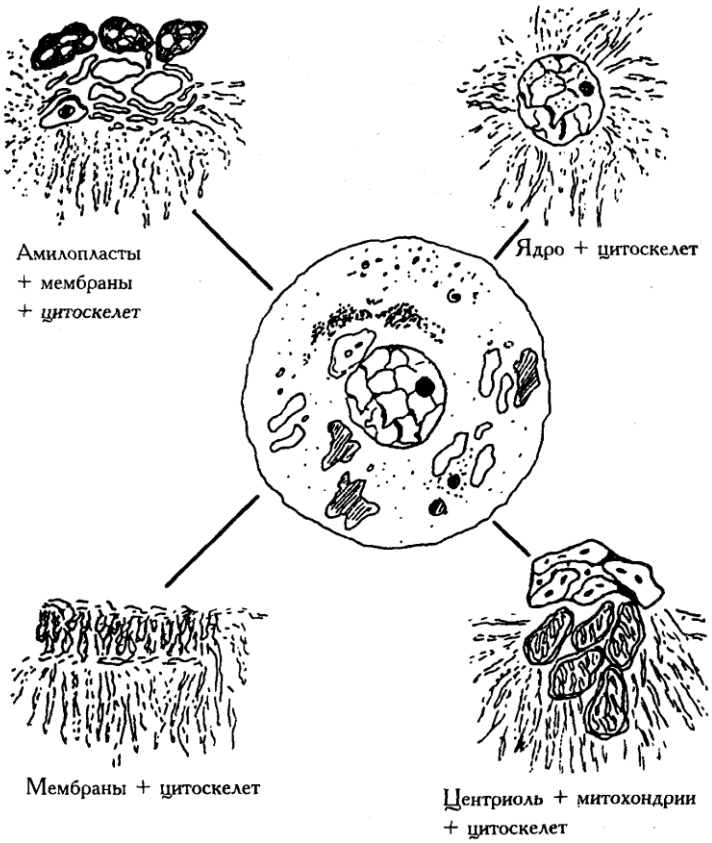


Рис. 2. *Комплексы внутриклеточных структур, принимающих участие в процессе восприятия и реализации гравитационного стимула*

Аэробные организмы, к которым относится подавляющее большинство одноклеточных, в природных условиях, как правило, располагаются в поверхностных слоях жидкости, образуя планктон на глубине не более нескольких сантиметров. Поэтому, изменение гидростатического давления, зависящего от силы тяжести, не влияет на жизнедеятельность этих организмов, так как не изменяет физические свойства среды их обитания. Отсюда можно предположить, что влияние силы тяжести на индивидуальную клетку, находящуюся в воде, не будет иметь существенного значения для функционирования этой клетки, так как ее плотность обычно несколько выше плотности воды. Изменение величины силы тяжести приводит к появлению разности между величиной гидростатического давления, действующего на клетку извне, и внутренним давлением, зависящим от плотности цитоплазмы и размеров клетки. Эта разница в давлениях оказывает непосредственное влияние на клеточную мембрану. Максимальная разность гидростатических давлений (p) определяется произведением разности плотностей клетки (Δp) и среды, длины клетки (L) и ускорением силы тяжести и выражается формулой

$$\mathbf{p}=(p_{кл.}-p_{ср.})\cdot \mathbf{Lg}$$

Например, для тетрахимены *(Tetmhymena pyriformis),* имеющей размер около 50 мкм, эта разница будет составлять $3{,}8\cdot10^{-6}$ Н/м$^2$. Давление на клетку, которое создается силой сопротивления среды движущемуся в этой среде организму, может быть вычислено по формуле:

$$\mathbf{P_{const}F_c/S}$$

где $F_c$ — стоксовская сила (если рассматривать переместительный компонент движения), а S — площадь поперечного сечения или $F_{\pi P\eta}V$ , где R — радиус поперечного сечения, η — динамическая вязкость среды, V — скорость перемещения или переместительного движения клетки. Для клеток тетрахимены стоксовская сила ($F_c$ будет равна $2{,}6.10^{-7}$ Н, тогда как сила сопротивления среды на клетку равна $8{,}6\cdot10^{-1}$ Н, то есть на шесть порядков

величины ($10^6$) будет превышать давление на мембрану, вызванное разностью гидростатических давлений среды и клетки.

В опытах Китчинга (Kitching, 1957) различные представители одноклеточных организмов кратковременно экспонировались при относительно высоких гидростатических давлениях. При повышении давления на 10 атм. наблюдалось снижение активности движения. В частности, деформация клеток *T. pyriformis* наступала при давлениях 40 атм. Характер движения большинства одноклеточных организмов класса Ciliata и Flagellata имеет спиралевидную форму. На плавающее по спирали тело действует несколько сил: сила тяжести, приложенная к центру масс клетки, выталкивающая сила (сила Архимеда), приложенная к геометрическому центру клетки, и моторная сила. Если клетка имеет равномерную плотность по всему объему, то сила тяжести и Архимедова сила будут приложены к одной точке, то есть центр тяжести будет совпадать с геометрическим центром тела. Равнодействующей силе тяжести и выталкивающей силе является вес клетки в среде. В таком случае, именно вес клетки будет определять скорость ее седиментации в данной среде и уравновешиваться силой сопротивления среды по формуле

$$\mathbf{F=kV,}$$

где k — коэффициент, определяемый формой клетки и вязкостью среды, V — скорость седиментации.

Моторная сила имеет три взаимоперпендикулярных компонента: переместительный, определяемый поступательным движением клетки, центростремительный и компонент, который можно назвать тягой вращения, уравновешивающий силу сопротивления вращающемуся движению клетки. Для того, чтобы оценить вклад веса клетки в ее поступательное движение, необходимо сравнить силу сопротивления среды этому движению с величиной веса клетки в той же среде. Разберем это на примере уже знакомой нам клетки *T. pyriformis*. Тетрахимена предположительно имеет форму шара, радиус которого есть среднее арифметическое между длиной клетки и ее шириной. В этом случае $F_w = V_{T\Delta pg}$, где $F_w$ — вес клетки, $V_T$ — ее объем, Δр — разность плотностей клетки и среды, g — ускорение силы тяжести.

Получаем для конкретного случая с тетрахименой $F_w$=l,12·$10^{-11}$ дин. Сравним это значение со значением силы сопротивления среды, где F=2,6·$10^{-7}$ дин. Как видно из приведенных результатов, сила сопротивления среды движущейся клетке более чем на 4 порядка величины ($10^4$) превосходит силу, создаваемую весом клетки. Следовательно, вклад силы тяжести в поступательное движение клетки незначителен. Отсюда можно сделать вывод, что скорость движения клетки в среде и энергозатраты на сам процесс поступательного движения клетки в среде зависят, в первую очередь, от силы сопротивления среды. Значение силы тяжести во вращательном движении клетки, без учета силы сопротивления среды, не влияет на характер поступательного движения клетки, так как вклад силы тяжести в этих условиях почти равен нулю, и клетка в этом случае будет двигаться без изменения своей ориентации.

В обзорной статье Вине и Жана (Winet, Jahn, 1974) приведены данные большого количества экспериментальных работ, в которых были измерены скорости седиментации различных видов одноклеточных, типа инфузорий, под действием силы тяжести. Судя по этим данным, скорость осаждения парамеции *(Paramecium caudatum)* равна 1/7 от скорости ее поступательного движения, а тетрахимены (*Tetrahymena pyriformis)* — 1/28. По данным Фукуи и Азаи (Fucui, Asai, 1980), скорость движения инфузории *Paramecium caudatum* по направлению вниз составляет лишь от 0,13 до 0,51 от скорости движения клетки вверх.

Если установившаяся седиментация определяется формулой Стокса, то увеличение силы тяжести в n раз должно привести к увеличению скорости седиментации во столько же раз. В этом случае отсутствие силы тяжести (невесомость) должно привести к отсутствию седиментации в среде.

Из приведенных данных следует, что процесс седиментации клеток под действием силы

тяжести может иметь практическое значение при движении клеток в вертикальном направлении, а также может быть причиной изменения траектории движения клеток в среде. Одним из главных факторов, определяющих поведение одноклеточных организмов в среде, можно назвать проявление ими различного рода таксисов, в частности, ориентацию в поле силы тяжести — геотаксис. Сущность проявления различного рода таксисов у свободножи-вущих и активноплавающих одноклеточных организмов, причины возникновения этого феномена и его механизмы наиболее полно изложены в работе Кунжницкого (Kunznicki, 1968). Хотя подавляющее большинство одноклеточных свободноплавающих организмов проявляют отрицательный геотаксис, тем не менее в ряде случаев этот ярко выраженный феномен, в частности, у инфузорий, может быть ослаблен или изменен благодаря наличию сопутствующих физических или химических факторов, которые в зависимости от их природы действуют как атрактанты или репелленты, вызывая соответственную положительную или отрицательную реакции движения у клетки. Так, например, парамеции, имеющие четко выраженный отрицательный геотаксис, проявляют зачастую и отрицательный фототаксис, сосредотачиваясь на дне сосуда при ярком освещении (Fox, 1925). Весьма разнообразно отношение инфузорий и других одноклеточных также к химическим соединениям. В частности, $CO_2$ и NO являются для инфузорий репеллентами, а пониженные концентрации $O_2$ вызывают снижение двигательной активности (Швирст с соавт., 1984).

По мнению Робертса (Roberts, 1970), отрицательный геотаксис является одной из причин вертикальной ориентации клетки и зависит от следующих параметров: скорости плавания клетки — u, скорости седиментации — v, мгновенной гравитационно-зависимой угловой скорости — β и среднего времени реориентации клетки в среде — z. Автор экспериментально доказал, что при $\beta z/z_1 > V/u$, одноклеточный организм проявляет отрицательный геотаксис, а в случае $\beta z/z_1 < V/u$, клетки опускаются на дно сосуда. Эти данные свидетельствуют о том, что отрицательный геотаксис у одноклеточных в некоторых случаях может измениться на положительный. Многочисленные эксперименты, выполненные Кунжницким (Kunznicki, 1968), на иммобилизованных клетках парамеций, отличающихся по форме и размерам, показали, что клетки в процессе седиментации ориентируются различным образом со слабым преобладанием того или иного положения. На этом основании автор приходит к выводу, что ориентация одноклеточных организмов происходит пассивно.

Фукуи и Азаи (Fucui, Asai, 1980) на основании собственных исследований с различными типами одноклеточных в модельных экспериментах, имитирующих поведение одноклеточных, приходят к выводу, что условием, определяющим ориентацию клетки, является разность плотностей между ее полярными концами. Так как в большинстве случаев задний конец тела простейшего одноклеточного организма тяжелее, чем передний, это и определяет его положение.

Вине и Джан (Winet, Jahn, 1974) предложили свою модель геотаксиса у инфузорий. Эта модель движения пространственно может быть описана эллипсом, центр масс которого одновременно является геометрическим центром фигуры, а точка приложения результирующей силы, движущей клетку, расположена впереди центра масс. Клетка седиментирует под действием силы тяжести, а сопротивление среды осаждению клетки выступает как противоположно направленное усилие при вращательном движении клетки вниз и как вспомогательное одинаково направленное движение вверх. Сопротивление среды седиментации передается на реснички, увеличивая тем самым их усилия при подъеме (движении вверх) и уменьшая при спуске (движение вниз).Таким образом генерируется подъемная сила. Однако по мнению других исследователей (Nowakowska, Grebecki, 1977; Fucui, Asai, 1980), предложенная модель не является универсальной и может быть приложена только к поведению жгутиковых (Flagellata). В одной из работ (Bean, 1977), где изучалась реакция геотаксиса у фотосинтезирую-щих мутантов хламидомонады *(Chlamydomonas reinhardii),* было показано, что клетки способны осуществлять плавный

поворот, в результате которого и происходит геоотрицательная ориентация одноклеточного организма.

Таким образом, на основании краткого обзора работ, можно сделать следующие выводы:

- геоотрицательная реакция одноклеточных свободноплавающих организмов, обладающих активным двигательным аппаратом, есть результат совместного воздействия двух сил: силы сопротивления среды осаждению клетки под действие гравитации и силы сопротивления гироскопическому компоненту движения клетки;
- скорость геоотрицательной ориентации зависит от параметров как гироскопического, так и поступательного движения клетки;
- отрицательный геотаксис зависит от наличия геоотрицательной реакции клетки и от параметров, определяющих условия существования клетки в среде (наличие в среде $O_2$, пищи и других компонентов).

В исследованиях, проведенных на популяциях одноклеточных организмов, был отмечен интересный феномен, заключающийся в том, что свободноплавающие одноклеточные организмы, такие как тетрахимена, образуют видоспе-цифические типы (паттерны) распределения в среде. Эти паттерны возникают при определенных концентрациях клеток. Впервые довольно обстоятельно это явление было описано Лойфером и Маффердом (Loefer, Maffeid, 1952) в эксперименте, где измеряли оптическую плотность с целью определения динамики и скорости роста культуры одноклеточных в спектрофотометрической кювете. При встряхивании кюветы в течение нескольких секунд в среде образовывались и стабильно сохранялись видоспецифические агрегации клеток, имеющие форму пальцевидных нисходящих вниз потоков. Эти образования были причиной существенных ошибок при фотометрировании. Потоки появлялись в поверхностном слое жидкости на глубине 1-2 см. Было показано, что появление паттернов есть результат изменения концентрационных градиентов в процессе роста колонии одноклеточных. Образование видоспецифического распределения популяции происходит только в том случае, если минимальное количество организмов было достаточным для инициирования этой реакции, и когда это количество одноклеточных обладало минимальной жизнеспособностью. Отсюда авторы пришли к выводу, что образование паттернов есть функция от концентрации клеток.

Платт (Piatt, 1961) наблюдал в культуре *T. pyrifoimis* подобные видоспецифические формы распределения независимо от того, находилась ли культура в открытом сосуде, или в закрытом. В любом случае клеточные популяции образовывали полигональную форму. Размеры полигона и его крутизна зависели от плотности и возраста культуры. В то же время, было отмечено, что плотность культуры одноклеточных в точке падающего потока могла быть очень высокой и почти на 2 порядка (в 100 раз!) превышать плотность в центре полигона. Эти паттерны (типы падающих слоев) образуются только в том случае, если глубина (толщина) культуры составляет несколько мм, а плотность больше чем $1{,}5 \cdot 10^5$ кл./мл.

В результате детальных экспериментальных исследований было выявлено, что процесс образования видоспецифических паттернов (падающих слоев) не чувствителен к изменению таких факторов окружающей среды, как pH, температура, осмотическое давление внутри клетки, условия снабжения $O_2$ или концентрация $CO_2$ в среде, действие химических и других повреждающих агентов, вязкость среды и возраст культуры. Исключение составляли лишь факторы, способные изменить скорость движения одноклеточных. Время жизни паттернов составляло от 30 до 60с. За это время они полностью изменяют свою конфигурацию, или способны полностью восстанавливаться за столь же короткий период.

В поисках объяснения этого феномена Платт (Piatt, 1961) пришел к заключению, что видоспецифические типы распределения популяции одноклеточных образуются в

результате динамической нестабильности клеточных культур, плотность которых превышает критическую. Автор справедливо считает, что этот феномен тесным образом связан с изменением концентрационного градиента и подчиняется закономерностям нестабильного состояния системы. Феномен видоспецифического распределения клеточной популяции в среде можно описать следующим образом. Одноклеточные свободноплавающие организмы вследствие присущего им отрицательного геотаксиса и положительного окситаксиса (сродство к кислороду) поднимаются в верхние слои и скапливаются там. Когда плотность популяции переходит за критическую величину, начинается резкое оседание (падение) верхнего слоя в низлежащий. Это начало процесса, который получил название биоконвекции. Анализ явления биоконвекции на примере культуры *T. piriformis* дан в основополагающей работе Плессе и Вине (Plesset, Winet, 1974). Позже Плессе с соавторами (Plesset et al, 1975, 1976) был проведен анализ соответствия теоретических расчетов, выполненных авторами, с результатами экспериментальных исследований, проведенных Вине и Джаном (Winet, Jahn, 1972), который выявил хорошее соответствие теории с экспериментальными данными.

Каковы же закономерности возникновения биоконвективных потоков и распределения клеток в среде? По мнению тех же авторов (Plesset, Winet, 1974), биоконвекция возникает и поддерживается только тогда, когда разность масс верхнего слоя, имеющего толщину h, и нижнего слоя толщиной $h_2>h_1$ достигает определенной величины, при которой $p_1-p_2=\Delta p$. В этой ситуации нижний слой уже не может поддерживать более тяжелый верхний слой, и тот начинает падать. Так как удельный вес P есть произведение плотности (p) на величину ускорения свободного падения (g), $\Delta p=\Delta P/g$, то сила тяжести должна принимать участие в процессе биоконвекции. В то же время изменение величины силы тяжести от 0 до нескольких единиц g не должно повлиять на свойства среды, такие, как плотность, вязкость, поверхностное натяжение, способность растворять газы и другие параметры. Поэтому падение верхнего слоя в пределах указанного диапазона ускорения (g) происходит при одной и той же разнице удельных весов слоя. Удельный вес P среды равен произведению плотности среды на ускорение силы тяжести ($P=_{p\cdot g}$). Если считать, что в момент возникновения биоконвективных потоков все клетки находились в поверхностном слое, то в таком случае разность плотностей будет определяться количеством клеток в среде.

Из формулы $p=P/g$ следует, что изменение силы тяжести может привести к нарушению интенсивности и динамики роста культуры одноклеточных организмов.

По данным Вине и Джана (Winet, Jahn, 1972) биоконвективные потоки при нормальной силе тяжести (1 g) возникают тогда, когда концентрация клеток достигает $3\cdot10^4$ кл./мл. Подставив это значение в формулу $p=P/g$, можно определить зависимость возникновения биоконвекции от величины силы тяжести при определенной концентрации клеток в культуре. В уже упомянутой выше работе Плессе (Plesset et al, 1975) рассмотрен случай распределения клеток в культуре высотой 2 см и концентрацией C. Авторы делят нижний слой культуры на две части: $h_1$ — со средней концентрацией $C_1$ и $h_2$ со средней концентрацией $C_2$. Используя систему уравнений, где один из членов уравнения является переменной величиной и обозначает силу тяжести — g, они приходят к выводу о том, что при увеличении силы тяжести концентрационные фадиенты в слоях $h_1$ и $h_2$ стремятся к средней концентрации клеток в культуре. При g=0 (невесомость) все клетки должны собраться в поверхностном слое. Увеличение силы тяжести до определенной величины, около 30 g, приводит к тому, что поведение культуры уже не подчиняется условиям неустойчивости Релея-Тейлора, так как скорость седиментации клеток становится больше скорости их подъема, и клетки опускаются на дно.

Отсюда следует, что гиперграватация может быть причиной возникновения и поддержания биоконвекции при меньшей разнице плотностей культуры (концентрационных градиентов) между верхним и нижним слоями. При уменьшении величины силы тяжести биоконвекция, очевидно, будет затруднена, потому что для этого потребуется большая разность плотностей между слоями. Из этого следует, что

возникновение феномена биоконвекции в невесомости маловероятно или вообще невозможно.

Исходя из анализа теоретических и экспериментальных работ, приведенных выше, можно сделать одно общее заключение. Явление биоконвекции следует рассматривать с позиций термодинамики неравновесных систем. Это положение детально проанализировано в работе Пригожина (1980), где автор делает предположение, что пусковым механизмом возникновения биоконвективных потоков служит изменение температурных градиентов между верхним и нижним слоями культуры. Когда эта разница становится критической, система выходит из состояния покоя и начинается конвекция. По-видимому, такая ситуация является частным случаем поведения сложных многофазных систем жидкости и газа в гравитационном поле. Отсюда становится ясно, что биоконвекция может изменить общую картину распределения одноклеточных организмов в среде, а сила тяжести способна внести в этот процесс существенные коррективы.

Таким образом, для возникновения и поддержания биоконвекции в культуре должны выполняться следующие три обязательные условия:

- скорость активного плавания клеток в верхнем слое должна быть выше скорости их седиментации,
- должен осуществляться постоянный беспрепятственный приток клеток в верхний слой ($h_1$) из нижних слоев культуры ($h_2$),
- разность удельных весов верхнего слоя ($h_1$) и низлежащего слоя ($h_2$) не должна быть меньше критической величины $\Delta P_{крит.}$

Рассмотрим закономерности распределения культуры одноклеточных организмов, представляющей собой, по крайней мере, двухкомпонентную систему, состоящую, с одной стороны, из клеток объемом $V_{кл.}$, и плотностью $p_{кл.}$, с другой — культуральной среды плотностью $p_{ср}$. В этом случае плотность культуральной жидкости ($p_{культ.\ жидк.}$), состоящей из средней массы клеток и среды на единицу объема культуры с концентрацией клеток $C_{кл.}$, можно представить как сумму масс клеток в единице объема клеток и среды без клеток в этом же объеме, а именно

$$\mathbf{P_{культ.\ жидк.}=C_{кл.}\cdot V_{кл.}\cdot p_{кл.}+(1\text{-}C)_{кл.}\cdot V_{кл.}\cdot p_{ср}}$$

Как было сказано выше, возникновение биоконвекции связано с достижением критической величины в разности удельных весов слоев, то есть

$$\mathbf{\Delta P=p_1\text{-}p_2=\Delta p_{крит.},\ но\ \Delta P=\Delta p_{сусп.}\cdot n\cdot g,}$$

где n — число единиц ускорения свободного падения при заданной величине поля гравитации.

Так как изменение величины силы тяжести в диапазоне от 0 до нескольких единиц g не может оказывать существенного влияния на физические параметры жидкости, то можно считать, что падение верхнего слоя $h_1$ культуры при различных величинах $n\cdot g$ будет происходить при одной и той же разности удельных весов ($\Delta p$=const), что приведет к перераспределению клеточного материала в среде. Отсюда, можно записать, чему равна разность плотностей слоев культуры:

$$p_{сл.} = p_1 - p_2 = [C_1 \cdot V_{кл.} \cdot p_{кл.} + (1 - C_1 \cdot V_{кл.}) p_{ср.}] -$$
$$[C_2 \cdot V_{кл.} \cdot p_{кл.} + (1 - C_2 \cdot V_{кл.}) \cdot p_{ср.}] = (C_1 - C_2) \cdot (p_{кл.} - p_{ср.}) \cdot V_{кл.}$$

Отсюда ясно, что возникновение биоконвекции возможно тогда, когда

$$\Delta p = \Delta p_{крит.} = (C_1 - C_2) \cdot (p_{кл.} - p_{ср.}) \cdot V_{кл.} \cdot n \cdot g.$$

Из выведенной формулы видно, что возникновение и динамика развития процесса биоконвекции связаны как с напряженностью гравитационного поля, определяемого числом единиц ускорения свободного падения $n\cdot g$, так и с особенностями распределения массы клеток в среде: ($C_1 - C_2$), ($p_{кл.}$-$p_{ср.}$), что обусловлено культурально-биологическими свойствами самих клеток, а именно: размерами, описываемыми параметрами объема V,

характеристикой плотности биомассы. Это в свою очередь определяется особенностями структурной организации, качественным и количественным составом клеточных органелл, а также особенностями количественного распределения клеток в культуре, представленного разностью концентраций для суспензий верхнего и нижнего слоев.

Рассмотрим, как могут меняться культуральные характеристики при изменении напряженности гравитационного поля. Из уравнения, приведенного выше, следует, что с увеличением силы тяжести разность масс клеток, содержащихся в слоях $h_1$ и $h_2$, при которых возникает и поддерживается биоконвекция, будет уменьшаться. Уменьшится также и общая масса клеток, при которой возникает биоконвекция. В предельном случае, когда сила тяжести возрастает до такой величины, что скорость седиментации будет преобладать над скоростью активного движения клеток, вся клеточная масса должна сосредоточится на дне сосуда и биоконвекция прекратится. Напротив, при значениях n, приближающихся к нулю, разница слоев будет возрастать, клетки будут скапливаться в верхнем слое культуры, биоконвекция будет возникать при больших клеточных массах. Если n=0 (невесомость), то состояние нестабильности Релея-Тейлора и, следовательно, феномен биоконвекции не возникнут вообще, так как $\Delta p=0$. В этом случае пространственное распределение культуры в среде будет определяться, главным образом, хемотаксисами, составом газовой среды в поверхностном слое жидкости, особенностями взаимодействий между клетками, а также другими причинно-следственными связями, обусловленными физико-химическими параметрами среды и биологическими свойствами самих клеток.

Из приведенных уравнений также вытекает, что при постоянной величине силы тяжести биоконвективные потоки в культуре, содержащей более массивные (тяжелые) клетки, могут быть продиктованы как их массой (плотностью), так и объемом. В этом случае, биоконвекция должна возникнуть при меньшей разнице концентраций клеток между слоями $h_1$ и $h_2$ и, наоборот, при меньшей массе и объемах клеток биоконвекция будет возникать при большей разнице концентраций между слоями.

Таким образом, мы рассмотрели теоретические аспекты распределения, морфологические и поведенческие характеристики одноклеточных свободноплавающих организмов в условиях нормальной и измененной силы тяжести. Далее, с помощью приведенных выше данных попытаемся обсудить основные результаты экспериментальных исследований, выполненных нами за последние десятилетие в лабораторных условиях при моделировании эффектов измененной силы тяжести, а также в условиях космического полета (микрогравитация). Однако прежде чем перейти к изложению экспериментального материала, рассмотрим эволюционные аспекты гравитационной биологии.

## Эволюция живых систем в гравитационном поле Земли

Возникновение и развитие органического мира на Земле неразрывно связано с эволюцией самой нашей планеты. Гравитация сыграла определяющую роль в эволюции, создав необходимые условия для появления жизни. Участие гравитационных сил изначально было одним из обязательных условий для локализации фаз и разделения первичной материи на три сферы: атмосферу, гидросферу и литосферу, что привело к образованию субстрата и появлению полярной оси симметрии. Гравитационное поле на протяжении миллионов лет, по крайней мере с момента появления клетки, формировало функциональную морфологию живых организмов.

Огромное разнообразие организмов, растительных и животных, когда-либо населявших нашу планету и ныне существующих на Земле, имеют одного (гипотетического) прародителя — примитивный одноклеточный организм, который возник и эволюционировал в водной среде.

В процессе эволюции с переходом на каждую новую, более высокую ступень организации, и по мере развития жизни, связи организма с окружающей средой все более расширялись и усложнялись, но вместе с тем возникали и новые трудности, которые могли

быть преодолены только путем дальнейшего усложнения самих организмов (Опарин, 1960).

В этом процессе очевидно были заложены и свои термодинамические выгоды. Увеличение числа звеньев в основных метаболических путях и их интеграция в конечном счете снижали степень рассеяния энергии (производство энтропии) в живых системах, что требовало, в свою очередь, более сложной системы координации реакций в системе (Брода, 1978).

Вместе с тем, усложнение жизненных процессов уже на уровне одноклеточного организма должно было привести к увеличению внутриклеточного пространства и тем самым нарушению соотношения между объемом клетки и площадью ее поверхности, что затрудняло процессы обмена веществом и энергией между клеткой и окружающей средой. Это преодолевалось разделением внутриклеточного объема на отдельные участки (компартменты) с помощью мембран, что привело к образованию эндоплазматической сети и внутриклеточных органелл. Дальнейшая эволюция была связана с развитием многоклеточности, специализации клеток и формированием транспортных и регуляторных систем.

## Возникновение клетки и переход к многоклеточности

Предполагается, что самая простая прокариотическая клетка появилась около 3,5 миллиарда лет назад, и только через 2 миллиарда лет после этого сформировалась эукариотическая клетка, лежащая в основе всех многоклеточных организмов. Однако ключевым моментом в эволюции органического мира, еще до появления первой прокариотической клетки, стал процесс взаимодействия структур — носителей информации (макромолекул нуклеотидов) с каталитическими структурами, обеспечивающими использование энергии субстратов.

Возникшие в результате слияния новые соединения уже были способны к самосборке и дальнейшей самоорганизации в структуры более высокого порядка. Но самосборка, по мнению Кальвина, была лишь началом появления клетки, для окончательного ее формирования необходим был еще один существенный шаг — вычленение (обособление) этой структуры из открытой среды (Кальвин, 1971).

В силу ряда причин, одна из которых заключалась в нейтрализации воздействия гравитационного фактора, изначальный одноклеточный организм мог возникнуть и беспрепятственно эволюционировать достаточно длительное время только в водной среде, обеспечивающей все необходимые условия для функционирования жизни, по крайней мере, на клеточном уровне. В самом деле, иммерсионная среда, наряду с другими преимуществами, позволяет в значительной степени ослабить механический «стресс», обусловленный наличием силы тяжести. В этом случае, находясь в воде клетке, во избежание гидростатического стресса, достаточно было выработать хорошо отлаженный механизм осморегуляции, который давал возможность не только сохранять необходимый концентрационный градиент основных элементов ($K^+$, $Na^+$, $Mg^{++}$, $Ca^{++}$) на границе раздела между внутренней и внешней средой, но и поддерживать свою структурную стационарность.

Важнейшим моментом эволюции организмов, в том числе применительно к действию на них силы тяжести, стал переход к многоклеточности. Такой тип организации живых систем позволяет снять ограничения их линейных размеров и конфигурации, налагаемые для единичной клетки условиями транспорта веществ в ее пределах исключительно за счет диффузии. Максимальное расстояние, на котором возможно эффективное использование диффузии для обеспечения потоков веществ между компонентами клетки и ее поверхностью не может превышать 1 мм (Farish, 1978). Далее, согласно расчетам (Albrecht-Buehler, 1990), по этим же причинам, отношение площади поверхности клетки к ее объему, S/V, не должно превышать 3 $r^{-1}$ (для аппроксимации к шару радиусом r).

Сохранение такого соотношения на всем протяжении роста клетки необходимо для обеспечения внутриклеточного транспорта веществ: доставки субстратов и удаления

продуктов метаболизма во всех участках клетки с одинаковой вероятностью и высокой гарантией. Наконец, увеличение размеров клетки ограничено условиями поддержания ее механической целостности, обеспечиваемой в пределах баланса сил деформации содержимого клетки, с одной стороны, и поверхностного натяжения и прочностных характеристик плазматической мембраны — с другой. Таким образом, клетка в рамках специфики своей организации может эволюционировать в направлении укрупнения только до тех пор, пока все эти условия будут выполняться.

Развитие многоклеточности биологически связано сразу с несколькими другими, не менее существенными свойствами живых систем, обретаемыми на этом этапе эволюции. Эти свойства — развитие организма из зиготы дроблением; специализация клеток и формирование тканей; системно-функциональное построение организма.

Принцип тканевой специализации сыграл решающую роль в обеспечении гравитационной приспособленности всех живых форм, имеющих многоклеточный тип организации — как животных, так и растений. Впервые опорную (у растений) и опорно-двигательную (у животных) функции берут на себя специализированные ткани и органы, что обеспечило в конечном счете, выход многоклеточных из водной среды, а у животных — дальнейшую перспективу совершенствования движения.

Отправной точкой развития многоклеточного организма служит дробление оплодотворенной яйцеклетки. Критическими в этой ситуации являются ранние стадии развития — эмбриогенез, начиная с возникновения оплодотворенной клетки-зиготы до появления первой борозды, образования тетрады и формирования анимально-вегетативного полюса.

Рассмотрим процесс деления клетки с позиций, представляющих интерес для гравитационной биологии. Впервые этот аспект проблемы был серьезно проанализирован Д'Арси Томсоном (Thompson, 1966). В своей книге «Организм и формы» он пишет: «Феномен деления развивающейся клетки, независимо от способа деления, будет именно таким, какой необходим для поддержания постоянного соотношения между поверхностью и массой».

Дело в том, что при делении зародышевой клетки на две масса ее не увеличивается, но зато возрастает площадь поверхности, что не сопровождается увеличением ее объема. Вследствие этого создается несоответствие между объемом и массой с одной стороны и площадью поверхности — с другой. Так как коэффициент отношения площади поверхности к объему остается постоянным (объективные аргументы в пользу этого вытекают из приведенных выше положений термодинамики), то это условие выступает как основной параметр развивающейся клетки; во-первых, в качестве фактора, индуцирующего увеличение размеров дочерних клеток сразу после разделения материнской, и, во-вторых, лимитирующего дальнейший рост клеток после достижения ими определенных размеров.

Приведенные выше доказательства зависимости внутриклеточных процессов от формы и размеров клетки, по-видимому, являются ключом к пониманию того факта, что в ходе эволюции процесс усложнения живых организмов и совершенствования их форм не мог основываться на бесконечном и бесконтрольном увеличении размеров одноклеточного организма. Поэтому дальнейшее развитие живых систем осуществлялось на основе принципа многоклеточности. Этот принцип в конечном счете позволил живым организмам существенно расширить ареал распространения, освоить не только всю земную поверхность, но и воздушное пространство.

Несмотря на прямую связь между гравитационной зависимостью и массой живых организмов, кардинальным направлением эволюции стало развитие многоклеточных из первично одноклеточных свободноживущих форм. Необходимо принять как факт, что дополнительные энерготраты, обусловленные наращиванием массы при переходе к многоклеточности, по-видимому, «окупались» расширением приспособительных механизмов и возникновением более перспективных в эволюционном отношении форм.

В различные периоды биологической эволюции, значение отдельно взятых факторов,

формирующих морфофункциональный статус организмов, было неодинаковым. Если на первых этапах эволюционного процесса, в период развития жизни в водной среде, происходило становление базовых процессов жизнедеятельности: поддержание постоянства концентрационных градиентов минеральных элементов между внутриклеточным объемом и внешней средой, извлечение питательных веществ из окружающей среды, нейтрализация и удаление отходов жизнедеятельности организма, развивающегося в водной среде, то на более поздних стадиях эволюции, особенно в период развития многоклеточности, выхода живых организмов на сушу, расселения их на поверхности Земли и освоения ими воздушного пространства, важнейшее значение приобретают формирование средств противостояния механической деформации, обусловленной возросшим влиянием силы тяжести, и обеспечение движения вне иммерсионной среды.

Сила тяжести оказывает влияние на морфофункциональный статус и энергозатраты организмов всех типов, более значимое — на наземные. Тем не менее, этот глобальный «налог» не стал непреодолимым барьером для выхода их из более благоприятной в этом отношении водной среды на сушу (Таирбеков с соавт., 1997). Совершенствование биомеханических и энергетических механизмов адаптации живых систем (растений и животных) в гравитационном поле прослеживается довольно четко на всех этапах эволюции, от одноклеточных организмов до млекопитающих. Наиболее важным и принципиальным для эволюционной истории, с этой точки зрения, был период выхода организмов из воды на сушу. Этот период смены среды обитания, даже в масштабах биологической эволюции, был достаточно длительным и продолжался около 300 миллионов лет, от появления на поверхности Земли первых примитивных растений (500 млн. лет назад) до формирования нового класса позвоночных животных, полностью перешедших к наземному образу жизни (200 млн. лет назад).

Результатом выхода живых организмов на сушу, по-видимому, было ускорение процесса эволюции, благодаря расширению жизненного пространства, увеличению разнообразия и изменению состава факторов среды. Так, например, освоение суши и, впоследствии, воздушной среды привело к ряду физиологических усовершенствований, таких как формирование опорно-двигательного аппарата, легочного дыхания и интенсификации метаболизма, становлению гомойотермии как необходимого условия развития центральной нервной системы и головного мозга у высших позвоночных животных и человека.

Главные трудности, с которыми столкнулись живые организмы при смене водной среды обитания на сухопутную, состояли в решении ряда проблем, основными из которых были: во-первых, противостояние гравитационному фактору, во-вторых, термо- и гидрорегуляция, и, в-третьих, размножение и сохранение потомства в новых условиях обитания.

Нейтрализация существенно возросшего влияния силы тяжести происходила в ходе эволюции наземных животных в основном путем совершенствования опорных структур. Вместе с тем, наличие панциря у некоторых видов моллюсков и хитинового покрова у членистоногих позволили им беспрепятственно выйти из воды и расселиться на суше. Становление опорно-двигательного аппарата дало возможность позвоночным не только эффективно противостоять силе тяжести, но и свободно передвигаться в пространстве. В процессе эволюции происходили и накапливались кардинальные изменения архитектуры и биомеханических свойств структур, ответственных за опорные функции организмов по мере их адаптации к новым условиям существования.

Гораздо более консервативной была эволюция при совершенствовании функциональных характеристик. Так, например, основные принципы метаболизма со временем появления аэробов на Земле не изменились и включают три главные позиции: синтез богатых энергией соединений (АТФ, ГТФ), образование интермедиатов — исходных продуктов для синтеза крупных молекул, генерирование биологических восстановителей типа никотинамидадениннуклеотида (НДДФ). В результате сочетания трех перечисленных

функций организм, в том числе и одноклеточный, создает на основе синтеза крупных молекул — нуклеиновых кислот, белков, углеводов и липидов — все необходимые компоненты жизни. Существенно менялась и совершенствовалась лишь надстройка — система регуляции метаболизма (Хочачка, Сомеро, 1988).

Особенности структуры всех органов, в том числе органов движения и опоры, основных групп животных, в конечном счете, определяются необходимостью приспособления к действию силы тяжести, что связано со значительными энергетическими затратами (Коржуев 1971). В то же время следует отметить, что природа, наряду с развитием у вышедших на сушу млекопитающих антигравитационных опорных и локомоторных структур, обеспечивающих их существование в условиях земного притяжения, нашла путь рекомпенсации силы тяжести, возвратив некоторые виды в водную среду, то есть в условия иммерсии (Воложин, 1995). Последнее замечание, с нашей точки зрения, наряду с естественнонаучной оценкой очередной реверсии эволюции, требует, очевидно, тщательного анализа с позиций трактовки существенных перестроек в конструкции опорно-двигательного аппарата (общей костной массы и скелетной мускулатуры), происходящих во время космического полета.

Безусловно, высокая чувствительность опорно-двигательного аппарата наземных позвоночных и его жесткого каркаса — костного скелета — к изменениям внешней механической нагрузки эволюционно детерминирована. Именно поэтому вполне вероятно, что наблюдаемая в невесомости потеря костной массы, сопровождающаяся выведением $Ca^{++}$ из организма, может оказаться непреодолимым фактором, лимитирующим длительность космических полетов, если не будут применяться специальные средства профилактики (Оганов с соавт., 1990).

В сущности говоря, в условиях космического полета имеет место вторичная адаптация (реадаптация) ряда систем организма, связанная с перестройкой регуляторных механизмов «налаженных» в организме за длительный эволюционный период. Такая адаптация, которую зачастую называют «срочной» адаптацией (Хлебович, Бергер, 1975), в отличие от длительной эволюционной, может быть отнесена к разряду негенетических (фенотипических) адаптаций, в основе которых лежат два типа регуляторных реакции: гомеостатическая регуляция, присущая гомойотермным организмам, способным сохранять постоянство внутренней среды, и анастатическая регуляция, характерная для организмов, поддерживающих параметры внутренней среды в более широком диапазоне значений ее параметров и энергетических процессов на тканевом и клеточном уровнях (Серавин, 1972).

## Пути и способы адаптации живых организмов к силе тяжести

Так как гравитационный фактор оставался на всем протяжении эволюции, по крайней мере с момента возникновения клетки, постоянным и неизменным на Земле, то не вызывает сомнения, что все организмы, населявшие Землю, должны были выработать механизмы адаптации к действию силы тяжести в соответствии со своими морфофизиологическими характеристиками. Вместе с тем, в приложении к процессам, протекающим в живых системах, тем более на клеточном уровне, сила тяжести, будучи умеренным по интенсивности биологического воздействия фактором, играет не запретительную, а скорее, регулирующую роль в эволюции, выступая на ранних ее стадиях в качестве знака, указывающего направление развития форм живых организмов. Еще недавно считалось (Парфенов, 1988), что сила тяжести наиболее полно проявила свое воздействие как формообразователь на относительно поздних ступенях эволюционного развития, в период появления крупных наземных организмов. Однако по современным представлениям формообразовательная функция силы тяжести, по-видимому, присутствовала на всем протяжении эволюционного процесса, усиливаясь по мере увеличения размеров организма.

Каким же образом в различные периоды эволюции возникали и совершенствовались механизмы адаптации к силе тяжести? Какие принципы были заложены в этих механизмах, при выходе живых организмов, сперва растений, а затем животных, на сушу? Реснички и

жгутики, унаследованные у одноклеточных на более поздних стадиях эволюционного развития, легли в основу локомоции таких многоклеточных организмов как плоские черви. Характерно, что органы чувств у них тоже конструируются из клеток, снабженных ресничками. Так, уже у первых многоклеточных имеется четко выраженное структурно-функциональное взаимодействие органов чувств (грави- и фоторецепторов) с органами движения. Это взаимодействие направлено на восприятие гравитации и позволяет регулировать положение тела животного по отношению к силе тяжести.

В ходе дальнейшей эволюции наблюдается постепенная замена жгутиковой локомоции мышечной, усложнение органов чувств и появление нервной системы. Черви, по сути дела, представляют собой переходную форму, у которых локомоция осуществляется одновременно как при помощи жгутиков, так и за счет кожно-мускульного мешка. Морфологически (структурно) это можно показать на примере постепенной замены ундулоподий, появления поперечных мышечных перетяжек, с одной стороны, и развития нервных ганглиев — с другой, у тех же кольчатых червей (Иванов, Мамкаев, 1973).

По-видимому, морфологический прогресс, т.е. изменение формы живых организмов, оказался малоэффективным способом дальнейшего развития взаимодействия между живыми существами и окружающей средой. Гораздо более эффективным был способ перемещения в пространстве путем создания опорно-двигательного аппарата и совершенствование биохимических реакций для осуществления движения (Шноль, 1979).

Уже первые наземные растения — псилофиты — имели примитивные корни — ризоиды, позволяющие им закрепиться на поверхности земли. Но самой главной задачей было создание и совершенствование опорных структур, их биомеханических характеристик, обеспечивающих выживаемость и конкурентоспособность. Основу опорных структур современных растений составляют ситовидные трубки, пронизывающие стебель от основания до верхушки. Эти сильно видоизмененные по форме клетки (живые во флоеме и мертвые в ксилеме) выполняют в растениях также и транспортные функции. Взрослые, окончательно сформированные клетки, составляющие осевые органы растений, существенно отличаются от соматических животных клеток, вследствие наличия у них, помимо клеточной мембраны, жесткой целлюлозной оболочки. Клеточная оболочка — весьма сложное архитектурное сооружение, достраивающаяся по мере роста и старения клетки в ходе онтогенеза растения. Если у молодых клеток она состоит из беспорядочно переплетенных целлюлозных фибрилл, то в зрелой клетке вторичная и третичная оболочки представляют собой хорошо ориентированные структурные элементы целлюлозы, прочно сцементированные лигнином (Albersheim, 1977). Такая клетка способна выдерживать значительные механические нагрузки. Именно эти клетки и составляют несущий каркас осевых органов современного наземного растения. Таким образом, появление в процессе эволюции сухопутных растений сопровождалось усилением опорных структур за счет минерализации и лигнификации клеточных оболочек (Siegel, 1979).

Кроме того, сама форма клеток также постепенно видоизменялась. Как было показано недавно (Barlow, 1994), по мере эволюционного развития клетки апикальной меристемы увеличивали число граней (сторон). Если у спорофитов, самых древних автотрофов, они представлены главным образом трех и четырехгранниками, то пришедшие на их смену голосемянные растения имеют клетки с числом сторон до пяти или шести. А современные покрытосемянные растения состоят из клеток-восьмигранников. Ясно, и это вытекает из положений механики, что многогранные конструкции обладают большей механической прочностью. Бесспорно, что фактором, инициирующим эти структурные изменения у растений в ходе эволюции, была гравитация.

Вместе с тем в эволюции растений четко прослеживается поэтапное становление приспособительных механизмов, направленных на предохранение развивающегося зародыша. В отличие от животных, у растений весь цикл эмбриогенеза, включая и органогенез, протекает внутри взрослого материнского растения. Прорастающее семя уже имеет в своем составе зачаточные корень, стебель и первый лист. Для более надежной

защиты зародышевых элементов эволюционно более поздние цветковые растения в отличие от предшествующих им голосемянных создали новый орган — плод, надежно защищающий зародыш не только от механических деформаций, но и от пересыхания и низких или высоких температур. Таким образом, одновременно с защитой от действия силы тяжести были решены проблемы гидро- и терморегуляции.

Совершенно иной была стратегия адаптации при переходе из водной стихии к сухопутной жизни у животных, хотя, как уже было сказано выше, проблемы, возникавшие у них, были такими же, как и у растений. Прежде всего следует отметить, что животные выходили на сушу дважды на протяжении эволюционного развития органического мира. Первый раз на стадии беспозвоночных (членистоногих) еще до появления покрытосемянных растений, затем уже на стадии позвоночных, в процессе перехода от земноводных к пресмыкающимся.

Рассмотрим основные этапы, принципы и формы возникновения приспособительных механизмов у животных к существованию на поверхности Земли, в первую очередь, с точки зрения защиты от механических деформаций. Членистоногие, ведущие свою родословную от кольчатых червей, еще находясь в воде, обзавелись хитиновой оболочкой, примитивным внешним скелетом, покрывающим каждый отдельный сегмент их тела. Эта оболочка, хотя и напоминает «рыцарские доспехи», вместе с тем довольно надежно защищает внутренние органы животного, оставляя ему при этом относительную свободу движения. Этот принцип оказался настолько перспективным, что его унаследовал самый многочисленный и весьма экспансивный класс насекомых, успешно освоивший не только сушу но и воздушную стихию. Следует отметить также очень надежный метод предохранения от внешних воздействий, в том числе и силы тяжести, потомства у членистоногих, обеспечивающий сложный и длительный процесс развития организма, предусматривающий схему последовательного метаморфоза: яйцо — личинка — куколка — имаго. Тем не менее позже возник другой, как оказалось, более перспективный путь эволюции сухопутных организмов — создание внутренних опорных структур, совершенствование и интенсификация энергетического метаболизма.

У земноводных внутренний костный скелет, структурно (механически) и функционально (метаболически) соединенный с мышечной системой, впервые образует единый опорно-двигательный аппарат на четырехопорной основе.

Как же развивался опорно-двигательный аппарат после выхода животных на сушу, то есть какие принципиальные конструктивные изменения претерпели костная и мышечная ткани в процессе эволюции? Внешне наиболее заметна эволюция опорной функции, которая проявляется в усложнении формы костных структур и геометрии скелета у наземных животных. Здесь участие законов механики в адаптивной эволюции костей подтверждается наличием прямой связи между размерами (общей массой) животного и удельной массой скелета. Впервые эта закономерность была сформулирована еще Галилео Галилеем как «принцип подобия», суть которого заключается том, что прочность скелета наземных животных является функцией от нагрузки и связана с массой и размерами животного. Развитие и интерпретация «принципа подобия» в наше время убедительно показали, что эволюция наземных позвоночных является по существу прогрессирующим развитием приспособлений, направленных на преодоление силы тяжести (Смит, 1975; Carter et al, 1991).

Таким образом, форма конечностей и пропорции туловища обусловлены размерами и весом животного, т.е. силой тяжести, что и определяет форму сухопутных животных. Вместе с тем, форма тела и тип симметрии животного являются производными от способа и характера их перемещения, что также определяется величиной и направлением вектора силы тяжести. Масса тела животного сказывается и на внутриорганной архитектонике кости в виде специфической ориентации костных трабекул, как линии напряжения по направлению растяжения и компрессии. На тканевом уровне в процессе эволюции от земноводных до высших млекопитающих происходит замещение глубоковолокнистой

кости пластинчатой структурой, появляются гаверсовы системы и возникает ремоделирование кости, что несомненно доказывает роль механических факторов в гистогенезе костной ткани.

Весовая нагрузка, надо полагать, не единственный фактор «внешнего механического поля», стимулирующий и канализирующий прогрессивную эволюцию скелета. Другой составляющей «внешнего механического поля» служила динамическая стимуляция костей, характер которой менялся по мере совершенствования мышечной составляющей опорно-двигательного аппарата у наземных животных. Согласно принципу «кинетического совершенства» (Шноль, 1979), прогрессивная эволюция биологической подвижности определялась соответствием тех или иных форм движений определенным механическим (кинетическим) критериям (скорости, маневренности), что в конечном счете и привело к появлению современных форм движения с помощью специализированных двигательных (мышечных) клеток.

Для обеспечения поддержания тела на поверхности Земли и положения частей тела друг относительно друга, у наземных животных используется специальный вид нервно-мышечной активности, называемый мышечным тонусом. Наиболее древний его вариант, так называемый периферический тонус, отмечен еще у земноводных как переходная стадия. Однако функция тонических мышечных сокращений является вновь приобретенным в процессе эволюции свойством, а отнюдь не модификацией одной из первичных форм. В процессе дальнейшего развития позвоночных на суше периферический механизм мышечного тонуса (ацетилхолиновая контрактура) в силу своей консервативности начинает все менее соответствовать повышенным двигательным задачам, которые сопряжены с необходимостью не только поддерживать тело на поверхности, но и ради обеспечения маневренности осуществлять быструю смену поз и фиксацию положения тела животного перед началом движения. Поэтому, функция поддержания тонуса переходит к фазным мышечным волокнам с более мобильным механизмом сокращения, а в организации антигравитационной деятельности мышц все большее место занимает центральная нервная система (ЦНС).

В свою очередь, появление жесткого скелета и конечностей, которые строго лимитируют рабочую длину мышц, привели к дальнейшему совершенствованию организации способа сокращения мышц и всей мышечной системы — смене «тонической» мускулатуры, напряжение которой не зависит от начальной длины, на поперечно-полосатую с «фазным» типом сокращения (Наследов, 1981).

Таким образом, в мышечной составляющей «внешнего механического поля», способствующей прогрессивной эволюции скелета, следует различать две компоненты: постоянную (статическую), связанную с участием мышц в регуляции позы, и переменную (динамическую), обеспечивающую локомоторную активность и перемещение в пространстве (Оганов с соавт., 1990). Не вызывает сомнений, что первая так или иначе обусловлена наличием гравитации и опосредует ее вторичное (помимо весового) механическое воздействие на скелет.

Можно полагать, что вторая составляющая, как источник постоянно меняющихся нагрузок, могла стимулировать становление и развитие системы ре-моделирования в филогенезе, которая, как известно, лежит в основе функциональной адаптации костной ткани. Во всяком случае, вряд ли можно считать то обстоятельство, что механизм резорбтивно-аппазиционной перестройки кости начинает активно функционировать уже у бесхвостых амфибий, и у них же впервые в составе тонической мускулатуры начинают формироваться волокна фазного типа, обеспечивающие не только более быстрые перемещения и смену типа двигательной активности.

У высших позвоночных решающая роль в организации позы как частного случая движения уже полностью принадлежит ЦНС. Для этой цели используются так называемые медленные, быстрые и промежуточные фазные мышечные волокна, в разных пропорциях представленные в различных скелетных мышцах в зависимости от их анатомо-

топографических особенностей. Предполагается, что в постнатальном онтогенезе окончательная дифференцировка мышц во многом определяется действием гравитации. Кроме того, в эволюции скелета значительную роль играло развитие и совершенствование способности наземных животных к перемещению. Такие характеристики движений, как скорость, маневренность, экономичность и необходимость их совершенствования для выживания, явились параллельным фактором процесса биологической эволюции вообще, и опорно-двигательного аппарата животных в частности.

Вместе с тем, параллельно с совершенствованием движений, увеличением размера и массы животных, механическая эффективность локомоторных мышц увеличивается не только и не столько за счет возрастания массы мышц, сколько за счет совершенствования конструкции (анатомии) суставов и изменения соотношения моментов сил реакции опоры и тяговых усилий мышц (Biewener, 1991).

Таким образом, несколько факторов формировали опорно-двигательный аппарат в его эволюции, соответственно: сила земного притяжения (гравитация), физико-химические факторы, определившие современную организацию мышечного аппарата, и совершенствование конструкции локомоторного аппарата, определившее специфическое распределение функциональных напряжений в костях конечностей для их стабилизации в безопасной зоне.

Гравитация была и остается одним из составных компонентов эволюционного процесса. Какими бы ни были селективные, прогрессивные или лимитирующие факторы на различных этапах эволюции, они всегда действуют на фоне гравитационного поля. Опыт гравитационной, в том числе и космической, биологии дает основание считать, что эффекты измененной силы в живых системах реализуются благодаря взаимодействию регуляторных механизмов: молекулярных, гуморальных и нервных, которые управляют процессами пролиферации, дифференцировки, репарации и регенерации.

Главным связующим звеном между клеткой и более высокими уровнями организации живых систем в цепи морфофункциональных перестроек, происходящих в процессе приспособления организма к новым условиям существования, в том числе и измененной силе тяжести, является регуляция энергетического метаболизма.

Определение путей и способов мобилизации энергетических ресурсов для сохранения гомеостаза клетки и организма в целом в условиях изменения величины и направления вектора силы тяжести — одна из важнейших задач гравитационной биологии.

Гравитационные силы — самые загадочные силы в природе. Ничтожно малые на уровне атомов, молекул и биологических микроструктур — именно эти силы были первопричиной объединения масс до размеров гигантских небесных тел, формирования порядка (Космоса) во Вселенной, возникновения самой планеты Земля и зарождения жизни на ее поверхности.

Пытаясь изучить механизмы влияния гравитации на биологические системы разных уровней организации, от простейших одноклеточных до высокоразвитых многоклеточных организмов, мы тем самым приближаемся к пониманию путей возникновения жизни и закономерностей ее эволюции на Земле.

# ЧАСТЬ 2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Рассмотренные нами выше теоретические основы морфофункционального статуса клетки в гравитационном поле справедливы, очевидно, лишь для идеальных условий. В реальном мире законы индивидуального развития организма, в том числе и одноклеточного, наряду с обязательной реализацией генетической программы, предусматривают определенные принципы взаимодействия с факторами окружающей среды. Следовательно, по крайней мере, два обстоятельства необходимы для нормального роста и развития живого организма: определенная устойчивость реализации наследственной информации и относительная лабильность параметров внешней среды. Отсюда ясно, что в жестко детерминированный процесс осуществления генетической программы факторы внешней среды могут вносить существенные коррективы. Более того, степень и интенсивность воздействия этих факторов на клетку в значительной мере зависят от типа ее организации, особенностей взаимодействия с окружающей средой и способа существования в природе.

В природных условиях индивидуальные клетки и одноклеточные организмы, по крайней мере большинство из них, имеют тенденцию к объединению, образуя при этом: простые агрегаты, колонии, системы или многоклеточные организмы. Существуют следующие закономерности интеграции клеток в зависимости от их количества в среде обитания. Объединения, составляющие от $2^2$-$2^3$ (4-8 кл.) обычно представляют собой простые агрегаты, при $2^4$ (16 кл.) — колонии, обладающие тетраидальной симметрией и осевым морфогенетическим градиентом, при $2^5$ (32 кл.) — морфогенетическая и функциональная дифференциация достигает такого развития, что колония приобретает стабильный характер и не может случайно распасться, при $2^6$ (64 кл.) — только часть из них может сохранить способность к размножению и автономному питанию, при $2^9$-$2^{11}$ (512-2048 кл.) — речь уже может идти о многоклеточном организме, а при $2^{14}$ (16384 кл.) и более такое сообщество клеток может существовать только как единый многоклеточный организм (Сохляну, 1981).

Помимо чисто количественных (математических) закономерностей, существует также эволюционно-экологический аспект.

Известны три основных способа существования клеток: культура клеток, растущая на твердом субстрате, сообщество клеток или одноклеточных организмов, распределенных в жидкой среде и клетки, функционирующие в составе единого многоклеточного организма. Эти условия определяют не только морфофункциональный статус, но и поведенческие характеристики клеток. Среда обитания также имеет большое значение для проявления фенотипических признаков и формирования ответной реакции клетки на внешний или внутренний стимул. Это означает, что при относительно сходных механизмах ответной реакции различных типов клеток на изменение условий среды морфофункциональные проявления в самой клетке могут быть неодинаковыми.

Очевидно, что для взаимодействия клеток с окружающей средой необходимо наличие рецепторов, с помощью которых клетки могли бы принимать информацию из внешней среды, в частности, сигнал об изменении напряженности гравитационного поля, преобразовывать его в физиологический импульс и на этой основе формировать ответную реакцию. Поэтому при изучении гравичувствительности клеток очень важно иметь сведения как об особенностях их структурно-функциональной организации, так и физико-химических параметрах окружающей среды.

При подготовке и проведении исследовании в области гравитационной биологии и анализе полученных результатов, помимо специфических требований к космическим (полетным) и контрольным (наземным) экспериментам, первостепенное значение, с нашей точки зрения, приобретают следующие обстоятельства.

Во-первых, очень важен выбор в качестве объекта исследований моделей, соответствующих трем основным типам клеток, а именно:

— культуре клеток монослоя (или многослойной культуре), растущей на твердом субстрате (in vitro) — тип-1;

— ассоциации индивидуальных клеток или одноклеточных организмов, развивающихся в жидкой среде (in vivo) — тип-2;

— группе клеток, функционирующих в многоклеточном организме животного или растения (in situ) — тип-3.

Второе немаловажное обстоятельство — установление приоритета клеточных структур и процессов в соответствии с их ролью в восприятии и реализации гравитационного стимула в клетке:

— оценка метаболической активности, определяемой по интенсивности энергетического обмена на основе изучения структурной и функциональной характеристик митохондриального комплекса клетки;

— определение темпов и скорости клеточного деления (пролиферативной активности клеточного пула);

— информация о количестве, размерах и особенностях распределения клеточных органелл, сократительных элементов и мембранных структур во внутриклеточном объеме и их взаимодействия в клетке;

— оценка уровня двигательной активности клетки (скорость передвижения по субстрату для клеток, растущих в культуре (in vitro) и плавания в воде одноклеточных организмов (in vivo).

Наконец, третье необходимое условие успешного проведения эксперимента — сведения об особенностях среды обитания клеток:

— концентрационных и химических градиентах растворенных во внешней среде питательных субстратов и продуктов жизнедеятельности клеток;

— соотношения поверхностей фаз: газ-жидкость-твердое тело;

— гидростатическом давлении, плотности и температуре внешней среды;

— скорости седиментации и характере распределения в среде одноклеточных организмов или индивидуальных клеток.

## Эксперименты в лабораторных условиях на Земле

### Исследования на одноклеточных организмах (in vivo)

За последнее время накоплен обширный материал по изучению влияния измененной силы тяжести на структуру и основные функциональные характеристики одноклеточных эукариотических организмов. Значительная часть этих данных получена нами в экспериментах, выполненных при моделировании эффектов измененной силы тяжести в лабораторных условиях на Земле. Исходно лабораторные исследования планировались с целью получения фоновых данных в процессе отработки методов полетных экспериментов.

Однако по мере накопления данных стало очевидно, что проводимые в условиях измененной силы тяжести исследования имеют не только самостоятельное теоретическое значение, но и представляют конкретную практическую ценность, в частности, для совершенствования методов космической биологии и биотехнологии.

Анализ результатов экспериментальных исследований с учетом теоретических положений, приведенных выше, указывает на то, что имеется, по крайней мере, три уровня влияния силы тяжести на одноклеточный организм.

Первый уровень, молекулярный, связан с особенностями организации внутриклеточных процессов, представляет область интересов и является компетенцией биомеханики и термодинамики клетки.

Второй уровень, морфофункциональный, определяется тем, что индивидуальная клетка, как правило, представляет собой самостоятельный свободноживущий организм, поведенческие характеристики которого определяются гео-, хемо-, а в случаях с автотрофами и фототаксисом.

Третий уровень, эколого-физиологический, есть следствие популяционной организации клеток и связан, главным образом, с принципами взаимодействия по крайней

мере двух-, а зачастую и многокомпонентной системы: сообщество клеток — окружающая среда.

Вместе с тем, различают прямое и опосредованное влияние силы тяжести на одноклеточный организм. Согласно теоретическим положениям, рассмотренным нами выше, прямое (непосредственное) влияние этого фактора на клетку, как биомеханическую конструкцию, обусловлено наличием разности плотностей внутриклеточных органелл и весом самой клетки, это налагает определенные требования на биомеханику взаимодействия внутриклеточных структур, энергетическую «стоимость» поддержания их пространственного расположения в клетке при изменении величины и направления вектора гравитации. Причем последствия сдвига в ритмике и организации протекания внутриклеточных процессов, вызванных непосредственным воздействием силы тяжести, могут иметь значение и для всей популяции в целом.

Опосредованное влияние силы тяжести связано, главным образом, с изменениями физико-химических параметров окружающей среды и, в первую очередь, концентрационных градиентов питательных субстратов и продуктов жизнедеятельности клеток, длительное время функционирующих в составе популяции в условиях нестабильного гравитационного поля. Механизмы опосредованного действия измененной силы тяжести на клетку реализуются в основном на уровне межклеточных взаимоотношений.

В обоих случаях, независимо от первопричины возникновения гравитационного «возмущения» в биологической системе, реализация механизмом воздействия этого фактора может привести к запуску цепной реакции по схеме: окружающая среда — клеточная популяция — клетка — внутриклеточные процессы — клетка — популяция — внешняя среда. Рассмотрим это, опираясь на результаты экспериментальных исследований.

***Таблица 1.*** Размеры, темпы деления и скорость движения некоторых одноклеточных организмов.

| Объект | Размеры, мкм | Темпы деления клетки*, час | Скорость движе-ния, длина тела/сек |
|---|---|---|---|
| *Chlamydomonas reinhardtii* | 10x12 | 3-3,5 | ~10 |
| *Tetrahymena pyriformis* | 30x50 | 3,5-4 | ~8 |
| *Euglena gracilis* | 35x100 | 12-13 | ~6 |
| *Paramecium aurelia* | 60x200 | 16-17 | ~6 |
| *Dileptus anser* | 80x500 | 17-18 | ~2-3 |
| *Bursaria truncatella* | 600x800 | 18-20 | ~2-3 |
| *Amoeba proteus* | d=350 | 24-36 | ~0,03 |

* время генерации данного организма при оптимальных условиях культивирования

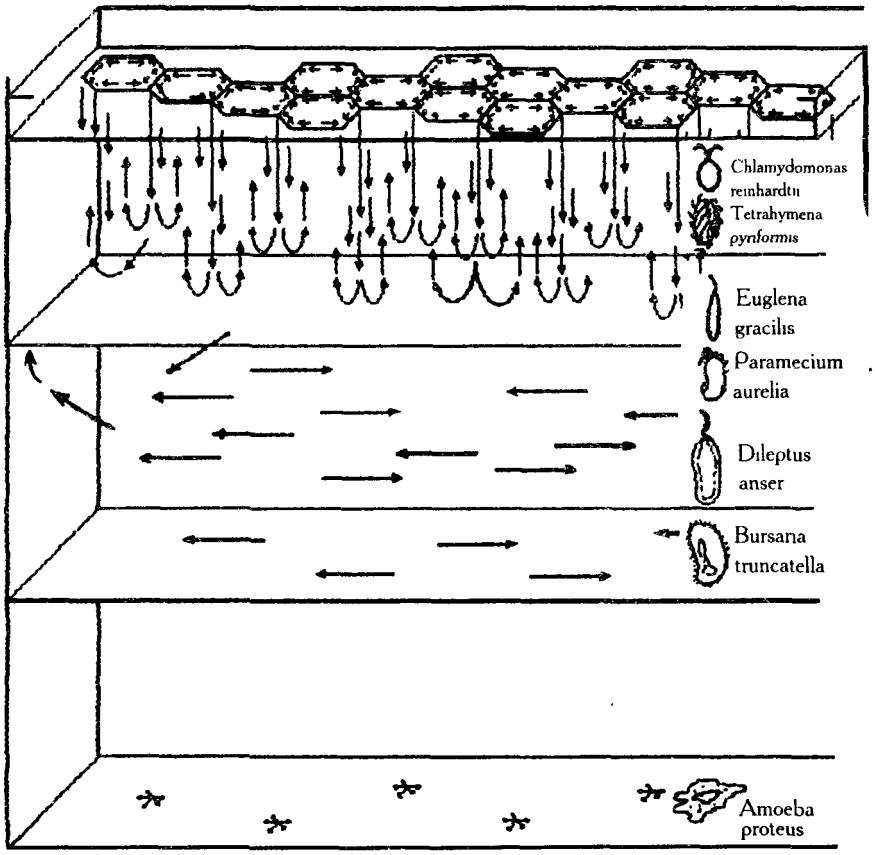


**Рис. 3.** *Схема распределения одноклеточных организмов в лабораторной кювете в соответствии с их местообитанием в природных условиях*

Объектами исследований в наших экспериментах служили представители различных типов свободноплавающих простейших: Ciliata (*Tetrahymena pyriformis, Bursaria truncatella, Dileptus anser, Loxodes striatus*); Flagellata (*Euglena gracilis, Chlamydomonas reinhardtii*); Sarcodina (*Amoeba proteus*).

Эти одноклеточные организмы обладают различными уровнями метаболической активности, в соответствии с этим существенно отличаются по потребностям к кислородному обеспечению, что и определяет их местообитание в толще воды. Основные биологические характеристики этих организмов суммированы в табл. 1 и рис. 3.

В исследованиях, выполненных в лабораторных условиях с использованием центрифуги (гипергравитация 2-5 g), в начальный период развития культур был выявлен кратковременный стимулирующий эффект. В логарифмической фазе роста у тетрахимены, эвглены и хламидомонады ускорение прироста биомассы происходило при неизменных размерах клеток, за счет увеличения пролиферативной активности.

Отрезок кривой ускоренного роста популяции укорачивается с возрастанием ускорения силы тяжести. Увеличение силы тяжести приводит к более раннему наступлению стационарной фазы роста культуры и при меньшей плотности, чем в контрольной культуре, причем в процессе дальнейшего роста культур разница между опытом и контролем сохраняется или увеличивается в пользу контроля. На завершающей стадии эксперимента, в конце стационарной фазы, под воздействием гипергравитации у тетрахимены и эвглены уменьшаются размеры клеток, а хламидомонада теряет подвижность и опускается на дно.

Эксперименты, проведенные при тех же условиях с культурой бурсарии, выявили ту же картину: стимуляцию в начале кривой роста с последующим затуханием пролиферативной активности при переходе к стационарной фазе, с существенным отставание скорости роста опытных культур по сравнению с контролем в конце эксперимента. Кроме того, в этих условиях у бурсарии наблюдалось ускорение внутриклональной конъюгации, причем этот процесс в условиях гипергравитации начинался раньше, чем в контроле, а количество

конъюгирующих пар было гораздо больше, что наглядно свидетельствует об усилении адаптационных процессов в культуре. В конце эксперимента клетки претерпевают изменения некоторых морфофункциональных характеристик (Гаврилова с соавт., 1995).

Кривые роста дилептуса в условиях гипергравитации были аналогичны кривым роста описанных выше культур. В этом случае следует отметить одну немаловажную деталь. Особенностью морфологии дилептуса является наличие у него так называемого «хобота». В процессе экспериментов проводилось измерение размеров тела и хобота. В норме (контроль) соотношение их размеров соответствовало стандарту. Однако к концу эксперимента в условиях гипергравитации при увеличении размеров тела дилептуса происходило уменьшение размеров хобота, что свидетельствует об ухудшении физиологического состояния организма и культуры в целом. Обобщенный график кривых роста культур в условиях гипергравитации представлен на рис 4.

Клиностатирование культур изученных одноклеточных организмов приводит к некоторому увеличению темпов их роста на всех отрезках кривой, при этом размеры клеток остаются неизменными. Как известно, непрерывное вращение на клиностате моделирует некоторые условия невесомости, по крайней мере один из аспектов, а именно: постоянную дезориентацию объекта относительно направления вектора силы тяжести. В этом случае отсутствует стимул, собирающий клетки в определенном месте экспериментальной емкости. Это означает, что при достаточной обеспеченности кислородом (а это условие выполнялось во всех наших экспериментах) жизненное пространство для роста клеток увеличивается, что способствует стимуляции роста культуры в целом. Вместе с тем, пищевые запасы среды ограничены, а ее токсичность вследствие накопления отходов жизнедеятельности клеток увеличивается, что должно привести к торможению роста культуры. Эта закономерность наблюдалась и в наших экспериментах.

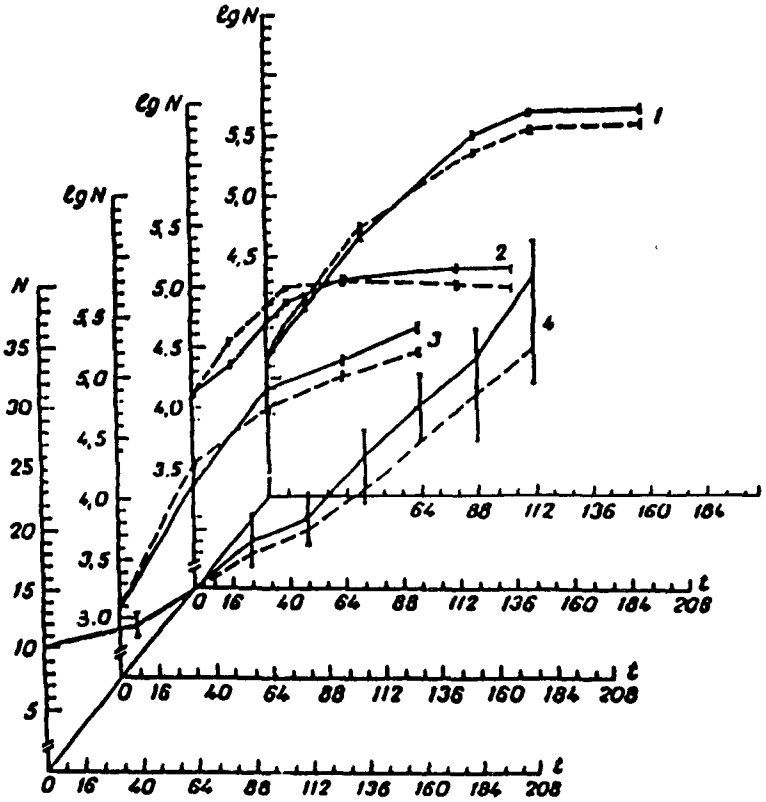


**Рис. 4а.** *Рост культур простейших при силе тяжести 2g. Здесь и на рис. 4б по оси абсцисс — время в часах, по оси ординат — плотность культуры клеток (N). 1 — хламидомонада, 2 — тетрахимена, 3 — эвглена, 4 — амеба*

Результаты экспериментов в условиях космического полета — микрогравитации — на борту специализированных биоспутников серии «Космос» будут подробно описаны ниже.

Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют о том, что несмотря на общую картину динамики роста культур одноклеточных организмов в условиях измененной силы тяжести, гравичувствительность клеток, принадлежащих к различным таксономическим группам, отличается между собой. Основная причина этих различий, по нашему мнению, заключается не только и не столько в их морфологических характеристиках (размеры, масса, форма), а гораздо в большей степени зависит от функциональной активности клеток и эколого-физиологических параметров среды обитания.

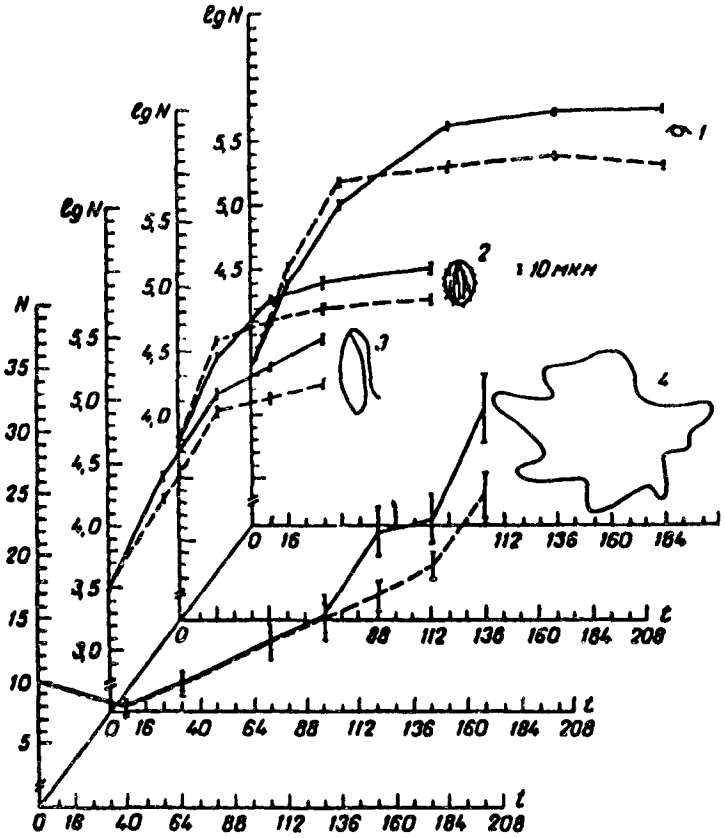


**Рис. 4б.** *Рост культур простейших при силе тяжести 5g.*

Для клеток с ярко выраженным окситаксисом, собирающихся в верхних слоях среды (хламидомонада, тетрахимена, эвглена), действие увеличенной силы тяжести приводит к более раннему (при меньшей плотности популяции) вовлечению культуры в процесс биоконвекции, что и является причиной ранней стимуляции ростовых процессов. В дальнейшем, вследствие того, что в поверхностном слое удерживается меньшее количество клеток, а глубина их падения в струе также уменьшается, процесс биоконвекции становится менее эффективным стимулятором роста, чем при нормальной силе тяжести. Другими словами, после короткого периода стимуляции наступают неблагоприятные условия для существования клеток, что, очевидно, и приводит к снижению плотности популяции в стационарной фазе роста.

Для придонных организмов (бурсария, дилептус, амеба) гипергравитация, по всей вероятности, также является неблагоприятным фактором по ряду причин, главная из которых заключается в том, что тяжелые медленно плавающие клетки под действием повышенной силы тяжести прижимаются ко дну, в то время как их более подвижный корм (тоже одноклеточные организмы — парамеция, тетрахимена, обладающие выраженным окси- и геотаксисом) продолжает стремиться вверх. Отсюда, угнетение роста малоподвижных инфузорий типа бурсарии и дилептуса можно объяснить резким сокращением питательных ресурсов и жизненного пространства. Но этим нельзя объяснить стимуляцию роста культур в начальный период. По-видимому, в этом случае, основная роль принадлежит усилению биоконвекции, приводящей к увеличению численности популяции.

Для локсодеса, обладающего специализированным гравирецептором, роль которого выполняет «мюллеровская вакуоль», расположенная внутри клетки, изменение вектора силы тяжести, очевидно, приводит к изменению пространственного расположения «мюллеровского тельца» внутри этой органеллы и, как следствие, дезориентации клетки (Fenchel, Finlay, 1984).

Что касается амебы, ее жизненное пространство не уменьшается при изменении величины или направления силы тяжести. Тем не менее, условия гипергравитации от 2 до 5 g также некоторое время тормозят пролиферативную активность клеток и рост культуры. Следовательно, в этом случае можно предполагать прямое влияние увеличенной силы тяжести непосредственно на клетку. Так как по сравнению с другими простейшими, например, инфузориями, имеющими постоянную форму, амеба способна лишь в незначительной степени поддерживать свой позиционный гомеостаз, вследствие слабо развитого цитоскелета, и в очень малой степени противодействует механической деформации, то возможны существенные изменения ее морфологии, а, следовательно, и функциональных характеристик в условия гипергравитации.

Наконец, следует отметить, что все изученные нами одноклеточные организмы содержат гравирецепторные механизмы, хотя и в разной степени морфологически или функционально выраженные. Даже, казалось бы, «индифферентная» к гравистимулу амеба в определенных условиях проявляет достаточно выраженный геотаксис. В этой связи, нам представляется в достаточной степени обоснованным предположение о существовании тесной взаимосвязи между степенью выраженности гравитаксиса и гравичувствительностью как отдельной клетки, так и клеточной популяции в целом.

Таким образом, наши исследования показали, что одноклеточные, по крайней мере изученные нами свободноплавающие в воде, обладающие активным двигательным аппаратом организмы, подчиняются иным закономерностям, существенно отличающимся от правил, существующих для большинства крупных наземных многоклеточных организмов. Ведущим фактором, определяющим степень гравичувствительности (толерантности) свободноплавающих одноклеточных организмов является не их масса и размеры, а, в первую очередь, условия среды обитания и уровень метаболической активности, т.е. эколого-физиологические особенности существования как самой клетки, так и популяции в целом (Габова с соавт., 1991). На основании этих исследований нами выдвинута рабочая гипотеза о приоритете эколого-физиологических характеристик (роли среды обитания, уровня метаболической активности) над морфологическими параметрами (массой, размерами, формой) в восприятии и реализации гравитационного стимула. Другими словами, показано, что гравитационная чувствительность одноклеточных организмов является функцией от уровня их общего метаболизма и двигательной активности.

Результаты исследований с различными типами одноклеточных организмов в условиях измененной силы тяжести, в том числе и микрогравитации, представлены в нашей работе (Таирбеков с соавт., 1997).

## Исследования на растительных клетках (in situ)

Работы по изучению влияния измененной силы тяжести на структуру и функции растительной клетки проводятся на протяжении длительного времени в различных ботанических центрах. Для создания условий увеличенной силы тяжести используются специальные лабораторные центрифуги. Другой лабораторный прибор — клиностат — позволяет проводить исследования в условиях скомпенсированной силы тяжести и моделирует некоторые эффекты невесомости.

В настоящее время имеются существенные аргументы, позволяющие утверждать, что изменение величины и направления вектора силы тяжести должно оказывать влияние на процессы, протекающие в организме растения на клеточном уровне. Эти доказательства получены в многочисленных экспериментах, выполненном на различном материале:

прорастающих семенах высших растений, взрослых растениях, культурах растительных клеток и изолированных клеточных органеллах.

В наших экспериментах объектом исследований служили проростки кукурузы (Zea mays), выращенные в условиях клиностатирования (2,4 об/мин) и центрифугирования (2 g). Общая схема проведения экспериментов, основные изученные характеристики и результаты подробно описаны в наших работах (Таирбеков, Розов, 1978; Таирбеков с соавт., 1978, 1980). Здесь же приводятся данные, касающиеся энергетических аспектов проблемы.

Общеизвестно, что любой активный процесс, протекающий в живой системе, в том числе и в клетке, безусловно, связан с затратой энергии, основным поставщиком которой является процесс окислительного фосфорилирования, локализованный в митохондриях.

Теоретические и экспериментальные исследования, выполненные ранее (Таирбеков, 1978), показали, что измененная сила тяжести может оказывать влияние на структуру и функциональные характеристики митохондрий через изменение интенсивности процессов энергообмена. В связи с этим представляло интерес изучение соотношения между процессами запасания энергии в клетке (интенсивность окислительного фосфорилирования) и расходом энергии (АТФазная активность) в клетках растений, сформированных в условиях измененной силы тяжести (гипо- и гипергравитации).

Объектом исследования служили трехдневные проростки кукурузы, выращенные в условиях непрерывного клиностатирования (2,4 об/мин) и центрифугирования 2 g (87 об/мин). Определяли скорость эндогенного дыхания митохондрий, изолированных из клеток опытных и контрольных вариантов, а также способность этих органелл окислять добавленные в среду инкубации субстраты НДДН, α-кетоглутарат, малат и малонат. Среднестатистические данные из десяти повторностей суммированы в табл. 2.

***Таблица 2.*** Скорость эндогенного дыхания и окисления субстратов митохондриями (нМ $0_2$ на 1 мг белка)

| **Варианты** | **Эндогеное дыхание** | **НАД-Н** | **а-КТ** | **Малат** | **Малонат** |
|---|---|---|---|---|---|
| **Контроль** | 7,9±0,2 | 58,9±8,3 | 10,0±0,6 | 9,0±0,8 | 8,8±0,2 |
| **Центрифуга** | 6,9±0,2 | 49,8±9,8 | 9,3±0,87 | 9,0±0,7 | 8,0±0,4 |
| **Клиностат** | 6,8±0,2 | 57,2±9,4 | 9,4±0,5 | 9,2±0,8 | 7,9±0,6 |

Как видно из таблицы, скорость эндогенного дыхания в контроле статистически достоверно превышает скорость дыхания в опытных вариантах. В то же время, скорости окисления добавленных субстратов митохондриями контрольного и опытных вариантов достоверно не различаются между собой. Общим для этой серии экспериментов является то обстоятельство, что интенсивность окисления добавленных субстратов во всех трех вариантах примерно одинакова. Такая же тенденция наблюдается и при сравнении величин дыхательного контроля и содержания белка.

Как известно, процессы энергообмена в живых системах являются наиболее чувствительными к действию факторов среды, а наблюдаемые сдвиги в интенсивности процесса окислительного фосфорилирования представляют собой первый этап ответной реакции клетки на внешнее воздействие. В конкретном случае, судя по изменению лишь скорости эндогенного дыхания и отсутствию разницы в интенсивности окисления добавленных субстратов между контрольным и опытными вариантами, можно утверждать, что измененная сила тяжести в изученном диапазоне величин хотя и способна вызывать обратимые сдвиги функциональных параметров, но не приводит к нарушению структурной целостности митохондрий (Таирбеков с соавт., 1978).

Вместе с тем, с нашей точки зрения, для полного анализа функциональной активности митохондрий и оценки общего энергетического баланса в клетке следовало бы получить данные об активности процесса, направленного на расщепление АТФ. С этой целью нами была выполнена следующая серия экспериментов для определения АТФазной активности

(митохондриальной и цитоплазматической) в клетках проростков кукурузы, сформированных в аналогичных условиях. В опыт брали также по 5 г сырой массы корней из каждого варианта. Инкубацию митохондрий, выделенных по методу, описанному выше, проводили при t=0°C в течение 30 мин. в трисацетатном буфере при pH=8,0 с дальнейшим гидролизом в течении 1 часа в среде, содержащей 0,005 М АТФ и 0,003 М $MgCl_2$ (Гавриленко с соавт., 1971). Количество неорганического фосфата, образованного в результате гидролиза АТФ, пересчитывали на 1 мг белка.

Полученные результаты (среднестатистические данные из 10 опытов) приведены в табл. 3.

***Таблица 3.*** АТФазная активность в клетках проростков кукурузы (мкг на 1 мг белка)

| **Варианты** | **Митохондрии** | **Цитоплазма** |
|---|---|---|
| **Контроль** | 2,8±0,5 | 1,6±0,2 |
| **Центрифуга** | 4,2±0,6 | 2,4±0,3 |
| **Клиностат** | 3,0±0,4 | 1,8±0,2 |

Из приведенных данных прежде всего видно, что наибольшей АТФазной активностью (митохондриальной и цитоплазматической) обладают клетки корней проростков, сформированных при повышенной силе тяжести (2 g), тогда как АТФазная активность клеток проростков, развившихся на клиностате (скомпенсированная сила тяжести), лишь незначительно отличается от контроля. В то же время, при анализе содержания белка не было найдено статистически достоверных различий между контролем и опытными вариантами.

Если сравнить между собой интенсивности двух противоположно направленных процессов: окислительного фосфорилирования и АТФазную активность, протекающих в клетке одновременно, то можно утверждать что в условиях гиперграватации на фоне довольно высокой АТФазной активности наблюдается относительно низкая интенсивность процесса, направленного на синтез этого соединения в клетке. Такая ситуация, когда процессы распада АТФ преобладают на процессами синтеза этого соединения, может возникнуть, с нашей точки зрения, вследствие необходимости больших затрат энергии клеткой для поддержания позиционного гомеостаза в условиях повышенной силы тяжести. Отсюда следует, что при более длительном воздействии этого фактора может наступить диспропорция между процессами синтеза и распада АТФ в клетке, что в конечном счете приведет к глубоким и необратимым изменениям в структуре и функциональной активности митохондрий. В то же время, незначительные различия между скоростями синтеза и распада АТФ в клетках проростков, сформированных в условиях скомпенсированной силы тяжести (клиностатирование), а также небольшое отличие этих показателей от контроля свидетельствует о том, что скорость метаболических процессов не претерпевает существенных изменений.

Таким образом, на основании результатов, полученных нами в этой серии экспериментов, можно заключить, что гиперграватация способна привести к сдвигу сбалансированных в клетке процессов, направленных на обеспечение ее энергией (Таирбеков с соавт., 1979).

По всей вероятности, наблюдаемые в наших экспериментах сдвиги энергетического пула клетки в условиях скомпенсированной силы тяжести (клиностатирование) носят приспособительный характер, являются обратимыми и не связаны со структурными изменениями митохондриального аппарата.

В ряде работ Дедольфа с соавт., выполненных в лабораторных условиях (Dedolph et al, 1966 a,b, 1967), было показано, что у растений, развивающихся на клиностате, возрастает интенсивность дыхания. Вместе с тем, результаты экспериментов, проведенных нами в тех же условиях (Таирбеков с соавт., 1984), свидетельствуют о снижении уровня метаболической активности в клетке, в частности, дыхательной активности митохондрий.

Следующая серия экспериментов, выполненных на прорастающих семенах кукурузы, преследовала конкретные цели: во-первых, проверить данные, представленные в литературе, а также состоятельность гипотезы, выдвинутой некоторыми авторами (Dedolph et al, 1967; Ward, King 1979), во-вторых, получить данные, позволяющие судить о закономерностях изменений, метаболической активности на клеточном и организменном уровнях в условиях скомпенсированной силы тяжести.

Исследования были проведены на специально созданной в нашей лаборатории установке, включающей систему автоматического измерения количества

$CO_2$, выделенного проростками кукурузы, развивающимися на клиностате. По этому показателю оценивали интенсивность дыхания.

Измерения параметров газообмена проводили непрерывно в течение 7 суток при двух положениях клиностата: горизонтальном и вертикальном — на клиностатах, вращающихся в горизонтальной и вертикальной плоскостях. Сразу же, по окончании эксперимента брали пробы для определения содержания АТФ в клетках опытных и контрольных образцов методом хемилюминисценции. Подробно принцип работы лабораторной установки, методы исследования и результаты изложены в статье (Таирбеков с соавт., 1984).

Наибольшая активность дыхания в течение всего периода эксперимента была обнаружена у проростков, развивающихся на вертикальном клиностате, а наименьшая — в контроле. Проростки, выращенные на горизонтальном клиностате (основной опыт), по интенсивности выделения $CO_2$ и динамике нарастания дыхательной активности занимают промежуточное положение. В абсолютных показателях разница в скорости газообмена между горизонтальным клиностатом и стационарным контролем на 7-е сутки развития проростков составила 0,5 $см^3$ на 1 г сырого веса в 1 ч, а между вертикальным клиностатом и контролем — 0,7 $см^3$ на 1 г веса в 1 ч. Если принять дыхательную активность 7-дневных контрольных проростков за 100%, то значения интенсивности дыхания для проростков, развивающихся на горизонтальном и вертикальном клиностатах, составят соответственно 135 и 165%. По нашему мнению, высокие уровни дыхательной активности проростков, развившихся на вертикальном клиностате, связаны, главным образом, с большим расходом энергии по сравнению с другими вариантами эксперимента.

Общеизвестно, что КПД окислительных процессов в клетке определяется степенью их сопряжения с процессом фосфорилирования и количественно может быть оценен числом синтезированных молекул АТФ в клетке за определенный период. В то же время, интенсивность тканевого дыхания не всегда соответствует уровню накопления АТФ в клетке. В этих случаях мы имеем дело с той или иной степенью разобщенности дыхания с фосфорилированием. Чем выше уровень этой разобщенности, тем выше степень свободного дыхания. В этой связи результаты, полученные нами, нуждались в количественной оценке синтезированных в процессе дыхания макроэргов АТФ. Количество АТФ определяли по методу, описанному в работе (Ладыгина, Рубин, 1976). Результаты измерения количества АТФ представлены на рис. 5.

Как видно из рисунка, наибольшее количество АТФ содержится в клетках контрольных проростков, а наименьшее — в клетках проростков, развившихся на горизонтальном клиностате. Несколько выше, по сравнению с вариантом горизонтального клиностата, содержание АТФ в клетках проростков, выращенных на вертикальном клиностате. Если количественное содержание АТФ в клетках растений контрольного варианта принять за 100%, то опытные варианты в этом случае составляют от контроля 68 и 63% для вертикального и горизонтального клиностатов, соответственно.

С нашей точки зрения, «биологический смысл» более низкого уровня накопления макроэргов АТФ в клетках растений, развившихся в условиях клиностатирования, горизонтального и вертикального, неодинаков. Если горизонтальный клиностат частично имитирует эффекты невесомости, то в этом случае вопрос о создании и прочности структур не стоит так остро, как для растений, развивающихся в стационарном контроле или вертикальном клиностате.

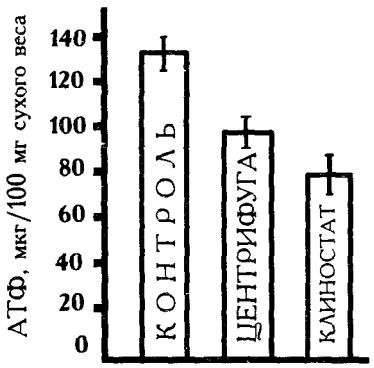


**Рис. 5.** *Содержание АТФ в тканях проростков кукурузы, выращенных в условиях измененной силы тяжести*

Таким образом, низкое, по сравнению с контролем, содержание АТФ в клетках растений, выращенных в вертикальном клиностате, очевидно обусловлено увеличением расхода энергии, необходимой для создания более прочных тканей осевых органов (корня и колеоптиля). Результаты, полученные в этой серии экспериментов, и их интерпретация с позиций проблемы энерготрат вносят, с нашей точки зрения, некоторую ясность в противоречия между данными наших исследований и имеющимися в литературе. В самом деле, как было показано в ряде работ, отмеченных нами выше, при выращивании растений на клиностате (вертикальном и горизонтальном положениях), наблюдалось усиление дыхательной активности растений. Однако авторы предыдущих работ ограничивались лишь констатацией факта, тогда как проведенное нами количественное определение АТФ в клетках растений контрольного и опытных вариантов, позволяет дать физиологическую оценку наблюдаемого явления. По нашему мнению, существенный вклад в увеличение дыхательной активности проростков, развившихся в условиях клиностатирования, вносит так называемый «аэродинамический эффект», создающий более благоприятные условия для газообмена растений вследствие ликвидации застойных зон в непосредственной близости от эпидермальных клеток. В этом заключается сходство в дыхательной активности между опытными растениями и их отличие от стационарного контроля. Вместе с тем, различие в содержании макроэргов АТФ в проростках опытных и контрольного вариантов имеет неодинаковую функциональную природу.

Низкое по сравнению с контролем содержание АТФ в клетках растений, развившихся на вертикальном клиностате, свидетельствует об интенсивном расходе этого соединения, обусловленном увеличением энергозатрат на создание и поддержание опорных структур. Измерения, выполненные нами, подтверждают это предположение (Таирбеков с соавт., 1984).

Иная ситуация возникает при клиностатировании растений в горизонтальном положении. Значительно более низкий уровень содержания АТФ в клетках этих растений в данном случае можно объяснить снижением интенсивности общего энергообмена. Если ситуация, возникающая при выращивании растений на вертикальном клиностате, имитирует условия невесомости, точнее, микрогравитации, присущие космическому полету, то уровень энергообмена может стать одним из наиболее информативных показателей функционального состояния растении, что важно учитывать при разработке перспективных систем биологического жизнеобеспечения (БСЖО).

## Эксперименты в условиях микрогравитации на космических летательных аппаратах

Подавляющее большинство экспериментов с различными типами клеток и клеточных ассоциаций в условиях микрогравитации были выполнены нами на специализированных биологических спутниках Земли серии «Космос». Особенностью биологических спутников является то, что конструкция этих аппаратов, научные приборы, система жизнеобеспечения

биологических объектов, длительность полета и другие параметры полностью подчинены интересам проводимых экспериментов. Более того, наличие специального наземного комплекса, в который входит полевая лаборатория, дает возможность провести первичную обработку полетных образцов биоматериала (осмотр, фотографирование, морфометрический анализ, фиксацию и консервацию) непосредственно на месте приземления биоспутника в кратчайшие сроки с последующей транспортировкой в стационарную лабораторию.

Схема подготовки и проведения исследовании на борту биоспутников была во всех случаях одинаковой и состояла из следующих этапов: предварительных лабораторных опытов, включающих отработку методических приемов, разработку бортовой аппаратуры и циклограммы полетного эксперимента, контроль за выполнением полетного и проведение, по крайней мере, двух контрольных наземных экспериментов: синхронного (в лабораторных условиях) и в макете биоспутника; обработку и сравнительный анализ полученных данных.

### Исследования на инфузориях *Tetrahymena pyriformis* (эксперимент «Цитос-3»)

Наибольшее количество данных о процессах роста, морфологии, функциональной активности и поведенческих характеристиках инфузорий (тип Ciliophora) в условиях микрогравитации было получено советскими и французскими специалистами в совместных экспериментах, выполненных на орбитальной станции «Салют» и биоспутниках «Космос». В серии исследований, предпринятых коллективом лаборатории космической биологии (КНЕС, Франция) совместно с нашими специалистами (Planel et al, 1979, 1981, 1982), в качестве объекта была использована культура инфузорий *Paramecium tetraurelia.*

Сравнительный анализ результатов этих экспериментов показал, что в условиях космического полета заметно повышаются скорость деления клеток и темпы их роста. Помимо этого, наблюдалось увеличение объема клеток, уменьшение содержания общего белка, изменения в распределения основных ионов ($K^+$, $Na^+$, $Ca^{++}$) между внутриклеточным их содержанием и внешней средой. Эти данные о характерных изменениях, повторяющиеся от эксперимента к эксперименту, имели достаточную достоверность. Таким образом было доказано, что в условиях космического полета происходит стимуляция роста культуры *P. tetraurelia.*

Парамеции, как известно, являются бактериофагами, источником пищи для которых служат, как правило, бактерии Aerobacter aerogenus. Среда культивирования парамеций по этой причине представляла собой двухкомпонентную систему, что, как предполагалось, могло осложнить анализ результатов исследований из-за необходимости учета побочных эффектов деятельности бактерий. Поэтому для дальнейших исследований мы остановили свой выбор на культуре *T. pyriformis.* Поскольку тетрахимена и парамеция являются филогенетически родственными организмами и принадлежат к одному типу (Ciliophora), классу и даже одному подклассу Hemenostomae, то эффекты микрогравитации, обнаруженные на парамециях, могут быть выявлены и на культуре тетрахимены.

Помимо принципиальной возможности культивировать *T. pyriformis* на безбактериальной стерильной среде, использование этих организмов дает экспериментатору ряд дополнительных преимуществ. Во-первых, клетки *T. pyriformis* значительно мельче клеток *P. aurelia,* что позволяет получать оптимальную плотность культуры в ограниченном объеме, свойственным для бортовых приборов, во-вторых, при культивировании *T. pyriformis* применима методика клонирования и выбор наиболее подходящего для данных условий эксперимента штамма культуры, в третьих, для разведения тетрахимен можно использовать синтетические питательные среды.

На одноклеточных организмах — инфузориях *T. pyriformis* штамма GL совместно со специалистами Института цитологии АН СССР было выполнено два эксперимента в полете биоспутников «Космос-1667» (1985) и «Космос-1887» (1987) с использованием бортового прибора «Цитос», предоставленного французскими коллегами.

В опыт брали сестринские клетки культуры *T. pyriformis* штамма GL из коллекции Института цитологии АН СССР. Для получения больших количеств делящихся клеток культуру тетрахимен поддерживали в состоянии экспоненциального роста. Каждую из двух, только что разделившихся сестринских клеток, помещали в специальную емкость из пластика «берлинго», объемом 1,2 мл, содержащую 1 мл среды культивирования. Исходная культура тетрахимен была выращена на аминопептидной среде (Ирлина, Меркулова, 1975). Подробно методы подготовки и проведения экспериментов, принцип работы и описание бортового прибора «Цитос», а также полученные результаты, изложены в следующих работах: Ирлина с соавт. (1989); Таирбеков (1990, 1992а).

Приведем кратко общую схему проведения эксперимента и основные результаты. Вся предполетная подготовка эксперимента, включая заправку биоматериалом вкладышей к бортовому прибору, была выполнена в Институте цитологии АН СССР. Заправленный прибор был отправлен на место старта биоспутника (космодром «Плесецк») при t° 8°С и помещен на борт биоспутника за 2 суток до старта. Согласно циклограмме, на 24, 36 и 48 часы полета были выполнены операции по темпоральной фиксации культуры клеток тетрахимен при t°=25°С.

По окончании эксперимента на месте посадки биоспутника вкладыши к прибору «Цитос» были помещены в транспортный термостат при t°=8°С и доставлены в Институт медико-биологических проблем. Послеполетный анализ выявил следующую картину. При сравнении плотности сестринских клонов, экспонированных в космосе и на Земле, достоверное различие между опытом (микрогравитация) и контролем (нормальная сила тяжести) обнаружиавается уже к 24 часам. А именно, плотность культуры полетного варианта была примерно в 2 раза выше, чем контрольного. Через 36 часов полета эта разница несколько сократилась, но оставалась достоверно выше. Такая же ситуация сохранялась в пробах, зафиксированных на 48 час полета. Результаты исследований приведены на табл. 4 и рис. 6.

***Таблица 4.*** Влияние условий космического полета на морфометрические и цитохимические характеристики *T. pyriformis*

| **Вариант опыта** | **Срок фикса-ции, ч** | **Длина клеток, мкм $x \pm s_x$** | **Ширина клеток, мкм $x \pm s_x$** | **Объем клеток, мкм $x \pm s_x$** | **Содержание ДМК в макро-нуклеусе, $x \pm s_x$** | **Содержание белка в клетке, $x \pm s_x$** |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Полет** | 36<br>48 | 41.4±0.8<br>39.7±1.0 | 26.3±0.7<br>26.5±0.9 | 16816±760<br>16126±675 | 206.8±9.9 | 483.9±15.0 |
| **Контроль** | 36<br>48 | 45.4±0.7<br>45.4±0.6 | 24.8±0.6<br>25.1±0.6 | 15936±783<br>15847±780 | 196.9±6.0 | 561.0±18.4 |

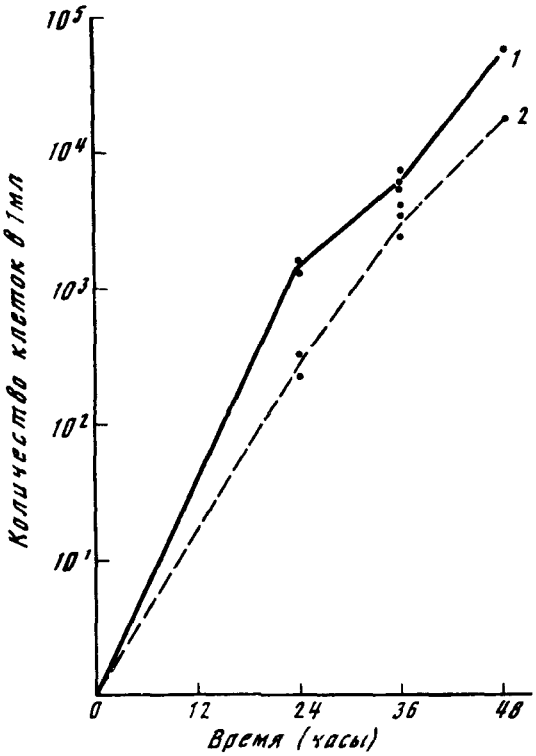


**Рис. 6.** *Изменение плотности культур тетрахимены, развившихся из одной клетки, в условиях космического полета (1) и в наземном контроле (2). По оси абсцисс — время фиксации после начала полета (часы); по оси ординат — плотность культуры, число клеток в 1 мл (логарифмическая шкала)*

Кроме того, были обнаружены изменения в морфологических параметрах клеток. Таким образом, полученные нами результаты на *T. pyriformis* в целом согласуются с результатами работ на инфузориях *P. tetraurelia* и свидетельствуют о стимуляции роста культуры в условиях микрогравитации на орбитальной станции «Салют-6» (Planel et al, 1979,1981,1982).

Поведенческие характеристики одноклеточных эукариотических организмов в условиях измененной силы тяжести, в том числе и микрогравитации, описаны в работах (Hemmersbach-Krause et al, 1990, 1994).

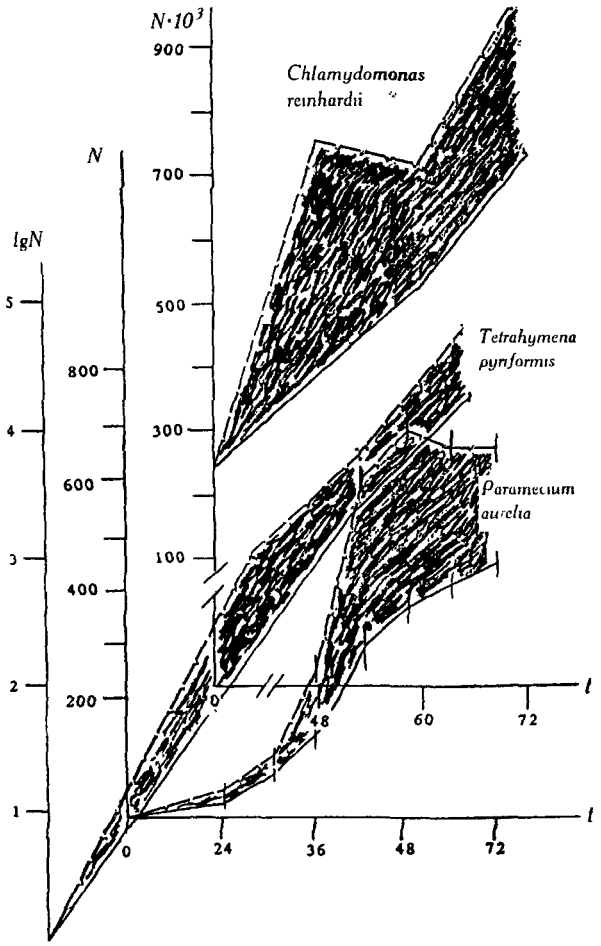


**Рис. 7.** *Динамика роста культур различных типов одноклеточных организмов в условиях микрогравитации, t — время в часах; N — количество клеток*

По результатам экспериментов с *T. pyriformis* и *P. aurelia* можно представить картину роста культур в условиях космического полета следующим образом: наблюдается отчетливо выраженный стимулирующий эффект микрогравитации в логарифмической фазе роста, что приводит к существенному приросту биомассы. В результате этого наступает раннее истощение ограниченных в условиях эксперимента запасов питательных веществ в среде и, как следствие, — более раннее старение клеток. Одновременно наблюдаются заметные изменения морфофункциональных характеристик клеток: увеличение размеров и содержания в них воды, отсюда — относительное уменьшение количества белка и нарушение баланса основных минеральных элементов ($K^+$, $Na^+$, $Ca^{++}$).

Аналогичная картина роста культуры *Chlamydomonas reinhardtii* была выявлена в эксперименте, выполненном на борту биоспутника «Космос-2044» (Gavrilova, Gabova, 1992). Самые последние данные, полученные на той же культуре *Chl. reinhardtii* голландскими специалистами в 1995 году в эксперименте на российском спутнике «Фотон-10», также свидетельствуют об ускорении темпов деления клеток в условиях микрогравитации, что согласуется с результатами исследований на инфузориях *(T. pyriformis* и *P. aurelia)* и таким образом подтверждает общий вывод о стимулирующем эффекте условий космического полета на метаболическую активность одноклеточных организмов (Van den Ende, 1995). Динамика роста перечисленных культур в условиях микрогравитации представлена на рис. 7.

Теоретические аспекты поведения различных типов клеток в гравитационном поле при изменении величины и направления вектора силы тяжести, вплоть до сведения ее к нулю (микрогравитация), были рассмотрены нами выше (Tairbekov et al, 1983; Таирбеков, 1990; Tairbekov, 1991, 1992), а также в работах Mechamer et al, (1991, 1992). Было показано, что отклонения, возникающие в физиологическом статусе клеток в этих условиях, обусловлены

в основном сдвигом физико-химических параметров внешней среды. Они носят адаптивный характер и не приводят к патологии. Вместе с тем, еще остается невыясненным вопрос о механизмах адаптационных изменений внутриклеточных процессов, протекающих у одноклеточных организмов, обладающих активным аппаратом движения. В этих случаях изменение величины и направления вектора гравитации могут быть непосредственной причиной перестройки ритма двигательной активности и связанных с этим внутриклеточных процессов, что, в свою очередь, приводит к нарушению гомеостаза клетки в новых условиях существования.

Такая теоретическая платформа дает нам возможность для определенной интерпретации результатов описанного эксперимента. Как видно из приведенных данных, темпы развития культуры тетрахимены в условиях космического полета, т.е. при значениях величины силы тяжести близких к нулю, достоверно превышают темпы контрольных культур (при нормальной силе тяжести). В то же время, содержание белка в клетках полетного варианта достоверно ниже, чем в контроле. Не исключено, что это снижение происходит за счет уменьшения количества сократительных белков, обладающих АТФазной активностью, а также белков, входящих в состав фибриллярных или мембранных элементов цитоскелета. Отсюда, с большой долей уверенности можно предположить, что условия космического полета (состояние динамической невесомости) способствуют снижению уровня энерготрат, необходимых для поддержания позиционного гомеостаза клетки. В этом случае выработанная в клетке, но не востребованная энергия может быть перераспределена и утилизирована на другие нужды, в частности, на ускорение темпов деления.

**Исследования на плазмодии миксомицета *Physarum polycephalum*.**

Механизмы адаптации к силе тяжести, появившиеся в ходе эволюции, различны на разных уровнях организации живых систем. Однако во всех случаях их возникновение и функционирование требуют затрат метаболической энергии. В этой связи, проблему воздействия измененной силы тяжести, в частности микрогравитации, следует рассматривать не только с точки зрения возможности деструкции или изменений в развитии опорных и сократительных структур, но и в энергетическом аспекте. Эта концепция предполагает, что в общем механизме адаптации к условиям измененной силы тяжести важную роль играет исходный уровень энергетического обмена в живой системе.

Плазмодии миксомицета *Physarum polycephalum* — классический объект для исследований клеточной подвижности — представляет собой гигантский многоядерный синцитий, в котором масса подвижной, ритмически сокращающейся протоплазмы окружена общей мембраной. Площадь, занимаемая большим плазмодием, может достигать 1 $м^2$, но толщина редко превышает 1-1,5 мм. Протоплазма миксомицета находится в состоянии непрерывного движения и структурных трансформаций. Механические и ультраструктурные исследования сократительной системы плазмодия показали, что важным фактором, определяющим его состояние, являются механические нагрузки (Isenberg, Wohlfarth-Bottermann, 1976; Kamiya, 1970). Снижение механической нагрузки на примембранный гель приводит к изменению (уменьшению) числа актомиозиновых фибрилл цитоскелета. Адаптационные возможности сократительной системы обеспечивают механическую прочность тяжей, способных выдерживать большие напряжения и поддержание постоянного движения протоплазмы (Kamiya, Joshimoto, 1972; Kamiya et al, 1981).

Движение протоплазмы, скорость которой может достигать 1,5 мм/с, обеспечивает не только ее внутриклеточное перемещение, но и передвижение самого плазмодия по субстрату при таксисах. Последнее реализуется за счет более продолжительного и более интенсивного потока содержимого плазмодия в направлении миграции. Вместе с тем, движение цитоплазмы является важным условием для осуществления метаболических процессов в клетке при определенном уровне энергообеспечения. Энергетическая сторона активации механической нагрузкой у плазмодия миксомицета не исследовалась, однако

данные, полученные на других объектах, позволяют предполагать, что изменение нагрузки, в том числе и обусловленной различной величиной силы тяжести, может изменить уровень энергетики. Кроме того, можно было ожидать, что условия энергетического дефицита будут лимитировать адаптационные возможности сократительного аппарата плазмодия и таким образом облегчат выявление гравитационного эффекта. Эти соображения определили экспериментальный подход к решению задачи исследования — выявлению потенциальной возможности использования плазмодия миксомицета для изучения биологических эффектов силы тяжести на клеточном уровне.

Реализация наших замыслов требовала проведения исследований, включающих, по крайней мере, три последовательных этапа: подбор экспериментальных питательных сред и оптимальных параметров культивирования плазмодия миксомицета с целью разработки методики эксперимента в космическом полете, проведение лабораторных исследований с целью накопления фоновых данных, выполнение предполетного и послеполетного анализа результатов. Вся подготовительная работа, а также послеполетный анализ, были проведены совместно с Институтом биологической физики АН СССР. Результаты исследований с подробным описанием методики подготовки и проведения эксперимента изложены в работе (Таирбеков с соавт., 1984).

Для проведения полетного эксперимента засеянные инокулятом плазмодия чашки Петри были распределены без предварительного отбора на 5 групп (по 6 чашек в каждой группе): полетную (Пл.), транспортный контроль (ТК), наземный синхронный контроль (СН), контроль в макете биоспутника (СМ) и лабораторный контроль (ЛК). Биоспутник «Космос-1129» функционировал на околоземной орбите 15 суток с 29 сентября по 14 октября 1979. Температура в гермообъеме колебалась от 23 до 25°С. Во время транспортировки биообъекта до начала и после окончания полетного эксперимента температура была равна 4°С.

Анализ биоматериала после окончания полета непосредственно на месте приземления биоспутника выявил, что в 5 чашках из 6 плазмодий был живым и в хорошем состоянии. В одной чашке он погиб в самом начале эксперимента в стадии инокулята.

После транспортировки биоматериала в Москву в Институте биофизики АН СССР был проведен весь комплекс сравнительных послеполетных исследований полетного и контрольных вариантов. Прежде всего были проведены наблюдения за скоростью и особенностями выхода плазмодия из цист при переносе склеротизированных образцов из t=4°С в t=23°С. Выход плазмодия из склероциев в течение 1-7 суток наблюдался во всех образцах полетного и контрольных вариантов, что позволило нам сделать вывод о способности плазмодия, экспонированного на борту биоспутника в условиях микрогравитации, сохранять жизнеспособность.

Вместе с тем следует отметить, что для полетного варианта регенерация наблюдалась в образцах с большей площадью распространения плазмодия. На рис. 8 приведены площади, занимаемые ростовым и миграционным следами для всех вариантов эксперимента, а также данные о размерах площади, исходно занимаемой контрольными и полетным вариантами. Эти измерения позволили определить скорость роста и перемещения плазмодия начиная с момента загрузки биоматериала на борт биоспутника до момента старта. Эти данные показывают, что рост и распространение плазмодия миксомицета по субстрату продолжались во время космического полета. Отсутствие заметной разницы в площадях, занимаемых плазмодиями полетного и контрольного вариантов, свидетельствует о том, что в условиях микрогравитации плазмодий сохраняет способность к развитию.

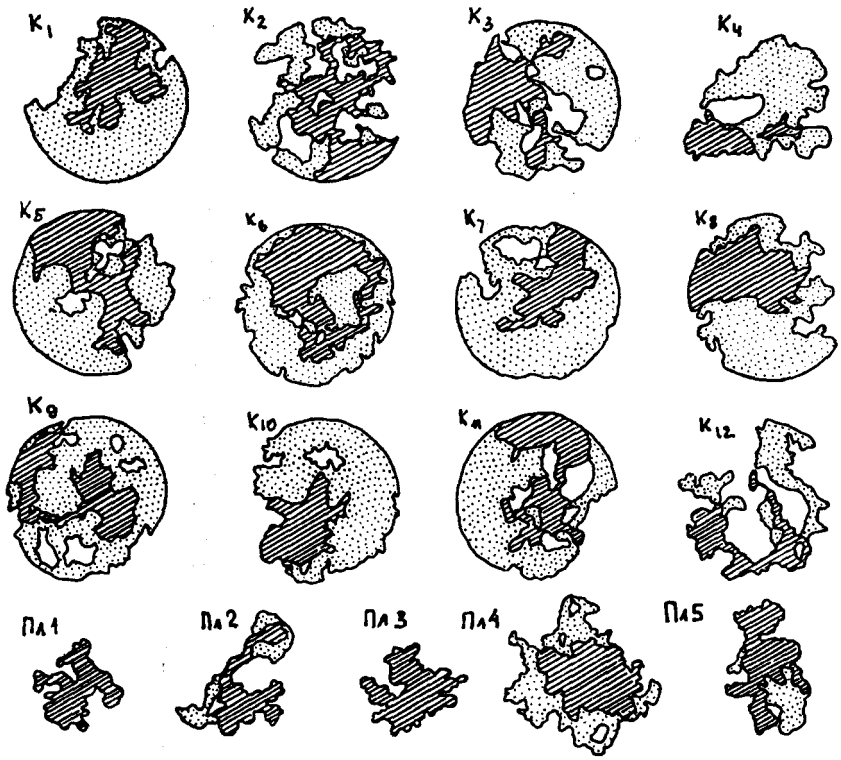


**Рис. 8.** *Ареалы распространения плазмодия Physarum polycephalum (ростовые и миграционные следы) в условиях микрогравитации и нормальной силы тяжести*

В то же время, измерения с использованием разработанной нами оригинальной методики показали, что общая площадь плазмодия в образцах полетного варианта меньше, чем у контрольных. Эти данные указывают на ослабление локомоторной активности плазмодия в полете при сохранении движения цитоплазмы. Однако такие различия наблюдаются и между вариантами наземного контроля, что наводит на мысль о возможности влияния и других сопутствующих факторов полета. Следует, в этой связи, отметить чрезвычайную чувствительность плазмодия миксомицета к таким факторам внешней среды, как содержание $O_2$, $CO_2$, микропримеси и метаболические яды. Поскольку концентрация основных компонентов газовой среды и влажность в гермообъеме биоспутника во время космического полета и в макете биоспутника на Земле мало отличались, можно предположить также возможность влияния механических сил, величина которых очевидно была различной в опыте и контроле вследствие изменения силы тяжести.

Таким образом, эксперимент с гигантским многоядерным синцитием *Physarum polycephalum,* выполненный на биоспутнике «Космос-1129», позволил нам выяснить следующие два обстоятельства: 1) в условиях космического полета движение цитоплазмы сохраняется; 2) снижение механической нагрузки может привести к снижению роста.

**Исследования на культуре клеток растений in vitro. Эксперимент «Протопласт»**

Сообщество клеток в культуральной среде свободно от влияния интегрирующих и координирующих систем многоклеточного организма, лишено внутритканевых и внутриорганных связей, хотя и подчиняется закономерностям, присущим клеточной популяции в целом. Использование клеточных культур в качестве объекта исследования дает специалистам гораздо больше информации и позволяет судить об эффектах факторов космического полета, главным образом микрогравитации, на основании количественной оценки начальных этапов ответной реакции клетки, исключая при этом в значительной мере вторичные эффекты, проявляющиеся на клеточном уровне в результате нарушения регуляторных механизмов высшего порядка (нервных и гуморальных), в тех случаях, если клетка функционирует в составе единого многоклеточного организма. Поэтому исследования с культурами клеток и одноклеточными организмами занимают значительное

место в космической биологии.

Как уже было сказано выше, подавляющее число экспериментов в космосе было выполнено на одноклеточных организмах. Гораздо меньше исследований проводилось на культуре животных клеток. Что же касается растительных клеток, то их морфофункциональную организацию изучали в основном in situ в составе органов и тканей проростков растений, развившихся из семян в космическом полете. О результатах этих исследований речь пойдет в следующем разделе. Здесь же, среди весьма немногочисленных исследований, в которых объектом изучения была культура клеток растений, следует упомянуть совместные СССР-США и СССР-ГДР эксперименты, выполненные на биоспутниках «Космос-783» (1975), «Космос-1129» (1979) и «Космос-1667» (1985) с культурами клеток моркови *Daucus carota* и томатов *Lycopersicon esculentum.* Результаты этих исследований подробно изложены в следующих работах: Стюарт, Крикорян (1979); Бутенко с соавт. (1979); Krikorian, Stewart (1978); Shultze et al (1987); Таирбеков (1987).

В этой связи, большой интерес представляло изучение особенностей развития изолированных протопластов в условиях космического полета, формирования органов и тканей из культуры клеток. Выполнению этой задачи соответствовали цели эксперимента «Протопласт», подготовленного и проведенного нами в кооперации с ведущими специалистами нашей страны и стран, входящих в Европейское космическое агентство (ЕКА). Научная программа эксперимента «Протопласт» предусматривала сравнительное изучение следующих морфофункциональных характеристик клеток, сформированных из изолированных протопластов в условиях микрогравитации и нормальной силы тяжести: скорость образования клеточной стенки, химический состав ее основных компонентов, пролиферативную активность клеток и скорость прироста биомассы клеточной культуры, ультраструктурную организацию клеток и клеточных органелл, содержание белка в клетке и ферментативную активность, выживаемость клеток и их способность к образованию новых органов и тканей. Важность и уникальность этого эксперимента заключалась: во-первых, в комплексности применяемых в послеполетном анализе методов, и, во-вторых, в том, что впервые в практике биологических исследований в космосе была предпринята попытка получения нормальных клеточных культур, способных к дальнейшему развитию из изолированных протопластов.

Эксперимент «Протопласт» был проведен на биоспутнике «Космос-2044» (1989 г.). Для этого был специально разработан и сконструирован бортовой прибор «Proto». Объектом изучения служили протопласты, изолированные из проростков рапса *Brassica napus* и культуры клеток моркови *Daucus carota.*

Экспресс-анализ биоматериала был выполнен нами совместно со специалистами ЕКА сразу же после доставки биопроб с места посадки биоспутника в Москву (через 12 часов после приземления биоспутника). Количество жизнеспособных клеток определяли под флуоресцентным микроскопом по тесту (Wklholm, 1972) с добавлением в среду инкубации протопластов флуоресциндиацетата (ФДА). Выживаемость протопластов в полетном эксперименте была 63, а в контроле — 68%. Около 75% жизнеспособных протопластов, развившихся в нормальные растительные клетки в течение 14 суток космического полета, регенерировали клеточную стенку. В контроле этот показатель был несколько выше — 80%. Рост клеток и их пролиферативная активность по данным объемного анализа осажденной массы клеток (PSV) в полетном варианте также заметно отставали от контроля: 66% для рапса и 88% для моркови соответственно. Таким образом, результаты экспресс-анализа показали, что жизнеспособность протопластов, скорость регенерации ими оболочки и пролиферативная активность клеток в условиях микрогравитации заметно отстает от аналогичных характеристик в нормальных условиях. Справедливость этого предварительного заключения полностью подтвердили результаты углубленного анализа основных морфофункциональных характеристик полетных и контрольных образцов с применением цитологических, биохимических методов исследования.

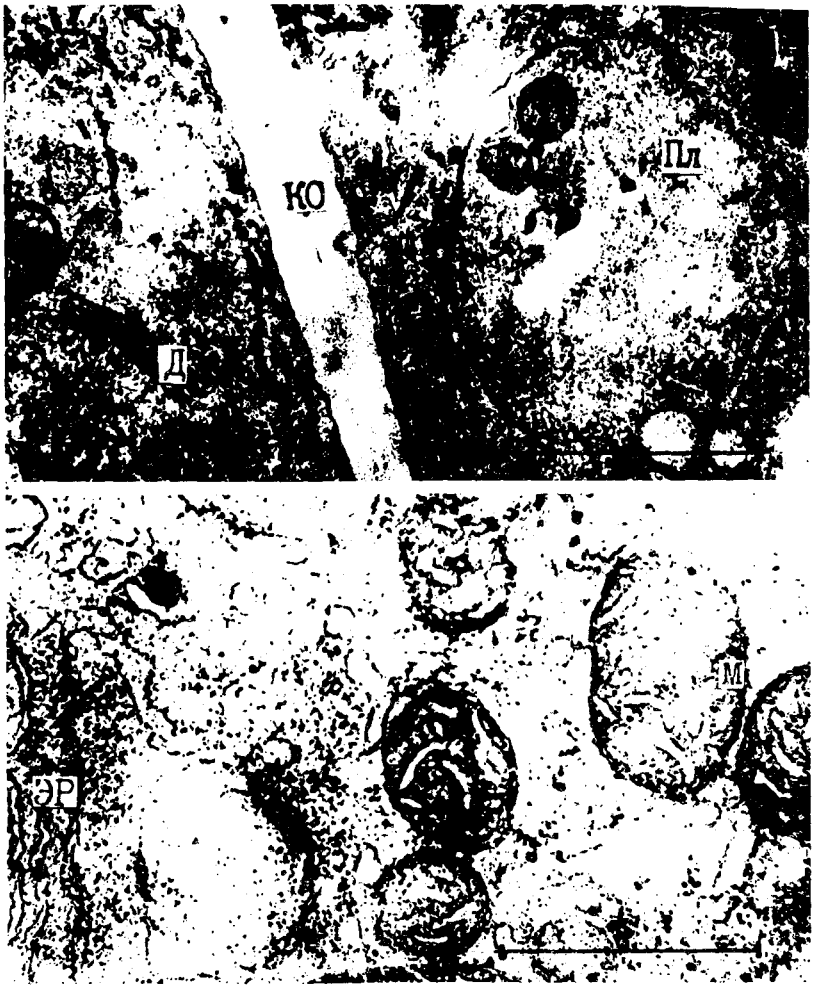


**Рис. 9а.** *Ультраструктурная организация участков клеток, сформированных из протопластов в космическом полете*

**Рис. 9б.** *Ультраструктурная организация участков клеток, сформированных из протопластов на Земле*

Результаты электронно-микроскопического анализа прежде всего подтвердили, что значительная часть протопластов, экспонированных на борту биоспутника, регенерировали клеточную стенку.

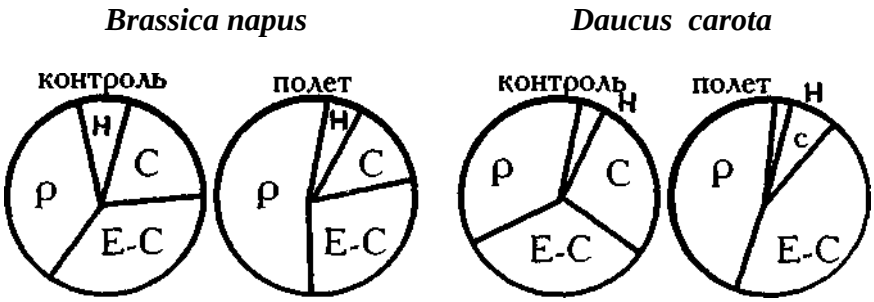


**Рис. 10**. *Количественное распределение растительных клеток, сформированных в условиях микрогравитации и при нормальной силе тяжести. Р — пектин, Н — гемицеллюло-за, С — целлюлоза, Е — полисахариды*

Вместе с тем, были обнаружены протопласты, сформировавшие клеточную стенку, но не приступившие к делению, а также не регенерировавшие клеточную стенку вообще. Активно делящиеся клетки, сформированные из протопластов, образовывали колонии состоящие из 6-8 клеток и более. В принципе, ультраструктурная организация клеток, сформированных в условиях микрогравитации и нормальной силы тяжести, была одинаковой. Различия заключались, главным образом, в меньшей электронной плотности содержимого цистерн

гранулярного эндоплазматического ретикулума, количестве митохондриальных крист и плотности матрикса в клетках полетного варианта по сравнению с контролем, в появлении в них локальных расширении, увеличении объема липидных капель. Эти проявления, как известно, являются характерными признаками снижения функциональной активности митохондрий и общего метаболизма клетки. Ультраструктурная организация различных участков клеток, сформированных в космическом полете в условиях микрогравитации и при нормальной силе тяжести на Земле из протопластов рапса *Brassica napus* представлена на рис. 9. Подтверждением сказанного может служить существенное, почти в 2 раза, уменьшение толщины вновь образованной в космическом полете клеточной стенки по сравнению с наземным контролем.

Количественный анализ содержания основных компонентов клеточной стенки, сформированной в полете и на Земле, включал определение пектина, целлюлозы, гемицеллюлозы и внеклеточных полисахаридов радиоизотопным методом на жидкосцинтилляционном радиометре «Дельта» в сцинтилляционной жидкости ЖС-7. Результаты анализа представлены на рис. 10. Как видно из представленных данных, общее содержание целлюлозы в 2,2 раза, а гемицеллюлозы почти в 3 раза меньше в клетках полетного варианта по сравнению с контролем. Такая закономерность характерна как для клеток рапса, так и для клеток моркови. Однако общее количество структурных полисахаридов (всех четырех компонентов) в случае с культурой клеток моркови существенно ниже, чем у рапса, что свойственно клеткам, развивающимся в культуре. Сам же факт уменьшения количественного содержания различных фракций клеточной стенки, сформированной в условиях микрогравитации, связан, по всей вероятности, со снижением уровня основных функций клетки, таких, как пролиферативная активность, интенсивность роста и растяжения.

Содержание белка в клетках, сформированных из протопластов в космическом полете, почти в 2 раза ниже по сравнению с контролем. При анализе активности фермента пероксидазы были также выявлены различия между опытом и контролем в пользу последнего почти в 2 раза. Для клеток рапса эти значения были 15 и 34, а для клеток моркови — 8 и 15 в относительных единицах активности.

Вместе с тем, при дальнейшем субклонировании клеточных культур, перенесших 14-дневный космический полет и развившихся на Земле, наблюдался нормальный рост каллусных тканей, а в случае с клетками рапса — появление новообразований органов. Следует однако заметить, что в контрольных вариантах процессы роста, дифференциации и трансформации в новообразованиях происходили более интенсивно, чем в клетках, экспонированных на борту биоспутника. Более подробно о совместной подготовке эксперимента «Протопласт» и результатах послеполетных исследований сообщается в следующих работах (Rasmussen et al. 1990, 1992; Iversen et al., 1992; Таирбеков с соавт., 1992).

Таким образом, вся сумма данных, полученных при анализе биоматериала в эксперименте «Протопласт», свидетельствует о том, что факторы космического полета могут быть причиной изменения основных морфофункциональных характеристик растительных клеток. Ведущим среди этих факторов, очевидно, выступает микрогравитация.

## Исследования на культуре клеток животных in vitro (Эксперимент «Фибробласт»)

Таким образом, многочисленные эксперименты, выполненные в условиях космического полета, показывают, что снижение величины силы тяжести до $10^{-5}$-$10^{-6}$g (микрогравитация) приводят к изменению основных морфологических и функциональных характеристик клеток и одноклеточных организмов. Может измениться форма и размеры клеток, их ультраструктурная организация, регуляция метаболизма и темпы деления. Вероятные механизмы адаптивных признаков этих изменений были обобщены в нашей работе (Таирбеков, 1990).

Однако оставались неясными вопросы, относящиеся к области биомеханики клетки, то есть проблема влияния силы тяжести, вызывающей деформацию клетки как биомеханической конструкции.

Для этих целей наиболее подходящим объектом следует считать культуру клеток, образующих монослой на твердом субстрате, где наибольшее значение имеют как свойства самих клеточных ассоциаций, так и свойства субстрата. Исходя из этих соображений, в качестве объекта исследовании мы остановили внимание на культуре соединительнотканных клеток — фибробластах.

В конце 1992 года в полете биоспутника «Космос-2229» нами был подготовлен и проведен эксперимент «Фибробласт», целью которого было изучение роста и подвижности клеток фибробластов (in vitro). В этих исследованиях использовали два типа культур: монослойную культуру, прикрепленную к твердому субстрату, и трехмерную гистокультуру, культивируемую на специальной гелевой подложке.

Культуры клеток фибробластов получали из 15-дневных эмбрионов мышей линии A-Sn. Кроме того, в эксперименте использовали также монослойную культуру трансформированных крысиных клеток линии F-208. Культуры выращивались на среде RPMI-1640 с добавлением 10%-ной эмбриональной сыворотки и антибиотиков (Freeman, Hoffman, 1986). Монослойная культура выращивалась на стеклах размером 10x20мм$^2$. Трехмерную культуру (кусочек ткани эмбриона с линейными размерами 2-3мм) культивировали на коллагеновой губке «спонж». Перед переносом стекол с культурой в экспериментальные устройства с помощью бритвы вдоль длинных краев стекол снимали часть монослоя шириной 1-2 мм (наносили «рану»).

Эксперимент проводился в приборе «BIOBOX», изготовленном фирмой Domier по заказу Европейского космического агентства. В приборе автоматически поддерживался необходимый температурный режим, проводилась смена сред и фиксация биоматериала. Биоматериал помещался в культивационные камеры, каждая объемом 1 мл, вмонтированные в специальные плунжер-контейнеры (ПК). Всего было использовано шесть ПК. Три ПК для проведения полетного эксперимента и три — для наземного контроля. ПК имеет два изолированных друг от друга отсека, каждый из которых содержит одну культивационную камеру, соединенную с тремя полиэтиленовыми контейнерами (объем 1 мл). Первый контейнер был заполнен питательной средой с $H^3$ тимидином, второй — средой Хенкса, третий — фиксатором, состоящим из смеси 2%-ного глютаральдегида и 0,5%-ного формальдегида в фосфатном буфере pH 8. ПК снабжен механическими устройствами для смены сред в камерах, активируемыми электрическими импульсами, посылаемыми командным устройством «BIOBOX». Культивационные камеры заполнялись питательной средой так, чтобы объем воздушного пузыря в них был минимальным. Биоматериал размещался следующим образом: в первой паре ПК обе камеры использовались для культивирования монослойной культуры, во второй паре ПК обе камеры использовались для культивирования трехмерной культуры, в третьей паре ПК одна из камер использовалась для культивирования культуры клеток линии F-208, а другая — для трехмерной культуры.

Заполненные и герметически закрытые ПК переносили в «BIOBOX» и трое суток до старта хранили при t° = 20° C. В этих условиях клетки сохраняют жизнеспособность, но не делятся. При размещении ПК в «BIOBOX» один из каждой пары ПК помещался в полетный вариант прибора, а другой — в *наземный* произвольным образом. Эксперимент начался через 2 часа после вывода спутника на орбиту. По команде программного устройства «BIOBOX» в течение 30 минут температура была увеличена с 20° C до 37° C, после чего была отдана команда смены исходной среды в камерах на среду с $H^3$ тимидином. Активная фаза эксперимента длилась 48 часов. По истечении этого срока в камеру была подана среда Хенкса для промывки культуры от среды с $H^3$ тимидином, а через десять минут в камеру был подан фиксатор. После фиксации биоматериал хранился в «BIOBOX» при t =17° C. Контрольный эксперимент проводился синхронно полетному.

После окончания эксперимента (приземления биоспутника) и доставки «BIOBOX» в лабораторию Института медико-биологических проблем в Москву приборы были вскрыты и все ПК тщательно осмотрены. Все операции по смене среды и фиксации в невесомости и на Земле прошли в ПК успешно. Извлеченные из культивационных камер культуры размещали в чашках Петри и заливали фиксатором (2%-ный глютаральдегид и 0,5%-ный формальдегид).

Фиксированный материал хранился в холодильнике при t =8° С. Для проведения радиоавтографии были взяты стекла с монослойными культурами мышиных фибробластов и трехмерные культуры из двух контрольных и двух полетных камер ПК. Остальной материал оставлен для проведения электронной микроскопии. Из трехмерной культуры были приготовлены гистологические срезы. После проведения радиоавтографии клетки были окрашены гематоксилином. С помощью светового микроскопа МБИ-3 был проведен подсчет общего количества ядер, а также ядер, меченных $H^3$тимидином. В монослойной культуре среднее значение было выведено по результатам просмотра 100 полей зрения микроскопа при увеличении 7х90. С помощью системы VIDS IV, включающей микроскоп NIKON, компьютер IBM PC и монитор с дигитайзером, был выполнен морфометрический анализ ядер и проведена статистическая обработка полученных данных.

Экспресс-анализ биоматериала был проведен через 24 часа после окончания эксперимента. В контрольных образцах клетки равномерно распределялись по стеклу, по краям монослоя, в тех местах, где в исходной культуре перед началом эксперимента была нанесена «рана», наблюдались четкие прямые границы. В полетном варианте культура клеток, покрывающая стекло, имела многочисленные разрывы. Границы «раны» четкие, но не ровные, часть края монослоя отсутствует. В трехмерной культуре в контрольном и полетном образцах кусочки ткани были прикреплены к подложке. Заметных изменений размеров и формы кусочков не было обнаружено.

Более тщательный анализ биоматериала под световым микроскопом и статистическая обработка проводились после проведения радиоавтографии и окрашивания гематоксилином. В результате было выявлено, что в конце эксперимента качество монослоя контрольного варианта по сравнению с исходным состоянием заметно ухудшилось. Появились участки поверхности стекла, не покрытые клетками. Наблюдался выход незначительного числа клеток в «рану», единичные клетки, вышедшие в рану частично, были ориентированы ламеллярными отростками перпендикулярно к границе «раны». Выявлены ядра, меченые $H^3$ тимидином, распределенные по всей поверхности монослоя. Скоплений меченых ядер на границе «раны» не обнаружено. Среднее количество ядер в культуре равно 1031±53 ядер на 1 мм$^2$. Из них количество ядер с меткой — 8±1 ядер на мм$^2$ , что составляет 7,7±1,3% от общего количества ядер. В ядрах, окрашенных гематоксилином, просматривается 1-3 ядрышка.

Состояние полетных образцов культуры в конце эксперимента отличалось от контрольных. Поверхность стекла на месте монослоя покрыта участками ориентированных в произвольных направлениях клеток, менее распластанных, чем в контроле. Значительная часть стекла вовсе лишена клеток. Картина их распределения не позволяет достоверно судить о возможном выходе клеток в рану. Среднее количество ядер в поле зрения микроскопа 730±60 ядер на 1 мм$^2$ , из них количество ядер с меткой равняется 50±6 ядер на 1 мм$^2$ , что составляет 7,3±1,9% от общего количества ядер. В ядрах, окрашенных гематоксилином, ядрышек не обнаружено.

Статистический анализ результатов морфометрии ядер клеток в монослое и трехмерной культуре представлен в табл. 5 и 6.

Как видно из табл. 5, средняя площадь ядер в полетных образцах культуры клеток в два раза меньше площади ядер клеток контрольных образцов. Уменьшилась как длина, так и ширина ядер (на 48 и 38% соответственно). Ядра приобрели более округлую форму, о чем свидетельствует увеличение отношения их ширины к длине ядер в полете (на 7%). В результате возросла величина фактора формы (отношения площади поверхности ядра к его периметру) на 25%.

При просмотре срезов с образцов трехмерной гистокультуры было обнаружено, что эмбриональная ткань как в контрольном, так и в полетном вариантах является неоднородной. Основную ее часть составляли фибробласты, в то же время в ней имелись участки хрящевой ткани. Было просмотрено 68 срезов контрольного и 70 срезов полетного материала.

В контрольных образцах 68 из 70 срезов (97,1%) содержали ядра, включившие $H^3$тимидин в ходе эксперимента.

Закономерность распределения ядер с меткой на срезах в обоих вариантах опыта одинаковая: ядра с меткой расположены группами по краям срезов. Среднее количество ядер с меткой на срезах, включивших $H^3$ тимидин, равно 59,43 ± 4,26. Среднее количество меченых ядер на всех срезах равно 50,94 ±4,42.

В полетных образцах обнаружено 18 срезов с меткой $H^3$ тимидина, что составляет 26,5% от общего количества срезов. Количество обнаруженных меченых ядер в них равно 94. Меченые ядра содержатся как в клетках фибробластов, так и в хрящевой ткани. Обычно меченые ядра расположены группами по краю среза. Среднее количество ядер на срезах, включивших метку, — 5,22±0,63. Среднее количество меченых ядер на всех срезах — 1,38±0,32.

Как видно из табл. 6, в этом случае размеры ядер в полетной культуре меньше, чем в контроле (42%). Отношение ширины ядер к их длине и площадей ядер к их периметрам равны. Полученные данные дают основание считать, что факторы космического полета оказывают заметное влияние на состояние культуры клеток фибробластов и эмбриональной ткани (Таирбеков с соавт., 1994, а, б).

Рассмотрим возможные механизмы влияния силы тяжести на монослойную и трехмерную культуры. В случае монослоя сила тяжести действует на клетки, усиливая процесс их распластывания. Это происходит вследствие следующих двух причин. 1) Клетка и ядро обладают собственным весом, который деформирует их, прижимая к твердой поверхности (прямое влияние силы тяжести). 2) Клетки погружены в среду, удельная плотность которой меньше удельной плотности клеток. Среда своим весом прижимает клетки к стеклу, что также способствует их распластыванию (опосредованное влияние силы тяжести). В условиях невесомости эти факторы отсутствуют. В случае трехмерной культуры кусочек ткани врастает в подложку, представляющую собою губку. Клетки не стремятся к распластыванию, а лишь деформируются под действием силы тяжести. Высота столбика среды над ними по сравнению с монослоем невелика. Поэтому влияние силы тяжести на него значительно меньше, чем в случае с монослоем. В то же время и здесь мы наблюдаем эффекты влияния условий космического полета на форму ядер и их пролиферативную активность. Напомним, что в случае трехмерной культуры в невесомости не изменяется фактор формы, в то время как в монослое он значительно больше (на 25%). Уменьшение границы ядра по сравнению с площадью его поверхности может привести к снижению уровня обменных процессов между ядром и клеткой и, как следствие, к снижению метаболизма клетки в целом.

Вместе с тем, следует отметить, что состояние клеток монослойной культуры в контрольных образцах свидетельствует о том, что нам не удалось создать оптимальных условий содержания культур с момента их помещения в ПК до начала полетного эксперимента (старта космического аппарата). Дело в том, что все это время (трое суток) образцы хранились при 20° С в ПК. Эти условия были продиктованы объективными обстоятельствами, связанными с регламентными работами по подготовке биоспутника к старту. Можно предполагать, что в случае монослоя это привело к изменению состояния клеток (произошло отделение некоторой части клеток от субстрата). К тому же, хотя мы и старались содержать контрольные и опытные контейнеры в одинаковых условиях, идентичность не была абсолютной. Это связано с тем, что в полетных образцах могли произойти изменения при транспортировке на космодром, а также при воздействиях вибраций и перегрузок во время вывода биоспутника на орбиту. Хотя предварительные эксперименты, выполненные для проверки эффектов вибрации на клетки, не показали ее заметного повреждающего воздействия на культуру, этот фактор нельзя не принимать во внимание, так как точные характеристики вибраций и перегрузок не могут быть полностью смоделированы на лабораторном стенде. В лучших условиях, по сравнению с монослоем, находилась трехмерная культура, выращиваемая на упругом геле, защищающем культуру от перегрузок и вибраций, к тому же клетки в гистокультуре соединены более прочными (трехмерными) межклеточными контактами, что приводит к снижению неблагоприятного действия динамических факторов на отдельно взятую клетку.

Более того, как известно, теоретические положения биомеханики и результаты

экспериментальных исследований указывают на то, что условия культивирования, в частности, прочность взаимодействия клеток с субстратом (адгезия) и межклеточных контактов, играют важную роль для роста клеток в культуре in vitro (Ingberg, Folkmann, 1989; Gmunder et al, 1992). Очевидно, что изменение величины силы тяжести в исследованном диапазоне от 1 g до $10^{-6}$ g может играть определенную роль в этих процессах.

Таким образом, результаты послеполетного анализа культуры клеток-фибробластов дают основание считать, что резкое уменьшение величины силы тяжести (микрогравитация) может быть причиной существенных изменений морфологических характеристик и функциональной активности клеток, растущих на твердом субстрате.

Для проверки этой гипотезы нами была разработана методика, которая позволяла провести в условиях микрогравитации сравнительное изучение особенностей роста и подвижности культуры клеток, развивающихся на твердых подложках, имеющих различную молекулярную основу, наряду с традиционно используемым стеклом, который в данном случае мог служить контролем.

Эксперимент «Фибробласт-2» был проведен в полете космического летательного аппарата «Фотон-10» в начале 1995 г. совместно со специалистами ЕКА и с использованием прибора «BIOBOX». Культура фибробластов была получена из крайней плоти кожи человека и выращивалась в монослое, помещенном между двумя покровными стеклами. Затем культуру переносили в среду DMEM с добавлением 10%-ной эмбриональной сыворотки на пластиковых подложках размером 10x20мм$^2$.

Эксперимент проводили в трех вариантах. В первом варианте культура росла на чистом стекле; во втором — стекло было предварительно покрыто сорбированным коллагеном, а в третьем варианте был использован нанесенный на коллаген фибронектин. Среда инкубирования (2,5 мл), содержащая исходно 2,5x$10^6$ клеток на 1 мл, предварительно размещалась в чашках Петри диаметром 6 см. Эксперимент «Фибробласт-2», как и предшествующий, был выполнен с помощью бортового прибора «BIOBOX» с использование 8 плунжер-контейнеров (ПК).

Биоматериал был размещен в культивационных камерах ПК, каждый из которых имел по 3 изолированных друг от друга, но сообщавшихся с культивационными камерами емкости. Первая емкость содержала питательную среду с $H^3$ тимидином, вторая была заполнена средой Хенкса, а третья — фиксатором (80%-ный этиловый спирт). Перед размещением образцов в культивационные камеры плунжер-контейнеров была произведена проверка состояния культур. Было показано, что культуры, расположенные на чистом стекле, за 3 суток не образовали монослоя, тогда как культуры, развивающиеся на стеклах, покрытых коллагеном и фибронектином, были в виде монослоя. Непосредственно перед размещением этих образцов по краю монослоя тефлоновым «скальпелем» была убрана часть новообразованных клеток — сделана «рана». Затем культивационные камеры были заполнены питательной средой, закрыты герметично и размещены в «BIOBOX». Все последующие операции, включая доставку послеполетного биоматериала в Москву, были такими же, как в эксперименте «Фибробласт-1».

Послеполетный анализ, в соответствии с программой исследований, включал морфометрические измерения клеток и некоторых клеточных органелл и был проведен в лаборатории гравитационной биологии с использованием автоматизированной установки VIDS, состоящей из светового микроскопа NIKON, компьютера IBM PC и монитора с дигитайзером.

Результаты анализа полетного и контрольного вариантов суммированы в табл. 7 и 8.

В табл. 7 приведены результаты количественного анализа ядер на 1 мм$^2$ поверхности стекол, покрытых коллагеном и фибронектином в полетном и контрольном вариантах на начальной и конечной стадиях эксперимента. Как видно из представленных данных, состояние монослоев культур, развившихся на коллагене и фибронектине, различается между собой. Плотность клеток в культуре на коллагене, зафиксированном непосредственно перед началом эксперимента (помещения в плунжер), была почти в 3 раза выше чем в культуре,

расположенной на фибронектине. Очевидно, это можно объяснить увеличением числа клеток (судя по количеству ядер на 1 мм$^2$ площади) вследствие более благоприятных условий для контакта между клетками и подложкой (усилению адгезивных свойств), благодаря коллагену. В то же время, в условиях микрогравитации вследствие исчезновения или резкого уменьшения силы тяжести адгезивная свойства снижаются, и, как видно из данных, приведенных в таблице, происходит заметное уменьшения числа клеток, развивающихся на коллагеновой подложке: почти более чем на 50% в полетном варианте и только на 25% в контроле. В тоже время количество клеток, исходно имеющих весьма низкую плотность по сравнению с культурой на коллагене, в процессе экспозиции в условиях микрогравитации возрастает почти в два раза. Однако в этом случае не наблюдается существенной разницы между опытом и контролем.

В табл. 8 приведены результаты измерений формы и линейных размеров ядер в клетках полетных и контрольных культур до начала и по окончании эксперимента в вариантах с коллагеном и фибронектином. Как видно из данных, представленных на таблице, площадь ядер в клетках культуры, развившейся в полетных культурах на коллагене, увеличилась почти на 30% по сравнению с культурами на фибронектине, тогда как в контрольном варианте она не изменилась. Ядра приобрели более овальную форму (округлились), судя по увеличению в диаметре. В варианте с фибронектином этого не произошло. Однако индекс отношения длины к ширине (фактор формы) остался тем же самым как в вариантах с коллагеном, так и в вариантах с фибронектином. Кроме того, во всех трех вариантах эксперимента не было обнаружено изменений индекса отношения площади ядер к их поверхности, однако ядра в клетках культур, экспонированных в условиях микрогравитации, становятся более удлиненными по сравнению с контрольными.

Таким образом, полученные в ходе морфометрического анализа данные указывают на то, что молекулярный состав субстрата, на котором развивались культуры, имеет определяющее значение для их роста и жизнедеятельности. Так, например, культура клеток, расположенная на чистом стекле, не смогла образовать нормальный монослой до начала эксперимента; очевидно, поэтому не смогла адаптироваться к условия микрогравитации и погибла. Культура клеток, развившихся на коллагеновой подложке, еще до начала полета образовала очень плотный монослой и по этой причине в ходе эксперимента количество клеток сократилось вдвое, однако клетки не потеряли функциональную активность, о чем можно судить по факту интенсивного зарастания «раны», свидетельствующем о сохранении пролиферативной активности клеток и передвижения по субстрату. Клетки, растущие на фибронектине и не образовавшие изначально плотного монослоя, развивались в ходе эксперимента более интенсивно, о чем свидетельствует увеличение их количества к концу полета примерно в 1,8 раза.

На основании результатов экспериментов «Фибробласт» и «Фибробласт-2» можно сделать заключение, что условия микрогравитации оказывают неблагоприятно влияние на рост и развитие клеток в культуре монослоя (in vitro).

Главная причина, по нашему мнению, заключается в снижении способности клеток к адгезии (прочности сцепления с субстратом) в условиях невесомости.

***Таблица 5***. Морфологические характеристики ядер культуры клеток фибробластов (монослой)

| **Характеристика** | **Контроль n=400** | **Полет n=409** | **P** |
|---|---|---|---|
| Площадь x10$^{-4}$ мм$^2$ | 0,588±0,001 | 0,282±0,005 | <0,01 |
| Длина x10$^{-2}$ мм | 0,333±0,004 | 0,224±0,002 | <0,01 |
| Ширина x10$^{-2}$ мм | 0,231±0,003 | 0,167±0,002 | <0,01 |
| Отношение | 0,696±0,006 | 0,745±0,006 | <0,01 |
| Фактор формы * | 0,675±0,003 | 0,891±0,003 | <0,01 |

***Таблица 6***. Морфологические характеристики ядер культуры клеток трехмерной *культуры* фибробластов

| **Характеристика** | **Контроль n=800** | **Полет n=808** | **P** |
|---|---|---|---|
| Площадь x$10^{-4}$ мм$^2$ | 0,138±0,003 | 0,097±0,002 | <0,01 |
| Длина x$10^{-2}$ мм | 0,154±0,002 | 0,129±0,001 | <0,01 |
| Ширина x$10^{-2}$ мм | 0,116±0,011 | 0,099±0,001 | <0,01 |
| Отношение | 0,753±0,005 | 0,767±0,005 | нд |
| Фактор формы* | 0,883+0,003 | 0,891±0,003 | нд |

* Фактор формы — 4πx Площадь/Периметр$^2$ ; n — количество измеренных ядер

***Таблица 7.*** Среднее количество ядер в монослое культуры фибробластов на единицу площади 1 мм$^2$

| | **До начала эксперимента** | **Полет** | **Наземный контроль** | **P** |
|---|---|---|---|---|
| Клетки на коллагене | 2357±98 | 1198±56 | 1768±115 | 0.01 |
| Клетки на фибронектине | 843±50 | 1599±103 | 1422±96 | нд |

***Таблица 8.*** Морфологические характеристики ядер культуры фибробластов

**К л е т к и на к о л л а г е н е**

| **Параметры** | **До начала эксперим е** | **Полет** | **Наземный контроль** | P |
|---|---|---|---|---|
| **Площадь x$10^{-4}$ мм$^2$** | 0.32±0.01 | 0.46±0.04 *0.31±0.04 | 0.31±0.02 | 0.01 |
| **Фактор формы**** | 0.85±0.01 | 0.87±0.01 *0.82±0.01 | 0.87±0.01 | нд |
| **Отношение Длина/Ширина** | 0.60±0.01 | 0.70±0.02 *0.60±0.02 | 0.68±0.02 | нд |

**К л е т к и на фибронектине**

| **Параметры** | **До начала эксперимен** | **Полет** | **Наземный контроль** | **P** |
|---|---|---|---|---|
| **Площадь x$10^{-4}$ мм$^2$** | 0.42±0.02 | 0.44±0.02 | 0.30±0.03 | 0.01 |
| **Фактор формы**** | 0.89±0.03 | 0.87±0.01 | 0.81±0.02 | нд |
| **Отношение Длина/Ширина** | 0.69±0.02 | 0.60±0.02 | 0.63±0.02 | нд |

* ядра клеток в ране; ** Фактор формы — 4 πx Площадь/Периметр$^2$

## Исследования на растительных клетках (in situ)

Особенности роста и развития растений, в том числе изучение их морфологии,

ультраструктурной организации и функциональных характеристик растительной клетки, находились в центре внимания специалистов с самого начала космических полетов. Структуре клеток и тканей основных органов растений, выращенных *в условиях микрогравитации, посвящено* множество работ (Grey, Edwards, 1968; Lyon 1971; Кордюм с соавт., 1980; Сытник с соавт., 1982; Меркис с соавт., 1983; Таирбеков с соавт., 1979, 1985, 1986, а,б).

Результаты этих исследований дают основание предполагать, что процессы прорастания семян, морфогенез, темпы роста и ультраструктура клеток, сформированных в условиях микрогравитации и при нормальной силе тяжести на Земле, не имеют существенных различий, за исключением специализированных гравирецепторных клеток.

Вместе с тем, в некоторых экспериментах, выполненных на борту космических аппаратов, были отмечены отклонения от нормы ряда цитологических параметров: скорости деления клеток, митотического индекса, формы и размеров клеток и ультраструктурной организации. К началу 80-х годов наметилась реальная возможность методической и технологической оптимизации экспериментальных исследований с растениями. Появилось более совершенное приборное обеспечение работ, что дало нам возможность провести серию комплексных исследований морфофункциональных характеристик растений на борту биоспутников. Объектом исследования служили клетки корней и колеоптилей проростков кукурузы, выращенных в космическом полете и на Земле по разработанной нами методике (Таирбеков с соавт., 1979).

Одной из задач в комплексных экспериментах с прорастающими семенами растений было проведение сравнительного цитологического и ультраструктурного анализа клеток, сформированных в условиях микрогравитации и нормальной силы тяжести. При этом основное внимание обращали на анатомическое строение, цитологические характеристики и ультраструктурную организацию клеток корневой меристемы и чехлика. Дело в том, что внутри корневого чехлика, между клетками меристемы и секреторными клетками, находится зона специализированных клеток-статоцитов, ответственных за реализацию геотропического стимула.

***Таблица* 9.** Результаты сравнительного цитологического анализа клеток корней проростков кукурузы, выращенных в полете биоспутника «Космос-1514» и на Земле

| **Чехлик** | | | **Собственно меристема (периблема)** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Варианты опыта | Величина *(длина)* мкм | Кол-во клеток (вдоль оси) | Длина мкм | Кол-во клеток (вдоль оси) | Площадь клеток мкм$^2$ | Площадь ядер мкм$^2$ | Я/П отношения | MI,% |
| **Полет** | 265 | 17 | 657 | 70 | 109,8±2,0 | 34,4±0,8 | 0,35 | 21,9 |
| **Контроль лаборат.** | 267 | 12 | 760 | 75 | 129,1±2,8 | 32,3±0,8 | 0,25 | 22,8 |
| **Контроль Синхрон** | 268 | 13 | 783 | 82 | 122,0±3,2 | 35,4±0,9 | 0,30 | 19,9 |

Комплексные исследования морфофизиологических характеристик клеток проростков кукурузы, сформированных в условиях микрогравитации, были проведены дважды на биоспутниках «Космос-1514» (1983) и «Космос-1667» (1985). Схема проведения полетных экспериментов, методы послеполетного анализа и основные результаты подробно изложены в работах (Таирбеков с соавт., 1986; Grif et al, 1988). Изучали следующие цитологические характеристики у полетных и контрольных образцов после завершения эксперимента: величину чехлика и собственно меристематической зоны, определяли количество клеток в этих

частях корня вдоль его оси, размеры клеток периблемы и размеры ядер в этих клетках, а также ядерно-плазматические отношения, митотический индекс и индекс фаз в митотическом цикле. В этих исследованиях были использованы зоны корневых чехликов основных корешков кукурузы (3 мм от кончика корня) 7-дневных проростков. Результаты представлены в табл. 9.

Для цитогенетических исследований использовали боковые корешки. В качестве оценки состояния генетических структур были выбраны следующие параметры: частота появления множественных ядрышек в интерфазном ядре, количество хромосомных перестроек в анафазе и число случаев запаздывания подтягивания хромосом в этой же фазе (табл. 10).

***Таблица 10.*** Результаты сравнительного цитогенетического анализа клеток боковых корешков проростков кукурузы, выращенных в полете биоспутника «Космос-1667» и на Земле

| **Варианты** | **Всего клеток** | **Интерфаза Наличие ядрышек** | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | два | ± (%) | три | **±(%)** |
| **Полет** | 1390 | 38 | 2.73±0.43 | 10 | 0.72±0.27 |
| **Контроль лаборат.** | 1165 | 6 | 0.52±0.21 | 6 | 0.52±0.21 |
| **Контроль Синхрон** | 1359 | **7** | 0.52±0.10 | — | — |

| **Варианты** | **Всего клеток** | **Анафаза** | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | Хромосомные перестройки ±(%) | | Запоздалое подтягивание хроматид ±(%) | |
| **Полет** | 1034 | 11 | 1.06±0.30 | 45 | 4.25±0.28 |
| **Контроль лаборат.** | 1344 | 2 | 0.14±0.10 | 10 | 0.70±0.12 |
| **Контроль Синхрон** | 1229 | 3 | 0.24±0.13 | 9 | 0.72±0.21 |

При электронно-микроскопическом анализе основное внимание было обращено на ультраструктурную организацию клеток, составляющих корневой чехлик, характер пространственного распределения клеточных органелл, количественное содержание мембранных структур в клетке, толщину клеточной стенки и плазмалеммы, наличие слизи, продуцируемой секреторными клетками, и состояние вакуолей.

В целом, цитологические параметры клеток корневой меристемы проростков кукурузы, сформированных в условиях космического полета и на Земле, существенно не различаются между собой. Тем не менее, на некоторых показателях изученных нами характеристик клеток опытных и контрольных образцов следует остановиться подробнее.

Из анализа результатов эксперимента на биоспутнике «Космос-1514» видно, что площади клеток меристематической зоны полетных образцов несколько меньше, чем в контрольных вариантах этой зоны. Отсюда и различия в ядерно-плазматических отношениях в клетках. Митотический индекс (отношение числа делящихся клеток к числу неделящихся) в данном эксперименте был почти одинаковым в опыте и в контроле. Вместе с тем, у проростков, выращенных на борту биоспутника «Космос-1667», площади, занимаемые клетками меристематической зоны, не отличались от контрольных. Поэтому сохранились неизменными и ядерно-плазматические отношения в клетке. В то же время, в данном эксперименте число

делящихся клеток меристематической зоны в полетном варианте было ниже контрольного.

Таким образом, можно сделать предположение, что в условиях космического полета (микрогравитация) происходит незначительная задержка процессов деления и растяжения клеток. Возрастает также и число ошибок в процессе деления. Как видно из табл. 10, в условиях космического полета увеличивается количество клеток, содержащих интерфазное ядро, имеющее по 2 или 3 ядрышка, что может свидетельствовать о процессе амлификации в клетке. В анафазе, предшествующей завершающей стадии цикла клеточного деления, возрастают случаи появления хромосомных перестроек (анафазных мостиков) и запаздывания подтягивания хромосом. Таковы наиболее характерные сдвиги, присущие клеткам сформированным в невесомости.

Результаты морфометрического анализа клеток указывают на изменения формы и размеров клеток в условиях космического полета. Клетки опытных (полетных) образцов на 15-20% меньше контрольных, имеют в преобладающем большинстве сферическую форму, тогда как у контрольных клеток таких отклонений не наблюдалось. По этому поводу следует заметить, что округление («ошаривание») клеток в условиях микрогравитации — явление довольно частое и происходит не только с растительными клетками, но и с одноклеточными организмами. Было высказано предположение (Ильин, Парфенов, 1979), что клетки принимают сферическую форму в условиях микрогравитации из-за ослабления или полной потери опорных функций. В определенной степени эти изменения можно отнести за счет потери воды цитоплазмой клетки в результате плазмолиза.

Условия измененной силы тяжести, в том числе и микрогравитация, не приводят к драматическим последствиям и на ультраструктурном уровне организации клетки. Тем не менее, результаты электронно-микроскопического анализа биоматериала позволяют предположить наличие некоторых характерных различий в топографии клеток, сформированных в условиях измененной и нормальной силы тяжести. Прежде всего, это изменения в характере распределения внутриклеточных органелл в гравирецепторных клетках. Сравнительная картина распределения основных компонентов в статоцитах опытных и контрольных образцов представлена на рис. 11. Эти изменения весьма типичны и не являются неожиданными, а вполне закономерны, так как в отсутствии или при существенном снижении силы раздражения изменяется настроенная на это раздражение структура. Более интересным представляется нам факт заметного сокращения количества мембранных структур в клетках, сформированных в условиях микрогравитации. Причем такая тенденция наблюдается не только в гравирецепторных, но и в обычных (соматических) клетках корня (рис. 12). Одним из косвенных показателей сокращения количества мембранных структур в клетке является наличие большого числа плазмалеммасом.

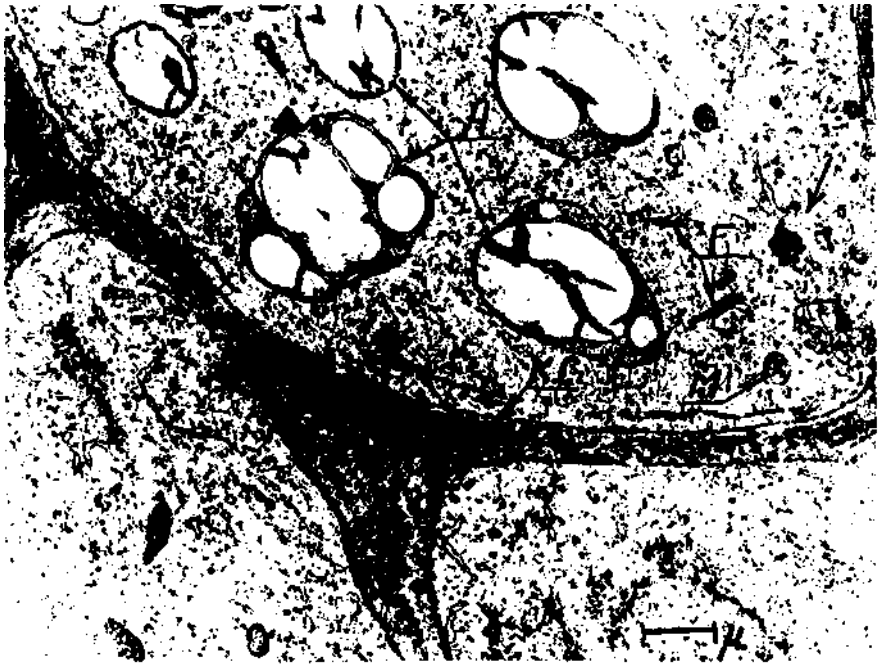

**Рис. 11а**. *Ультраструктурная организация гравирецепторных клеток корневой меристемы кукурузы Zea mays, выращенных из семян в космическом полете*

**Рис. 11б**. *Ультраструктурная организация гравирецепторных клеток корневой меристемы кукурузы Zea mays, выращенных из семян на Земле*

**Рис. 12а.** *Ультраструктурная организация соматических клеток корневой меристемы кукурузы Zea mays, выращенных из в космическом полете*

**Рис. 12б.** *Ультраструктурная организация соматических клеток корневой меристемы кукурузы Zea mays, выращенных из семян на Земле*

В секреторных клетках корневого чехлика, сформированного в условиях космического полета, заметно накопление слизи и увеличение как размеров, так и количества секреторных пузырьков, сосредоточенных в области плазмалеммасом, что свидетельствует о некотором снижении секреторной деятельности растущего корня. Наличие большого количества плазмалеммасом наряду с сокращением количества мембран, особенно мембран эндоплазматического ретикулума, является косвенным показателем отставания в скорости синтеза клеточной стенки. Это тенденция подтверждается данными химического анализа. Особый интерес представляют митохондрии. Тщательное изучение этих органелл показало, что в условиях микрогравитации происходит сокращения количества внутренних мембран и снижение их электронной плотности.

Таким образом, результаты цитологического и электронно-микроскопического анализа выявили некоторые изменения в клетках проростков кукурузы, развившихся в космическом полете. Сравним их с результатами физиолого-биохимических исследований.

Одной из немногих работ, в которых была предпринята попытка оценить некоторые показатели функциональной активности клетки в условиях космического полета (микрогравитация), был эксперимент с опухолевыми тканями моркови *Daucus carota,* инфицированными Agrobacterium tumefaciens, выполненный нами в полете биоспутника «Космос-1129» совместно со специалистами США. Согласно научной программе, участие специалистов нашего Института и биофака МГУ состояло в проведении полетного и синхронного экспериментов и послеполетного анализов части биоматериала, а именно, дыхательной активности опухолевой ткани и проницаемости клеточных мембран для ионов и электролитов. Помимо синхронного контрольного эксперимента были проведены транспортный, стационарный и клиностатные контрольные эксперименты. Исходными во

всех исследованиях считали показатели транспортного контроля (ТАК КАК). Схема подготовки и проведения эксперимента и методы послеполетного *анализа биоматериала* и результаты исследований подробно изложены в нашей статье (Таирбеков с соавт., 1982).

Состояние материала, экспонированного в космосе в течение 14 дней (опытный вариант) и в контрольных экспериментах, описывали сразу же при одновременном вскрытии всех контейнеров: полетного и контрольных. Равномерный и оптимальный рост опухолевой ткани наблюдался во всех вариантах эксперимента за исключением материала синхронного контроля, где накопление сухой массы было на 30% ниже, чем в транспортном контроле. Данные измерения дыхательной активности опухолевой ткани опытного и контрольных вариантов представлены в табл. 11.

***Таблица 11.*** Дыхательная активность опухолевой ткани моркови.

| **Эксперимент** | **мкМ $O_2$ на 1 г сырой массы в 1 мин** | **%** | **мкМ $0_2$ на 1 г сырой массы в 1 мин** | **%** |
|---|---|---|---|---|
| **Транспортный** | $472 \cdot 10^{-3}$ | 100 | $4819 \cdot 10^{-3}$ | 100 |
| **Полетный вариант** | $420 \cdot 10^{-3}$ | 88.9 | $3851 \cdot 10^{-3}$ | 79.9 |
| **Стационарный** | $426 \cdot 10^{-3}$ | 90.2 | $4605 \cdot 10^{-3}$ | 95.5 |
| **Синхронный** | $455 \cdot 10^{-3}$ | 95.2 | $4399 \cdot 10^{-3}$ | 102.0 |
| **Клиностат** | $552 \cdot 10^{-3}$ | 116. | $6513 \cdot 10^{-3}$ | 135.1 |

Как видно из таблицы, наибольшей интенсивностью дыхания обладают клетки, экспонированные на клиностате, а наименьшей — в условиях полета. Результаты других контрольных экспериментов близки между собой и занимают промежуточное положение. Наиболее четко это видно при пересчете количества опухолевой ткани на сухую массу.

Увеличение скорости дыхания растительных тканей в условиях непрерывного вращения на клиностате и причинные механизмы этого феномена мы уже обсуждали. Добавим лишь, что определенную роль в этом явлении играет интенсивность движения цитоплазмы. В условиях микрогравитации, как было показано в наших исследованиях с плазмодием миксомицета, движение цитоплазмы не прекращается, хотя скорость этого процесса заметно снижается по сравнению с контролем. Однако дыхательная активность полетных образцов заметно отстает даже от вариантов стационарного контроля. С нашей точки зрения, причину такого различия опыта *от контроля* следует искать в физиологическом состоянии тканей, находящихся в условиях микрогравитации и на клиностате. Было установлено, что причиной резкого возрастания дыхательной активности тканей, находящихся на вращающемся клиностате, является «водный стресс», развивающийся вследствие усиленного испарения с поверхности биоматериала. Ответной реакцией клетки на «водный стресс» является увеличение доли молекул, прежде всего легкой углеводной фракции, способных удерживать воду и предотвращать дальнейшее подсыхание ткани. В то же время, наличие относительно высоких концентраций субстрата окисления (легких углеводов) ведет к увеличению метаболической активности клетки, что было показано ранее (Хендрикс, Бейкер, 1979).

Однако приведенные выше факты являются не единственными. Существенную роль в этих процессах играет состояние мембран. Известно, что материальной основой, на которой формируются этапы ответной реакции клетки на любые воздействия, является мембрана. Поэтому вполне был оправдан предпринятый нами анализ функционального состояния мембран, а именно, определение их проницаемости для электролитов и ионов $K^+$ и $Na^+$. Результаты этих исследований представлены в табл. 12.

***Таблица 12.*** Концентрация ионов $K^+$ и $Na^+$ в настое опухолевой ткани моркови.

| | **Концентрация ионов $K^+$** | | **Концентрация ионов $Na^+$** | |
|---|---|---|---|---|
| **Эксперимент** | мМ на 1 г сухой массы | % | мМ на 1 г сухой массы | % |
| **Полетный вариант** | 357,6 | 539 | 109,1 | 138 |
| **Синхронный** | 85,3 | 129 | 77,6 | 141 |
| **Транспортный** | 66,3 | 100 | 55,1 | 100 |
| **Клиностат** | 113,3 | 171 | 44,6 | 80 |

Из этих данных видно, что в условиях микрогравитации выход электролитов из клетки во внешнюю среду возрастает более чем в 5 раз по сравнению с контролем и в 3 раза превышает показатели клиностатного варианта. Вместе с тем, резко возрастает и выход К из клетки, и немного меньше выход Na . Эти результаты, бесспорно, свидетельствуют об увеличении проницаемости клеточных мембран в условиях микрогравитации. Аналогичные данные, как было показано выше, получены в наших экспериментах с одноклеточными организмами — инфузориями.

Таким образом, результаты исследований свидетельствуют о том, что условия космического полета оказывают влияние на физиолого-биохимические характерстики растительных клеток in situ.

Некоторую дополнительную информацию для понимания изменения интенсивности метаболических процессов на клеточном уровне (in situ) в условиях микрогравитации нам удалось получить в эксперименте «Масса растений», подготовленном и проведенном в полете биоспутника «Космос-1667». Объектом исследования служили прорастающие семена кукурузы. Схема подготовки эксперимента, описание бортовой установки и методы послеполетного анализа описаны в работе Таирбекова с соавт. (1986). В этом эксперименте, наряду с изучением некоторых физиолого-биохимических характеристик, определяли сырой и сухой вес образцов биоматериала до и после космического полета. Поскольку прорастающие семена находились в темноте, что исключало процесс фотосинтеза, то при прорастании семян происходила лишь трансформация запасных веществ эндосперма в структурированную ткань основных органов проростков: корней и колеоптилей — при относительно постоянной массе за исключением незначительных потерь в процессе дыхания. Так как начальные массы отобранных для полета и наземного контрольного эксперимента семян были практически одинаковы, и в каждом из экспериментальных контейнеров содержалось одинаковое количество воды (100 мл), можно было определить разницу сухой и сырой массы проростков полетного и контрольного образцов.

Результаты послеполетного весового анализа приведены на рис. 13.

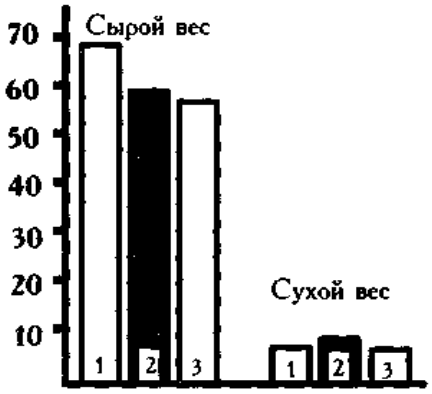


**Рис. 13.** *Весовые характеристики проростков кукурузы Zea mays, выращенных из семян в*

*космическом полете и на Земле. 1 — полет, 2 — контроль (синхрон), 3 — контроль лабораторный*

Из представленных данных видно, что в условиях космического полета происходит более интенсивный транспорт и накопление воды в проростках, о чем свидетельствует разница в сыром весе между опытом и контролем. Интересно, что аналогичные данные были получены нами и французскими специалистами в опытах с инфузориями, в которых наблюдалось интенсивное накопление воды. Однако в случае с проростками кукурузы речь идет не только о более интенсивном накоплении воды в полетных образцах по сравнению с контрольными, но и более интенсивном ее испарении в процессе роста.

Таким образом, результаты эксперимента по определению массы растений дали нам некоторую косвенную информацию об интенсивности физиологических процессов, протекающих в условиях микрогравитации. Эти результаты, в совокупности с данными морфометрического анализа и цитологических исследований, представляют собой основу для оценки структурной организации и функциональной активности растений, развивающихся в условиях космического полета (Таирбеков с соавт., 1986).

Одним из подходов к расшифровке механизма изменений, происходящих в структуре и функциях растительных организмов в условиях микрогравитации, служит интенсивность энерготрат, которую можно оценить количественно путем определения содержания АТФ в клетке. В конкретном эксперименте количественное содержание АТФ в клетках полетных и контрольных проростков кукурузы было определено методом биолюминисцентного анализа с использованием фермента люциферинлюциферазы на лабораторном приборе — АТФ-метре. Полученные результаты (среднестатистические данные из 10 повторно-стей) представлены на рис. 14. Как видно из гистограммы, в клетках корней опытного и контрольного вариантов содержание АТФ примерно одинаково, тогда как в клетках колеоптилей проростков, сформированных в условиях микрогравитации, содержание АТФ почти в 2 раза превышает контроль. Очевидно, что такое значительное различие между опытом и контролем в интенсивности накопления АТФ трудно объяснить лишь разницей в интенсивности синтеза этого соединения. По всей вероятности, определяющую роль играют факторы, регулирующие расход АТФ в клетке. В данном случае это происходит в результате снижения энергопотребления в клетках.

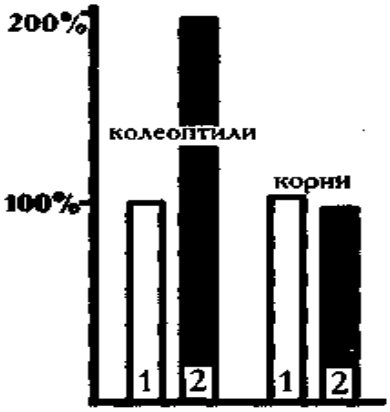


**Рис. 14.** *Количественное содержание АТФ в проростках кукурузы (мкг на 100 мг сухого веса, %). 1 — контроль, 2 — полет*

Исследование процессов роста и развития растений, в том числе изучение особенностей морфологии, ультраструктуры и функциональных характеристик растительной клетки в условиях микрогравитации, проводится с начала космических полетов. Структуре клеток и тканей основных органов высших растений посвящены многочисленные работы.

Результаты этих исследований дают основание утверждать, что процессы прорастания семян, морфогенез, темпы роста, деления и ультраструктура клеток, сформированных в

условиях космического полета и на Земле, не имеют существенных различий. Вместе с тем, проведенные исследования дают основание предполагать, что изменение величины силы тяжести оказывает заметное влияние на метаболическую активность растительной клетки.

## Возможные механизмы адаптации клетки к условиям измененной силы тяжести

В настоящее время многолетнюю дискуссию о возможности влияния измененной силы тяжести на клетку можно считать завершенной. На вопрос, поставленный в середине 60-х годов: способно ли изменение гравитационного вектора вызывать заметные сдвиги в структурно-функциональной организации клетки, — можно дать положительный ответ. Такой вывод позволяют сделать тщательный и всесторонний анализ результатов многочисленных экспериментов с различными типами клеток и одноклеточных организмов, выполненный специалистами в лабораторных условиях при моделировании эффектов гипер- и гипогравитации, и в условиях микрогравитации, на борту космических летательных аппаратов.

При обсуждении проблемы влияния измененной силы тяжести на клетку важно отличать гравитационные эффекты, обнаруживаемые в клетках свободноживущих или образующих колонии, от эффектов в клетках, функционирующих в составе единого многоклеточного организма. По мере увеличения клеток, образования агрегатов, колоний, сложных многофазных систем, и тем более многоклеточного организма, изменяются не только характер и особенности их функционирования, но и физико-химические параметры окружающей среды, а, следовательно, и отношения во взаимосвязи организм-среда, так как динамика роста и жизнедеятельность клеток, как и любой другой биологической системы, обеспечивается контактами с внешней средой. Для клеток высших растений и животных внешняя среда представлена соседними клетками, межклеточной жидкостью и специальными компонентами организма, такими как кровь, лимфа и другие растворы.

Функционирование одноклеточных организмов, динамика их роста и особенности распределения в среде в условиях измененной силы тяжести представляют большой интерес для космической биологии и являются предметом самого пристального внимания специалистов. Наибольшее количество экспериментов в космосе выполнено с одноклеточными свободноплавающими организмами — инфузориями, принадлежащими к типу Ciliophora: *Paramecium aurelia* и *Tetrahymena pyriformis* (Planel et al, 1981,1982; Ирлина с соавт., 1989; Таирбеков с соавт., 1992), а также *Chlamydomonas reinhardtii* и *Euglena gracilis,* принадлежащим к типу Flagellata (Габова с соавт., 1991; Gavrilova, Gabova, 1992). Кроме того, в нашей лаборатории выполнена серия исследований на перечисленных выше и других представителях одноклеточных организмов в условиях повышенной силы тяжести в диапазоне ускорений от 2 до 5 g (Гаврилова с соавт., 1995; Габова с соавт., 1995). Как показали результаты исследований, динамика роста культуры характеризуется сложной кривой, отражающей эффект стимуляции пролиферативной активности, которая в скором времени сменяется торможением ростовых процессов и заметным снижением темпов роста по сравнению с контролем. Причем, точка пересечения кривых роста контроля и опыта располагается тем ближе к началу процесса чем, выше ускорение силы тяжести (Таирбеков с соавт., 1991, 1992).

Отсюда можно сделать вывод о том, что влияние силы тяжести может быть реализовано как путем изменения характеристик взаимодействия всей клеточной популяции (опосредованное воздействие), так и отдельно взятой клетки (прямое воздействие) с окружающей средой. Наибольший вклад в формирование нового морфофизиологического состояния клеточной культуры, по нашему мнению, вносят изменения физико-химических параметров среды, происходящие под действием гравитационного фактора (Таирбеков, 1994, 1996).

Анализ полученных результатов с позиций современных теоретических положений дает основание считать, что сила тяжести оказывает модифицирующее влияние на рост и поведенческие характеристики клеточной культуры и жизнедеятельность одноклеточных организмов.

Как показали теоретические расчеты, подтвержденные результатами экспериментальных

исследований с использованием двухкомпонентной системы, состояние динамической невесомости, присущее космическому полету, приводит к резкому изменению поверхностных взаимоотношений сред газ-жидкость, как правило, в результате образования большого количества газовых пузырьков в жидкости (Авдуевский, Полежаев, 1985). В этом случае происходит увеличение поверхностей пограничных зон, что создает более благоприятные условия для газообмена. Очевидно, именно этими обстоятельствами можно объяснить результаты большинства экспериментов с одноклеточными организмами в космосе, где был получен стимулирующий эффект. Ингибирующий эффект гипергравитации на скорость роста популяции одноклеточных организмов и темпы деления клеток, происходит, с нашей точки зрения, вследствие увеличения скорости седиментации и снижения уровня процесса биоконвекции (Tairbekov, 1992).

Таким образом, можно утверждать, что, варьируя силой тяжести как одним из переменных факторов, можно регулировать процессы культивирования одноклеточных организмов. Это утверждение, помимо теоретического интереса, имеет прямой практический смысл, так как дает возможность оптимизировать рост клеток и накопление биомассы, тем самым внести практические рекомендации не только в космическую, но и земную биотехнологию.

Значительное место в космической биологии занимает изучение морфологии и функциональных характеристик клеток в культуре (in vitro). Исследования с культурами клеток и тканей имеют большое значение для оценки первичных этапов развития ответной реакции живой системы на внешнее воздействие, так как зачастую изменения физиологической нормы реакции организма, наблюдаемые на клеточном уровне, есть «эхо» нарушения регуляторных систем высшего порядка. Сообщество клеток в культуральной среде свободно от влияния интегрирующих и координирующих систем целостного организма, лишено внутриорганных, а зачастую и внутритканевых связей, что позволяет избежать нежелательных «маскирующих» эффектов реакции целостного организма. Все это дает достаточное основание специалистам использовать культуру клеток как один из надежных объектов исследования.

Наиболее надежные результаты в экспериментах с культурой клеток были получены в последнее время благодаря созданию и использованию современной бортовой аппаратуры. Так, в конце 80-х годов в полете биоспутника «Космос-2044» с помощью бортового прибора «Proto» был подготовлен и проведен нами международный, с участием специалистов Дании, Норвегии и Швейцарии, эксперимент «Протопласт». Объектами исследования служили изолированные из культуры тканей моркови *(Daucus carota)* и проростков рапса *(Brassica napus)* протопласты, начальные этапы формирования которых в клетки протекали в условиях микрогравитации. Сравнительный послеполетный анализ биоматериала выявил существенное отставание в процессах развития клеток опытного (полетного) варианта от контроля по всем показателям. Были отмечены торможение процессов синтеза белка, становления ультраструктурной организации клеток и формирования клеточной оболочки (Таирбеков с соавт., 1992; Rassmussen et al, 1992).

Несколько позже, в начале 90-х годов, с помощью бортового прибора «BIOBOX» нами совместно со специалистами Европейского космического агентства были подготовлены и проведены в полете биоспутника «Космос-2229» и «Фотон-10» эксперименты с культурами клеток костной и соединительной тканей «Остеобласт» и «Фибробласт».

Результаты этих исследований внесли существенный вклад в изучение первичных этапов процесса адаптации организма к факторам космического полета, главным образом, динамической невесомости. Было показано, что развитие и функционирование остеобластов и фибробластов в условиях микрогравитации существенно отличается от нормы. В частности, заметно снижается накопление кальция в остеобластах, снижается скорость роста и передвижения по субстрату у фибробластов, изменяются адгезивные свойства клеток (Valdhuijen, Van Loon, 1993; Таирбеков с соавт., 1994).

Таким образом, нами были изучены основные морфофункциональные характеристики различных типов клеток: свободноплавающих одноклеточных организмов и индивидуальных

клеток, пассивно распределенных в жидкой среде (in vivo), культуры клеток, растущих на твердом субстрате (in vitro), и клеток, функционирующих в составе многоклеточного организма растений (in situ). На основании полученных данных была проведена сравнительная оценка гравитационной чувствительности изученных типов клеток. Было четко показано, что свободноживущие, активно плавающие одноклеточные организмы более чувствительны к изменению величины и направления силы тяжести по сравнению с пассивно распределенными в жидкой среде или распластанными на твердом субстрате клетками. Что же касается клеток, функционирующих в составе многоклеточного организма, то в этом случае сравнительный анализ данных затруднен из-за сложностей, а иногда и невозможности получить четкие сведения об изменениях параметров регуляторных процессов, протекающих на более высоких уровнях организации живой системы.

Каковы же причины выявленных различий в гравичувствительности различных типов клеток? Попытаемся ответить на этот вопрос и обосновать отличия стимулирующего от тормозящего эффектов измененной силы тяжести в клетках с различной средой обитания, морфологическими и функциональными характеристиками при помощи сравнительного анализа результатов трех последних экспериментов: «Цитос», «Протопласт», «Фибробласт».

В эксперименте «Цитос», выполненном в полете биоспутника «Космос-1887» на свободноплавающих одноклеточных организмах — инфузориях *Paramecium aurelia, Tetrahymena pyriformis,* было показано, что при экспозиции культуры в условиях микрогравитации наблюдается отчетливая стимуляция пролиферативной активности, сопровождающаяся изменениями формы («ошаривание»), увеличением размеров («набухание»), повышением проницаемости мембран для ионов K и Na и относительным снижением синтеза белка в клетке. Вместе с тем, результаты двух других экспериментов, «Протопласт» и «Фибробласт», где в качестве объекта исследования были использованы культуры клеток растений и животных, однозначно указывают на снижение уровня жизнедеятельности клеток в условиях микрогравитации по основным морфо-функциональным показателям.

Итак, стимулирующее воздействие микрогравитации было выявлено на свободноплавающих одноклеточных организмах, средой обитания которых является жидкость, точнее граница фаз газ-жидкость. Как известно, эти организмы в подавляющем большинстве являются гетеротрофами, проявляют отрицательный геотаксис и положительный окситаксис, а плотность их клеток несколько выше плотности воды. В силу этих причин ареал их существования — тонкий слой, приходящийся на границу раздела водной и воздушной поверхности, наиболее насыщенный кислородом. В обычных условиях, на Земле, эти организмы за возможность находиться как можно ближе к поверхности должны затрачивать определенное количество энергии. Энергия эта, в принципе, невелика и расходуется, в основном, на работу двигательного аппарата (биение ресничек, вращение жгутиков). Тем не менее, она занимает определенное место в общем энергетическом балансе клетки. В невесомости, как известно, отпадает необходимость в затрате усилий для преодоления силы тяжести, а освободившаяся энергия может быть использована на повышение метаболической активности клетки.

Более того, в условиях невесомости происходит пространственное перераспределение компонентов двухфазной системы во внешней среде в результате образования множественных газовых пузырьков в воде, что существенно увеличивает площади поверхностей раздела фаз и создает тем самым более благоприятные условия для роста клетки. Возможно, что именно этими двумя обстоятельствами и объясняется стимулирующий эффект микрогравитации. В этих случаях, с нашей точки зрения, отсутствие силы тяжести (невесомость) или резкое снижение напряженности гравитационного поля до $10^{-5}$ g (микрогравитация) существенно «улучшает» их функциональные возможности вследствие повышения «свободной» энергии системы и дает возможность освободившуюся энергию использовать для «других нужд» клетки, в первую очередь, повышения двигательной активности и обмена веществ.

С другой стороны, в экспериментах «Протопласт» и «Фибробласт», а также в других

исследованиях, выполненных на клеточных культурах или клетках, лишенных двигательного аппарата и пассивно распределенных в среде, в условиях микрогравитации выявлено тормозящее воздействие факторов космического полета на их рост и функциональную активность. Очевидно, что потеря веса для этих типов клеток и изменение физико-химических параметров окружающей среда приводит к негативным последствиям в результате нарушения привычных эволюционно закрепленных связей клеток со средой их обитания. Прежде всего, вероятно, резко снижается или полностью нарушается прохождение информационных сигналов, необходимых для осуществления межклеточных взаимодействий. Кроме того, снижается прочность сцепления с субстратом (адгезивные свойства), скорость передвижения по субстрату, а также затруднен доступ питательных веществ и утилизация отходов жизнедеятельности клеток, что в целом приводит к торможению скорости ростовых процессов.

Исходя из выдвинутой нами гипотезы о двуединстве морфофункциональной организации клетки как химического реактора с одной стороны, и механической конструкции с другой (Таирбеков, 1990), можно предположить, что сила тяжести также может оказывать двойственное влияние на структуру и функциональную активность клетки. Причем степень этого влияния — прямого (непосредственного), вследствие механической деформации самой клетки и внутриклеточных структур, или опосредованного, из-за изменения физико-химических параметров окружающей среды, будет зависеть прежде всего от типа клеток, их морфофизиологического статуса и среды обитания.

Применительно к результатам экспериментов, которые были обсуждены выше, по нашему мнению, в случае с одноклеточными свободно плавающими организмами, эффект измененной силы тяжести (гипер-, гипо- и микрогравитации) является опосредованным, а в случае с клетками, пассивно распределенными в жидкой среде или распластанными на твердом субстрате, имеет место прямое (непосредственное) действие этого фактора.

Из краткого анализа результатов, приведенного выше, становится очевидным, что даже относительно кратковременная экспозиция различных типов клеток приводит к изменениям их морфологии и функциональной активности. На наш взгляд, для качественной и количественной оценки степени влияния измененной силы тяжести на клетку из морфологических характеристик наиболее значимыми являются размеры клеток и их форма, а из функциональных — уровень метаболической активности и энергообмена, тогда как среди внешних факторов важнейшую роль играют показатели концентрационных градиентов и поверхностных соотношений: газ-жидкость-твердое тело. Однако значимость перечисленных параметров и характеристик разная для различных типов клеток. Так, например, для Ciliata и Flagellata, активно плавающих в жидкости, наиболее значимым является уровень метаболической активности; для клеток, пассивно распределенных в жидкой среде — концентрация органических веществ и неорганических соединений и характер их пространственного распределения, а для клеток, растущих на твердом субстрате — надежность межклеточных контактов и прочность сцепления с субстратом.

Как известно, одним из проявлений действия внешнего фактора на живые организмы, в том числе и одноклеточные, является механическое раздражение, обусловленное наличием силы тяжести, точнее, изменение ее величины и направления. Если сравнить гравитационную чувствительность соматических клеток животных и растений с клетками, представляющими собой специализированные гравирецепторы, то для первых, мы считаем, наиболее важными являются форма, размеры и уровень метаболической активности в зависимости от экологии, а для последних гораздо более важный показатель — степень развитости и надежности систем внутриклеточной сигнализации и межклеточных контактов.

Возросший в последние годы интерес к клеточным и молекулярным механизмам гравичувствительности и связанные с этим широкомасштабные исследования закономерны, так как тщательный и всесторонний анализ комплекса изменений, происходящих в клетке, позволит обосновать общие подходы к механизмам адаптации на уровне организма в целом.

К настоящему времени изучение природы и закономерностей структурно-функциональных перестроек, происходящих в условиях измененной силы тяжести в живых системах, проведено

на большом количестве разнообразных биологических объектов: от микроорганизмов до клеток млекопитающих, включая и человека. Получены убедительные доказательства, что изменение величины силы тяжести в диапазоне от $10^{-6}$ до 10 g вызывает заметные сдвиги морфофункционального статуса клеток. Глубина и характер этих изменений, в первую очередь, зависят от типа клеток, уровня их активности и особенностей среды обитания.

Все это позволяет нам сформулировать рабочую гипотезу об общих принципах адаптации живых организмов к измененной силе тяжести на клеточном уровне.

В одноклеточных организмах, а также индивидуальных клетках развивающихся в культуре (in vivo или in vitro), образующих в природных или лабораторных условиях различного рода ассоциации, гравитационные эффекты непосредственно связаны с их формой, размерами, уровнем метаболической активности и средой обитания, тогда как в многоклеточных организмах влияние измененной силы тяжести на клетки, реализуется, главным образом, через изменения регуляторных механизмов высшего порядка: нервных и гормональных.

# З А К Л Ю Ч Е Н И Е

Медико-биологические исследования, выполненные в условиях динамической невесомости на борту космических летательных аппаратов и в лабораторных условиях на Земле при моделировании эффектов невесомости, позволили выявить основные физиологические механизмы адаптации организма к измененной силе тяжести. За относительно короткий срок (30 лет) интенсивных исследований были получены экспериментальные доказательства ряда характерных функциональных отклонений, происходящих в организме за время космического полета: быстрых, наступающих в первые же часы орбитального полета (нарушение вестибуло-двигательных функции, перераспределение жидких сред в организме, приводящее к сдвигу водно-солевого баланса) и медленных, развивающихся по мере увеличения сроков полета (изменения в опорно-двигательном аппарате, происходящие вследствие атрофии мышечных функций и снижения механической прочности костной ткани в результате потери $Ca^{++}$ ).

Значительная часть научной информации была получена при изучении функциональных систем организма человека, и это понятно, ибо на первых этапах основное внимание уделялось медико-физиологическим исследованиям, так как необходимо было, в первую очередь, оценить возможность пребывания человека в условиях измененной силы тяжести, сначала при резком кратковременном повышении ее уровня (перегрузки при старте космического корабля), до почти полного исчезновения силы тяжести (орбитальный полет), а затем вновь с возрастанием силы тяжести при возвращении на Землю.

Казалось бы, проблема поддержания нормальной жизнедеятельности и физиологических функций организма человека в космическом полете и после возвращения на Землю должна сводиться к необходимости и достаточности применения мер, препятствующих развитию нежелательных отклонений, чему и были посвящены усилия специалистов: медиков и физиологов. Однако в последнее время при переходе на качественно новый этап освоения космического пространства, в частности, при подготовке к длительным межпланетным перелетам, ближайшим из которых видится экспедиция на Марс, ситуация существенно меняется не только объективно, что связано с значительным увеличением длительности полета (до двух лет), посадкой на другую планету и возвращением на Землю, но и субъективно, поскольку, покинув уже ставшей привычной земную орбиту, человек длительное время останется в одиночестве в необъятных просторах Вселенной. Возникают новые проблемы, обусловленные существенным возрастанием интенсивности космической радиации, длительности действия микрогравитации, требований к системам жизнеобеспечения, особой психологической обстановкой. Каждая из этих проблем будучи самостоятельным направлением космической биологии и медицины, является настолько важной и актуальной, что, безусловно, требует самостоятельного обсуждения. Мы же остановимся на проблеме микрогравитации, с более подробным анализом клеточных и молекулярных механизмов влияния этого фактора на живые организмы.

Обширный экспериментальный материал, полученный на различных биологических объектах, от одноклеточных до млекопитающих, дает возможность судить об особенностях и динамике развития приспособительных реакций организма к новым условиям существования. До недавнего времени считалось, что действие факторов космического полета, главным образом микрогравитации, сводится лишь к обратимым перестройкам морфофункциональных характеристик, приводящим к изменениям, имеющим адаптивную ценность и восстанавливающихся в относительно короткие сроки после прекращения действия фактора. Однако результаты исследований последних лет указывают на то, что увеличение сроков пребывания живых организмов в космосе приводит к изменениям, которые можно характеризовать как пограничное состояние между адаптацией и патологией. Дальнейшее увеличение длительности космических полетов, сопровождающееся повышением частоты и интенсивности радиационного излучения и увеличением длительности действия микрогравитации, очевидно, будет способствовать снижению компенсаторно-приспособительных возможностей организма и усилению тенденции к патологическим

необратимым изменениям. Наибольшую опасность, с нашей точки зрения, могут представлять следующие физиологические отклонения: изменения (морфологические и функциональные) форменных элементов крови, коррелирующие с длительностью полета: уменьшение количества эритроцитов — космическая анемия, снижение активности лейкоцитов, приводящее к ослаблению устойчивости организма, уменьшение лимфоцитарной активности, связанное с изменением иммунореактивности, снижение скорости процессов регенерации, что приводит к увеличение сроков заживления ран, ускорение темпов экскреции ионов Са в костной ткани, приводящее к повышению риска травм, прогрессирующая мышечная атрофия, осложняющая реадаптацию к условиям земной силы тяжести и т.д.

На наш взгляд, наиболее перспективной стратегией исследований в космической биологии и медицине, должно стать выявление и изучение связей между изменениями, происходящими в живом организме в условиях космического полета и клеточными механизмами, лежащими в основе этих изменений. Какова глубина этих изменений и как велика их опасность для организма в целом? Каковы возможные компенсаторные механизмы самой клетки? Если они недостаточны, то как усилить эндогенные возможности клетки вмешательством извне? Какими способами (химическими препаратами, физическими воздействиями) можно осуществить коррекцию физиологической активности клетки?

Естественно, что нет возможности ответить на все поставленные вопросы сегодня, когда в клеточной биологии больше неизвестного, чем понятного. Поэтому попытаемся оценить ряд наиболее важных структур и процессов в клетке во всей их совокупности с упором на регуляторные системы и молекулярные механизмы их функционирования. Лишь понимание клеточных и молекулярных механизмов может помочь решению поставленных задач. Построив работу в концептуальном плане, можно попытаться составить прогноз: как отдельные системы клетки поведут себя в условиях длительного действия микрогравитации. Этот прогноз следует строить на основе уже имеющихся, хотя и неполных, данных, полученных в процессе изучения влияния факторов кратковременного космического полета на структуру и функции клетки. С нашей точки зрения, следует обратить внимание и активизировать разработку следующих направлений исследований, а именно: молекулярной организации мембран и элементов цитоскелета, биоэнергетики клетки, систем передачи информации внутри клетки и межклеточных взаимодействий.

Неотъемлемым свойством живой клетки является наличие цитоскелета. Основное назначение цитоскелета — поддержание механической прочности клетки в поле силы тяжести. Вместе с тем, цитоскелет выполняет в клетке и функциональную роль, связанную с молекулярными перестройками. Динамика цитоскелетных структур: микротрубочек и микрофиламентов, зависит от множества внешних факторов и определяется частыми реакциями внутриклеточного метаболизма.

Цитоскелет служит медиатором гравитационных эффектов. Поэтому, мы вправе ожидать, что изменение силы тяжести через ряд метаболических реакций может воздействовать на динамику элементов цитоскелета — сократительных белков актиновой и тубулиновой природы. Ожидаемый результат может проявиться либо в изменении количества элементов цитоскелета (уменьшении или увеличении числа микротрубочек и микрофиламентов), либо в изменении их суммарной скорости полимеризации. В случае обнаружения изменений в динамике цитоскелетных структур в условиях микрогравитации, можно будет приступить к анализу причин этих изменений. Поскольку ясно, что наиболее существенными регуляторами динамики перестройки в цитоскелете являются белки, необходимо изучить скорость фосфорилирования этих белков. Такая постановка вопроса тем более оправдана, так как недавно было показано, что в условиях гипергравитации, наблюдается стимуляция фосфорилирования белков цитоскелета в клетках (Kumei et al, 1991).

Общеизвестно, что интенсивность энергообмена является интегральным показателем физиологического состояния организма, одноклеточного или многоклеточного. Любая

биологическая система, в том числе и клетка, для сохранения своего морфофункционального статуса и поддержания жизнедеятельности, нуждается в постоянном притоке энергии. Энергетический обмен — это широкое понятие, включающее в себя процессы образования, транспорта и утилизации энергетических источников. Для любой открытой системы ясно, что между ней и окружающей средой должен происходить обмен энергией в любой доступной форме. Влияние силы тяжести на энергетический обмен клетки вытекает из теоретических положений гравитационной биологии. Так например, при изменении параметров гравитационного поля, клетка корректирует свое положение в пространстве, затрачивая на это определенное количество энергии. Кроме того, для перехода клетки из одного состояния в другое в ходе морфогенетических перестроек: передвижения по твердому субстрату или перераспределения клеток в жидкой среде, необходима энергия. Скорее всего следует ожидать уменьшения энергозатрат клеткой в условиях космического полета именно вследствие изменения перечисленных функций клетки. Для многоклеточного организма, снижение уровня энергообмена может произойти в результате уменьшения энергетических расходов на мышечную деятельность в результате снижения нагрузки на опорно-двигательный аппарат и изменения статуса организма. В энергообмене живых систем различают два процесса: аэробный (окислительное фосфорилирование) и анаэробный (гликолиз). Оба эти процесса регулируется каждый по отдельности и в то же время взаимосвязаны. Вероятно, что именно регуляция оказывается нарушенной в результате длительного воздействия измененной силы тяжести.

Как известно, в клетке существует система сигнализации, управляющая множеством процессов внутриклеточной деятельности, в том числе и энергетическим обменом. Среди уже выявленных внутриклеточных сигналов основная роль отводится системе G-белков фосфатидилинозитного цикла и ионам $Ca^{++}$. Эти подсистемы важны каждая по отдельности и при формировании интегрального ответа. В отличие от других систем (например системы репликации и синтеза структурных компонентов), за счет способности сигналов амплифицироваться, незначительные возмущения во внешней среде, могут привести к значительным модуляциям величины сигнала. Поэтому, резонно изучить влияние силы тяжести на изменение сигнальных (управляющих) структур. Особое внимание следует уделить передаче сигнала от плазматической мембраны к цитоплазматическим органеллам в ответ на связывание гормона. Известно например, что длительное пребывание в космосе сопряжено с потерей $Ca^{++}$. Понятно, что кроме очевидного влияния на костную ткань, изменение в содержании $Ca^{++}$ приведет к изменению в регуляции клеточного метаболизма в различных тканях и органах.

Одним из важных свойств клеток, ассоциированных в различные типы тканей и специализированные органы, является их кооперация, обеспечивающая координированные действия клеток в ответ на внешний стимул, в том числе и гравитационный. Эта кооперация обеспечивается за счет системы межклеточных взаимодействий, в которой выделяют два типа: не требующий прямого контакта между клетками (тип сигнального взаимодействия) и осуществляющийся на локальном уровне при непосредственном контакте соседних клеток друг с другом. С нашей точки зрения, при изучении влияния измененной силы тяжести на эти клетки, необходимо сконцентрировать внимание на одном из проявлений локальных межклеточных контактов, осуществляемых с помощью высокопроницаемых контактов (ВПК). Предполагается, что эти взаимодействия происходят благодаря существованию между клетками каналов информации, крайне чувствительных к изменениям внешней среды.

Наши теоретические предположения уже сегодня могут быть подтверждены результатами экспериментальных исследований. Данные, полученные за последнее время на культурах клеток и тканей в модельных экспериментах на Земле и в реальном космическом полете, позволяют считать, что ведущую роль в передаче гравитационного стимула с рецептора, расположенного на поверхности клеточной мембраны, во внутриклеточный континуум или на соседнюю клетку, играют системы внутриклеточной и межклеточной сигнализации.

Так, например, в экспериментах с использованием нервно-мышечного препарата эмбриона лягушки было показано, что условия гипогравитации заметно тормозят взаимодействие

нейрона с миоцитом, а микрогравитация вообще может наложить запрет на процесс синаптогенеза, что неминуемо приведет к блокированию ацетилхолинового рецептора и, таким образом, существенно осложнит проведение нервного импульса. В другом эксперименте, выполненном в условиях космического полета, на культуре клеток (фибробластов и остеобластов), изолированных из эмбрионов мышей и развивающихся на твердом субстрате (in vitro), получены данные, свидетельствующие от том, что снижение прочности сцепления клеток с субстратом (адгезии) приводит к заметному снижению темпов роста и репродуктивной активности клеток (Таирбеков с соавт., 1994). Полученные данные, помимо их общебиологического значения, могут представлять практический интерес для космической биологии и медицины при решении проблем заживления ран и регенерации тканей в условиях длительного космического полета.

Изучение механизмов функционирования систем внутриклеточной сигнализации и межклеточных контактов необходимо прежде всего для создания целостной картины работы живой клетки в постоянно меняющихся условиях окружающей среды, и, главным образом, для получения ответа на вопрос, как и с помощью каких механизмов клетки усваивают и перерабатывают информацию, поступающую к ним извне. Отсюда ясно, что относительно частная задача изучения механизма гравитационной чувствительности клетки должна решаться в рамках фундаментальной проблемы молекулярной биологии.

Другая, не менее важная проблема гравитационной биологии — соотношение значимости формы и размеров клеток с условиями их обитания при расстановке приоритетов указанных параметров для определения гравичувствительности клетки. Как известно, одним из основных теоретических положений гравитационной биологии до сих пор остается постулат о прямой зависимости между воздействием силы тяжести и величиной организма (Смит, 1975). Справедливо ли это утверждение для клетки вообще и, в частности, для одноклеточного организма? Обширный экспериментальный материал, накопленный нами за последнее десятилетие, дает нам основание внести некоторые коррективы традиционных положений в гравитационной биологии.

С нашей точки зрения, для нормального функционирования клетки в гравитационном поле главную роль играют эколого-физиологические условия ее существования. Основными параметрами при оценке степени гравичувствительности клеток, по-видимому, должны служить не только и не столько их морфологические характеристики (форма, размеры, масса), сколько уровень их метаболической активности и условия среды обитания. Результаты исследований с активно плавающими и пассивно распределенными в жидкой среде одноклеточными организмами, имеющими различные формы и размеры, позволили нам разработать определенную шкалу гравитационной чувствительности, отличную от традиционной (Economus 1979) и расставить эти организмы в соответствии с данной шкалой в порядке возрастания их толерантности к воздействию силы тяжести. Было показано, что одноклеточные организмы, обладающие высоким уровнем метаболизма и активным движением, независимо от размеров и массы, более чувствительны к изменению величины силы тяжести по сравнению с одноклеточными организмами или клетками, пассивно распределенными в среде (Таирбеков с соавт., 1991, 1992 а, б, 1997).

На этом основании нами выдвинута рабочая гипотеза о приоритете функциональных показателей клеток, а именно, уровне общего метаболизма и двигательной активности в процессе восприятия и реализации гравитационного стимула перед морфологическими.

На первый взгляд эта гипотеза противоречит основному постулату гравитационной биологии, трактующему наличие прямой зависимости между размером (массой) организмов и их гравичувствительностью. Однако противоречие это кажущееся и легко разрешимо при рассмотрении данной проблемы с позиций энергообеспечения живых систем. Дело в том, что у крупных многоклеточных организмов, растений и животных, большая часть энергетических ресурсов расходуется на основной обмен и поддержание структурной целостности в гравитационном поле. Вместе с тем, у большинства одноклеточных организмов основные энерготраты связаны с обеспечением их двигательной активности, не прекращающейся в

течении всей жизнедеятельности клетки. Движение, в буквальном значении этого слова, является смыслом существования этих организмов. Образно говоря, для одноклеточных известный принцип «черной королевы» из кэрролловской сказки о необходимости непрерывного движения для сохранения постоянного местонахождения гораздо более актуален, чем для многоклеточных. Более того, непрерывные перемещения в среде (локомоции) одноклеточных организмов необходимы для сохранения позиционного гомеостаза клетки в поле силы тяжести. В случае же с многоклеточными, эти функции в основном берет на себя опорно-двигательный аппарат.

Полученные нами данные и сформулированная на их основе рабочая гипотеза об эколого-физиологических основах гравитационной чувствительности одноклеточных организмов, имеют с нашей точки зрения большое значение для космической биологии и биотехнологии, так как позволяют, варьируя величиной силы тяжести как одном из факторов внешней среды, управлять процессами роста и деления клеток, а следовательно и скоростью накопления биомассы. Вопрос о прямом (непосредственном) или косвенном (опосредованном) влиянии силы тяжести на клетку носит, с нашей точки зрения, академический характер. Очевидно, что «чисто» прямого или опосредованного влияния силы тяжести на клетку не существует. Гравитационные эффекты на клеточном уровне, как правило, комбинированы. В большей степени прямое воздействие силы тяжести может проявиться в клетках, развивающихся в монослойных культурах на твердом субстрате (in vitro), а опосредованное — в клеточных ассоциациях или популяциях одноклеточных организмов, средой обитания которых является жидкость или граница фаз газ-жидкость.

Однако круг проблем гравитационной биологии гораздо шире и не ограничивается только исследованиями ответных реакций клетки на изменение величины силы тяжести. Крайне важно для создания целостной картины получить информацию о поведении организма, развивающегося в условиях микрогравитации. В этой связи необходимо определить важнейшие стратегические направления исследований по проблемам биологии развития в условиях длительного космического полета. Спектр вопросов в круге проблем биологии развития широк — от оплодотворения до старения организма. Один из главных вопросов — имеет ли место прямое действие силы тяжести (или невесомости) на критические стадии развивающегося организма и на дифинитивный организм? Для этого требуется тщательно подготовленные и контролируемые в ходе проведения эксперименты, направленные на изучение ранних стадий развития от оплодотворения до закладки осевых органов, так как этот период особенно чувствителен к действию силы тяжести вследствие неравномерного распределения биологически активных веществ в яйце до оплодотворения, смещения кортикального слоя яйца после оплодотворения и во время закладки осевых органов. В этой связи, следует напомнить, что одним из ведущих факторов эволюционного процесса была и остается сила тяжести, поскольку все события, происходящие в живых системах, находятся под постоянным воздействием этого фактора. Какими бы ни были селективные или лимитирующие факторы, в ходе эволюции они всегда действуют на фоне гравитационного поля.

Есть основания считать, что эффекты измененной силы тяжести в живых системах реализуются через регуляторные механизмы. Это относится к регуляции таких процессов как пролиферация, дифференцировка клеток, восстановительные реакции и регенерация. Особенности протекания этих процессов в условиях микрогравитации относительно хорошо изучены. Есть убедительные экспериментальные доказательства изменения диапазона и интенсивности процессов пролиферации, дифференцировки и регенерации в космическом полете (Mitashov et al, 1996). Компенсаторный ответ следует ожидать также от многих других органов и тканей в условиях микрогравитации.

Главным связующим звеном между клеткой и более высокими уровнями организации в цепи функциональных перестроек, происходящих в живых системах в процессе их приспособления к новым условиям существования, является регуляция метаболизма. Определение путей и оценка стоимости мобилизации энергетических ресурсов, необходимых для поддержания

гомеостаза клетки и восстановления постоянства внутренней среды организма в целом, управление механизмами функциональной системы гомеостаза осуществляется взаимодействием молекулярных, нейрогуморальных и эндокринных систем, соответственно, на клеточном и организменном уровнях.

Хотя клетка обладает существенным запасом адаптивных возможностей, тем не менее эти возможности небеспредельны. По мере увеличения интенсивности и длительности действия неблагоприятных факторов, компенсаторно-приспособительные ресурсы клетки будут исчерпываться, что приведет к нарушению общего гомеостаза клетки и появлению признаков патологии. Для определения глубины нарушений, происходящих на клеточном уровне, должны быть продолжены экспериментальные исследования как в лабораторных условиях, так и в условиях длительного космического полета, в том числе и межпланетных перелетов.

# Л И Т Е Р А Т У Р А

**Авдуевский В.С., Полежаев В.И.** Невесомость-модель-эксперимент в космосе. В кн.: Наука и человечество, 1985, с.211-226.

**Александров В.Я.** Реактивность клетки и белки. Л. Наука, 1985, 185с.

**Блюменфельд Л.А.** Проблемы биологической физики. М., Наука, 1977, 131с.

**Брода Э.** Эволюция биоэнергетических процессов. М., Мир, 1978, 303с.

**Бутенко Р.Г., Дмитриева Н.Н., Онгко В., Басырова Л.В.** Влияние невесомости на соматический эмбриогенез. В кн.: Биологические исследования на биоспутниках «Космос». М., Наука, 1979, с. 118-124.

**Винников Я.А.** Гравитационные механизмы взаимодействия сенсорных систем у беспозвоночных в эволюционном аспекте. Авиакосмич. и экологич. медицина, 1995, №1,с.4-19.

**Воложин А.И**. Адаптационно-компенсаторные реакции при приспособлении к космическим полетам. Авиакосмич. и экологич. мед.,1995, №2, с.6-12.

**Вольперт Л.** К вопросу о развитии и регуляции пространственной структуры. В кн.: На пути к теоретической биологии. М., Мир, 1970, 142с.

**Габова А.В., Гаврилова О.Н., Сергеева Г.И., Таирбеков М.Г.** Биомеханические аспекты процесса образования пищевых вакуолей у инфузорий в условиях измененной силы тяжести. Авиакосмич. и экологич. мед., 1995, №6, с. 40-44.

**Габова А.В., Табаков В.Ю., Таирбеков М.Г.** Гравитационная чувствительность эукариотических одноклеточных организмов. Космич. биол. и авиакосмич. мед., 1991, №1, с. 33-37.

**Гавриленко В.Ф., Ладыгина М.Е., Холдобина Л.М.** Метод определения АТ-Фазной активности в растительной клетке. В кн.: Большой практикум по физиол. раст. М., Высшая школа., 1971, с.159-168.

**Гаврилова О.Н., Габова А.В., Сергеева Г.И., Таирбеков М.Г.** Влияние измененной силы тяжести на культуру одноклеточных эукариотических организмов *Bursaria truncatella* (Ciliophora). Авиакосмич. и экологич. мед., 1995, №5, с. 34-39

**Глазер Р.Г.** Очерк основ биомеханики. М., Мир, 1988, 128 с.

**Иванов В. П., Мамкаев Ю.В.** Ресничные черви (Turbelaria), их происхождение и эволюция. Л., Наука, 1973, 218с.

**Ильин Е.А., Парфенов Г.П.** Заключение. В кн.: Биологические исследования на биоспутниках «Космос». М., Наука, 1979,239с.

**Ирлина И.С, Габова А.В., Райков И.Б., Таирбеков М.Г.** Влияние факторов космического полета на скорость агамного размножения, морфологию, содержание белка и ДНК в клетках *Tetrahymena pyriformis.* Цитология, 1989, Т.31,№7,с.829-838.

**Ирлина И.С, Меркулова Н.А.** Выращивание больших масс *Tetrahymena pyriformis,* пригодных для биохимических исследований и синхронизация делений инфузорий. Цитология, 1975, Т.187, №10, с. 1208-1214.

**Кагава Я.** Биомембраны. М., Высшая школа, 1985,290 с.

**Кальвин М.** Химическая эволюция. М., Мир, 1971,240 с.

**Кордюм Е.Л., Недуха Е.М., Сидоренко П.Г.** Структурно-функциональная характеристика растительной клетки в процессах дифференцировки и дедифференцировки. Киев, «Наукова Думка», 1980,111с.

**Коржуев П.А.** Эволюция, гравитация, невесомость. М., Наука, 1971, 149с.

**Ладыгина М.Е., Рубин А.Б.** Биолюминенсцентный метод количественного определения отдельных компонентов адениловой системы. В кн.: Биофизические методы в физиологии растений. М., Наука, 1976, с.72-74.

**Меркис А.И., Лауринавичюс Р.С.** Полный цикл индивидуального развития арабидопсиса на борту орбитальной станции «Салют-6». Докл. АН СССР, 1983, Т.271, №2, с. 509-512.

**Наследов Г.А.** Тоническая мышечная система позвоничных. Л., Наука, 1981.

**Оганов В.С., Канн К., Рахманов А.С., Терновой С.К.** Исследование костно-мышечного

аппарата позвоночника у человека после длительных космических полетов методом компьютерной томографии. Космич. биол. и авиакосмич. мед., 1990, №2, с.20-22.

**Опарин А.И.** Жизнь, ее природа, происхождение и развитие. Изд. АН СССР, 1960,192с.

**Парфенов Г.П.** Биологическая индикация новых космических трасс. В кн.: Основы космической биологии и медицины. М, Наука, 1975, Т.2, с.309-321.

**Парфенов Г.П.** Невесомость и элементарные биологические процессы. Л-М., Наука, 1988,243 с.

**Пасечник В.И.** О модели упругой бислойной мембраны. Биофизика, 1980, Т.25, №2, с.265-269.

**Пригожин И.** Время, структура и флуктуации. Успехи физич. наук, 1980, Т. 131, №2, с. 185-207.

**Регирер С.А., Штейн А.А.** Механические аспекты процессов роста, развития и перестройки биологических тканей. Итоги науки и техники, ВИНИТИ, 1985, т.1. Комплексные и специальные раздела механики, с. 3-142.

**Серавин Л.Н.** Анализ понятия «гомеостазис». В кн.: Механизмы регуляторных процессов. Изд. ЛГУ, 1972, с.3-27.

**Смит А.** Основы гравитационной биологии. В кн. Основы космич. биологии и медицины. М., Наука, 1975, Т.2, кн.1, с. 141-176.

**Сохляну В.** Химия, физика и математика жизни. Научн. изд. «Бухарест», 1981, с. 165.

**Стюарт Ф., Крикорян Ф.** Морфогенез тотипотентных клеток в невесомости. В кн.: Биологические исследования на биоспутниках «Космос». М., Наука, 1979, с.96-117.

**Сытник К.М., Кордюм Е.Л., Белявская Н.А., Тарасенко В.А.** Ультраструктура меристемы и чехлика корней проростков гороха в условиях космического полета. Докл. АН СССР, 1982, Т.264, №6, с.78-81.

**Таирбеков М.Г.** Проблема адаптации в гравитационной биологии. Изв. АН СССР (сер. биол.) 1980, №4, с. 485-493.

**Таирбеков М.Г.** Физиологические механизмы адаптации свободноживущих и растительных клеток к измененной силе тяжести. Докт. диссер. М., 1988.

**Таирбеков М.Г.** Позиционный гомеостаз клетки и проблема морфогенеза в гравитационном поле. Успехи современ. биол. 1990, Т.109, №1, с.47-64.

**Таирбеков М.Г.** Физиологические механизмы адаптации клетки к измененной силе тяжести. В кн. Результаты исследовваний на биоспутниках. М., Наука, 1992, с.299-306.

**Таирбеков М.Г.** О механизме восприятия гравитационного стимула клеткой. Авиакосмич. и экологич. мед., 1994, №1, с.3-10.

**Таирбеков М.Г.** Общие принципы гравичувствительности клеток. Изв. РАН (сер. биол.), 1996, №2, с. 133-140.

**Таирбеков М.Г., Бейлина С.И., Лайранд Д.Б., Будницкий А.А., Леднев В.В.** Плазмодий миксомицета как объект исследования в гравитационной биологии. Изв. АН СССР (сер. биол.), 1984, №2, с. 198-211.

**Таирбеков М.Г., Воронков Л.А., Гужова Н.В.** Некоторые физиолого-биохимические характеристики галловой опухоли моркови, развившейся в невесомости. Космич. биол. и авиакосмич. мед., 1982, №2, с.45-48.

**Таирбеков М.Г., Габова А.В.** Эколого-морфологические особенности роста и распределения культур одноклеточных организмов в гравитационном поле. Авиакосмич. и экологич. мед., 1992, №4, с.8-14.

**Таирбеков М.Г., Габова А.В., Гаврилова О.Н.** Закономерности роста и функционирования одноклеточных организмов в условиях измененной силы тяжести. Изв. РАН (сер. биол.), 1997, №3.

**Таирбеков М.Г., Габова А.В., Ирлина И.С., Райков И.Б.** Одноклеточные организмы в условиях микрогравитации. Там же, 1992, с.306-312.

**Таирбеков М.Г., Габова А.В., Табаков В.Ю.** Культура одноклеточных организмов в гравитационном поле (теоретические аспекты биотехнологии). Биотехнология, 1991 ,N. 2,

с.44-47.

**Таирбеков М.Г., Гриф В.Г., Бармичева Е.М.** Цитоморфология и ультраструктура корневой меристемы кукурузы в невесомости. Изв. АН СССР (сер. биол.), 1986, №5, с.680-688.

**Таирбеков М.Г., Гужова Н.В., Девятко А.В., Розов А.Н.** Газоэнергообмен растений при клиностатировании. Физиол. раст., 1984, Т.31, с.509-512.

**Таирбеков М.Г., Девятко А.В**. Энергообмен растений в невесомости. Докл. АН СССР, 1985, Т.280, №2, с.509-512.

**Таирбеков М.Г., Кабицкий Е.Н., Маилян Э.С.** АТФазная активность в клетках корней кукурузы, выращенных в условиях измененной силы тяжести. Физиол. раст., 1980, Т.27, №4, с. 883-885.

**Таирбеков М.Г., Климовицкий В.Я., Оганов В.С.** Роль силы тяжести в эволюции живых систем. Изв. РАН (сер. биол.), 1997, №6.

**Таирбеков М.Г., Кордюм Е.Л., Климчук Д.А., Лозовая В.В. и др.** Развитие изолированных растительных клеток в условиях космического полета (Эксперимент «Протопласт»), Изв. РАН (сер. биол.), 1992, №1, с.5-17.

**Таирбеков М.Г., Лозовая В.В., Гроздовская Г.С., Заботина О.А.** Морфофизиологические характеристики и состав клеточных стенок проростков кукурузы, выращенных в условиях космического полета. Физиол. раст., 1986, Т.35, №2, с.226-233.

**Таирбеков М.Г., Маилян Э.С, Розов А.Н.** Дыхательная активность митохондрий в клетках корней кукурузы, выращенных в условиях измененной силы тяжести. Докл. АН СССР, 1978, Т.241, №1, с.238-241.

**Таирбеков М.Г., Марголис Л.Б., Байбаков Б.А., Габова А.В.** Рост и подвижность клеток в культуре (in vitro) в условиях микрогравитации. Изв. РАН (сер. биол.) 1994, №5, с.745-750.

**Таирбеков М.Г., Парфенов Г.П.** Современное состояние вопроса о механизме гравирецепции у растений. Изв. АН СССР (сер. биол.), 1978, №4, с.535-543.

**Таирбеков М.Г., Парфенов Г.П., Платонова Р.Н., Жваликовская В.П.** Исследование растительной клетки с использованием прибора «Биофиксатор». В кн.: Биологические исследования на биоспутниках «Космос». М., Наука, 1979, с.161-170.

**Таирбеков М.Г., Розов А.Н.** Влияние измененной силы тяжести на вязкость цитоплазмы и содержание белка в растительной клетке. Космич. биол. и авиакосмич. мед., 1978, №4, с.76-78.

**Фултон А.** Цитоскелет. Архитектура и хореография клетки. М., Мир, 1987.

**Хендрикс К., Бейкер Н.** Остаточные углеводы в ткани моркови. В кн.: Биологические исследования на биоспутниках «Космос». М., Наука, 1979, с. 142-146.

**Хлебович В.В., Бергер В.Я.** Некоторые аспекты изучения фенотипических адаптации. Журн. общей биол., 1975, Т.34, №1, с. 11-25.

**Холодный Н.Г**. Современная физико-химическая теория раздражимости. Изв. Петроград. Ин-та. им.П.Ф. Лесгафта, 1922, №5, с. 19-35.

**Хочачка П., Сомеро Дж.** Биохимическая адаптация. М., Мир, 1988, 267с.

**Черниговский В.Н., Миркин А.С., Машанский В.Ф.** Возможный механизм возбуждения телец Паччини. Изв. АН СССР (сер. биол.), 1977, №2, с.214-222

**Швирст Э.М., Кринский В.И., Иваницкий Г.Р.** Роль окситаксиса в возникновении диссипативных структур в культуре тетрахимен. Биофизика, 1984, Т.29, №4, с.649-653.

**Шноль С.Э.** Физико-химические факторы биологической эволюции. М., Наука, 1979, 262 с.

**Albersheim P.** The walls of growing plant cells. Proceed, of 9th Inter. Conf. Plant growth Regul. Processes., Berlin, 1977, p. 11-26.

**Albrecht-Buehler G.** In defence of non-molecular cell biology. Int. Rev. of Cytol., 1990, V. 120, p. 191-241.

**Avizi Ben-Zeev**. Cell shape and cell contacts. In: Cell Shape, Acad. Press, 1989, p.95-119.

**Barlow P.** Evolution of structural initial cell in apical meristems of plants. J. Theor. Biol., 1994, V.169, p.163-177.

**Bean B.** Geotactic behaviour of *Chlamydomonas.* J.Protozoology, 1977, V.24, p.394-401.

**Bershadsky A.D., Vasiliev I.M.** Cytoskeleton. Plenum Press, N-Y, 1988.

**Biewener A.** Musculaskeletal design in relation the body size. J. Biomechanics, 1991, V.24, №1, p. 19-29.

**Buckhort T.** ATP-dependent $Ca^{++}$ transport in endoplasmatic reticulum isolated from roots of Lipidium sativum. Planta (Berl), 1983. B.159, №2, s.264-268.

**Carter D., Wong M., Orr T.** Musculaskeletal ontogeny, phylogeny and functional adaptation. J. Biomechanics, 1991, V.24, №1, p.3-16.

**Cipriano L.F.** An overlooked gravity sensing mechanism. The Physiologist, 1991, V.34,№l,p.72-75.

**Cogoli A.** Cell cultures in space: basic research to biotechnology. Procced 3rd Europ. Symp. of Life Sci. Res. in Space, 1987, p.285-290.

**Cogoli A., Bechler R, Lorenzi G.** Response of cells to microgravity. In: Fundamentals of Space Biology, 1990, New-York, p.97-111.

**Dedolph R., Gordon S., Oemick D.** Geotropism in simulated low-gravity environment. Amer. J. Bot, 1966, V.53, №6, p.530-547.

**Dedoiph R., Oemick D., Wilson B., Smith G.** Causal basis of gravity stimulus nullification by clinostat rotation. Plant Physiol., 1967, V.42, p.1373-1384.

**Dedolph R., Wilson B., Chorney W., Breen** S. Simulated low-gravity environments respiration metabolism in *Avena* seedlings. Plant Physiol., 1966, V.41, p.1520-1524.

**Economus A.** Gravity, metabolism rate and body size of mammals. The Physiologist, 1979, V. 22, №6. (suppl.), p.71-12.

**Edwards K.** Effect of calmodulin and auxin transport inhibitors on calcium net uptake along apical corn roots. The Physiologist, 1985, V.28, №6 (suppl.), p. 101-103.

**Evans A., Evans D., Skalak R.** Mechanics and thermodynamics of Biomembrane., 1980, CRG Press, London, 230 p.

**Evans M. Hesenstein K.** The calcium dependence of auxin action in roots. The Physiologist, 1985, V.28, №6 (suppl.), p.l 19-120.

**Evans M.**, **Young L., Hesenstein K.** The role of calcium in the regulation of hormone transport in gravistimulated roots. Adv. Space Res., 1992, V.12, №1, p.211-218.

**Farish D.** Biology the human perspective. 1978, Univ. of Missour. Press, Columbia, USA, 328p.

**Fenchel T., Finlay B.** Geotaxis in the ciliated protozoon *Loxodes.* J. Exp. biol.,1984, V.110, p.17-33.

**Fox H**. The effect of light on the vertical movement of aquatic organisms. Proceed. Comb. Phylos. Sos. Biol. Sci., 1925, p.219-229.

**Freeman A., Hoffman R.** In vitro like growth of human tumors. Proceed. Nat. Acad Sci. USA, 1986, V.83, p. 2694-2698.

**Fucui K., Asai H.** The most probable mechanism of the negative geotaxis of *Paramecium caudatum.* Proceed. Jap., Acad. 1980, V.56, p. 172-176.

**Gavrilova O.V., Gabova A.V.** Experiment «Chlamydomonas» aboard biosatellite «Cosmos-2044». The Physiologist, 1992, V.35, №1, p.212.

**Gmunder F., Kiess M., Sonnenfeld G., Lee J., Cogoli A.** Reduced lymphocyte activation in space: role of cell-substratum interaction. Adv. Space Res., 1992, V.12. №l,p.55-58.

**Grey S., Edwards B.** The effect of weightlessness on wheat seedling morphogenesis and histogenesis. Bioscience, 1968, V.18, p.638-645.

**Grif V.G., Tairbekov M.G., Barmicheva E.M.** Cell morphology and ultrastructure of maize root meristem in microgravity. The Physiologist, 1988, V.31, №1 (suppl.). p.88-91.

**Gruener R., Hoegel G.** Vector-free gravity disrupts synapse formation in cell culture. Amer. J. Physiol., 1990 V 258,489-494.

**Gruener R., Hoegel G.** Vector-averaged gravity alters myocyte and neuron properties in cell culture. Aviat. Space Environ Med., 1991, V.62, p.l 159-1165.

**Haberland G.** Uber die Perception des geotropischen Reizes. 1900, Berl. Dtsch. Bot. Ges. B.18,

№5.,s.261-270.

**Hemmersbach-Krause R., Hoder D., Kohler M., Perdigal J., Briegleb W.** Cellular function of *Paramecium* under different gravity condition. Proceed. 4th Europ. Sym. of Life Sci. Res. in Space, 1990, p. 1285-90.

**Hemmersbach-Krause R., Briegleb W., Hoder D., Vogel K., Grote D., Meyer I.** Orientation of *Paramecium* under conditions of weightlessness J. of Eucariotic Microbiology, 1994, V.40, p.439-446.

**Hensel W., Sievers A.** Graviperception in plant cells. The Physiologist, 1983, V.26, №6 (suppl.) p.60-63.

**Ingberg D.E., Folkmann F.** Tension and compression as basic determinants of cell forms and function: Utilization of a cellular tensigrity mechanisms. In: Cell Shape, 1989, Acad. Press, p.3-31.

**Isenberg G., Wohlfarth-Bottermann K.** Transformation of cytoplasmic actin. Cell and Tiss. Res., 1976, V.173, p.495-508.

**Iversen T-H., Rasmussen O., Gmunder F., Baggerud C, Kordyum E., Lozovaya V., Tairbekov M**. The effect of microgravity in the development of plant protoplasts. Adv. Space Res., 1992, V.12, №1, p.123-131.

**Kamiya N.** Contractile properties of the plasmodial strand. Proceed, of Japan Acad., 1970,V.46,№10,p.l026-1037.

**Kamiya N, Yoshimoto J.** Dynamic characteristics of the cytoplasm. Study on plasmodial strand of a myxomycete. In: Aspects of cellular and molecular physiology. 1972, Univ. ofTokyo Press, p.167-187.

**Kamiya N., Yoshimoto J., Matsumura F.** Physiological aspects of actomyosin-based cell motility. Int. Cell Biol., 1981, V.41 ,p.346-358.

**Kessler J., Bier M.** Gravitational dynamics of biosystems. In: Progress in Astronaut, and Aeronaut., 1977, V.52, № 1, p. 125-149.

**Kitching J**. Effect of high hydrostatic pressures on the activity of flagellates and ciliates. J. Exp. Biol, 1957, V.34, №4, p.494-501

**Kondepudi D.K.** Gravity detection through bifurcation. Adv. Space Res., 1992, V.12, №l,p.7-14.

**Krikorian A., Stewart F.** Morphogenetic responses at cultured totipotent cells of carrot *(Daucus carotd)* at zero gravity. Science, 1978, V.200, p.67-68.

**Kumei Y., Whitson P., Sato A., Citron N.** Supergravity signal transduction in Hela cells with concominant phosphorylation of proteins immuno precipitation with anti-microtubule associated protein antibodies. Exp. Cell Res., 1991, V.192, p.492-496.

**Kunznicki** L. Behaviour of *Paramecium* in gravity field: Sinking of unmobilized specimens. Acta Protozoologica, 1968, V.6, p. 109-121.

**Loefer J., Mafferd R.** Concerning pattern formation by free-swimming microorganisms. Amer. Natur., 1952, V.86, p.325-336.

**Lyon Ch.** Growth physiology of the wheat seedling in space. In: The Experiments of Biosatellite-2, 1971, Washington, NASA, p.167-187.

**Machamer H., Macher-Rohnisch S., Braucker R., Takanashi K.** Gravikinesis in *Paramecium:* Theory and isolation of the physiological response to the natural gravity vector. J. Comp. Physiol. Ser. A, 1991, V.168, p.1-12.

**Machamer H., Braucker R.** Gravireception and graviresponses in Ciliates. Acta Protozoologica, 1992, V.31, p.185-214.

**Mel H.** On the stability of-flow-formed interface and a diffusion gravity controlled enzyme-substrate reaction. Chem. Engeen. Sos. 1954, V.19, p.847-851.

**Mesland D.** Gravity effects on cells. Proceed. 4th Europ. Sym. on life Sci. Res. In Space, 1990, Trieste, Italy, p.221-225.

**Mesland D.** Possible actions of gravity on the cellular machinery. Adv. Space Res., 1992,V.12,№l,p.l5-25.

**Mitashov V., Brushlinskaya N., Grigoryan E.** Regeneration of organs and tissues in lower vertebrates during and after space flight. Adv. Space Res., 1996, V.17, № 6/7,p.241-255.

**Moore R**. Cytochemical localization of calcium in cap cells of primary root of Zea mays. The Physiologist, 1985, V.28, №6 (suppl.), p.113-114.

**Nace G.** Gravity and positional homeostasis of the cell. Adv. Space Res., 1983, V.3, №9, p. 159-168.

**Nemec B.** Die Perception des Schwerkraftzeires bie den Pflansen. 1902, Berl. Dtsch. Bot. Ges. B.20, №3., s.339-354.

**Nowakowska G., Grebecki A.** On the mechanism of orientation *Pammecium caudatum* in the gravity field: Contribution to a hydrodymamic model of geotaxis. Acta Protozoologica, 1977, V.16, №3-4, p.359-370.

**Oster G.** Cell motility and tissue morphogenesis In: Cell Shape, Acad. Press, 1989, p.33-61.

**Perbal G.** The mechanism of georeception in Lentil roots. J. Exp. Bot., 1978, V.23, №11, p.631-638.

**Perbal G., Darbelley N., Driss-Ecole D., Salle G.** Graviperception, mitotic activity and differentiation in Lentie seedling roots. Procced, of Workshop on Space Biol., Cologne (Germany), 1983, p.9-11.

**Perbal G., Derbelley N.** Gravity and cell differentiation in Lentil root. Proceed. 2nd Europ. Sym. on Life Sci. Res. in Space, Porz-Wahn Germany, 1984, p.16-21.

**Perbal G., Driss-Ecole D.** Effect of gravity on the distribution of electron dense chromatin (EDC) in the nucleus of root statocytes. Proceed, of 4-ht Europ. Sym. on Life Sci. Res. on Space, Trieste, Italy, 1990, p.517-519.

**Pilet P.** Absisic acid, one of the endogenous growth inhibitors regulating root gravire-action. In: Plant growth substrates. Acad. Press., 1982, p.530-537.

**Pilet P.** Control of root growth by endogenous IAA and ABA. In: Growth regulators in root development., 1983, p. 15-24.

**Pilet P.** Auxin effect on protoplast from gravireaction Mays roots. Z. Pflanzen-physiol., 1984, B.113, s.373-376.

**Plane! H., Tixador R., Nefedov Yu., Gretchko G., Richoilley G.** Preliminary results on the «Cytos» experiment flown in «Salyut-6». Investigation on *Paramecium aurelia.* Life Sci. Space Res. 1979, V.17, №1, p.139-144.

**Planel H., Tixador R., Nefedov Yu., Gretchko G., Richoilley G.** Space flight effect on *Paramecium tetraurvlia* flow aboard «Salyut-6» in the «Cytos-1» and «Cytos-M». Adv. Space Res., 1981, V.l, №3, p. 95-100.

**Planel H., Tixador R., Nefedov Yu., Gretchko G., Richoilley G.** Effect of space flight factors at the cellular level: Research of «Cytos» experiment. Aviat. Space Environ. Med., 1982, V.53, p.370-374.

**Platt J.** Bioconvection patterns in cultures of free-swimming organisms. Science, 1961, V.133, № 3466, p.182-187.

**Plesset S., Whipple C, Winet H.** Analysis on the steady state of the bioconvection in swarms of swimming microorganisms In: Swimming and Flying in Nature, Plenum Press, N.-Y. 1975, p. 339-347.

**Plesset S., Whipple C, Winet H.** Rayleigh-Taylor instability of surface layers as the mechanism for bioconvection in cell cultures. J. Theor. Biol., 1976, V.59, №2, p.531-551.

**Plesset S., Winet H.** Bioconvection patterns in swimming microorganism culture as an example of Rayleigh-Taylor instability. Nature, 1974, V.248, №5447, p.441-442.

**Pollard E,** Theoretical studies of living systems in the absence of mechanical stress. J. Theor. Biol., 1965, V.8, p.l13-123.

**Pollard** E. Cellular effects of weightlessness. In: Hypodynamics and Hypogravics. Acad. Press. New-York 1968, p. 109-116.

**Pollard E.** Physical determinants of receptor mechanisms. In: Gravity and the Organism Chicago Univ. Press, Chicago, 1971, p.25-34.

**Rasmussen O., Gmunder F., Tairbekov M., Baggerud C, Iversen T-H.** Plant protoplast development on «Biocosmos-9». Proceed, of 4th Europ. Sym. of Life Sci. Res. in Space, 1990, Trieste, Italy, p. 29-32.

**Rasmussen O., Klimchuk D., Kordyum E., Danevich L., Tarnavskya E., Lozovaya V., Tairbekov M., Iversen T-H.** The effect of exposure to microgravity on the development and structural organisation of plant protoplasts flown on Biocos-mos. Physiol. Plant., 1992, V.84, p.162-170.

**Roberts A.** Geotaxis in motile microorganisms. J. Exp. Biol., 1970, V.53, p.687-695.

**Roux S., Danwalder M.** Immunochemical localisation of calmoduline in Pea root caps and plumeles and its relevance to hypotheses of gravitropism. The Physiologist, 1985, V.28, №6 (suppl.), p.l 15-117.

**Schatz A., Reitstetter R., Briegieb W., Lieke-Hommes A.** Gravity effects on biological systems. Adv. Space Res., 1992, V. 12, №1 p.51-53.

**Schatz A., Reitstetter R., Linke-Hommes A., Briegleb W.** Gravity «perception» by non-specialised structures. Proceed. 4th Europ. Sym. of Life Sci. Res. on Space, Trieste, Italy, 1990, p.313-314.

**Seagull R., Falkoner M., Weerdenburg** C Microfilamentes: Dynamics arrays in higher plant cells. J. Cell Biol. 1987, V.104, p.995-1004.

**Shultze R., Leike H., Malz W., Tairbekov M.** Callus and shoot formation in cell cultures of *Lycopersicon esculentum* after a 7-day space flight in the Soviet biosatellite «Kosmos-1667». Biochem. Physiol. Pflanzen., 1987, B.182, №5, p.367-374.

**Siegel S.M.** Gravity as a biochemical determinant. Life Sci. and Space Res., 1979, V.22,p.l47-160.

**Sievers A., Volkmann D.** Vezuzsacht differentieller Druck der Amyloplasten auf ein komplexas Endomembransystem die Geoperzeption in Wezzeln? Planta (Berl.), 1972a, V. 102, p. 160-172.

**Sievers A., Volkmann D.** Ultrastructural aspects of georeception in roots. In: Plant grown regulation, (ed. Pilet), 1977b, Spring.-Verl. (Berl.), p.202-217.

**Sievers A., Volkmann D.** Ultrastructure of gravity-perceiving cells in plant root. Proceed, of Royal Soc. B., 1977, V.199, p.525-531.

**Sievers A., Volkmann D., Hengel W., Briegleb W.** Cell polarity in root statocytes in spite at simulated weightlessness. Naturwiss., 1976, V.63, №7, p.343-348.

**Stinemetz Ch., Evans M.** Correlated changes in calmodulin activity and gravitropic sensitivity in root of maize. The Physiologist, 1985, V.28, №6 (suppl.), p.121-122.

**Tairbekov M.G.** Physiological mechanisms of cell adaptation to microgravity. The Physiologist, 1991, V.34, №1 (suppl.), p.62-63.

**Tairbekov M.G.** Cell in gravitation field. The Physiologist, 1992, V.35, №1 (suppl.), p. 16-18.

**Tairbekov M.G., Parfyonov G.P., Shepelev E.Ya., Sushkov.F.D.** Experimental and Theoretical analysis on the influence of gravity at the cellular level. Adv. Space Res., 1983,V.3, №9.,p.l53-158.

**Thompson D'Arcy.** On Growth and Form. Cambr. Univ. Press, 1966, 318 p.

**Valdhuijzen P., Van Loon J.** Mineral metabolism in isolated mouse long bones: Opposite effects of microgravity on mineralization and resorption. Proceed of 5th Europ. Sym. on Life Sci. Res. in Space, 1993, Arcachon, France, p. 19-30.

**Van den Ende W., Van den Briel J.** Effect of microgravity on cell cycle kinetics in the unicellular green alga *Chlamydomonas.* Proceed, of Scientific Meet, at «Foton-10». ESA, Paris, France 1995, p.32-35.

**Ward C, King J.** Effect of simulated hypogravity on respiratory and photosynthesis of higher plants. Life Sci. Space Res., 1979, V.17, p.28.

**Went F.** Wuchsstoff und Wachstum. 1928, Rec. Tzav. Bot., B.25, s.1-116.

**Widholm J.** The use of fluorescing diacetate and phenosafranine for determining viability of cultures plant cell. Stain Technol., 1972, V.47, p.189-192.

**Winet H., Jahn T.** On the origin of bioconvective fluid instabilities in *Tetrahymena* culture system. Bioreology, 1972, V.9, p.87-92.

**Winet H., Jahn T.** Geotaxis in Protozoa A propulsion. Gravity model for *Tetrahymena*. J. Theor. Biol., 1974, V.16, p.449-459.