

## Вероятные механизмы гравитационной чувствительности клеток

Изучение особенностей развития и функционирования живых систем различного уровня организации в измененном поле силы тяжести - основная задача гравитационной и космической биологии. Однако, несмотря на определенные успехи, центральной проблемой на пути решения этой задачи до сих пор остается получение ответа на вопрос о возможности прямого (непосредственного) воздействия силы тяжести на клетку.

Согласно теории, описывающей клетку как химический реактор микроскопических размеров, такая система должна быть индифферентна к изменению напряженности гравитационного поля, по крайней мере, в диапазоне величин от  $10^{-5}$  до  $10g$ . Вместе с тем, анализ большого количества данных, накопленных к настоящему времени в экспериментах с различными типами клеток, свидетельствует о наличии в них структур и процессов, чувствительных к изменению величины силы тяжести [2].

Как известно, у подавляющего большинства многоклеточных организмов в ходе эволюционного процесса были сформированы специализированные гравирецепторные клетки (статоциты, образующие статенхиму у высших растений, и клетки, составляющие основу отолитового аппарата у животных). Механизмы восприятия и реализации гравитационного стимула в них детально изучены и хорошо известны. Поэтому наше внимание было сосредоточено на клетках, лишенных специализированных гравирецепторных механизмов, а именно, на одноклеточных свободноплавающих (обладающих двигательным аппаратом) организмах, принадлежащих преимущественно к двум классам: *Ciliata* и *Flagellata* и клетках, растущих в культуре *in vitro* (фибробластах и остеобластах). Выбор в качестве объекта исследований перечисленных типов клеток был продиктован, прежде всего, соответствием их эколого-физиологических характеристик основным задачам исследований [2].

Как известно клетки, изолированные из органов и тканей многоклеточных организмов и культивируемые *in vitro* в лабораторных условиях, свободны от влияния регуляторных и контролирующих механизмов высшего порядка (нервных или гормональных), лишены внутриорганных, а зачастую, и внутритканевых связей. Это дает возможность экспериментатору изучать эффекты действующего на клетку фактора в «чистом» виде, не замаскированном наличием системных механизмов регуляции и контроля.

В отличие от культуры клеток *in vitro*, популяция одноклеточных организмов *in vivo* - это естественное образование, способное к самостоятельному существованию в природных условиях. С этих позиций свободноплавающие одноклеточные организмы представляются достаточно адекватным объектом для изучения не только особенностей их структурно-функциональной организации, но и поведенческих характеристик в экстремальных условиях, в частности, при изменении величины и направления вектора силы тяжести.

Исследования проводили как в лабораторных условиях на Земле при моделировании эффектов измененной силы тяжести (гипо- и гипергравитации) с помощью клиностата и центрифуги соответственно, так и в условиях реального космического полета (микрогравитация) с использованием специально сконструированных бортовых приборов. На основании полученных данных установлены закономерности изменений, происходящих в структурно-функциональной организации и поведенческих характеристиках клеток и клеточных ассоциаций при сдвиге параметров гравитационного поля. Два основных вывода, можно сделать из наших исследований, : во-первых, эффекты измененной силы тяжести, в культуре клеток *in vitro* и популяции одноклеточных организмов прямо противоположны; во-вторых, обнаружен обширный спектр изменений (от стимулирующего до ингибирующего эффекта данного фактора), происходящих в клетках.

Стимулирующее влияние микрогравитации ( $10^{-5}g$ ) различной степени выраженности наблюдалось во всех экспериментах со свободноплавающими одноклеточными организмами, однако по мере увеличения силы тяжести ( $5g$ ) наблюдалось торможение ростовых процессов, скорости деления

клеток и их двигательной активности [3].

Напротив, при экспонировании клеточных культур *in vitro* (фибробластов и остеобластов) в условиях космического полета (микрогравитация) наблюдалось торможение роста клеток, скорости образования клеточных пластов и передвижения их по субстрату, тогда как в условиях гипергравитации происходило ускорение роста клеток, стабилизация формирования клеточных пластов и повышение их адгезивных свойств [5].

Вместе с тем, были получены и сходные эффекты измененной силы тяжести на клеточном уровне. В частности, общим для всех типов клеток был так называемый феномен «ошаривания», приобретения клетками в условиях микрогравитации сферических форм и в результате уменьшение площади поверхности и объема клеток.

Основной причиной появления сфероидных форм клеток в условиях микрогравитации является преобладание сил поверхностного натяжения над другими факторами, определяющими форму клеток. Однако, последствия этих изменений различны для разных типов клеток. В случае с клетками, растущими в культуре *in vitro* на твердом субстрате, такая ситуация приводит к существенному ослаблению механического контакта клеточного пласта с подложкой (питательным субстратом) и, в результате, к уменьшению общей площади поверхности клеточного пласта со всеми вытекающими отсюда негативными моментами в отношении нормального роста и развития клеток.

В случае же с одноклеточными организмами, средой обитания которых является жидкость, напротив, приобретение ими сфероидной формы в условиях микрогравитации способствует улучшению их гидродинамических характеристик и увеличению скорости плавания, что и приводит к стимуляции ростовых процессов.

Однако, главная причина стимулирующего воздействия микрогравитации на рост и развитие одноклеточных организмов это изменение эколого-физиологических условий. Дело в том, что среда обитания этих организмов представляет собой двухкомпонентную систему (популяция клеток и белково-солевой раствор). При изменении физических параметров окружающей среды, в частности напряженности гравитационного поля, происходят существенные сдвиги: во-первых, в концентрационных градиентах растворенных в воде высокомолекулярных соединений (питательных субстратов и продуктов жизнедеятельности клеток), во-вторых, что не менее важно, кардинальные изменения в соотношениях площадей поверхностей газ-жидкость в сторону увеличения общей площади, занимаемой пограничными зонами. [5]

Известно, подавляющее большинство одноклеточных организмов являются гетеротрофами, проявляют выраженный отрицательный геотаксис и положительный окситаксис, их удельная плотность несколько выше плотности воды. В силу этих причин, и в первую очередь, необходимости постоянного снабжения кислородом, ареал их существования - это тонкий слой (~0,5 см.) верхней границы раздела фаз газ-жидкость. Вследствие увеличения общей площади поверхности газ-жидкость в условиях микрогравитации создаются более благоприятные условия по кислородному режиму для роста популяции. Причем, наибольший «выигрыш» в этих условиях получают организмы, обладающие более совершенным двигательным аппаратом. Такая ситуация позволяет при неизменных объемах как бы расширить «жизненное пространство» популяции, увеличить численность особей и общую биомассу.

Более того, в отсутствие силы тяжести, при минимальных значениях ее величины ( $10^{-5}g$ ) отпадает необходимость в затратах энергии для преодоления клетками «гравитационного барьера», а освободившаяся при этом энергия может быть использована на другие нужды, в частности, на ускорение роста и деления клеток. Напротив, с увеличением силы тяжести, в условиях гипергравитации, ситуация меняется с противоположным знаком со всеми вытекающими отсюда последствиями, увеличиваются затраты энергии на поддержание жизнедеятельности клеток и популяции в целом.

Таким образом, можно утверждать, что гравитационная чувствительность одноклеточных организмов является функцией их двигательной активности. Кроме того, учитывая факт существования обратной зависимости между размерами одноклеточного организма и двигательной активности, можно утверждать, что с уменьшением размеров одноклеточного организма его

гравитационная чувствительность будет возрастать.

$$S_g = E_m / V_c$$

где -  $E_m$  - энергия метаболизма, оцениваемая по двигательной активности

$V_c$  - объем клетки

Совершенно иная ситуация создается в условиях микрогравитации для клеток, растущих в культуре *in vitro* на твердом субстрате, особенно при формировании ими монослоя (сплошного клеточного пласта). При значениях величины силы тяжести равных  $10^{-4}$ -  $10^{-5}$  g в монослойной культуре резко снижается степень механической деформации клеток, обусловленная гравитационным фактором, что приводит к снижению их адгезивных свойств и уменьшению общей площади соприкосновения клеточного пласта с субстратом. В результате, существенно осложняются межклеточные контакты, и заметно снижается уровень метаболической активности клеток в культуре.

В конечном счете, это приводит к торможению роста культуры в целом. Напротив, повышенная сила тяжести оказывает стимулирующее действие на рост и функционирование культуры клеток *in vitro* и формирование ими устойчивых клеточных пластов. Учитывая общепризнанный факт о роли субстрата как одного из важнейших ростовых факторов, можно предполагать, что надежное сцепление с субстратом является гарантией нормального роста и развития клеточных культур. Именно такие гарантии предоставляет наличие силы тяжести. Более того, гипергравитация, инициируя синтез эндогенного фибронектина, способствует повышению адгезивных свойств клеток.

Отсюда, с большой долей уверенности можно предполагать, что гравитационная чувствительность клеток, растущих в культуре *in vitro* на твердом субстрате, есть функция от двух переменных параметров: степени адгезии клеток (прочности контакта с субстратом) с одной стороны и надежности межклеточных взаимодействий - с другой.

$$S_g = (C-C) (C-S)$$

где (C-C) - межклеточные контакты; (C-S) - взаимодействия клеток с субстратом.

Очевидно, что реализация этих взаимодействий находятся в прямой зависимости от уровня энергозатрат, как отдельно взятой клетки, так и всей клеточной культурой.

Таким образом, основные процессы, определяющие степень гравитационной чувствительности изученных типов клеток, являются энергозависимыми. Ибо в любом случае, при изменении величины силы тяжести происходит изменение энергетического пула клетки. Поэтому, несмотря на факт существования различий в причинных механизмах противоположных гравитационных эффектов, масштаб «перестроек» в клетке можно количественно оценить изменениями энергозатрат, культуры в целом.

Для одноклеточных организмов затраты на движение каждой отдельной особи к источнику кислорода, необходимое для поддержания нормальной жизнедеятельности, находятся в прямой зависимости от величины силы тяжести. Чем выше напряженность гравитационного поля (величина сила тяжести), тем больше энергии необходимо затратить клетке для поддержания своего структурно-функционального статуса [6].

Для клеток, растущих в культуре *in vitro* на твердом субстрате, критическими являются; обеспечение оптимальных межклеточных взаимодействий и прочность сцепления клеточного пласта с субстратом. Как уже было отмечено выше, оба этих процесса энергозависимы. В условиях нормальной силы тяжести (1g) они не требуют «сверхнормативных» расходов энергии, а повышенная сила тяжести способствует сокращению расхода энергии по этой «статье». Напротив, при резком снижении напряженности поля силы тяжести энергозатраты клеток и всей культуры возрастают.

Очевидно, что клетка в гравитационном поле испытывает одновременно как прямое (непосредственное), так и опосредованное влияние силы тяжести.

Прямое влияние этого фактора на клетку как микробиомеханическую конструкцию, согласно теоретическим положениям, обусловлено наличием разности плотностей внутриклеточных органелл и массы самой клетки, что налагает определенные требования к характеру взаимодействия внутриклеточных структур и энергетическую «стоимость» поддержания их пространственного распределения в клетке при изменении величины и направления вектора силы тяжести. Отсюда, влияние силы тяжести на клетку может быть реализовано в результате механической деформации.

Исследования с клеточными моделями [7] указывают на существование тесной связи между механическими деформациями и изменениями общего метаболизма клетки. В этом случае, изменение степени деформации внутриклеточных структур, сопровождающееся их пространственным перераспределением и реорганизацией цитоскелета, могут привести к существенному сдвигу энергетического пула клетки. В определенной степени мы наблюдаем это в культуре клеток *in vitro* в условиях измененной силы тяжести.

Опосредованное влияние силы тяжести связано, главным образом, с изменениями физико-химических параметров окружающей среды, и в первую очередь, концентрационных градиентов питательных веществ и продуктов жизнедеятельности клеток, длительное время функционирующих в составе популяции в условиях нестабильного гравитационного поля. Механизм опосредованного действия силы тяжести реализуется, как на уровне межклеточных контактов, так и взаимодействий клеток с окружающей средой.

Таким образом двойственное влияние силы тяжести на клетку основана на двуединой природе самой клетки, как микроскопического химического реактора, функционирующего в соответствии с законами термодинамики, не зависящими от силы тяжести, с одной стороны и биомеханической конструкции, находящейся в напряженном состоянии в поле силы тяжести - с другой.

Выдвинутая нами рабочая гипотеза о главенствующей роли двигательной активности одноклеточных организмов как основного параметра, определяющего уровень их гравитационной чувствительности, позволяет внести существенные коррективы в основополагающий постулат гравитационной биологии о наличии прямой зависимости между размерами (массой) организма и степенью восприимчивости к гравитации. Очевидно, что одноклеточные свободноплавающие организмы, как и клетки, растущие в культуре *in vitro*, подчиняются иным закономерностям и имеют отличные от наземных многоклеточных организмов механизмы восприятия и реализации гравитационного стимула (гравирецепции). В основе этих механизмов лежит изменение энергетического пула клетки и популяции в целом.

*Государственный научный центр РФ - Институт медико-биологических проблем.  
123007 Москва. Хорошевское шоссе 76А.*

#### *Литература:*

- 1. Moor D., Cogoli A. In Biological and Medical Research in Space, Berlin, Springer-Verlag, 1996, 1-106.*
- 2. Таурбеков М.Г. Изв. РАН (сер. биол) 1996, №2. 133-140*
- 3. Таурбеков М.Г., Габова А.В., Гаврилова О.К, Изв. РАН (сер.биол.), 1997, № 3, 266-272*
- 4 Таурбеков М.Г, Марголис Л.Б., Байбаков Б.А. и др. Изв. РАН (сер. биол.) 1994, № 5, 745-748,*
- 5. Tairbekov M.G. The Physiologist, 1992, V.35, N.1, 16-18*
- 6. Ingberg D Cell Mechanics and Cellular Eng. New-York, 1995.*

## РЕФЕРАТ

Статьи М.Г. Таирбекова «Вероятные механизмы гравитационной чувствительности клеток»

Обобщены результаты многолетних исследований с различными типами клеток и одноклеточных организмов, выполненных в условиях реального космического полета (микрогравитация) на специализированных спутниках «БИОН» и «ФОТОН» с помощью бортовой аппаратуры, и в лабораторных условиях при моделировании эффектов измененной силы тяжести (гипо- и гипергравитации) с использованием клиностата и центрифуги. Установлены закономерности роста и функционирования клеток и одноклеточных организмов в измененном поле силы тяжести. Выявлена взаимозависимость степени гравитационной чувствительности клеток от их структурно-функциональной организации и уровня энергетического обмена.

На основе анализа экспериментальных данных и теоретических положений сформулирована рабочая гипотеза о механизмах восприятия и реализации гравитационного импульса у различных типов клеток и одноклеточных организмов. Показано, что гравитационная чувствительность одноклеточных свободноплавающих организмов есть функция их двигательной активности, тогда как гравитационная чувствительность клеток растущих в культуре *in vitro* определяется в первую очередь надежностью межклеточных контактов и адгезивными свойствами клеток.

**УДК 591.169 Биология клетки.**