

М. Г. Таирбеков

ГРАВИТАЦИОННАЯ БИОЛОГИЯ КЛЕТКИ

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.

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. 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 исследований. 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).

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 восстанавливающимся 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 увеличению 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.

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 регулируются 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. 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. 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 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.

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 одним 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 требуются 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. 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.