

М. Г. ТАИРБЕКОВ

**МОЛЕКУЛЯРНЫЕ И КЛЕТОЧНЫЕ
ОСНОВЫ ГРАВИТАЦИОННОЙ
ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ**

Москва 2002

УДК 574.68

ББК 28. 071М., 2002 - 104 с.

М.Г. Таирбеков Молекулярные и клеточные основы гравитационной чувствительности

Книга посвящена одной из актуальных проблем гравитационной и космической биологии: молекулярным и клеточным основам чувствительности живых систем к изменению величины и направления вектора силы тяжести. Автором, на основании критического анализа большого массива экспериментальных данных и современных теоретических положений, сформулированы закономерности функционирования различных типов клеток и клеточных ассоциаций в условиях измененной силы тяжести, в том числе и микрогравитации.

Обсуждается современное состояние проблемы молекулярного механизма восприятия и реализации гравитационного стимула в клетке.

Работа выполнена в ГНЦ РФ - Институте медико-биологических проблем РАН

M.G. Tairbekov Molecular and cellular basis of gravitational sensitivity

The book is devoted to modern problems of gravitational and space biology: molecular and cellular mechanisms of living systems. On the basis of critical analysis of great many experimental data and modern theoretical concepts, the regularities of functioning of different type cells and cell associations under altered gravity, including microgravity, have been formulated. A modern aspect of the molecular mechanisms of gravity perception and realization of gravitational stimulus in the cell has been discussed.

This research conducted at the SSC RF - Institute of Biomedical Problems RAS

ВВЕДЕНИЕ

Феномен влияния гравитации на наше окружение, включая и живые системы, был впервые описан в XVII веке Г. Галилеем, а несколько позже и более детально, И. Ньютоном. Впоследствии действие искусственно измененной по величине и направлению силы тяжести на живые организмы (растения и животные) изучали уже в XIX веке в экспериментах, с использованием специально сконструированных для этих целей приборов: центрифуги и клиностата, соответственно.

Однако, по - настоящему, интерес к данной проблеме возник во второй половине XX века, когда были созданы управляемые космические летательные аппараты. Таким образом, появилась возможность проводить исследования в условиях реального космического полета, и, что самое главное, сравнивать результаты космических экспериментов с данными, полученными в наземных исследованиях, как при нормальной силе тяжести ($1g$), так и при моделировании эффектов измененной силы тяжести (гипо - и гипергравитации) в лабораторных условиях.

Фундаментальные исследования в области гравитационной биологии объединены общей целью - выяснить роль силы тяжести в формировании структурно-функциональной организации живых систем в процессе их развития (филогенеза и онтогенеза), понять природу и механизм влияния гравитации как эволюционного фактора на различные аспекты жизнедеятельности одноклеточных и многоклеточных организмов.

Вместе с тем, эти исследования имеют важное практическое значение, связанное с оценкой степени риска пребывания живых организмов в условиях длительного космического полета, возможностей, ограничений и «стоимости» их адаптации к одному из основных факторов полета микрогравитации.

С появлением возможности проведения биологических экспериментов в космосе в контролируемых условиях все больше накапливалось данных, свидетельствующих о наличии влияния силы тяжести (невесомости) на клеточный уровень жизнедеятельности.

В настоящее время многолетнюю дискуссию о возможности влияния гравитации на клетку можно считать завершенной. Ответ на поставленный в середине 60-х годов прошлого столетия вопрос - способно ли изменение гравитационного вектора вызывать заметные сдвиги в структурнофункциональной организации клетки, может быть только положительным.

К такому выводу специалисты пришли после всестороннего анализа большого количества данных, полученных в многочисленных экспериментах с различными типами клеток, выполненных в лабораторных условиях при моделировании эффектов измененной силы тяжести на земле и в условиях микрогравитации на борту космических летательных аппаратов.

Очевидно, что для взаимодействия клеток с факторами окружающей среды необходимо наличие рецепторов, с помощью которых клетка могла бы воспринимать физические сигналы, поступающие из окружающей среды, в том числе сигнал об изменении параметров гравитационного поля, преобразовывать их в физиологический импульс и на этой основе формировать ответную реакцию.

Ответ на вопрос, как и с помощью каких механизмов, клетка реагирует на изменение величины и направления вектора силы тяжести, зависит от расшифровки и классификации сенсоров гравитации. Решение этой задачи в одинаковой степени важно, как в теоретическом плане, для обоснования роли гравитации в эволюции живых систем, так и для успешного применения результатов исследований в практике космической биологии и медицины, с целью совершенствования систем жизнеобеспечения, нормализации функций организма человека в космическом полете, разработки новых технологий в космосе.

Накопленные к настоящему времени данные о структурнофункциональной организации и поведенческих характеристиках различных типов клеток в условиях измененной силы

тяжести дают основание выдвинуть ряд гипотез и теоретических предположений о путях и способах адаптации живых систем к изменению параметров гравитационного поля.

Однако до окончательного решения этой проблемы требуются дальнейшие исследования. Основным результатом этих исследований, на наш взгляд, должно быть получение ответа на вопрос о механизме влияния на клетку гравитации как самостоятельного фактора или как фактора, моделирующего чувствительность клеток к действию иных физических полей, в первую очередь электромагнитной природы.

Вместе с тем, степень сложности вопросов, относящихся к проблеме взаимодействия клетки с факторами окружающей среды в гравитационном поле настолько велика, что не оставляет надежд на скорое получения итогового ответа. В этой связи, одним из очередных этапов решения проблемы является выяснение молекулярных механизмов восприятия и реализации гравитационного стимула в клетке.

1. ФИЗИКОХИМИЯ ВНУТРИКЛЕТОЧНЫХ ПРОЦЕССОВ В ГРАВИТАЦИОННОМ ПОЛЕ

Строение и эволюция Вселенной обязаны взаимодействию четырех физических сил, необходимых и достаточных для объяснения истории ее возникновения и развития. Гравитация является четвертой основной силой в природе, после сил ядерных взаимодействий (сильных и слабых) и электромагнитных сил. Каждая из перечисленных сил имеет свою компетенцию, сферы влияния и ограничения.

Ядерные взаимодействия: формируют субмолекулярный уровень существования материи. Без этого «строительного» и «энергетического» материала невозможно образование более высоких форм существования материи. Этот уровень обладает огромными запасами энергии, высвобождающейся в процессе цепных реакций.

Электромагнитные взаимодействия: возникают между частицами, имеющими электрические заряды, и определяют состояния вещества, в том числе и биологического, такие как силы поверхностного натяжения, электрические, магнитные и оптические явления, а также ионизацию, диффузию, конвекцию и другие физико-химические процессы. В живых системах, в частности в клетке, все процессы осуществляются благодаря локальным и кратковременным изменениям электромагнитных сил.

Электромагнитные силы осуществляют весь спектр молекулярных взаимодействий в живых системах.

Гравитационные взаимодействия в клетке, по сравнению с перечисленными выше силами, являются слабыми в масштабах органического мира. Тем не менее, гравитационные силы принимают непосредственное участие в процессах формирования и функционирования живых организмов на Земле, независимо от среды их обитания. Именно гравитация инициировала морфогенетический эволюционный процесс, который и привел к появлению дорзо-вентральной оси поляризации у живых организмов. Гравитационные силы создают гравитационное поле и действуют на все элементарные частицы и крупные тела одинаково в соответствии с их массой (прямо пропорционально массе взаимодействующих тел). Образно говоря, гравитация выступает в роли своеобразного конструктора разнообразных форм живых организмов и того субстрата, на котором эти организмы развиваются. Им отводится основная роль в структурировании макромира. Как форма, так и поведение всех животных, за возможным исключением водных организмов, полностью определяются силой тяжести (гравитацией).

Гравитация связывает взаимодействующие тела силой, имеющей не только величину, но и направление. Эта сила прямо пропорциональна произведению масс взаимодействующих тел ($m_1 m_2$) и обратно пропорциональна квадрату разделяющих их расстояния (R).

$$F = f m_1 m_2 / R^2$$

где f - гравитационная постоянная = $6,67 \cdot 10^{-8}$ см³/г.сек².

Гравитация, имеющая постоянный однонаправленный вектор, создает гравитационное поле Земли и является неизменным фактором среды на протяжении всей эволюции органического мира.

Под гравитационным полем Земли подразумевается распределение силы тяжести на ее поверхности и в непосредственной близости планеты.

Абсолютное значение силы тяжести = 9,81 микрогал (мГ) или 98,1 эрг/см².

Сила тяжести создает ускорение = 9,8 м/с² и формирует физический смысл понятия веса $P = m g$, где m - масса, g - ускорение.

Сила притяжения, реализуясь через вес, способна влиять на физикохимические свойства материи (плотность, температуру, вязкость, упругость и т.д.) и отсюда, на протекание гравитационно-зависимых биологических процессов. В соответствии с классической (ньютоновской) теорией, энергия системы, имеющей объем V , плотность ρ , в гравитационном поле g , выражается равенством

$$E_g = \frac{1}{2} \int \rho g dv$$

где f - потенциальная энергия гравитации, определяемая как

$$g = \Delta f,$$

В этом случае, если ρ и g - const., то $E_g = \frac{1}{2} \rho g V$, где n - число молекул в растворе, ρ - плотность воды, V - объем.

Обычно космический полет ассоциируется с понятием невесомости. Этот термин иногда воспринимается буквально, т.е. считается, что ускорение силы тяжести на борту космического аппарата (КА) = 0. На самом же деле в любой точке КА действуют т.н. малые ускорения, обусловленные различными физическими причинами. Из-за незначительности величин такие ускорения принято называть микроускорениями. Существующие на борту микроускорения с частотой не более 0,01 Гц обусловлены различными физическими причинами и связаны с характеристиками орбитального полета: направлением, высотой и ориентацией космического аппарата [Авдеевский и др., 1980].

Большинство экспериментов до настоящего времени были выполнены на борту КА, имеющих почти круговую орбиту полета на высоте от 300 до 500 км. Для таких КА, в свободном падении остаточные ускорения (микрогравитация) соответствуют 10^{-5} - $10^{-6} g$ и увеличиваются по мере удаления от центра масс КА. В пилотируемом полете на КА и орбитальных станциях эти ускорения могут достигать $10^{-3} g$ [Земсков, 2000].

Для того чтобы понять природу влияния гравитации, а также вероятные механизмы ее возможных эффектов на биологические процессы и структуры, необходимо попытаться рассмотреть гравитацию в качестве фактора, принимающего непосредственное участие в жизнедеятельности клетки в соответствии с законами физики и химии. В частности, очень важно понять, может ли гравитация в этом случае сравниться с другими силами, которые, как известно, влияют на биохимию клетки: это, в первую очередь, межмолекулярные электростатические силы и силы теплового возбуждения (броуновское движение).

Такой количественный анализ был проведен недавно для предельно простой системы - раствора белка с молекулярным весом $5 \cdot 10^5 D$ (дальтон) [Boncinelli, Vanni, 1998]. Результаты расчета энергии для каждого из типов взаимодействий представлены в табл. 1

Типы взаимодействий	Энергия в Ккал /моль
Гравитационные силы	2-3
Тепловое возбуждение (кТ) броуновское движение при T=300°	0,9
Ван - дер - Ваальсовские связи (силы)	2-3
Водородные связи (силы)	5-10
Ионные и ковалентные связи (силы)	80-100
Вязкость (центрифугирование при 100 g в течение 30мин)	$1,7 \cdot 10^4$

Из таблицы видно, что энергия гравитации в простейшей системе белково-солевой раствор существенно превышает энергию теплового возбуждения (кТ), сравнима с энергией слабых Ван-дер-Ваальсовских связей, но не может конкурировать с энергией водородных связей и тем более энергией ионных связей.

Тем не менее, из проведенных расчетов становится ясно, что гравитационные силы играют определенную роль в формировании морфо-функционального статуса биологических систем, начиная с молекулярного уровня организации. По мере усложнения системы и с переходом на новый качественный уровень организации жизни, значение гравитационного фактора в функционировании биологических систем будет возрастать.

Известно, что основные физико-химические процессы на земле и в космосе протекают по-разному. В условиях космического полета (микрогравитации) такие процессы как седиментация, давление и конвекция существенно снижены или сведены к 0. Так как биологические процессы на молекулярном уровне регулируются на основе законов физики и химии, то функционирование живых систем, по крайней мере, в микроскопическом объеме живой клетки, должно также отличаться на земле и космосе.

Прежде всего, определим понятие, физическую сущность и основные параметры указанных выше процессов:

Седиментация - движение тела (объекта) в гравитационном поле вниз под действием силы тяжести относительно окружающей среды. Этот процесс в жидкой среде сопровождается наличием так называемой силы торможения, которая возникает благодаря двум физико-химическим свойствам жидкости - вязкости среды и турбулентности течения.

Для вычисления скорости седиментации F_s необходимо определить; линейное ускорение (mg) минус скорость плавания (F_B) и минус сила сопротивления среды (F_V).

Отсюда,

$$F_s = mg - F_B - F_V,$$

где m - масса, g-ускорение силы тяжести, F_B плавучесть, F_V -сила торможения

Процесс седиментации (осаждения) существенно различается в космосе и на земле. Как показывают эксперименты, в гравитационном поле осаждение тела (объекта) происходит тем быстрее, чем он тяжелее, и имеет больший радиус.

Сказанное имеет большое значение для гравитационной биологии, в частности при определении кандидатов на роль сенсоров гравитации среди клеток и внутриклеточных структур. Так, например, известно, что осаждение амилопластов - крахмальных зерен в растительных клетках инициирует начало геотропической реакции у растений.

Другой пример - наличие у некоторых одноклеточных организмов, в частности у *Loxodes*, специализированной внутриклеточной органеллы, содержащей кристаллы Ca^{++} или Ba^{++} , которая играет роль гравирецептора.

Гидростатическое давление, также обусловлено наличием гравитационного поля Земли. В условиях нарастания силы тяжести (гипергравитации) происходит увеличение давления столба жидкости, то есть увеличивается вес водяного столба. Это давление определяется

как сила на единицу площади, где сила F есть сила, действующая перпендикулярно поверхности. Единица измерения этой силы обозначается в Паскалях (P_a).

В жидкости или в газе при постоянной плотности гидростатическое давление определяется согласно уравнению

$$P = F/A = \rho A_{gh}/A,$$

где ρ - давление (P_a), F - сила (Н), A - площадь поверхности (m^2), ρ - плотность жидкости или газа (g/cm^3), g - ускорение силы тяжести, h - высота

В норме на гидростатическое давление оказывает влияние и атмосферное давление, поэтому:

$$P \text{ (тотальное)} = \rho g h + P_a,$$

где P_a - атмосферное давление

В экспериментальной биологии гидростатическое давление, действующее в частности на поверхность одной клетки, имеющей диаметр около 10 мкм, будет составлять $\sim 2,6 \cdot 10^{-7}$ Н. В космическом полете, в условиях микрогравитации, отсутствие давления может существенно изменить ростовые характеристики клеток в монослойной культуре *in vitro*.

Конвекция - движение жидкости или газа основанное на разности плотностей. При нагревании части жидкости или газа, эта область под действием тепла расширяется, а ее плотность уменьшается. В одной и той же жидкости ее нагретая часть движется в направлении к холодной.

Это явление, называемое конвективным потоком, имеет место только в гравитационном поле и отсутствует или близко к 0 в условиях микрогравитации.

Однако основным способом тепло- и массопереноса в живых системах, ограниченных размерами клетки, является диффузия. Этот феномен хорошо известный как «броуновское движение», является причиной неравномерного распределения тепла, в результате которого происходят флуктуации в среде.

Количественная характеристика этого феномена выражается формулой kT , где k - константа Больцмана, T - абсолютная температура $= 293^\circ C$,

Количество выделенной тепловой энергии (kT) на 1 молекулу сопровождается снижением свободной энергии системы примерно на -1 Ккал /моль или 4.5 Дж.

Процесс диффузии сходен с кондуктивным тепло-, масса - переносом.

При кондуктивном переносе тепловыделение имеет место в присутствии температурного градиента, так же как диффузия имеет место в присутствии концентрационного градиента.

Уравнение диффузии, сформулированное Фиком еще в середине 19-века, имеет вид

$$\Delta N / \Delta t = D A (\Delta C / \Delta x),$$

где ΔN – количество диффундирующих молекул (n),

Δt - время необходимое для диффузии,

A - площадь поверхности, на которой имеет место диффузия (m^2)

$\Delta C = (C_1 - C_2)$ - разница концентраций в двух разных местах данной площади.

Помимо перечисленных выше процессов, имеющих непосредственное отношение к гравитации (абсолютно гравизависимых или гравичувствительных), функционирование клетки, ее форма и поведенческие характеристики обеспечиваются еще несколькими важными физико-химическими характеристиками.

Вязкость. Если принять во внимание, что средой обитания всех без исключения клеток является жидкость, то вязкость жидкости, как окружающей клетки среды, так и составляющей их внутриклеточное содержимое, играет существенную роль в их жизнедеятельности.

Внутриклеточное содержимое - протоплазма имеет высокую степень вязкости и представляет собой белково-солевой раствор плотностью-1,2г/см³. Образно говоря, жидкость внутри клетки представляет собой патоку, движущуюся толчками или непрерывно. Еще большую вязкость придают цитоплазме сократительные элементы цитоскелета и мембраны, образующие эндоплазматическую сеть. Отсюда, цитоплазму можно рассматривать одновременно как «цитозоль» коллоидный раствор свободно плавающих макромолекул и как «цитогель» - динамичную сеть, образованную из плотных полимерных структур, составляющих цитоскелет.

Химическая энергия. Очевидно, что тепловая энергия имеет существенное значение для стабильного функционирования клетки.

Однако, как видно из приведенной выше таблицы, номинальное значение тепловой энергии не превышает 1 Ккал/моль, что немного уступает значению гравитационной энергии и энергии водородных связей, но существенно ниже энергии ионных и водородных связей. Однако, принимая во внимание, что внутриклеточный континуум содержит примерно триллион химических связей, легко объяснить превалирование химических процессов в клетке над другими.

Электрические силы. Другой доминантной силой в клетке являются электрические взаимодействия. В самой простой форме это взаимодействие возникает как «кулоновская» сила, которая прямо пропорциональна значению взаимодействующих зарядов Q & q и обратно пропорциональна квадрату расстояния между этими зарядами

$$F (\text{кулон}) = Qq/r^2$$

Следовательно, электрический заряд становится довольно существенной силой на малых расстояниях, где радиус r очень мал. Если заряд Q локализован в воде и окружен ионами, то зона его притяжения (или отталкивания) становится еще меньше, т.к. ионы с противоположными зарядами сосредотачиваются вокруг этого поля, что нейтрализует его влияние на больших расстояниях.

Согласно теории Дебая-Хейгеля, эффект этих ионов будет снижаться с уменьшением «кулоновских» сил. Константа θ , называемая константой Дебая-Хейгеля, определяется толщиной слоя ионов, окружающих заряд Q.

Другими словами, электрическое поле заряда Q в изотоническом растворе солей (например, раствора NaCl) распространяется только на расстояние $d=10^{-7}$ см или 10 \AA . Как результат, заряженные молекулы, которые окружены этими ионным облаком, обладают высокой тепловой скоростью.

Взаимодействие молекул друг с другом не наблюдается до тех пор, пока они не сблизятся на расстояние 1/3 их радиуса.

Превалирование электрических сил над гравитационными в микроскопическом объеме клетки является причиной возникновения коллоидов - частиц, размеры которых гораздо больше обычных молекул, но не превышают 0,5 мкм. Именно взаимное отталкивание одноименных электрических зарядов держит коллоидные частицы на расстоянии друг от друга вопреки гравитационному притяжению и препятствует их дальнейшей агрегации, что позволяет протоплазме имитировать свойства истинных растворов во многих отношениях.

Электрическое отталкивание между макромолекулами в клетке настолько велико, что для его нейтрализации требуется приложить огромные усилия - центрифугирование при очень высоких скоростях достаточно длительное время. В частности, для осаждения таких гигантских молекул белка как актин или миозин необходимо центрифугирование при 100000g в течение 1 часа.

Полимеризация. Еще одна из заметных сил, которую мы обнаруживаем в клетке, это сила полимеризации. Обычно добавление более одной субъединицы к стабильному полимеру внутри клетки приводит к образованию сети немедленно или через некоторое время,

необходимое для преодоления энергетического барьера. Важно при этом отметить, что силы полимеризации и скорость этого процесса не зависят от длины полимера или мономера. Силы полимеризации в клетке преобладают над другими силами, такими как гравитация, поверхностное натяжение, сократительные силы, которые монотонно снижаются по мере уменьшения размеров клетки.

Так как большинство клеточных полимеров, например, такие как микротрубочки и микрофиламенты, промежуточные филаменты, толстые нити и др., удерживаются в связанном состоянии силами Ван-дер-Ваальса, то можно вычислить, что разность (перепад) энергии при одном акте полимеризации AG составляет от 6 до 30 Ккал/Моль или $0,4 \cdot 10^{12}$ эрг на одну связь, при этом размеры субъединиц колеблются в диапазоне 30 \AA или $3 \cdot 10^{-7}$ см.

Отсюда сила, приложенная только к одной субъединице, в десять раз превышает вес клетки средних размеров. Другими словами, присоединение одной субъединицы достаточно для того, чтобы поднять 10 клеток на расстояние длины их диаметра. Силы полимеризации по своей мощности превышают также силы поверхностного натяжения.

Транспорт вещества и энергии. Скорость распространения вещества и энергии в клетке довольно высока вследствие ее малых размеров и составляет в среднем - 10^{-3} см/сек. Однако она существенно лимитирована диффузией, которая сама по себе является очень медленным процессом.

Диффузия - гравитационно независимый процесс играет определяющую роль в осуществлении внутриклеточного транспорта вещества и энергии.

Существуют два типа переноса веществ через мембрану: пассивный и активный транспорт. Пассивный транспорт осуществляется в результате простой диффузии, где направление переноса веществ совпадает с направлением их концентрационного градиента.

В результате происходит переход молекул из области **высокой** концентрации в область низкой концентрации, причем количество переходящего через мембрану вещества, в соответствии с законом Фика, линейно зависит от разницы концентраций:

$$dm/dt = ks ds/dx$$

Согласно этому закону, стационарный поток вещества между двумя областями раствора прямо пропорционален площади, разделяющей эти области, и величине k (коэффициент диффузии) и обратно пропорционален толщине перегородки (мембраны). Простая диффузия всегда повышает энтропию и стремится привести систему в равновесие.

В противоположность простой диффузии, активный транспорт осуществляет перенос веществ из области низкой концентрации в область высокой концентрации. Он всегда направлен против концентрационного градиента и поэтому требует затрат энергии. Кроме того, для осуществления активного транспорта необходим механизм, исполняющий роль насоса, функционирующего на границе фаз. Зачастую требуется также и переносчик.

В самой общей форме под распределением веществ между двумя сторонами мембраны понимается соотношение концентраций данного типа соединения внутри ограниченного мембраной континуума - (C_1) и снаружи - (C_2), или коэффициент распределения этого вещества

$$V = C_1/C_2$$

Предполагается, что молекулы белка, агрегируясь в более сложные соединения (кластеры) образуют каналы, сквозь которые переносятся вещества. Каналы и переносчики создаются молекулами белков в комбинации с другими веществами.

2. ГРАВИРЕЦЕПТОРЫ, ИХ ОРГАНИЗАЦИЯ И ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ В КЛЕТКЕ

Вследствие физической природы гравитации, гравитационный стимул взаимодействует с массой и индуцирует первичную механическую реакцию, выражающуюся в перераспределении масс, главным образом в процессе седиментации во внутриклеточном объеме или в изменении давления и степени напряжения, как самой клетки, так и клеточных органелл.

В соответствии со «статоцистной» гипотезой, предложенной для простейших одноклеточных организмов [Hemmersbach-Krause et al.1991a,b] и усовершенствованной «статолитной» гипотезой для растений [Sack, 1991] гравирецепторами могут служить вакуоли, содержащие кристаллы, различные типы пластид, в основном, амилопласты, содержащие крахмальные зерна.

По современным данным в процессах восприятия и реализации гравитационного стимула могут принимать участие почти все внутриклеточные структуры, ядро, пластиды, митохондрии. В первую очередь это относится к ядру, плотность которого в 1,5 раза превышает плотность окружающей его цитоплазмы. Поддержание нормального пространственного положения ядра в клетке имеет большое значение для реализации «алгоритма» клеточного деления и сохранения позиционного гомеостаза самой клетки.

Те же закономерности, очевидно, должны соблюдаться в клетке и для органелл, плотность которых превышает плотность цитоплазмы [Таирбеков и др., 1997а].

Как известно, от формы, размеров, массы и функциональной активности этих органелл в значительной степени зависят общий метаболизм и чувствительность клеток к факторам внешней среды, в том числе и гравитационному фактору. В этой связи, особого внимания заслуживает работа [Bornens, 1979], в которой была представлена теоретическая модель регуляции энергетического обмена в клетке при взаимодействии всех внутриклеточных элементов, при ключевой роли центриоли. По мнению автора, центриоль представляет собой гироскоп, определенным образом ориентирующий клетку в пространстве.

Не менее интересными с этой точки зрения могут быть также вариации количественного распределения и пространственной локализации внутриклеточных органелл, таких как митохондрии и различные типы пластид, имеющих достаточно высокую плотность и массу, для выполнения роли гравирецепторов [Таирбеков, 2000].

В процессе взаимодействия внутриклеточные органеллы образуют комплексы, которые, с нашей точки зрения, вполне могут претендовать на роль неспециализированных гравирецепторов. Некоторые возможные варианты образования такого рода комплексов представлены на рисунке 1.

2.1. Статолиты как специализированные гравирецепторы растительных клеток.

У растений существует эволюционно закрепленный комплекс реакций, объединенный под общим названием геотропизма. На уровне целого организма эта реакция выражается в изгибе осевой направленности роста органов, совпадающих с направлением вектора гравитации в случае корня и противоположной этому направлению в случае стебля. В первом случае это отрицательный геотропизм, во - втором - положительный.

Рецепторный механизм осуществления этой реакции пространственно сосредоточен в специализированных гравирецепторных клетках статоцитах. Статоциты, объединенные в группу по 8-10 клеток, составляют т.н. статенхиму, локализованную в корневом чехлике. Каждый статоцит представляет собой клетку, форма и внутренняя организация которой существенно отличаются от других соматических клеток. Морфологические особенности строения этих клеток в процессе их формирования в условиях нормальной силы тяжести и микрогравитации в схематическом виде представлены на рисунке 2.

Гравирецепторные клетки строго поляризованы, а специфика распределения в них внутриклеточных органелл является структурной основой для восприятия гравитационного стимула. Эти клетки отличаются и по ультраструктурной организации.

Если в клетках меристемы ядро, как правило, занимает центральное положение, латерально смещаясь по мере роста и старения клетки, а окружающие ядро органеллы не проявляют специфической ориентации, то в статоцитах эмбриональная ось уже в первые сутки после прорастания семени ориентируется в направлении гравитационного вектора.

Одновременно внутри клетки возникают поляризация и специфическое пространственное распределение органелл. Ядро в подавляющем большинстве случаев локализуется недалеко от проксимального конца клетки. Ближе к дистальному концу располагаются многочисленные пластинки эндоплазматического ретикулума, под которыми находятся амилопласты, содержащие крупные крахмальные зерна.

Другие клеточные органеллы (митохондрии, диктиосомы, и мелкие вакуоли), по-видимому, не участвующие в геотропической реакции, распределяются как обычно по всему объему клетки. Микротрубочки и другие элементы цитоскелета располагаются ближе к плазмолемме.

В период нормальной ориентации корня в вертикальном положении, совпадающем с направлением вектора силы тяжести, амилопласты, осаждающиеся на дистально расположенный комплекс ЭР, оказывают постоянное давление на мембраны, что является физическим сигналом для непрерывного роста корня.

Такая ситуация сохраняется во всех статоцитах, где производимое амилопластами давление распределяется на комплекс ЭР равномерно по всему объему клетки. Однако, при минимальном отклонении от вертикали, совпадающей с направлением вектора гравитации, происходит сдвиг этого равновесия, что приводит к пространственному перераспределению внутриклеточных элементов и нарушению симметрии в распределении клеточных органелл в статоцитах. Вследствие этого происходит неравномерное растяжение и рост различных частей клеток, приводящий к изгибу органа.

Расчеты, выполненные в работе [Vjorkmann, 1988] показывают, что при естественной седиментации амилопласт в статоците должен развивать давление на мембрану ЭР, равное $\sim 5 \cdot 10^{-14} \text{ Н}$, а его потенциальная энергия соответствовать $\sim 5 \cdot 10^{-9} \text{ Дж}$, что на порядок выше минимальной энергии, необходимой для выполнения функций рецептора.

Вместе с тем, в некоторых случаях для растений, в частности водорослей, характерно селективное накопление разного рода минеральных или органических кристаллов во внутриклеточных вакуолях. Так, например, в клетках ризоидов *Chara* можно обнаружить до 50 вакуолей содержащих значительное количество кристаллов бария. Эти образования вполне могут также выполнять функции статолитов.

Таким образом, стимулированный гравитацией изгиб осевого органа растения (геотропическая реакция) на клеточном уровне рассматривается как цепь событий, происходящих в строгой последовательности в специализированных клетках - статоцитах. При изменении пространственного распределения внутриклеточных органелл в момент получения гравитационного стимула давление на мембраны ЭР вызывают в них обратимые конфигурационные изменения, которые в свою очередь приводят к изменению организации лиганд-рецепторного комплекса, расположенного на поверхности мембран. Кроме того, пространственное перераспределение касается не только внутриклеточных органелл, но и различных макромолекулярных комплексов, в частности ростовых гормонов: стимулятора роста - индолилуксусной кислоты (*ИУК*) и ингибитора роста абсцизовой кислоты (*АБК*). В результате асимметричного распределения названных ростовых гормонов на одной стороне клетки происходит ускорение роста и растяжения клетки, а на другой - торможение этих процессов, что неизбежно приводит к геотропическому изгибу органа.

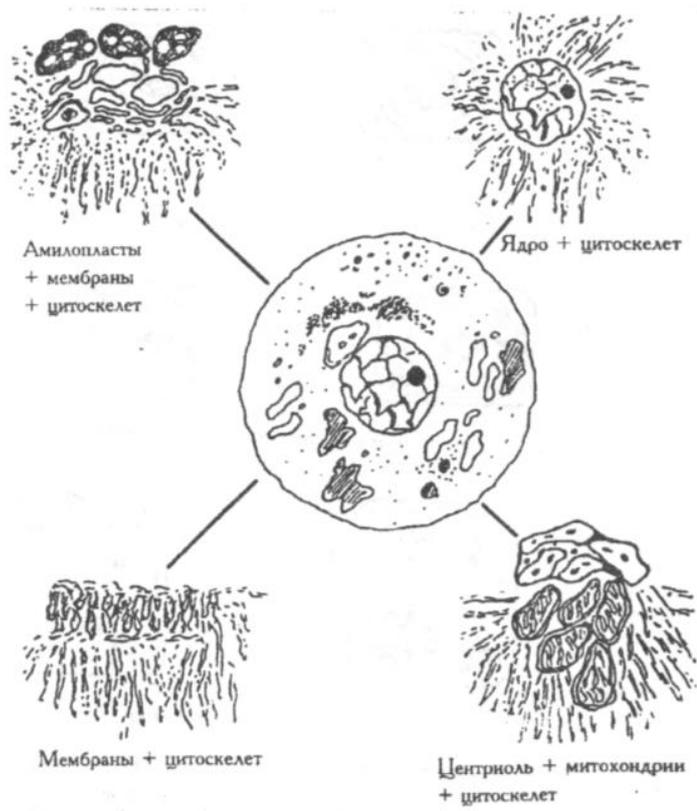


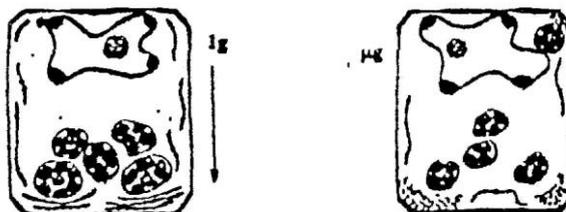
Рис. 1 Комплексы внутриклеточных структур, принимающих участие в процессе восприятия и реализации гравитационного стимула



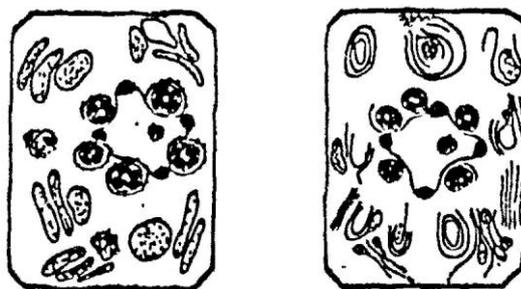
Клетки меристемы



Статоциты в стадии дифференцировки



Зрелые статоциты



Секреторные клетки

Рис. 2 Формирование гравирецепторных клеток у растений в условиях нормальной силы тяжести ($1g$) и микрогравитации ($10^{-5}g$)

Отсюда, можно заключить, что возможный приемник гравитационного импульса или, точнее «антенна» должна находиться внутри клетки.

Последовательность и основные этапы структурно-функциональных перестроек, происходящих в статоцитах в процессе восприятия и реализации гравитационного стимула, представлены на рисунке 3.

2.2. Специализированные и неспециализированные гравирецепторы одноклеточных организмов

В одной из работ, [Pickard, Thimann, 1966] получила развитие гипотеза, предложенная еще в конце 19-го века С. Чапеком, [Chapek, 1895], согласно которой гравитационный стимул на самом начальном этапе воспринимается не плотными (тяжелыми) внутриклеточными включениями, а развивается вследствие давления, производимого массой протоплазмы на нижнюю мембрану. Такой механизм, основанный на современных представлениях электрофизиологии, был предложен для объяснения механизма гравирецепции у инфузории *Paramecium* [Kuroda, Kamiya, 1966, Taneda, 1987], цитоплазма которой при плотности $1,04 \text{ г/см}^3$ развивает гидростатическое давление от $0,08$ до $0,1 \text{ Па}$ [Ooya et al., 1992, Machamer, Braucher 1992a].

По результатам вычислений, приведенных в этих работах, видно, что такое давление на нижнюю мембрану вполне может привести к активации механочувствительных ионных каналов в клеточной мембране. Как известно именно активность этих каналов регулирует интенсивность биения ресничек у цилиат, а следовательно, и скорость их плавания. Так, например, было показано, что гиперполяризация K^1 чувствительного канала, расположенного в задней части парамеции, приводит к плаванию в направлении *вверх*, тогда как деполяризация Ca^{++} чувствительного канала, расположенного в передней части, приводит к стимуляции плавания в направлении *вниз* [Naiton, 1984, Machamer, et al 1992b].

Возникает вопрос, может ли данная модель объяснить механизм гравикинеза так же хорошо как механизм гравитаксиса в частности для цилиат или для всех простейших?

В настоящее время разработаны экспериментальные подходы, которые дают возможность отличить, происходит ли только осаждение (седиментация) статолитов внутри клетки в ответ на гравитационный стимул, или на этот физический сигнал отвечает вся клетка в целом.

Очевидно, что при наличии межклеточных (внешних) рецепторов, расположенных на поверхности клеточной мембраны, восприятие гравитационного стимула и последующий ответ может быть неэффективным из-за изменения плотности окружающей среды, если эта плотность изначально выше плотности протоплазмы. Для экспериментальной проверки этой гипотезы клетки *Euglena*, *Paramecium*, *Loxodes* были помещены в среду с повышенной

плотностью. Увеличение плотности среды приводило к ослаблению реакции гравитаксиса у *Euglena*, *Paramecium*, и их ориентация полностью нарушалась при плотностях от 1,04 до 1,05 г/см³. Эти данные указывают на то, что осаждающиеся внутри клетки органеллы у *Euglena*, *Paramecium* не включаются в механизм гравирецепции.

Трихоцисты, по мнению [Hemmersbach-Krause et al., 1991b] могут быть кандидатами в гравирецепторы у *Paramecium*. Однако, поддержание положительного гравитаксиса у *Loxodes* не зависит от плотности окружающей среды, так как у него нет межклеточных рецепторов гравитации [Hemmersbach et al., 1998]. Увеличение плотности внешней среды (1,015 г/см³) приводит также к снижению гравичувствительности у водорослей, в частности у *Chara*, где вся протоплазма действует как единый статоцит. Было сделано предположение, что интегрин-связанные белки, которые окружают клеточную мембрану и плотно прилегают к ней со стороны внеклеточного матрикса, выполняют функции гравирецептора, что противоречит классической «статолитной теории» [Wayne et al., 1990;

Pickard, Ding, 1992]. Прямое (непосредственное) взаимодействие силы тяжести с механизмом мембранного транспорта было показано на искусственных мембранах при развитии реакции на добавление в среду грамицидина А [Reitstetter et al., 1991; Shatz et al., 1996]. В частности, для одноклеточных автотрофов *Euglena* было показано, что при добавлении в среду инкубации кадмия, у этих организмов происходит потеря ориентации, подвижности и фототаксиса.

Причиной таких изменений, по всей вероятности, является нарушение проводимости механочувствительных ионных каналов. Кроме того, очевидно, происходит сдвиг градиентов Са⁺⁺. Это, в свою очередь, ведет к подавлению скорости синтеза АТФ в клетке, и как следствие, почти полному выключению механизма гравичувствительности. Этот механизм четко функционирует, как в животных, так и в растительных клетках.

Таким образом, изменения в уровне клеточных мембран приводят к потере проводимости физического сигнала в клетке, генерированного гравитационным стимулом.

Альтернативная стратегия гравичувствительности заложена в механизме, лежащем в основе восприятия и реализации силы тяжести у *Loxodes striatum*, где в качестве гравирецептора выступает внутриклеточная структура, т.н. «мюллеровская органелла». Это образование, размером от 7 до 10 мкм в диаметре, содержит кристаллы BaSO₄ диаметром от 3 до 3,5 мкм. Более низкая плотность кристаллов SrSO₄, характерных для аналогичных образований у другого представителя кариореликтовых цилиат *Remanella*, компенсируется большими размерами минерального включения - от 4 до 4,5 мкм в диаметре. В случае наличия в клетке мюллеровской органеллы, можно предполагать связь двигательного аппарата - ресничек с восприятием гравитационного стимула, который в свою очередь индуцирует изменения мембранного потенциала, контролирующего активность и скорость биения ресничек [Rieder, 1977; Fenchel, Finlay, 1984, 1986].

2.3. Интегральные гравирецепторы.

Таким образом, результаты исследований отчетливо свидетельствуют о включении структурных внутриклеточных единиц типа мюллеровских органелл (у простейших) или амилопластов (в растительных клетках) клетки на первых этапах развития реакций гравитаксиса и гравитропизма соответственно у одноклеточных или растений. Более того, как выясняется, существует общность принципов построения и функционирования механизмов восприятия и реализации гравитационного стимула у простейших и растений.

Этот механизм в основе своей предполагает наличие рецепторов: специализированных и неспециализированных, функционирующих в качестве триггера для развития событий на уровне мембран.

Сила, генерируемая при взаимодействии внутриклеточных элементов, имеющих различные плотности (статоцистов или статолитов), с протоплазмой в момент получения клеткой гравистимула, обязательно должна превышать уровень «теплового шума» обусловленного Броуновским движением и составляющего $\sim 2 \times 10^{-21}$ Дж. Только в этом случае гравитационный стимул может служить триггером для запуска каскада последовательных гравизависимых реакций в клетке. Количество энергии, необходимой для активации единичного механочувствительного канала в мембране точно неизвестно, но оно определенно больше энергии теплового возбуждения.

Вычисления показывают, что в случае с *Paramecium* эта энергия достигает величины 10^{19} Дж, что в 50 раз выше энергии теплового возбуждения [Machamer et al., 1991, Machamer, Brausker, 1992 a,b]. Примерно такое же количество энергии требуется для реализации аналогичных процессов и в других типах клеток [Howard et al., 1988].

Однако, как показывают теоретические расчеты, активация (открытие) одного (единичного) ионного канала длиной 0,1 мкм недостаточна для запуска гравитационно-зависимой реакции в системе (клетке). Так, например, расчеты, выполненные для волосковых клеток ризоида *Nitellopsiss*, показали, что количество энергии, генерируемой при давлении массы протоплазмы на нижнюю мембрану гораздо больше, чем энергия, необходимая для активации лишь одного ионного канала [Volkman et al., 1991]. Пороговое значение гравитационного для одноклеточных организмов по расчетным данным составляет 10% или 0,1 g от нормальной силы тяжести, а временной промежуток между получением системой физическим сигналом и ответной реакцией, в частности для *Loxodes* равен 2 сек. [Hemmersbach - Krause et al, 1991b].

Обобщенная схема молекулярного механизма восприятия и реализации гравитационного стимула в клетке на уровне мембран представлена нами на рисунке 4.

Несмотря на то, что гравитационный ответ (геотропизм у высших растений и гравитаксис - у простейших) существенно различаются феноменологически, молекулярные механизмы восприятия физического сигнала об изменении напряженности гравитационного поля и трансформации этого сигнала в физиологический импульс на уровне клетки имеют много общего.

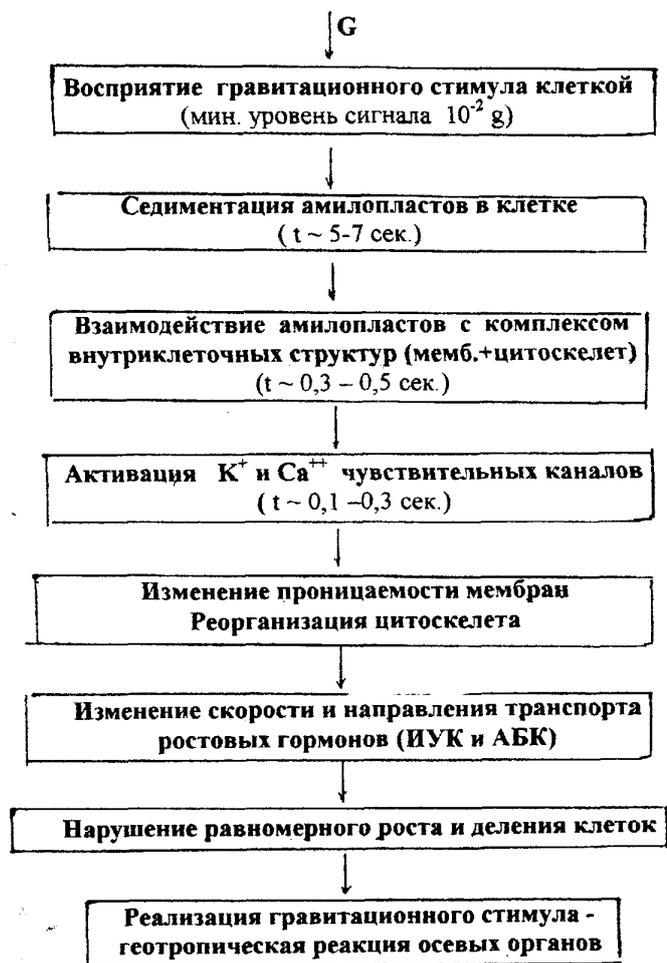


Рис. 3 Последовательность восприятия и реализации гравитационного стимула в растительной клетке

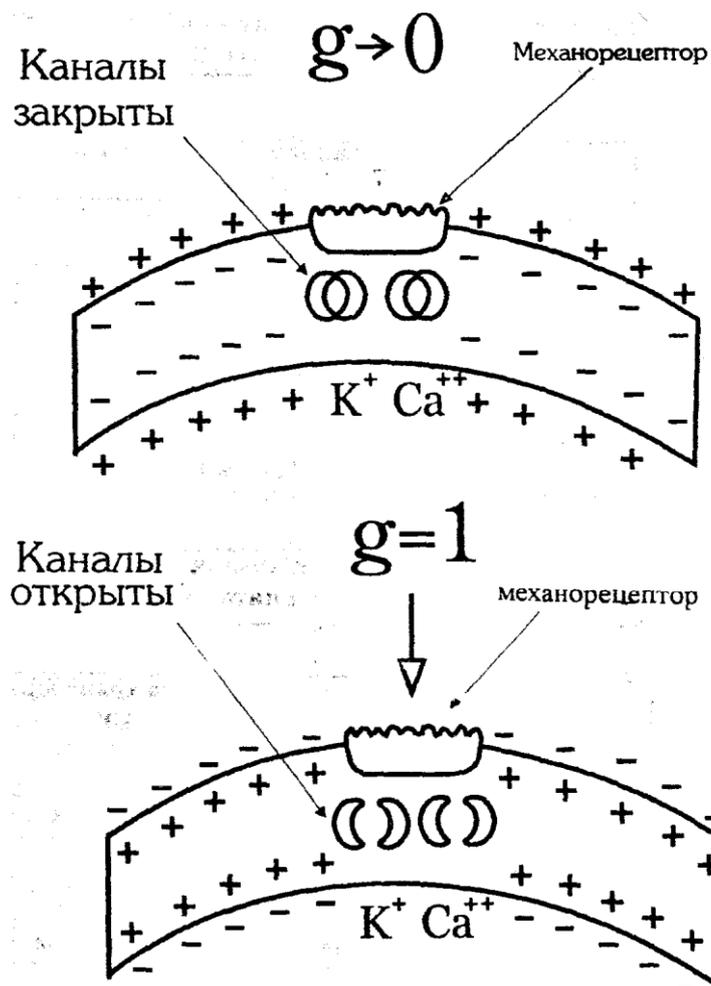


Рис. 4 Обобщенная схема молекулярного механизма восприятия гравитационного стимула в клетке

Простейшие - одноклеточные организмы, так же как и растительные клетки являются весьма подходящими объектами для изучения сенсорных процессов на клеточном уровне. Большинство одноклеточных организмов обладают способностью к гравитаксису.

Физические основы гравитаксиса заключаются в том, что все одноклеточные организмы имеют плотность выше плотности окружающей среды (т.е. воды, которая является средой их обитания). Между тем, гравикинез не является общим для всех простейших. Например, у одноклеточных организмов, относящихся к жгутиковым (флагеллятам) этот феномен отсутствует. Гравикинез, присущий ресничным, имеет большое значение для их пространственного распределения и селективного стимулирования механочувствительных ионных каналов в клеточной мембране: деполяризации Ca^{++} - каналов, локализованных в верхней части клетки при движении цилиат в направлении вверх, и гиперполяризации K^+ -каналов, расположенных в нижней части клетки при движении в направлении вниз. Этот феномен проявляется у *Paramecium*, *Loxodes* и других представителей класса цилиат.

В условиях гипергравитации у простейших наблюдается максимальная активация (открытие) механочувствительных ионных каналов. В растительных клетках в условиях гипергравитации (в диапазоне ускорений от 50 до 200g в течение 20 мин.) происходит полное перераспределение внутриклеточных органелл (главным образом - амилопластов).

Детальный анализ порога гравитационной чувствительности клеток, времени перцепции силы тяжести и других параметров, приведен в работах (Block I. et al, 1992, Briegleb, 1988, Hemmersbach et al, 1999a,b; Klaus et al, 1998; Machamer et al, 1991, 1992a,b; Mesland, 1990, 1992; Tairbekov, 1992, 1996; Todd, 1989, 1991, 1992].

Критерии гравитационной чувствительности многоклеточных организмов в зависимости от их массы и размеров подробно рассмотрены и обсуждены на основе теоретических положений гравитационной биологии в следующих фундаментальных исследованиях [D.Thompson, 1966; А.Смит, 1975;

К.Шмидт-Нильсен, 1976; А. Економос, 1979].

3. ЭКОЛОГО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ РАЗЛИЧНЫХ КЛЕТОК В ГРАВИТАЦИОННОМ ПОЛЕ

Очевидно, что при изучении гравичувствительности клеток необходимо иметь наиболее полное представление не только об особенностях их структурно-функциональной организации, но и физико-химических параметрах окружающей среды. Как известно, природным условиям соответствуют лишь два состояния жизнедеятельности клеток; либо это популяция свободноживущих одноклеточных организмов, либо сообщество различных типов клеток, функционирующих в составе единого многоклеточного организма. Третья форма существования - это клетки изолированные из органов и тканей животных или растений, выращиваемые в лабораторных условиях в культуре *in vitro*.

При подготовке и проведении экспериментальных исследований по гравитационной биологии и анализе полученных результатов, очень важен выбор в качестве объекта - моделей, соответствующих перечисленным условиям существования клеток, а именно:

-группе клеток, функционирующих в составе многоклеточного организма *in situ*

-популяции свободноплавающих одноклеточных организмов в жидкой среде *in vivo* - клеткам, растущим в культуре на твердом субстрате в лабораторных условиях —*in vitro*.

При обсуждении проблемы влияния силы тяжести на клетку важно различать эффекты, обнаруживаемые в свободноживущих одноклеточных организмах, и в клетках, функционирующих в составе многоклеточного организма и растущих в культуре *in vitro*.

Необходимо иметь в виду, что по мере увеличения числа клеток, образования агрегатов, колоний, сложных многофазных систем, и тем более формирования многоклеточного организма, изменяются не только характер и особенности функционирования клеток, но и физико-химические параметры окружающей среды, а, следовательно, и взаимосвязь «организмсреда», в процесса роста клетки, как и более сложной биологической системы, обеспечивается контактами с внешней средой. При этом следует отметить, что для клеток многоклеточных организмов животных и растений внешняя среда представлена соседними клетками, контактирующими между собой через межклеточные пространства, заполненные водой или специальными компонентами организма, такими как кровь и лимфа.

3.1. Многоклеточные организмы. Статолитная теория

Как известно, подавляющее большинство многоклеточных организмов, животных и растений, выработало в ходе эволюционного развития механизмы для восприятия и реализации гравитационного стимула, которые пространственно сосредоточены во внутриклеточном объеме в виде определенных структур.

Наиболее четко организацию и принцип реализации молекулярного механизма гравирецепции у многоклеточных можно проследить на примере растительных клеток -статоцитов.

Современный взгляд на механизм восприятия и реализации гравитационного стимула в растительном организме есть, по сути дела, результат синтеза и дальнейшего совершенствования двух основополагающих теорий, известных с начала прошлого века: «статолитной» (механической), выдвинутой К. Геберландом [Heberland, 1900] и Б. Немцем

[Nemes, 1902] и «ауксиновой» (химической), предложенной Н. Холодным [1922] и Вентом [Went, 1928].

В основе этих гипотез лежит клеточный механизм, объясняющий явление геотропического изгиба осевых органов высших растений (стебля и корня) как результат пространственной реорганизации внутриклеточных компонентов, главным образом крахмальных зерен, локализованных внутри амилопластов, с одной стороны, и ростовых гормонов с другой, в ответ на гравитационный стимул.

Вместе с тем, долгое время оставался невыясненным центральный вопрос в интерпретации молекулярного механизма геотропической реакции - каким образом физический сигнал об изменении величины и направления вектора гравитации трансформируется в физиологический импульс, вызывающий, перестройку интенсивности и ритма метаболических процессов в клетке и формирующий ответную реакцию?

Т. Бьеркман [Bjorkman, 1988] провел расчеты энергии и силы, вовлеченных в процесс восприятия гравитации в 1 г. На основании расчетов он сформулировал три основных требования, которым должна удовлетворять любая концепция гравичувствительности: 1) гравитация взаимодействует только с массой, 2) масса должна перемещаться и производить работу как сенсор и 3) энергия движения должна восприниматься в присутствии температурного «шума», т.е. должна превышать минимальное значение кТ.

Позже эти требования были им детализированы. Минимальная энергия по расчетам автора оценивается как $3-4 \cdot 10^{-20}$ Дж. При этом следует учитывать, что величина тепловой энергии кТ при комнатной температуре, не превышает $2 \cdot 10^{-21}$ Дж. Эти расчеты показывают также, что возможный «приемник» или правильнее «антенна» должна находиться в весьма узком диапазоне по параметрам размера и удельного веса клетки. Поскольку в специализированных клетках растений имеется специальная органелла амилопласт, удовлетворяющая необходимым требованиям, то для нее и производились расчеты величины силы тяжести, необходимой для ее осаждения [Schwuchow et al, 1994].

При естественной седиментации в реальной клетке амилопласт будет развивать давление $= 4,92 \cdot 10^{-14}$ Н (ньютон), а его потенциальная энергия составлять $4,9 \cdot 10^{-19}$ Дж. Это на порядок выше минимальной энергии, необходимой для выполнения требований сформулированных Т.

Бьеркманом на основании теоретических расчетов.

В настоящее время экспериментально доказанным является также тот факт, что взаимодействие амилопластов в процессе их седиментации с сократительными элементами цитоскелета служит пусковым механизмом (триггером) геотропической реакции [Sievers et al., 1991a,b]. Одним из наиболее важных следствий этого акта является экскреция Ca^{++} в клетке, что неизбежно приводит к изменению клеточного метаболизма.

При изменении пространственного расположения внутриклеточных структур в момент получения гравитационного стимула их давление на элементы цитоскелета и цитоплазматические мембраны вызывает обратимые конформационные изменения сократительных элементов цитоскелета и мембранного комплекса, что в свою очередь, приводит к неравномерному распределению биологически активных соединений в клетке, в первую очередь, ростовых гормонов. В результате в определенных участках клетки активизируются рост и растяжение клеточной стенки.

Эти процессы неизбежно приводят к неравномерному росту и как следствие к изгибу органа.

Согласно выдвинутой нами гипотезе [Таирбеков, 1996], самые начальные этапы сложного и многоступенчатого механизма гравирецепции у растений осуществляются на молекулярном уровне.

Было показано, что скорость, с которой протекают стимулированные силой тяжести ростовые процессы, зависит, прежде всего, от степени активности метаболических

процессов в клетке, градиентов концентрации ростовых гормонов, наличия ионов Ca^{++} в цитоплазме и скорости осаднения амилопластов. Таким образом, реализация гравитационного стимула в специализированных клетках высших растений - статоцитах, очевидно, обусловлена молекулярными процессами на уровне мембран.

До самого последнего времени большинство специалистов склонно было объяснять феномен геотропической реакции в растительной клетке исключительно лишь непосредственным взаимодействием статолитов с мембранами эндоплазматического ретикулула, которые пространственно локализованными под ними. Однако, недавние исследования, позволили внести некоторые уточнения в это утверждение [Штейн, 2000].

Теоретически, давление массы на поверхность опоры должно генерировать гравитационный сигнал. Причина этого явления заключается в следующем. Дело в том, что такое давление достигает своего максимума, когда стационарная (неподвижная) опора (подложка) находится в горизонтальном положении. Если же детектор (подложку) повернуть вертикально, значение (величина) давления существенно ослабнет и может дойти до 0.

Напротив, для мобильной (движущейся) массы, сопряженной с детектором (сенсором) сдвиг этот будет равен 0 до тех пор, пока масса будет оставаться неподвижной, но будет расти, по мере того как наклон будет увеличиваться, т.е., когда вызванная (индуцированная) гравитацией масса начнет двигаться относительно детектора.

Кроме того, направление сдвига относительно детектора зависит от направления наклона. Следовательно, давление, вызывающее (производящее) эффект в детекторе (сенсоре), будет уменьшаться по мере увеличения наклона. Это будет происходить независимо от направления наклона, а изменение давления будет иметь значение только тогда, когда поверхность детектора изменится в обратную сторону. В то же время, с другой стороны, увеличение сдвига, сопряженное с изменением угла наклона является управляемым процессом, т.е., можно изменять, как направление, так и наклон детектора.

В природе система восприятия силы тяжести растением происходит даже при самом незначительном отклонении. Ориентация семени после его посадки в почву (субстрат) имеет очень высокую вариабельность.

После прорастания, если осевой орган (корень или стебель) растет вертикально, система восприятия гравитации вынуждена приспособиться (адаптироваться) к новым условиям (направлению вектора гравитации) путем коррекции своего положения в пространстве (небольшим отклонением от нормы). Другими словами, амплификация (увеличение) незначительного отклонения достаточна для коррекции положения растения в пространстве. Все сказанное приводит нас к выводу, что отклонение (сдвиг) детектора может приводить к возрастанию влияния гравитации, так как оно способно спровоцировать сигнал, приводящий к гравитационному изгибу. Таким образом, сдвиг детектора является основным инструментом запуска не только гравирецепторного ответа, но и морфо - функциональных изменений в живых системах.

Феномену геотропизма у высших растений посвящена обширная литература. Участие силы тяжести в ориентации осевых органов и ростовых процессах растений не вызывает сомнений. Непосредственный эффект гравитации на процессы, протекающие во внутриклеточном объеме гравирецепторной клетки - статоцита, к настоящему времени окончательно выяснен.

3.2. Одноклеточные свободноживущие организмы в гравитационном поле.

Биоконвекция

При рассмотрении эффектов измененной силы тяжести на клеточном уровне, в частности, на популяции одноклеточных свободноплавающих организмов, предполагается, что эти эффекты в основном вторичны и реализуются в результате изменений физико-

химических параметров внешней среды и физиологических характеристик самих организмов.

Понятие внешняя среда для индивидуальной клетки имеет широкий смысл и включает в себя не только среду обитания одноклеточного организма, но и многоклеточный организм в целом. При изменении параметров внешней среды клетки претерпевают не только количественные, но и качественные изменения. В этой связи необходимо отметить, что с изменением числа клеток, образованием агрегатов и сложных многофазных систем изменяются не только физиологические свойства и поведенческие характеристики самих клеток, но и физикохимические параметры среды их обитания, а, следовательно, и характер взаимоотношений в системе «организм-среда» [Таирбеков и др., 1991]. С этих позиций, представляет интерес изучение эффектов влияния силы тяжести на клеточную популяцию как единую систему.

Такой подход к проблеме позволяет: во-первых, объяснить результаты многочисленных экспериментальных исследований, выполненных на популяции различных одноклеточных про - и эукариотических организмов, в условиях измененной силы тяжести, во-вторых, обнаружить новые, еще не известные, возможности управления параметрами культивирования одноклеточных организмов, с целью оптимизации биотехнологических процессов.

Для жизнедеятельности трехмерно - распределенной в жидкой среде популяции одноклеточных организмов гораздо большее значение, по сравнению с клетками, растущими в культуре на твердом субстрате, имеют такие параметры окружающей среды, как разница гидростатических давлений, градиенты распределения веществ (питательных субстратов и продуктов жизнедеятельности), условия газо- энерго- и массообмена, скорость седиментации, конвективные потоки, их скорость и эффективность реализации. Поэтому, гравитационные эффекты у одноклеточных организмов следует объяснять не только с позиций взаимоотношения одной отдельно взятой (индивидуальной) клетки, с соседней клеткой, сколько закономерностями поведения всей популяции клеток с учетом изменений физико-химических свойств среды их обитания. Агрегация компонентов простейших одноклеточных организмов в сложные комплексы привела к возникновению больших, просто соединяющихся поверхностей, способных абсорбировать материю из трехмерного пространства.

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 биотехнологии.

Рассмотрим закономерности распределения одноклеточных организмов и их взаимосвязь со средой обитания в гравитационном поле. Как известно, значение силы тяжести определяет вес среды и величину гидростатического давления. Величина давления воды при нормальной силе тяжести ($1g$) равна величине атмосферного давления (10 Н/м^2) на глубине 10 метров, а при увеличении силы тяжести в n раз, возрастает на n ($10n \text{ Н/м}^2$).

Аэробные организмы, к которым относится большинство одноклеточных, располагаются в поверхностных слоях воды, образуя планктон на глубине нескольких см. Изменение величины силы тяжести приводит к появлению разности между величиной гидростатического давления, действующего на клетку извне, и внутренним давлением протоплазмы самой клетки.

Эта разница в давлениях оказывает непосредственное влияние на клеточную мембрану. Максимальная разность гидростатических давлений (p) на мембрану определяется произведением разности плотностей клетки (A) и внешней среды, длины клетки (L) и ускорением силы тяжести и выражается формулой

$$P = (p_{\text{кл.}} - p_{\text{ср.}}) \cdot L \cdot g$$

В частности для *Tetrahymena pyriformis*, имеющей размер около 50 мкм в длину, эта разность будет составлять $3,8 \cdot 10^{-6} \text{ Н/м}^2$. Давление на клетку, которое создается силой сопротивления среды движущемуся в этой среде организму, может быть вычислено по формуле:

$$P_{\text{const.}} = F_c S,$$

где F_c - стоксовская сила, а S - площадь поперечного сечения или $F = \eta R n V$, где R - радиус поперечного сечения, η - динамическая вязкость среды, V - скорость перемещения или «переместительного» движения клетки. Для той же *Tetrahymena pyriformis* стоксовская сила (F_c) будет равна $2,6 \cdot 10^{-7} \text{ Н}$, тогда как сила сопротивления среды будет составлять $8,6 \cdot 10^{-1} \text{ Н}$. то есть на шесть порядков величины будет превышать давление на мембрану, вызванное разностью гидростатических давлений клетки и среды. Однако при высоких гидростатических давлениях наблюдается заметное снижение двигательной активности клеток вплоть до полной иммобилизации.

Характер движения большинства одноклеточных организмов класса *Ciliata u Flagellata* имеет спиралевидную форму. На плавающее по спирали тело действуют 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 этом случае, именно вес клетки будет определять скорость ее седиментации в данной среде. Если же установившаяся седиментация определяется формулой Стокса, то увеличение силы тяжести в n раз должно привести к увеличению скорости седиментации. Это означает, что осаждение клеток под действием силы тяжести может иметь практическое значение

Одним из главных факторов, определяющих поведение одноклеточных организмов в среде можно назвать проявление ими различного рода таксисов, в частности геотаксис - ориентацию в поле силы тяжести.

Сущность проявления различного рода таксисов у свободноживущих и активно плавающих одноклеточных организмов, причины и механизмы их возникновения, давно известны и хорошо изучены [Kunznicki, 1968].

Хотя большинство одноклеточных свободноживущих организмов проявляют отрицательный геотаксис, тем не менее, в ряде случаев этот ярко выраженный феномен может быть ослаблен или изменен на противоположный знак в силу ряда причин, в частности, из-за влияния сопутствующих физических или химических факторов, которые в зависимости от их природы могут действовать как аттрактанты или репелленты, вызывая соответственно положительную или отрицательную реакции движения. Так, например *Paramecium caudatum* имеющая четко выраженный отрицательный геотаксис, может проявлять и отрицательный фототаксис, в результате чего вся популяция сосредотачивается на дне водоема (или экспериментального сосуда) при ярком освещении. Весьма разнообразно отношение инфузорий и других простейших организмов к присутствию в среде некоторых химических соединений. В частности CO_2 и NO являются для них репеллентами, а понижение концентрации кислорода в среде резко тормозит их двигательную активность [Швирст и др., 1984].

По мнению А. Робертса [Roberts, 1970] отрицательный геотаксис является одной из причин вертикальной ориентации клетки и зависит от следующих параметров: скорости плавания одноклеточного организма, скорости седиментации и среднего времени реориентации в среде.

Многие одноклеточные эукариотические организмы, обладающие активным двигательным аппаратом, проявляют ярко выраженный отрицательный геотаксис и положительный окситаксис. В силу этого в жидких средах они образуют видоспецифические градиенты концентраций клеток, активно поддерживаемые гравитационнозависимой биоконвекцией. Биоконвекция, процесс непрерывной циркуляции клеток в среде, является одним из основных факторов, определяющих особенности распределения и поведенческие характеристики свободноплавающих одноклеточных организмов в гравитационном поле. Физико-химические и гидродинамические основы и причинные механизмы возникновения этого явления подробно изложены в работах [Plesset et al., 1974, 1975].

Феномен возникновения и поддержания биоконвективных потоков в среде, содержащей культуру клеток, рассматривается как частный случай состояния неустойчивости Рэлея-Тейлора.

Основная причина возникновения биоконвекции заключается в тенденции клеток скапливаться в поверхностном слое жидкости толщиной 0,5 - 1,0 см. вблизи границы жидкой и газообразной фаз с целью оптимального обеспечения клеток кислородом. Толщина верхнего слоя определяется напряжением кислорода. В процессе биоконвекции поверхностный слой жидкости находится в непрерывном движении. В этом слое образуются области повышенной концентрации клеток, внешне напоминающие ячейки Бенара. При формировании нисходящих струй в верхнем слое образуются многоугольные узоры, где линии повышенной концентрации клеток формируют границы этих многоугольников. При рассмотрении сбоку картина имеет вид струй пальцевидной формы, опускающихся из верхнего слоя регулярным образом.

Феномен биоконвекции обусловлен наличием разницы значений удельного веса верхнего и подлежащего слоев в культуре одноклеточных.

Она возникает только тогда, когда эта разность ($\Delta\rho$) между верхним слоем h_1 и нижележащим h_2 достигает определенной величины $\Delta\rho_{\text{крит}} = \rho_1 - \rho_2$. В этом случае нижележащий слой уже не может поддерживать верхний, более тяжелый слой, и он падает вниз. Так как удельный вес $\rho = \rho g$, то сила тяжести должна принимать участие в этом процессе, т.е., биоконвекция может изменять общую картину пространственного распределения одноклеточных свободноплавающих организмов, а сила тяжести способна внести в нее существенные изменения.

Для возникновения и поддержания биоконвективных потоков должны выполняться, по крайней мере, три обязательных условия: - скорость активного плавания клеток в верхнем слое должна быть выше скорости их седиментации;

- должен быть постоянный приток из нижних слоев культуры;

- разность значений массы верхнего слоя h_1 и нижележащего h_2 не должна быть меньше критической величины $\Delta\rho_{\text{крит}}$

Рассмотрим закономерности распределения культуры одноклеточных организмов, представляющих собою, по крайней мере, двухкомпонентную среду, состоящую, с одной стороны из клеток объемом $V_{\text{кл}}$ и плотностью $\rho_{\text{кл}}$ с другой - из культуральной среды плотностью $\rho_{\text{ср}}$.

В этом случае плотность культуральной жидкости ($\rho_{\text{кж}}$) как средней массы клеток и среды на единицу объема культуры с концентрацией клеток (C) можно представить как сумму массы клеток в единице объема и среды без клеток в этом объеме.

$$\rho_{\text{кж}} = C_{\text{кл}} \cdot V_{\text{кл}} \rho_{\text{кл}} + (1 - C_{\text{кл}} \cdot V_{\text{кл}}) \rho_{\text{ср}}$$

Как было описано выше, возникновение биоконвекции связано с достижением критической величины в разности значений удельной массы слоев, т.е. $\Delta\rho = \rho_1 - \rho_2 = \Delta\rho_{\text{крит}}$

Но $Dp = Dp_{\text{св.п.}} \cdot ng$, где n - число единиц ускорения свободного падения g при заданной величине интенсивности гравитационного поля.

Так как, изменение величины силы тяжести в диапазоне значений от 1 до нескольких g не может оказывать существенного влияния на физические параметры среды, то можно считать, что падение верхнего слоя (h_1) культуры при различных значениях ng , будет происходить при $Dp = \text{const}$, что приведет к перераспределению клеточной массы в среде.

Отсюда разность плотностей слоев ($D\rho_{\text{сл}}$) культуры клеток, равна

$$\Delta\rho_{\text{сл}} = \rho_1 - \rho_2 = C_1 V_{\text{кл.}} \rho_{\text{кл.}} + (1 - C_1 V_{\text{кл.}}) \rho_{\text{ср}} - [C_2 V_{\text{кл.}} + (1 - C_2 V_{\text{кл.}}) \rho_{\text{ср}}] \\ = (C_1 - C_2) (\rho_{\text{кл.}} - \rho_{\text{ср}}) V_{\text{кл}}$$

Следовательно, возникновение биоконвекции возможно тогда, когда $\Delta\rho = \Delta\rho_{\text{крит.}} = (C_1 - C_2) (\rho_{\text{кл.}} - \rho_{\text{ср}}) V_{\text{кл}} ng$

Рассмотрим, как могут меняться культуральные характеристики при изменении напряженности гравитационного поля. Из приведенного уравнения следует, что с увеличением силы тяжести разность масс клеток, содержащихся в верхних 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 клеток будет преобладать над скоростью их активного плавания, вся имеющаяся масса клеток сосредоточится на дне сосуда и процесс биоконвекции прекратится. При $n \rightarrow 0$ разность масс слоев будет возрастать, клетки будут скапливаться в верхнем слое культуры. В этом случае биоконвекция возникает при большей клеточной массе, а в случае с $n = 0$ (невесомость) состояние неустойчивости Рэля Тейлора, и, соответственно, биоконвекция, не возникнут вообще (так как $Dp = 0$).

В невесомости пространственное распределение одноклеточных организмов будет определяться, главным образом, хемотаксисом (стремление клеток к источнику пищи), а также особенностями взаимодействия культуры с газовой средой в поверхностном слое жидкости, условиями межклеточных взаимоотношений и другими причинноследственными связями, обусловленными физиолого-экологическими свойствами клеток. Из приведенного выше итогового уравнения можно также заключить, что при постоянной величине силы тяжести биоконвективные потоки в культуре, состоящей из более крупных клеток (что может быть обусловлено как большими размерами, так и их высокой плотностью) должны возникать при меньшей разнице концентраций между слоями h_1 и h_2 . и, наоборот, при меньшей массе клеток биоконвекция возникает при большей разнице концентраций между этими слоями.

Наши исследования, выполненные, как в условиях реального космического полета (микрогравитация), так и в лабораторных условиях с использованием центрифуги в диапазоне ускорений 2, 3 и 5 g выявили наличие эффекта измененной силы тяжести на рост культур одноклеточных организмов и тем самым подтвердили теоретические предпосылки [Ирлина и др., 1989; Габова и др., 1991].

В лабораторных условиях с повышенной силой тяжести в начальной стадии эксперимента происходило увеличение скорости прироста биомассы в опытных образцах культуры по сравнению с контрольными на той же стадии развития. Однако с увеличением клеточной биомассы имеет место торможение скорости биоконвекции, что влечет за собою быстрое затухание эффекта стимуляции скорости роста и деления клеток.

Таким образом, результаты лабораторных экспериментов показали, что стимулирующий эффект гипергравитации представляет собой лишь кратковременное явление, связанное со способностью повышенной силы тяжести запускать механизм биоконвекции при более низких значениях разности концентрации клеток $(C_1 - C_2)$ - Наиболее близкими к

оптимальным для накопления биомассы являются те величины ускорений, которые способствуют поддержанию в течение длительного времени биоконвективных потоков высокой интенсивности.

Анализ кривых, отражающих динамику роста культур в наших экспериментах, показывает, что в соответствии с формулой, приведенной выше, оптимальные величины ускорения для достижения эффекта стимуляции у различных организмов будут зависеть от размеров, массы и структурной организации клеток. [Tairbekov, Regirer, 1998].

Так, например, для *Tetrahyrmena pyriformis* и *Euglena gracilis* эти величины лежат в диапазоне 2g —5 g. Большие величины ускорения вызывают более быстрое затухание биоконвекции, и торможение роста культуры.

В условия космического полета стимулирующий эффект микрогравитации имеет место не в результате биоконвекции, которая в данном случае сведена к нулю, а за счет более равномерного распределения в среде, как самих клеток, так и высокомолекулярных соединений (питательных субстратов и отходов жизнедеятельности клеток) с одной стороны и вследствие изменения физико-химических параметров среды (на границе фаз газ-жидкость - твердое тело) - с другой [Таирбеков, 1992].

Как показали теоретические расчеты, недавно подтвержденные экспериментальными исследованиями в реальных условиях космического полета с использованием относительно простой двухкомпонентной системы, состояние динамической невесомости приводит к существенному изменению характера взаимодействия фаз газ-жидкость, главным образом, за счет образования большого количества мелких газовых пузырьков в жидкости [Авдеевский, Полежаев, 1985]. В этом случае, происходит увеличение поверхности пограничных зон, что создаёт более благоприятные условия для газообмена. Очевидно, этим можно объяснить результаты большинства космических экспериментов с одноклеточными организмами, где наблюдался стимулирующий эффект микрогравитации.

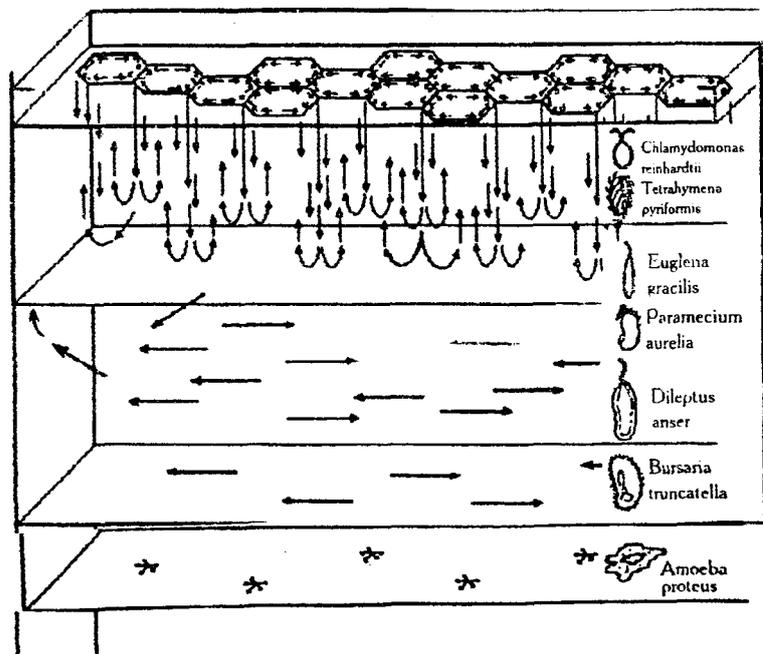
В исследованиях, выполненных нами в последнее десятилетие, был использован широкий спектр одноклеточных организмов - инфузорий, принадлежащих к различным классам *Ciliata & Flagellata*, отличающихся по форме, размерам, двигательной активности и среде обитания. Видовой состав и пространственное распределение изученных нами объектов, представлен в таблице 2 и на рисунке 5 соответственно. Результаты экспериментальных исследований, выполненных с использованием этих организмов в условиях измененной силы тяжести, приведен на графике (рис. 6).

Как видно из представленных данных наивысшую гравитационную чувствительностью проявляют одноклеточные организмы, обладающие очень высокой подвижностью, размеры которых не превышают 100 мкм., тогда как крупные представители инфузорий достигающие до 800 мкм. и имеющие невысокую двигательную активность, малочувствительны к изменению параметров гравитационного поля.

Таблица 2 Размеры, темпы деления и скорость движения некоторых одноклеточных организмов.

Объект	Размеры, МКМ	Темпы деления клетки*, час	Скорость движения, длина тела/сек
<i>Chlamydomonas reinhardii</i>	10x12	3-3,5	-10
<i>Tetrahyrmena pyriformis</i>	30x50	3,5-4	~8
<i>Euglena gracilis</i>	35x100	12-13	~6
<i>Paramecium aurelia</i>	60x200	16-17	~6
<i>Dileptus anser</i>	80x500	17-18	-2-3
<i>Bursaria truncatetta</i>	600x800	18-20	-2-3
<i>Amoeba proteus</i>	d=350	24-36	-0,03

* время генерации данного организма при оптимальных условиях культивирования



5 Схема распределения одноклеточных организмов в лабораторной кювете в соответствии с их местообитанием в природных условиях

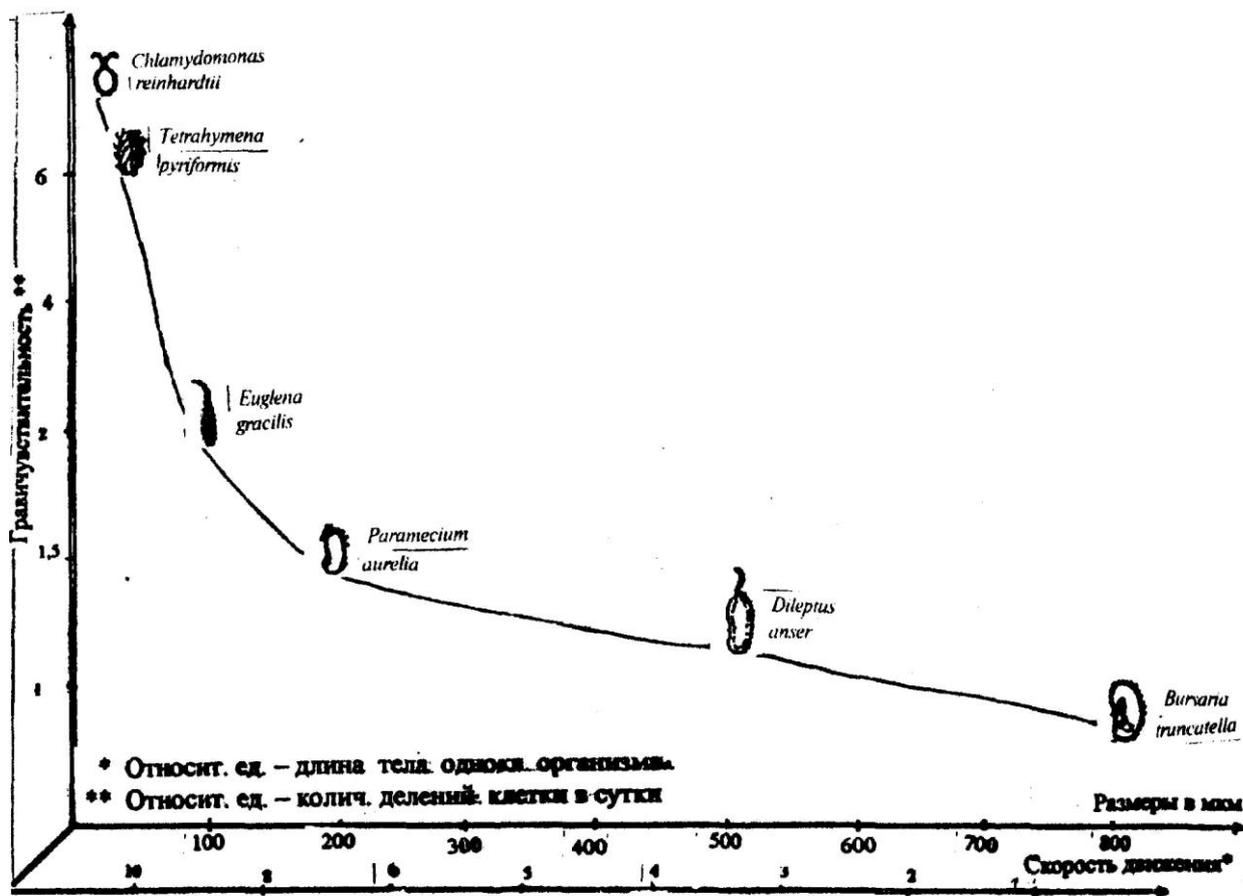


Рис 6 Гравитационная чувствительность свободноживущих одноклеточных организмов

Таким образом, основываясь на результатах наших исследований можно утверждать, что, варьируя силой тяжести как одной из переменных величин в приведенной выше

формуле, можно управлять процессом культивирования одноклеточных организмов, добиваясь необходимых результатов.

3.3. Культура клеток *in vitro* в гравитационном поле. Роль механических деформаций.

Механические силы играют значительную роль в модуляции роста клеток составляющих основу различных типов тканей: мышечной, легочной и костной ткани, эндотелиума, эпителиума и др. В последние годы существенно возрос интерес к изучению молекулярных механизмов тех процессов, где механические силы на уровне клетки проявляют себя как преобразователи («транедукторы») сигналов ростовых процессов.

Для всестороннего и более глубокого изучения механизма передачи сигнала извне во внутриклеточный континуум большую пользу могут оказать модельные системы, основанные на использовании различных типов клеточных культур *in vitro*. Эти системы становятся «стержневыми» и чрезвычайно полезными для понимания того, какие физические воздействия распознаются клеткой и как механические сигналы индуцируют изменения биохимических процессов в клетке, приводящие к изменению темпов ее роста и скорости деления.

Как известно, клетки, изолированные из органов и тканей многоклеточного организма и культивируемые *in vitro* в лабораторных условиях, свободны от влияния регуляторных механизмов высшего порядка (нервных или гормональных), лишены внутриорганных, а зачастую и внутритканевых связей. Это дает возможность экспериментатору изучать эффекты действующего на клетку фактора, в частности гравитационного, в «чистом» виде, не замаскированном наличием системных механизмов регуляции и контроля. Успехи в изучении этих процессов в очень большой степени зависят от использования типа клеточных культур и вида механической стимуляции. Модельные системы, которые можно использовать для изучения молекулярных механизмов трансдукции сигнала, делятся на две группы: статические механические стимуляторы и динамические модели. Во всех случаях эти модели организованы из простых или более сложных комплексов, состоящих из пластичного (эластичного) субстрата, на который наносится монослойная культура клеток *in vitro*.

Очевидно, что центральное место в изучении механических характеристик занимает подвижность клетки, главным образом при распластывании по поверхности субстрата в процессе ее деления. Для этих целей идеальным объектом являются фибробласты, представляющие собой наиболее распространенный тип соединительно-тканых клеток. Это крупные (до нескольких десятков микрон) удлинённые клетки с острыми отростками.

Цитоплазма фибробластов имеет две зоны, различающиеся по вязкости: более вязкую внешнюю и менее вязкую - внутреннюю.

В процессе жизнедеятельности фибробласты выделяют во внешнюю среду компоненты межклеточного вещества (матрикса): коллаген, эластин и мукополисахариды (глюкозо - аминоглюканы). Синтез веществ в клетках фибробластов подвержен влиянию факторов внешней среды, в том числе и механических напряжений, что определяет один из возможных путей воздействия внешних сил на клетку (в частности гравитационных).

На практике двигательная активность фибробластов проявляется при заживлении ран, вызванных различного рода травмами, и эта активность считается хорошей биологической моделью для изучения механических характеристик передвижения по субстрату других типов клеток. Характер активности зависит от состояния, как самой клетки, так и субстрата, а также от многочисленных внешних факторов, влияние которых является предметом специальных исследований. В этой связи определенный практический интерес представляют результаты наших экспериментов, по изучению динамики роста культуры клеток - фибробластов в условиях микрогравитации [Таирбеков и др., 1994].

Как было показано нами, снижение степени адгезии клеток, обусловленное отсутствием механической нагрузки приводит к торможению темпов роста и скорости деления клеток (рис.7). Однако присутствие в субстрате ростовых факторов; коллагена и фибронектина существенно повышает адгезивные свойства клеток и нивелирует неблагоприятное влияние микрогравитации на рост и функциональную активность фибробластов (рис.8).

Контакты клеток с любой подложкой (субстратом) имеют адгезивную природу, и в этом процессе участвуют мембраны и сократительные элементы цитоскелета [Белинцев, 1991]. Как правило, контакт осуществляется по поверхности множества нерегулярных микроскопических выступов мембраны - пятен, носящих название «фокальных контактов». Аналогичную структуру иногда имеют и межклеточные контакты. Возможно, что образование этих «микровыступов» есть результат неустойчивости сплошного контакта.

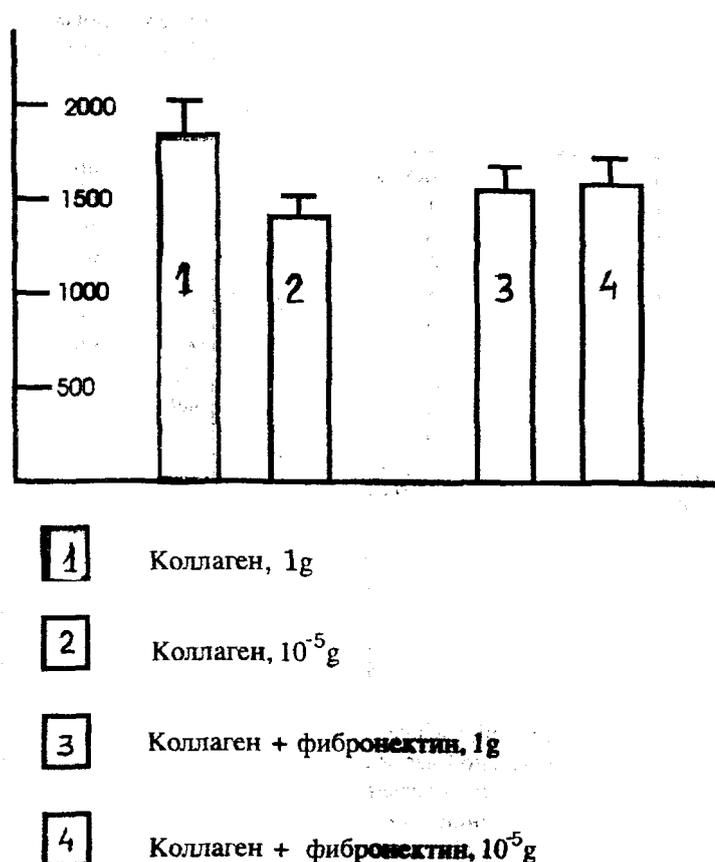


Рис. 8 Количество клеток в монослойной культуре фибробластов (на 1 мм²), сформированных в условиях нормальной силы тяжести (1g) и в условиях микрогравитации (10⁻⁵g)

Как и для других клеток или других типов клеточной подвижности, в исследованиях движения фибробластов есть два основных аспекта: установление закономерностей в кинематике наблюдаемого движения и выяснение его внутреннего механизма.

Одной из форм коллективного поведения клеток во взвеси или на субстрате является образование агрегатов. Если клетка находится на твердом субстрате (подложке), агрегаты образуются только для нормальных клеток и только при выполнении определенных требований.

Трансформированные (например, «опухолевые») клетки не агрегируют.

Это означает, что клетки выбирают условия наилучшего прикрепления; другими словами, они наделены избирательной активностью [Регирер и др., 2000].

Движение фибробластов осуществляется благодаря волнам адгезивного контакта, возникающего на поверхности соприкосновения клеточной мембраны с субстратом, и возможно благодаря сопровождающим их волнам деформации. Но действительный движитель связан с цитоскелетом, в частности, с примембранным [Albrecht-Buechler, 1990]. Известно, что элементы цитоскелета подвержены постоянной перестройке и обновлению и именно кинетика этих процессов испытывает влияние внешних сил [Глазер, 1988], в том числе и гравитационных. Так, например, нами была выявлена существенная разница в морфологических характеристиках и функциональной активности фибробластов, развивающихся в монослойной культуре *in vitro* в условиях космического полета (микрोगравитация) и при нормальной силе тяжести на Земле [Таирбеков и др. 1994].

При передвижении фибробластов большинство фокальных контактов приходится на ведущую кромку клетки, у задней кромки количество контактов меньше, а в центральной части их почти нет. По современным данным, полученным методом электронной микроскопии, сосредоточение фокальных контактов приходится не на ведущую кромку, а на ближнюю к ней область ламеллоподий. Эта область, богатая сетью сократительных элементов цитоскелета (микрофиламентов и микротрубочек), отделена от ведущей кромки зоной, где сравнительно мало элементов цитоскелета.

Цитоскелет центральной части клетки по своей организации отличается от ламеллоподий и имеет сгущение у задней кромки. Фокальные контакты соответствуют схождению пучков микрофиламентов.

Восприятие клетками механического раздражения воздействия приводит в разных ситуациях к различным последствиям; могут измениться объем, масса, химический состав клеток, частота клеточного деления, скорость синтеза внеклеточных компонентов, их состав и структура.

Изменение перечисленных параметров в ответ на механическое воздействие обнаружены у самых разных типов клеток, но наиболее четко они проявляются в клетках, растущих в культуре *in vitro* на твердом субстрате. Более того, механические силы, приложенные к внешней поверхности клетки, могут генерировать непосредственно конформационные изменения молекул, включенных в плазматические мембраны, таких как G-белки, относящихся ко второй группе мессенджеров. Например, индуцированный натяжением (или растяжением) рост в культуре миофибрилл тесно связан с активацией вторичных мессенджеров: простагландинов и фосфолипаз. Механическое воздействие на эти клетки может непосредственно активировать фосфолипазный комплекс путем физического увеличения доступности энзимов к фосфолипидным субстратам в липидном бислое мембраны. Наконец, это могут быть механогенные вторичные мессенджеры, которые отличаются от ростовых факторов.

Опыты с клеточными культурами *in vitro* показывают, что большинство соединительнотканых клеток (фибробластов, остеобластов, хондриоцитов) проявляют высокую чувствительность к механическим стимулам. Ответная реакция клеток на механическое воздействие имеет характерные периоды времени и, обычно не превышающие нескольких минут и даже секунд, что несоизмеримо короче временных характеристик ростовых процессов измеряемых часами или даже сутками [Регирер и др., 2000].

Когда клетки выращиваются на твердом, но легко деформируемом субстрате, к примеру, фибробласты на коллагеновой основе, то возникают адгезивные силы взаимодействия между клетками и субстратом [Vanes et al., 1994; Varocas, Tranquillo, 1994]. Кроме того, при экспериментах с культурами наряду с заданной дозированной внешней нагрузкой на клетки всегда действует еще и сопротивление субстрата или культивационной среды [Duncan, Turner, 1995]. Остеобласты при выращивании в культуре *in vitro* очень чувствительны к деформациям и сдвиговым напряжениям. От степени нагрузки на них зависит скорость

синтеза простагландинов Klein-Nulend et al., 1995] и выход Ca^{++} из клетки [Heegaard et al., 1994].

Остеогенные клетки, т.е. предшественники остеобластов, также чувствительны к механическим нагрузкам, причем не только к сдвиговым напряжениям и к сжатию.

Хрящевая ткань, родственная по происхождению костной ткани, также обладает способностью к активной перестройке при смене нагрузки, а хондрициты, как и костные клетки, чувствительны к механическим факторам [Mow et al., 1994].

Чувствительностью к механическим воздействиям обладают также и фибробласты. Как было показано [Banes et al., 1994; DesRosiers et al., 1994] при периодическом деформировании в культуре изменяется синтез коллагена, скорость деления клеток и выход ионов Ca^{++} из клеток в среду инкубации. Наконец, эндотелиальные клетки, учитывая их участие в регуляции кровотока, безусловно, чувствительны к механическим воздействиям как *in vitro*, так и *in situ*.

Однако до сих пор остается неясным, какая система «чувствует» стимул «клетка - клетка» и какая - «система клеток». Вопрос о мишени действия механических факторов имеет огромное практическое значение в связи со специфическим поведением клеток в условиях невесомости и при перегрузках для правильной диагностики процесса заживления ран и при других патологических процессах [Ястребов, Осипенко, 1990].

Вместе с тем, главной проблемой остается окончательная расшифровка механизма механохимической трансдукции, т.е. преобразования механического стимула в биохимический отклик. Принципиальное значение имеют следующие составляющие:

- механическое сопряжение, т.е. передача нагрузки к клеткам-сенсорам какие это клетки?
- биохимическое сопряжение, т.е. преобразование механического воздействия на клетку во внутриклеточный биохимический сигнал, какой именно сигнал вырабатывается?
- передача сигнала от клетки-сensors к клетке-эффектору; координация работы клеток
- отклик эффектора, - каков клеточный механизм его формирования?

Для объяснения чувствительности клеток к *механическим деформациям* (очень малым) недавно была предложена теория, предполагающая резонансное взаимодействие тепловых флуктуации с внешними механическими воздействиями [Otter et al., 1998].

В отношении *биохимического сопряжения* основными участниками распознавания стимула и передачи информации внутрь клетки считаются следующие элементы: мембранные белки => цитоскелет => внутриклеточные органеллы.

По-видимому, создаваемое, механическим воздействием напряжение в клетке передается во внутриклеточный континуум через адгезивные контакты [Ingberg, Folkmann, 1989; Ingberg, 1997]). В этом случае, как считает автор, цитоскелет находится в напряженном состоянии и стимул передается с его помощью внутрь клетки до ядра, что приводит к глубоким изменениям, вплоть до экспрессии генов при передаче усилий к цитоскелету, деформации мембран и активации каналов - взаимосвязаны [Duncan, Hrustka 1994].

Таким образом, можно высказать некоторые соображения общего характера:

- механочувствительность клеток обусловлена наличием мембран и цитоскелета
- в качестве механического стимула могут проявляться внешние силы, в том числе и гравитационные и «собственные внутренние напряжения», создаваемые самой клеткой
- роль усилителя играют скрепленные с мембраной структуры внеклеточного матрикса
- ответная реакция является прямой и не предусматривает участие посредников
- главный регулятор чувствительности и главная мишень воздействия на клетку - ионы Ca .

4. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ ГРАВИТАЦИОННОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ

Основываясь на полученных к настоящему времени результатах экспериментальных и теоретических исследований, попытаемся определить природу и основные мишени гравитационных эффектов в биологических системах на молекулярном уровне. Прежде всего, следует отметить, что эти эффекты приводят к изменениям в метаболической активности и /или молекулярной организации, соответственно внутриклеточных процессов и /или структур в ходе их адаптации к новым условиям гравитационного поля.

В настоящее время обсуждаются два альтернативных подхода к механизму, лежащему в основе восприятия и реализации гравитационного стимула:

а) система, включающая тяжелые (обладающие высокой удельной плотностью) органеллы, такие как: ядро, центриоль, крупные вакуоли и другие образования, производящие давление на цитоскелет и способные вызывать существенные изменения в организации внутриклеточного континуума [Block et al., 1992].

в) система, основанная на гравитационно-зависимых процессах, при распределении ионов вдоль мембран внутриклеточных органелл, главным образом, митохондрий [Scnate, 1989].

В сущности, говоря, все предложенные варианты механизмов гравичувствительности основаны на эффектах двух категорий:-прямой (непосредственный) биомеханический эффект, возникающий в результате прямого взаимодействия гравитации с одной или более органеллами различной плотности, генерирующих механический ответ близлежащих структур (например, цитоскелета) и вызывающих сигнал, который передается во внутрь клетки. /

-непрямой (опосредованный) физиологический эффект - это изменение гравитационной чувствительности окружающей среды, приводящее к значительным изменениям в микроокружении клетки, которые имеют значение для ее метаболизма, возникающий при сдвиге физикохимических параметров и тепловой конвекции, как результат изменения градиентов питательных веществ и продуктов жизнедеятельности клеток.

Детальный анализ возможных механизмов влияния измененной силы тяжести на клетку представлен в работах [Albrecht-Buechler, 1990, 1991;

Todd, 1989, 1991, 1992; Tairbekov, 1992, 1996].

4.1. Механизм прямого эффекта гравитации на клетку. Роль мембран в гравирецепции

Способность клеточных мембран поддерживать разность концентраций ионов между цитоплазмой и внешней средой обуславливает их возбудимость. Пространственное разделение зарядов по обе стороны мембраны создает как бы аккумулятор легко доступной энергии, которая может быть использована для передачи электрических сигналов через мембрану. Эта способность наиболее ярко проявляется в нервных клетках.

Вместе с тем, те же свойства в различной степени присущи почти всем типам мембран.

Теоретические и экспериментальные исследования, выполненные в начале 90-х годов, показали, что вариации по величине и направлению гравистимула четко коррелируют с чувствительностью молекулярных механизмов. Так, например, при измерении одиночных каналов фосфолипидной (искусственной) мембраны [Schatz et.al., 1992 a,b] было показано, что в зависимости от того, в каком положении находится мембрана (горизонтальном или вертикальном) обнаруживается 20% -ная разница в толщине и плотности мембранных каналов. При изучении процессов, происходящих в поверхностном слое мембраны, авторы применили теорию распределения концентрационных и электрохимических градиентов на границе сред. Изменения плотностных характеристик среды на границе раздела мембрана-раствор электролитов. ($KCl, CaCl_2$) определяли на основании математических расчетов. Максимальная плотность слоя толщиной 1 нм. на границе раздела составляла $\sim 4 \cdot 10^{-2} \text{ г/см}^3$ для р-ра KCl , и $0,1 \text{ г/см}^3 (10^{-2})$ для р-ра $CaCl_2$

Как было отмечено в работах тех же авторов [Schatz 1989, Schatz et al., 1996], условия микрогравитации способствуют образованию бислоиных стационарных пленок, окружающих клетку в растворе. При взаимодействии клетка-раствор происходит изменение концентрации раствора, окружающего клетку, и как следствие, возникновение электрического потенциала. Кроме того, поглощение кислорода и питательных веществ в клетке при скоростях, превышающих тканевой уровень, может быть причиной уменьшения диффузии и увеличения градиентов этих субстратов, что может привести к повышению чувствительности внутриклеточного метаболизма. Авторы произвели необходимые расчеты, где в качестве модели была использована искусственная фосфолипидная мембрана с плотностью поверхности $q_s = 4,8 \cdot 10^{-6} \text{ A} \cdot \text{Cm}^{-2}$.

В этом случае положительные ионы, такие как K^+ Mg^+ Ca^{++} аккумулируются вблизи от поверхности мембраны, тогда как отрицательные ионы избегают непосредственного контакта с ней.

Другими словами, концентрационные градиенты, генерируемые возникновением мембранного потенциала, приводят к максимуму плотности- $q_s = 4 \cdot 10^{-2} \text{ AS cm}^{-2}$.

Как уже было сказано выше, расчеты производились в двух вариантах:

а) когда поверхность мембраны была ориентирована в горизонтальном положении относительно гравитационного вектора

б) когда поверхность была ориентирована перпендикулярно к вектору гравитации. Если в первом случае конвекция в пограничном слое проходит вдоль поверхности мембраны и скорость движения ионов не влияет на потенциал электрического поля потому что заряд движется перпендикулярно линии поля, то во втором случае влияние гравитации может способствовать перемещению заряда вдоль поверхности мембраны и изменять ее потенциал.

В условиях нормальной силы тяжести конвекция непрерывно поддерживается поступлением свежего потока ионов, но в условиях микрогравитации снабжение системы ионами происходит только путем диффузии. Более того, концентрационные градиенты могут возникать при седиментации химических соединений очень близко к поверхности мембраны. Это происходит в том случае, когда клетки поглощают субстраты с высокой скоростью.

Целый ряд форм клеточной активности обусловлен контактными взаимодействиями «клетка-клетка» или «клетка-субстрат». Эти взаимодействия осуществляются мембранами. От способности клетки прикрепляться к субстрату или к поверхности другой клетки существенно зависят ее морфо - функциональные свойства, локомоции, а иногда, и дифференцировка. Со стороны клетки во взаимодействии с внешним субстратом участвуют интегральные белки (рецепторы), содержащие углеводный компонент. Это взаимодействие, как правило, строго специфично, т.е. данному рецептору соответствует вполне определенный партнер, связь с которым обеспечивает прикрепление клетки к субстрату или к поверхности другой клетки [Белинцев, 1991].

Кроме специфического, существует и неспецифическое взаимодействие.

Имеются в виду взаимодействия, опосредованные внешним полисахаридным покрытием мембраны - гликокаликсом. Механически взаимодействие клетки с субстратом происходит благодаря адгезии.

Адгезия (прижатие) клетки к субстрату осуществляется за счет изгибной деформации мембраны, что является результатом взаимодействия двух подсистем: химической и механической. Рецепторы, погруженные в мембрану (фактически интегральные белки-гликопротеины), и специфические лиганды к ним, иммобилизованные на поверхности подложки, составляют химическую подсистему. Рецепторы, взаимодействуя с лигандами, образуют специфический комплекс-механическую подсистему. Рецепторы способны перемещаться по мембране только в латеральном направлении. Именно латеральная диффузия обеспечивает аккумуляцию рецепторов в контактной зоне.

В этой связи определенный интерес представляет гипотеза «мембранного пьезоэффекта» в осуществлении механизма гравирецепции, сформулированная В. Кордюмом (1997). Суть этой гипотезы состоит в том, что в мембране постоянно и во множественном числе возникают и исчезают механические напряжения на уровне отдельных молекулярных комплексов (кластеров). В результате мембрана находится в некоем состоянии быстротечного мерцания вследствие возникновения точечных механических напряжений и их исчезновения. Эти изменения в свою очередь приводят к появлению пьезоэффекта. Такого рода эффекты хорошо известны в кристаллографии. Но могут ли они быть применены к биологическим структурам, в частности к биомембранам? В настоящее время на этот вопрос нет ясного ответа. Тем не менее, в последние годы в литературе все чаще появляются работы, посвященные роли механохимических процессов в жизнедеятельности клетки, в частности, при обсуждении механизмов гравирецепции. Большое внимание в них уделяется связям клеточной мембраны с ядром и другими внутриклеточными органеллами. Более подробно об этом в последующих разделах.

Эволюционная адаптация живых систем к гравитационному фактору позволяет предположить, что их эмбриональное развитие в условиях измененной силы тяжести будет иметь свои особенности.

Экспериментально эта идея была проверена в работах [Gruener, Hoegel, 1990, 1991]. В частности, авторы определяли, могут ли изменения напряженности гравитационного поля влиять на развитие и формирование контакта нервной клетки с миоцитом в процессе становления и развития нервной системы в ходе эмбрионального развития организма. В качестве теста авторами была выбрана стадия формирования участка ацетилхолинового рецептора нервно-мышечного препарата лягушки как индикатора процесса синаптогенеза.

Нерв спинного мозга эмбриона лягушки *Xenopus laevis* и сердечный миоцит выращивали в культуре *in vitro*, размещенной на клиноостате, который вращался в горизонтальной плоскости со скоростью -50 об/мин.

Было показано, что в образцах, где формирование контакта нервного окончания с миоцитом приходится на время вращения на клиноостате, имеет место существенное торможение этого процесса. В миоцитах, экспонированных на клиноостате (в опытных образцах культуры) площади, занимаемые ядром, были сильно увеличены, а также возросло число ядрышек. Более того, миоциты опытного варианта культуры, которые находились в непосредственной близости от нервно-мышечного препарата, были гораздо меньше по размеру и в числе. Данные авторов подтверждают предположение о том, что процесс синаптогенеза чувствителен к гравитационному фактору.

4.2. Неравновесная термодинамика. Теория бифуркаций

Интересный взгляд на механизм реализации прямого влияния силы тяжести на индивидуальную клетку (одноклеточный организм) был предложен Д. Месландом [Mesland, 1990, 1992]. Это была попытка совершенно нового способа объяснения эффекта гравитации в живых системах. Основываясь на классических работах [Пригожий, 1980, Kondepudi, Pngogme, 1983, Kondepudi, Storm, 1992], автор применил теорию нелинейной и неравновесной термодинамики для объяснения функционирования клетки в гравитационном поле. Как известно, теория, разработанная И. Пригожиным, применима для прогнозирования гравитационных эффектов в химических реакциях далеких от равновесия. При этом протекание химических реакций имеет нелинейный характер. Точно так же пользуясь терминами термодинамики можно описать и характер химических реакций, протекающих в биологических системах. Известно, что скорость биохимических реакций изменяется каталитически при участии ферментов и контролируется механизмами, регулируемые комплексом обратных связей, имеющих нелинейный и далекий от равновесия характер. В этих условиях клетка может проявлять самое непредсказуемое поведение в диапазоне заданной широты времени, которое зачастую характеризуется как хаотическое [Топобу, 1994].

Во многих случаях основа реакции может оставаться неизменной, тогда как вполне вероятно, что на каком либо участке она может измениться по частоте или амплитуде и флуктуировать хаотически. На этих критических этапах (в точке пересечения), решение по какому пути будут в дальнейшем развиваться события (протекать реакция) зависит от многих обстоятельств, таких как температура, давление, наличие субстратов и продуктов жизнедеятельности. В точке пересечения (или точке бифуркации), называемым переходным моментом, вся система становится чрезвычайно чувствительной к изменениям окружающей среды. В этих обстоятельствах наличие даже столь незначительного по влиянию гравитационного фактора (изменение величины и направления силы тяжести) может усилить реакцию в том или ином направлении.

Предполагается, что резкое уменьшение воздействия гравитации может привести к существенному изменению структурно-функционального статуса клетки. Отсюда следует, что поведение, как индивидуальной клетки, так и клеточной популяции в целом в условиях космического полета (микрогравитации) может быть иным, чем в условиях нормальной силы тяжести. Кроме того, очевидно, что для каждой клетки должен существовать порог величины силы тяжести, после которого система переключается с поведения в условиях земной гравитации к поведению в условиях микрогравитации.

Э. Поллард в своей ранней работе [Pollard, 1965] предполагал, что такие процессы как диффузия и седиментация внутри клетки могут быть подвержены (чувствительны) к силе тяжести. Расчеты, выполненные автором, показали, что процесс диффузии является вполне достаточным для противодействия влиянию гравитации в клетках, имеющих сферическую форму и размеры, не превышающие 10 мкм в диаметре. Однако в клетках больших размеров значение 1-гравитационного фактора, по мнению автора [Pollard, 1971], следует принимать во внимание.

В настоящее время этот подход считается устаревшим. Дело в том, что цитоплазма не является ни простым белковым раствором, ни суспензией плавающих в воде органелл. Скорее всего, в цитоплазме вообще нет свободной воды, а большая часть ее находится в адсорбированном виде и входит в состав белка. Это делает цитоплазму весьма компактной. Более того, в эукариотической клетке наличие цитоскелетного комплекса существенно ограничивает подвижность внутриклеточных органелл

Д. Нейс [Nase, 1983] предположил, что клетки могут «чувствовать» гравитацию благодаря наличию у них цитоскелета. Именно гравитация является причиной напряжения цитоскелета.

Значение момента напряжения по расчетам автора исчисляется в диапазоне от $2,5 \cdot 10^{-13}$ дин/см² в клетках, имеющих размеры около 6 мкм, до 10^{-1} дин/см в клетках размером около 30 мкм.

Причиной появления этих напряжений является осаждение крупных клеточных органелл, например таких, как амилопласты, содержащие крахмальные зерна, ядро, вакуоли и др. В то же время сила, развиваемая связкой из 6-8 сократительных элементов цитоскелета, в частности микротрубочек, колеблется в диапазоне 10^{-6} - 10^{-5} дин/см². Однако, ни длина этих микротрубочек (по-видимому, они меньше чем 6 мкм), ни их количество, приходящееся на одну органеллу, неизвестны. Хотя момент напряжения при скручивании, придаваемый каждой отдельной крахмальной гранулой или вакуолей, по-видимому, меньше, чем тянущий момент, продуцируемый микротрубочкой, тем не менее, эта энергия вполне достаточна для поддержания позиционного гомеостаза клетки в гравитационном поле Земли.

Таким образом, можно ожидать, что клетка в условиях микрогравитации будет расходовать меньше энергии, чем на Земле и это может влиять на метаболическую активность, и, следовательно, сопровождаться заметными изменениями в структурно-функциональной организации и поведенческих характеристиках клетки. В настоящее время существует достаточное количество экспериментальных фактов, подтверждающих эту гипотезу. Эти данные суммированы в работах [Таирбеков, 1997; Moore, Cogoli, 1998].

При обсуждении возможных механизмов взаимодействия живых систем, в частности, клетки, с гравитационным фактором, следует, по-видимому, использовать понятие некоторых минимальных физических определений. Такой подход необходим для классификации эффектов измененной силы тяжести на структурно-функциональный статус клетки. Так, например, В. Бриглеб [Briegleb, 1988] использовал для интерпретации гравитационных эффектов термин «наименьшая функциональная единица» (smallest functional unit - SFU), который может быть применен в экофизиологическом значении. Пользуясь этим термином, автор попытался разделить прямые (непосредственные) эффекты гравитации и не прямые (опосредованные). По мнению автора, если взаимодействующий с силой тяжести первичный рецептор расположен внутри клетки (SFU типа 1) то можно говорить о прямом гравитационном эффекте.

Если же рецептор расположен вовне, хотя и в непосредственной близости от клетки (SFU типа 2), то следует иметь в виду лишь опосредованное влияние силы тяжести на структурно-функциональный статус клетки. Эти определения, по мнению автора, могут быть использованы для анализа (по крайней мере, теоретического) гравитационных эффектов не только в индивидуальных клетках одноклеточных, но и в многоклеточных организмах.

Наиболее очевидный (показательный) вариант прямого действия силы тяжести (гравитации) на клетку - это деформация (распластывание) клетки под действием собственного веса. Эта реакция (т.е. изменение формы) клетки на действие силы тяжести может быть активной. Если клетка обладает компенсаторными механизмами, противодействующими деформации, то это активная реакция должна поддерживаться за счет наличия в клетке мощного и хорошо организованного цитоскелета. При этом в принципе можно измерить механическую силу, приложенную к клетке для противодействия силе тяжести, и вычислить, таким образом, значение реактивности клетки, основой которой служит цитоскелет. Если же клетка не способна компенсировать изменения формы или нарушения своих функций, то такую реакцию принято называть пассивной. В первом случае речь идет об обратимости изменений, происходящих в клетке, т.е. возможности восстановления ее структурно-функционального статуса, во втором - о необратимости изменений, вызванных действием силы тяжести.

Теоретически, гравитация может активировать или угнетать различные функции клетки. Отсюда, изменение величины и направления вектора силы тяжести может привести к благоприятному или неблагоприятному эффекту. Существуют, по крайней мере, два варианта, которые могут быть использованы для определения гравитационных эффектов: вариации величины или вариации направления вектора силы тяжести.

Отвечает ли клетка на непосредственное воздействие гравитационных сил, а именно на силу, прилагаемую извне? Приложение механической силы к клетке может быть реализовано в двух вариантах: когда сила направлена на растяжение или на сжатие клетки. И в том и в другом случае, клетка находится в напряженном состоянии, что, очевидно, приводит к перераспределению внутриклеточных структур и изменению молекулярной организации, в ходе реализации ответной реакции на внешнее воздействие.

Для ответа на поставленный вопрос были проведены экспериментальные исследования, в которых в качестве модели были использованы клетки костной ткани - остеобласты, растущие в монослойной культуре *in vitro* на твердой подложке [Jones et al., 1995a,b].

Было показано, что клетки отвечают на растяжение увеличением длины, а при сжатии большинство из них приобретают округлую форму. Клетки высоко чувствительны к механическим воздействиям [Brighton et al., 1996].

Полученные данные, с точки зрения авторов, подтверждают гипотезу о том, что остеобласты могут преобразовывать (выводить) механический сигнал на физиологический уровень, так как в этих экспериментах была отчетливо выявлена ответная реакция клетки на приложение механической силы. В большей степени эта реакция проявлялась при растяжении клетки, и в меньшей при ее сжатии.

Другой метод изменения механического напряжения на клетку это экспозиция

биологического объекта в условиях микрогравитации (существенной механической разгрузки). Предполагается, что потеря веса также должна привести к заметной деформации клетки. Была выявлена достаточно четкая и быстрая (24 сек.) ответная реакция клетки на невесомость, которая может быть следствием быстрого перераспределения внутриклеточных органелл, а также изменения градиента Ca^{++} в цитоплазме [Jones et al., 1991]. Во всех случаях, ответная реакция начинает развиваться в очень короткие промежутки времени (около 1-3 сек.) после наступления невесомости и идет по нарастающей. Неожиданным, однако, было то, что гипергравитация (1,8 g) не вызывала заметных изменений в концентрации как внутриклеточного (связанного), так и межклеточного (свободного) Ca^{++} .

Этот период и определяет время релаксации гравитационного сенсора, например время перестройки цитоскелета, ибо во всех случаях ответная реакция клетки обусловлена изменениями молекулярной организации внутриклеточных компонентов, главным образом, комплекса цитоскелетных структур. Рассмотрим проблему с позиций предназначения и общих функций цитоскелета в клетке.

4.3. Цитоскелет

В последнее время на первый план все более выдвигается изучение роли контрактильных элементов образующих цитоскелет, в осуществлении клеткой рецепторных функций, в том числе механизмов восприятия и реализации гравитационного фактора.

В морфо-функциональном отношении 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 такие белки как актин миозин, тубулин и динеин. Миозин - единственный из белков, способный генерировать механическую работу за счет гидролиза АТФ в клетке.

Эта реакция универсальна для всех видов биологической активности: от сложного акта мышечного сокращения до различных видов подвижности. Известно, например, что все без исключения свободноплавающие одноклеточные организмы обладают собственным двигательным аппаратом анатомическим выражением, которого является жгутик или реснички, представляющие собой видоизмененные жгутики. Эти структуры непосредственно связаны с сократительными элементами цитоскелета и приводятся в движение благодаря сократительным свойствам упомянутых выше белков. Цитоскелет - динамичная система, способная перестраиваться в доли секунды.

Динамика перестроек цитоскелета регулируется различными факторами: химическими и физическими, имеющими как эндогенное, так и экзогенное происхождение, способными изменить направление и интенсивность метаболических процессов в клетке. Отсюда, можно ожидать, что механические деформации, обусловленные в частности силой тяжести, могут привести к перестройкам цитоскелета, а также изменению формы клетки.

Таким образом, не исключено, что часть внутриклеточного объема, окруженная мембраной и содержащая сократительные структуры, может играть роль рецептора (сенсора) физических сигналов, поступающих из внешней среды. Так, например, была выявлена высокая чувствительность этой области клетки к звуковым сигналам [Васильев, Гельфанд, 1981]. Этот пример показывает, что сигнал об альтерации механического напряжения элементов цитоскелета при их возбуждении может быть трансформирован на мембрану, и стать причиной изменений функциональной активности клетки.

На этом основании было высказано предположение, что цитоскелет при взаимодействии с цитоплазматической мембраной может выполнять роль "неспециализированного" гравирецептора. Эта функция цитоскелета, присуща не только одноклеточным организмам, но и клеткам, растущим в культуре *in vitro*. Отсюда становится очевидным, что, после восприятия гравитационного стимула сенсорной системой клетки этот сигнал должен быть усилен и трансдуцирован.

В настоящее время имеются убедительные доказательства того, что в этих процессах принимают самое непосредственное участие цитоскелет и вторичные мессенджеры.

Высокая степень гибкости цитоскелетной системы, очень важная для восприятия и реализации гравитационного импульса, была обнаружена в статочитах различных типов высших растений [Sievers et al., 1991a; Volkmann et al., 1991]. В дополнение к этому, следует отметить, что в соответствии с теоретическими расчетами, пучки актина, превышающие 0,25 мкм в диаметре, имеют достаточную массу и энергию связей для восприятия гравитационного стимула [Sievers, 1991b].

Напряжение актиновых филаментов цитоскелета в условиях гипергравитации (2g) и их релаксация в условиях микрогравитации была выявлена в работе [Lorenzi, Perbal, 1990] методом локализации участка ядра в клетках чечевицы (*Lentil*). Как уже было отмечено выше, простейшие способны реагировать на 10% -ное изменение порога силы тяжести. Генерируемая при этом энергия необходима и достаточна для амплификации и фокусирования системы, которая способна активировать чувствительные к Ca^{++} сократительные структуры, тесно связанные гравирецепторными механизмами [Mechamer-Rohnisch et al, 1996].

Можно привести несколько примеров, подтверждающих сказанное. Так, например, эффект ингибирования цитоскелета показывает, что именно микротрубочки, а не микрофиламенты, тормозят седиментацию пластид в клетках протонемы мха *Geratodon* [Schwuchow et al., 1994]. С другой стороны, если ингибировать актиновые элементы цитоскелета цитохалазином, ответ на гравистимул у базидомицеты *Flamullina* прерывается, однако подавление активности микротрубочек аризалином не вызывает должного эффекта [Monzer, 1995]. Статоциты *Lipidium*, обработанные цитохалазином D, снижают внутриклеточный потенциал [Sievers et al., 1995]. Гравитационно-зависимые изменения были также зарегистрированы в ритмах сокращения - релаксации у слизневых грибов *Physarum* [Blocket al., 1992].

Идея о том, что элементы цитоскелета (актиновые или миозиновые волокна) могут служить триггером при проведении сигнала индуцированного гравитационным стимулом, была высказана еще Э. Поллардом [Pollard, 1971]. В этой связи, вторичные мессенджеры, главным образом ионы Ca играют важную роль в гравитационно чувствительных процессах, протекающих на молекулярном уровне.

Экспериментальное подтверждение этой идеи было получено в работе [Sievers, Busch, 1992], где было показано, что Ca^{++} , служит триггерным механизмом, запускающим гравистимуляцию в клетках *Lipidium*.

Вопрос о том, как мембранный сигнал трансформируется в ресничках и запускает (включает) систему вторичных мессенджеров, детально обсуждается в работах [Bonini et al, 1986; Schultz et al, 1986]. Так как циклические нуклеотиды типа ц АМФ являются регуляторами частоты биения ресничек, то, вероятно, они напрямую связаны с процессами восприятия и реализации гравитационного стимула. В культуре клеток, например, остеобластов, присутствуют два основных типа цитоскелета: актиновый и тубулиновый. В быстро делящихся клетках сферической формы, оба этих типа цитоскелета являются диффузными.

В клетках, которые распластаны и не делятся, преобладает актиновый тип цитоскелета, где сократительные нити актина достигают максимальной толщины и напоминают «тросы», соединенные продольно с другими фибриллами. Структуру (молекулярную организацию) такого типа цитоскелета можно хорошо наблюдать в фазово-контрастный микроскоп. Тубулиновый цитоскелет имеет радиальную структуру и более лабилен, чем актиновый. Оба типа цитоскелета могут очень быстро (менее чем за 1 мин.) ремоделироваться и деполимеризоваться (в течение 20 мин) под действием таких агентов как паракортикоидный гормон (РТН), простагландин и других факторов, которые в равной степени регулируют концентрацию внутриклеточного Ca^{++} .

Округлые клетки с более диффузным цитоскелетом в большей степени чувствительны к

приложению механической силы (растяжению и сжатию), благодаря наличию, т.н. «стресс-фибрилл». При этом геометрия цитоскелета не изменяется, а чувствительность повышается. Механические свойства клеток, в частности механочувствительность, не до конца выяснены и не очень понятны. Тем не менее, по результатам, довольно большого количества экспериментальных данных предполагается, что механорецепторы (сенсоры), имеющие непосредственное отношение к цитоскелету, чувствительны, например, к цитохалазину. Последний, обладает способностью разрушать актиновые нити цитоскелета, что приводит к потере клеткой механочувствительности.

Однако в клетке присутствуют и другие элементы цитоскелета, которые характеризуются более высокой степенью механической стабильности, в частности, элементы образующие тубулиновый тип цитоскелета. Предполагается, что данный тип цитоскелета определяет адгезивные свойства клетки, и обеспечивает ей и стабильную связь с субстратом. Предполагается также существование эластичной модели сенсора в клетке, непосредственно связанного с существующим местом биохимической трансдукции на актиновый или тубулиновый элемент цитоскелета.

Классическим примером для изучения механизмов реализации гравитационного стимула на клеточном уровне может служить статолит - специализированная гравирецепторная клетка, содержащая многочисленные крахмальные зерна - амилопласты, выполняющие функции статолитов. Эта группа клеток составляющих статенхиму локализована в корневой системе почти всех высших растений. Взаимодействие между статолитами и цитоскелетом, приводящее к перестройке цитоскелетных структур можно считать первичным этапом гравирецепции у растений.

Два условия должны быть выполнены для гравистимуляции такого типа клеток.

Во-первых, должна быть выполнена определенная работа по преодолению гравитации внутриклеточными органеллами, участвующими в механизме гравирецепции.

Во-вторых, энергия, затраченная на выполнение этой работы, должна быть больше энергии теплового возбуждения (кинетической энергии молекул), для того чтобы различить гравитационно зависимое движение от теплового движения молекул. В самом деле, распределение стаголитов (крахмальных зерен) в типичной гравирецепторной клетке (статоците) корневого чехлика растений при наличии силы тяжести в 1g происходит в течение 1 сек., что в значительной степени превосходит среднее значение такого распределения, возникающего вследствие теплового (броуновского) движения.

Какая же работа должна быть выполнена статолитами под действием силы тяжести для того, чтобы перевести ответственные за гравирецепцию внутриклеточные структуры (статолиты) в состояние, способное для восприятия гравитационного стимула и преобразования его в биохимический или биофизический сигнал?

Такое состояние, по мнению Зиверса с соав. [Sievers et al.,1994] должно привести к изменению организации цитоскелета, как вследствие разрыва или образования новых химических связей в макромолекулах сократительных элементов цитоскелета (биохимический аспект), так и в результате взаимодействия с внутриклеточными органеллами (механический аспект). Эти взаимодействия приводят к появлению механического стресса цитоскелета в результате сжатия или растяжения его сократительных элементов (микротрубочек, микрофиламентов), что в свою очередь ведет к инициации каскада внутриклеточных реакций, ответственных за восприятие и реализацию гравитационного стимула в специализированных гравирецепторных клетках.

Вместе с тем в процессе восприятия и реализации гравитационного стимула, могут принимать участие и другие внутриклеточные структуры: ядро, митохондрии, пластиды, при образовании различных комплексов.

4.4. Межклеточные взаимодействия

Приобретение клетками в ходе эволюционного процесса способности к самоорганизации, в конечном счете, привело к возникновению многоклеточного организма.

Причины, необходимость и движущие силы появления многоклеточных организмов, достаточно подробно были обсуждены в нашей работе [Таирбеков и др. 1997 б].

Следует отметить, что существенное значение для функционирования многоклеточного организма приобретают межклеточные взаимодействия, осуществляемые с помощью гормонов и ростовых факторов. По всей вероятности, для такого взаимодействия необходимо участие вторичных мессенджеров как основного связующего звена между действием стимулов различной природы (химических, физических, механических) и ответной реакцией клетки, сопровождающейся изменением ее метаболической активности.

Главным условием функционирования многоклеточного организма является координация работы всех клеток, как при межклеточном, так и внутриклеточном взаимодействии.

Существуют две основные формы межклеточных взаимодействий [Гельфанд, 1992].

Первая форма преимущественно межтканевая (дистанционная), не требующая непосредственного контакта между соседними клетками осуществляется с помощью гуморальных факторов, которые можно охарактеризовать как:

- а) односторонние мишени (адресные) - от клетки донора к клетке.
- б) сигнальные - события, происходящие при получении сигнала клеткой - мишенью определяются только механизмами самой клетки,
- в) информационные - функциональными партнерами клетки донора являются не ее непосредственные (геометрические) соседи, а клетки компетентные к действию данного лиганда, независимо от их месторасположения. Приведенная форма межклеточных взаимоотношений (МВ) охватывает широкий круг важнейших физиологических процессов: гормональные реакции, взаимодействия нервных клеток на основе химических сигналов, активацию пролиферации с участием ростовых факторов, участие различных типов морфогенов в процессах эмбриогенеза и т.д. Факторы, посредством которых осуществляется эта форма межклеточных взаимодействий - гормоны, морфогены, нейромедиаторы и различные ростовые факторы - сравнительно легко идентифицируются, а механизм этих взаимодействий хорошо известны как лиганд-рецепторный.

Вторая форма МВ - преимущественно внутритканевая - осуществляется на локальном уровне при непосредственном контакте соседних клеток друг с другом. Одним из основных механизмов этого вида межклеточного взаимодействия являются контакты соседних клеток, осуществляемые с помощью внеклеточного матрикса.

Ведущую роль в осуществлении механизма межклеточных взаимодействий в этом случае играют высокопроницаемые межклеточные контакты (ВПК) в виде каналов прямой диффузии веществ между соседними клетками. Они совершенно отличны от нервной или гуморальной систем передачи информации, т.к. в этом случае возможны не только передача сигнала, но и обмен веществом и энергией.

Способность различных веществ проникать через клеточные мембраны определяется, в первую очередь, размером молекул, но не их зарядом или химической природой вещества. ВПК проницаемы для веществ с молекулярным весом до 1000 D и размером до 1,5 нм.

Морфологической основой ВПК мембран является структура щелевого контакта (ЩК). Щелевые контакты в различных тканях структурно идентичны. По данным электронно-микроскопического анализа ультратонких срезов областей, ЩК характеризуются тесным сближением плазматических мембран соседних клеток и щелью шириной около 2 нм. Методом криоскопии (frozen-etch) показано, что ЩК представляют собой ряд плотноупакованных частиц, которые проходят, сквозь мембранные бислои соседних клеток, заходя в межклеточное пространство и, соединяясь, друг с другом образуют контактные структуры коннексоны.

Данные рентген - структурного анализа показали, что коннексоны состоят из двух полуканалов, расположенных в мембранах соседних клеток. При их соединении образуется полый цилиндр с диаметром от 1,2 до 1,5 нм.

При изучении белка ЩК - коннексина было обнаружено существование целого

семейства коннексинов с различной молекулярной массой. Использование моноклональных антител позволило определить мембранную топологию коннексинов. Было показано, что молекулы этого белка в мембране свернуты таким образом, что образуют М-образные структуры с двумя экстрацеллюлярными и тремя цитоплазматическими доменами, тогда как их N-концы и С-концы локализованы в цитоплазме. Кроме того, в последнее время было показано, что не существует корреляции между типом коннексина и типом ткани. Так, например, специфические однотипные коннексины могут содержаться более чем в одной ткани, а в одной клетке могут быть экспрессированы несколько типов коннексинов.

Более того, в процессе эмбриогенеза или постнатального созревания происходит смена коннексинов, экспрессированных в одной и той же ткани. Скорость передачи веществ образующихся в одной клетке в соседнюю клетку через ВПК зависит от 2-х факторов: количества каналов в контактной мембране и диаметра открытия канала.

Существенную роль в регуляции проводимости канала играет наряду с CV уровень внутриклеточного pH. Было показано, что снижение уровня pH приводит к быстрому росту клеток в период раннего эмбриогенеза. Воздействия, приводящие к снижению внутриклеточного pH, ингибирование Na^+/H^+ антипортера, и высокое содержание кислот, вызывают блокирование межклеточной проводимости. В то же время, воздействия, повышающие уровень свободного Ca^{++} в цитоплазме снижают надежность межклеточных контактов во многих типах клеток. Поскольку механизмы, обеспечивающие поддержание внутриклеточной концентрации Ca^{++} и H^+ , а также работу Na^+/H^+ помпы, взаимозависимы, сдвиг концентрации одного из катионов может значительно изменить концентрации другого. Взаимозависимы и действия этих ионов на контактную проводимость. Более того, значение внутриклеточного pH оказывает существенное влияние на форму клеток (регулирует процессы распластывания и ошаривания) растущих в культуре *in vitro* на твердом субстрате [Schwartz et al., 1989,1990].

Количество каналов в мембране определяется уровнем транскрипции ДНК, стабильности мРНК, скоростью синтеза и распада белковых соединений, а также процессами встраивания в мембрану полуканалов и их сборки до полных каналов. Необходимо отметить также роль других факторов в организации межклеточных контактов, необходимых для тесного сближения мембран контактирующих клеток при формировании щелевых контактов. Дело в том, что клетка в течение всей своей жизни, находясь в гравитационном поле, испытывают влияние физических (механических) сил, генерируемых окружающими ее соседними клетками и внеклеточным матриксом. Сигналы о механической деформации передаются во внутриклеточный континуум посредством межклеточных контактов. Изменение величины и направления сил, деформирующих клетку, приводит к изменению ее формы, что, в свою очередь, может вызвать изменение активности биохимических процессов в клетке [Watson, 1991]. Внеклеточный матрикс (extracellular matrix - ECM) определяет форму и основные функции клеток в многоклеточном организме и дает им возможность восстанавливаться после деформации.

Многие компоненты ECM, такие как коллаген, эластин и др. играют ключевую роль в движении клеток, ростовых процессах и экспрессии генов. Результатом деятельности ECM является «включение» (активация) рецепторов, в том числе и механорецепторов, расположенных на периферии цитоплазматической мембраны, таких как гликопротеины, протеоглики и гликозилтрансферазы [Mc Donald, 1989].

Эмбриологические исследования, проведенные в последнее десятилетие, представили неопровержимые доказательства необходимости всех видов межклеточных взаимодействий для формирования органов и тканей развивающегося организма. Выявлены также пространственные изменения межклеточных взаимодействий во время эмбриогенеза [Тренкауэс, 1972]. Обнаруженные доказательства включения ВПК в процесс развития органов и тканей можно свести к двум аргументам: во-первых, у всех типов эмбрионов установлено наличие ВПК, во-вторых, показано, что передача сигналов осуществляется

через ВПК. Регуляция клеточного деления также может осуществляться ВПК. Эта идея основана на том, что факторы, регулирующие митотическую активность, могут передаваться через ВПК, и, как следствие, синхронизировать деление, замедляя или ускоряя этот процесс. В пользу этой гипотезы свидетельствует также заметное возрастание количества ВПК в период клеточного деления.

Формирование главных осей (анимально-вегетативной и дорсо-вентральной) одно из основных событий, обусловленных наличием силы тяжести. Зародыш в своем развитии использует эти оси как линии отсчета, вокруг которых пространственно организуются дифференцирующиеся структуры. Предполагается, что эти оси могут закладываться градиентом морфогенетических веществ, а градиент создается морфогеном, передающимся по межклеточным контактам. Таким образом, ВПК могут передавать информацию о положении клеток и тканей в целом организме.

Итак, межклеточные контакты, в частности ВПК, обеспечивающие прохождение ионов и малых молекул от клетки к клетке, принимают самое непосредственное участие в регуляции эмбриогенеза, и в первую очередь, в установлении пространственного паттерна клеточной дифференцировки. В большинстве своем эти данные демонстрируют наличие корреляции между проводимостью ВПК и началом дифференцировки клеток. Кроме того, в ряде случаев, они показывают идентичность границ, разделяющих клетки с различной судьбой в эмбриогенезе с границами коммуникационных компартментов.

Дальнейший толчок к изучению роли ВПК в процессах эмбрионального развития и морфогенеза в целом дали молекулярные исследования экспрессии генов, кодирующих белки щелевых контактов. Было показано, что пул генов, кодирующих белки ВПК, представляет собой семейство пяти различных генов (a_1 , a_2 , v_1 , v_2 , v_3) белковые продукты которых имеют тесную гомологию у различных животных и растений. Индивидуальные клетки могут экспрессировать несколько генов ВПК одновременно. С другой стороны, только определенные гены экспрессируются на тех или иных стадиях онто- и филогенеза.

Морфогенез, и в первую очередь, начальные стадии эмбриогенеза-наиболее уязвимые процессы с позиций гравитационной биологии. Морфогенез на клеточном уровне сопровождается формированием системы цитоскелета, регулируется молекулярными механизмами на уровне мембран под общей координацией межклеточных контактов.

Все эти процессы, как было показано нами, являются гравитационно зависимыми и определяют основные этапы развития, начиная от клеточного и заканчивая популяционным уровнем организации живых систем [Таирбеков, 1997].

Суммируя сказанное выше можно утверждать, что ВПК является существенной частью системы регуляции ряда важнейших процессов, таких как контроль роста и пролиферации, морфогенез и дифференцировка. Регуляция ВПК осуществляется на различных уровнях, а, следовательно, имеет место взаимное влияние многих факторов: внешних и внутренних, в том числе и гравитационного.

Уровень межклеточных связей можно рассматривать как один из важных маркеров состояния тканевого гомеостаза. В самом деле, изменения нормального для данной клеточной системы уровня связей под действие какого-либо фактора могут служить интегральным показателем функционального неблагополучия в этой системе и позволяют на основе наших знаний о системе регуляции ВПК вести целенаправленный поиск механизма повреждения. Функциональные каналы ВПК в растительных клетках - это плазмодесмы [Xia, 1992, 1996]. Хотя к настоящему времени многое известно о структуре и функциях большинства типов специализированных сенсоров, таких как свет, звук, гравитация, и т.д., однако остается непонятным, каким образом единичные (индивидуальные) клетки (эндотелиальные, эпителиальные, остеобласты, фибробласты, миоциты) участвуют в гравирецепции, воспринимают физический (механический) импульс и преобразуют эту информацию в биохимический или генетический ответ?

Одной из многочисленных гипотез, которая пытается объяснить этот механизм и которая связывает его с механочувствительными органеллами - это, «эластичная модель

цитоскелета» т.е. способность восприятия слабых сигналов цитоскелетом. Согласно этой гипотезе, незначительные механические деформации, вызванные физическим (механическим) возбуждением, передаются с внешних рецепторов прямо на цитоскелетные структуры, ответственные за преобразование физических сигналов в физиологический импульс. Экспериментальное подтверждение этой гипотезы было получено в работе с культурой клеток - остеобластов, *in vitro* развивающихся в условиях микрогравитации [Jones, Leivseth, 1995].

4.5. Система внутриклеточной сигнализации

Какие же процессы, протекающие во внутриклеточном объеме, могут быть чувствительными к гравитации? Дело в том, что помимо хорошо известных и достаточно изученных фундаментальных процессов (репликация, синтез белка, нуклеиновых кислот и основных структурных компонентов), в клетке существует система сигнализации, управляющая этими процессами. Можно предполагать, что именно эта система вследствие своей чрезвычайной чувствительности к действию внешних факторов представляет существенный интерес и для гравитационной биологии. К сожалению, не только чувствительность к гравитационному фактору, но и сама система внутриклеточной сигнализации остается еще недостаточно изученной. Нет ясности не только в последовательности прохождения отдельных стадий в цепи передачи сигналов при восприятии и реализации сигнала в клетке, но остаются неизвестными и общие принципы функционирования целостной системы сигнализации в цитоплазме.

Согласно современным представлениям основную роль в передаче сигналов в клетке играют системы G-белков и ионы Ca. Эти же соединения являются основными субстанциями, участвующими в передаче сигналов. Рецепторы подразделяются на два типа: связанные с G- белками и связанные с тирокиназами.

Связанные с рецептором ферменты - тирокиназы действуют на внутриклеточные мишени, фосфорилируя соответствующие молекулы по тирозину. В частности, в таком ключе действуют пептидные факторы роста: тромбоцитарный (TGF), эпителиальный (EGF), фибробластный (FGF) и др.

Увеличение активности тирокиназы под действием стимулов известно давно, однако сами мишени, по крайней мере, некоторые из них были установлены недавно.

Так, например, показано, что эпителиальный фактор роста (EGF) активирует каскадное преобразование сигнала в клетках карциномы A431, растущих в культуре *in vitro* [Rijken et al., 1990]. Авторы изучали влияние силы тяжести на три разных процесса: форму клеток (феномен «ошаривания»), экспрессию гена *c-fos* и состояние самого рецептора EGF. Было показано, что в условиях микрогравитации (вертикальные ракеты) и моделирования эффектов невесомости (клиностатирование) наблюдается увеличение количества клеток «шаровидной» формы, активация функций EGF рецептора на фоне существенного торможения экспрессии гена *c-fos*. Кроме того, в исследованиях с культурой клеток - остеобластов, выявлено существенное снижение экспрессии генов *fox-2*, *c-myc* и *bc-12*, связанных с фактором роста в условиях микрогравитации. Вместе с тем, не было обнаружено разницы в экспрессии генов, контролирующих синтез мРНК в опытных и контрольных образцах [Hughes-Fulford, 2001].

Через рецепторы, связанные с G-белками, действуют на клетку многие гормоны, нейролептики и другие вещества [Paniceia et al., 1993]. Полагают, что связывание такого рецептора с лигандом индуцирует обмен ГДФ и ГТФ в G-белке. Такая замена переводит его в активную форму. Неактивный G-белок состоит из α , ρ и γ - цепей. После активации белок диссоциирует на α - субъединицу + комплекс (ρ и γ). Первые - субъединицы обладают ГТФ-азной активностью. Роль двух других субъединиц неизвестна. Однако, имеются сведения, что комплекс ρ и γ блокирует K^+ канал [Weinbaum et al., 1991].

Недавно опубликованный обзор [Charman et al, 1998], посвящен роли «разветвленных» (unfolded) белков, связанных с мембранами эндоплазматического ретикулума (ЭР) в

функционировании системы внутриклеточной сигнализации. В работе показано, что по мере накопления этих белков на мембране ЭР происходит экспрессия генов, что сопровождается увеличением объема информации, передаваемой с мембраны во внутриклеточный континуум - к ядру и далее к цитоскелету.

Какие же ферменты контролируют связанные с рецепторами G- белки? Это - аденилциклаза, фосфолипаза и др. Они катализируют реакции, дающие начало некоторым веществам последовательного каскада внутриклеточной сигнализации. К ним относятся циклические нуклеотиды (цАМФ), фосфотидилинозиты и Ca^{++} .

Возможно, что многие липиды или их производные генерируют фосфолипидную активность в мембранах и выступают в качестве медиаторов и вторичных мессенджеров в трансдукции сигнала во внутриклеточном объеме [Dennis et al.,1991]. Действие цАМФ активируется протеокиназой А. Предполагается, что этот фермент непосредственно связан с активностью генной транскрипции.

Эксперименты с использованием увеличенного содержания в среде цАМФ, при добавлении гормонов, показали, что это сопровождается угнетением процесса пролиферации клеток. В зависимости от интенсивности транскрипции разных генов происходит стимуляция или торможение клеточной пролиферации. Другие вторичные мессенджеры, помимо цАМФ, инозитолфосфатиды, протеокиназы и Ca^{++} возникают как результат работы фосфатидил-инозитного цикла. В результате активации фосфолипазы С происходит гликолиз дифосфо-фосфатидилинозита с образованием трифосфатидилинозитола и дифосфоглицерина. Первый мобилизует Ca^{++} , а второй - активирует протеинкиназу С. Имеется целый набор фосфатаз и киназ, которые превращают инозиттрифосфат в другие инозитфосфаты, что прекращает действие этого вторичного мессенджера.

Таким образом, вторичные мессенджеры преобразуют и передают механический стимул на ростовые гормоны в клетке.

4.6. Вторичные мессенджеры

Вторичные мессенджеры делятся на две группы. Первая группа включает молекулы межклеточного матрикса (extracellular matrix-ЕСМ) такие как протеогликаны, коллаген, фибронектин. Они окружают все «заякоренные» клетки. Большинство из них связаны с рецепторами, расположенными на плазмемной мембране, а те в свою очередь связаны с цитоскелетом. Активация всей цепи происходит при очень слабых воздействиях внешних сил на клетку. Вторая группа - это G-белки, расположенные на поверхности плазмемной мембраны, которые идентифицируются как ростовые факторы. Эти белки также непосредственно связаны с рецепторами и через них с цитоскелетом. Механические силы, приложенные к внешней поверхности клетки, могут быть причиной структурных изменений в мембране и вызывать активацию всей системы внутриклеточной сигнализации.

Изучение природы механорецепторов в последнее время становится доминирующим в гравитационной биологии. Эти исследования проводятся, прежде всего, с целью идентификации новых ростовых факторов и механизмов их действия, а также для того, чтобы понять какие физические сигналы, связанные с механической индукцией, распознаются клеткой, каким образом эти сигналы трансформируются в физиологический импульс и какие химические реакции на молекулярном уровне происходят в клетке?

Быстрый прогресс, наблюдаемый в этих исследованиях, и их высокая эффективность обязаны, главным образом, использованию клеток, растущих в культуре *in vitro* как модельной системы [Vandenburgh, 1990 a, b, 1992].

Центральная роль в передаче физического сигнала, генерируемого различными факторами внешней среды, в том числе гравитационным, принадлежит вторичным мессенджерам, основной функцией которых является преобразование механического воздействия в физиологический импульс во внутриклеточном объеме. Это, прежде всего,

упомянутые выше соединения, образующие внеклеточный матрикс (ЕСМ). Именно они принимают участие во взаимодействии клетки с соседней клеткой или с субстратом. Большинство соединений ЕСМ связаны со специфическими рецепторами, расположенными на внешней поверхности плазменной мембраны и частично интегрированы в семейство этих рецепторов. В свою очередь эти рецепторы тесно связаны с цитоскелетным комплексом, который регулирует форму и определяет рост клетки [Folkmann, Mascona, 1978]. Молекулы ЕСМ активируются и включаются в процесс трансдукции сигнала извне во внутриклеточный континуум при самых незначительных изменениях внешних сил на поверхности клетки.

Образующийся при этом комплекс (ЕСМ + рецептор + цитоскелет) играет определяющую роль в регуляции ростовых процессов. Более того, эти изменения индуцируют сдвиг во взаимодействии молекул, расположенных на плазменной мембране и ответственных за такие процессы как возбуждение ионных каналов, активация Na^+/K^+ -АТФ-азы, цАМФ, изменение внутриклеточного Ca^{++} и др.

В последние десятилетия получены экспериментальные доказательства вероятности изменений клеточной активности в условиях механической разгрузки. Так, например, результаты исследований соединительнотканых, костных и эндотелиальных клеток в монослойной культуре *in vitro*, выполненных в условиях микрогравитации, трактуются как свидетельство нарушения межклеточных контактов и взаимодействия с субстратом, а также реорганизации цитоскелетных структур [Vandenburgh et al., 1990a,b, 1992; Таирбеков и др., 1994; Романов и др., 2000].

Кальций является наиболее простым (химически) и наиболее универсальным вторичным мессенджером. Было установлено, что взаимодействие рецептор-гормон или деполяризация мембраны ведет к увеличению содержания либо Ca^{++} , либо цАМФ [Guggino et al 1989]. Таким образом, выявление иерархической связи между генерацией цАМФ и Ca^{++} свидетельствует о сложности организации системы внутриклеточной сигнализации.

Классическим объектом, на котором впервые была показана сигнальная роль Ca^{++} , были сократительные элементы сердечной и скелетной мускулатуры, а также нервные клетки. В последнем случае потенциал действия (ПД) вызывает быструю деполяризацию плазменной мембраны, что приводит к крайней активации вольт зависимых Ca^{++} каналов. Кальций начинает быстро входить в клетку. Ионы кальция вызывают выброс нейротрансмиттера. Деполяризация мембраны стимулирует выход Ca^{++} наружу. Было показано, что кратковременное увеличение концентрации кальция приводит к длительной ответной реакции клетки. Хотя концентрация Ca^{++} в течение длительного периода не меняется, потоки этого иона претерпевают значительные изменения. Такой цикл Ca^{++} носит сигнальную функцию. Итак, увеличение обмена Ca^{++} через мембрану является элементом внутриклеточной сигнализации. Передача сигнала в клетке через Ca^{++} связана уже с другими системами.

Еще один ион, который играет в клетках сигнальную роль - это протон H^+ . Хотя роль его в функционировании системы внутриклеточной сигнализации несколько меньше. Гомеостаз (равновесие) протонов в клетке поддерживается системой антипортеров, главным образом, Na^+/H^+ . Диффузия протона может происходить необычайно быстро.

Таким образом, преобразование сигнала в клетке происходит с помощью вторичных мессенджеров. Они преобразуют и передают механический стимул на ростовые гормоны.

Многочисленные эксперименты с культурами различных клеток, показывают, что механическое воздействие вызывает сдвиг ионного, главным образом кальциевого, равновесия [Cowin, 1993; Guggino et al., 1989; Williams et al., 1994] и рост кальция во внутриклеточном объеме. Кальциевый «отклик» может быть зарегистрирован очень быстро, в течение нескольких секунд после воздействия [Banes et al., 1994]. Кальций может стимулировать формирование костной ткани в культуре *in vitro* [Raisz, Kream, 1983] однако механизм и физиологическая значимость этого эффекта остаются неясными. Остеокласты реагируют на содержание Ca^{++} во внутриклеточной среде, так же как и клетки

околощитовиднок железа, секретирующие паратгормон, а именно - увеличивая внутриклеточную концентрацию этого катиона. Диапазон, в котором клетка наиболее чувствительна к кальцию, составляет 0.5-2 ммоль для клеток железа и немногим больше для остеокластов [Malgaroli et al, 1989].

При растяжении субстрата в культуре остеобластов, растущих на этом субстрате, обнаруживается мгновенное повышение концентрации Ca^{++} . Этот всплеск вначале происходит за счет внутриклеточных источников, а позже, за счет притока извне.

Цепочка событий, приводящая к изменению кальциевого градиента в клетке при механическом воздействии, очень сложна и предполагает несколько промежуточных стадий, одной из которых является индуцированное через цитоскелет высвобождение инозитол-трифосфата IP_3 [Duncan, Turner, 1995].

В культурах остеобластов, хондрицитов и фибробластов можно увидеть быстрое волнообразное распространение кальциевого сигнала через щелевые контакты от клетки к клетке, скорость которого составляет - 3,2 мкм\сек. [Xia, Ferrier, 1992, 1996]. Физическая природа волны объясняется авторами диффузией Ca^{++} при освобождении источников.

Клетки имеют на своей мембране рецепторы, воспринимающие концентрацию внутриклеточного кальция, который влияет на синтез простагландина E_2 . Природа рецептора неизвестна, однако понятно, что существование подобных рецепторов у клетки может обеспечить ей довольно сложные регуляторные процессы. В самом деле, синтез простагландина определяется внутриклеточной концентрацией Ca^{++} , которая регулируется сложным образом с участием инозитол-трифосфатного пути [Ajibi et al., 1999]. Электрофизиологические исследования клеток, растущих в культуре *in vitro*, показали, что повторяющиеся всплески мембранного потенциала отражают колебания внутриклеточного кальция [Dixon, et al., 1984; Duncan et al., 1992, 994].

Другие типы вторичных мессенджеров, которые преобразуют механические воздействия в ростовые факторы в различных типах клеток, также делятся на две основные категории. Первая включает компоненты внеклеточного матрикса - молекулы протеогликана, коллагена, ламинина и фибронектина, которые окружают все «заякоренные» (приклепленные к субстрату) клетки. Вторая группа это производные G-белков и других компонентов высокомолекулярных соединений, связанных тесным образом с активацией ионных каналов [Vandeburgh, 1990a,b,1992].

Рассмотрим подробно молекулярные механизмы действия первой группы мессенджеров.

Как уже было сказано выше, большинство, если не все, молекулы внеклеточного матрикса (ЕСМ) связаны со специфическими рецепторами, расположенными на плазмемной мембране, которые, в свою очередь, составляют часть семейства интегриновых рецепторов [Buck, Horowitz, 1987]. Эти рецепторы связаны с внутриклеточным цитоскелетом, регулирующим форму клетки от чего в значительной степени зависят ростовые процессы [Folkmann, Mascona, 1978]. Молекулы ЕСМ должны включаться в процесс трансдукции (преобразования) сигнала при очень незначительных (минимальных) воздействиях внешних сил на поверхность клетки [Weiss, 1993]. Комплекс «ЕСМ-интегрин-цитоскелет» может играть более активную роль в регуляции ростовых процессов, индуцированных механическим воздействием. Так, например, представлены экспериментальные доказательства того, что темпы роста клеток могут изменяться вследствие изменения состояния внутреннего цитоскелета [Ingberg, 1990]. Перечень вторичных мессенджеров, относящихся к комплексу ЕСМ и приведенных в работе [Vandeburgh, 1992] показывает, что эта группа вторичных мессенджеров является наиболее изученной на сегодняшний день. По-видимому, не случайно, хорошо изученный механизм каскада вторичных мессенджеров был изначально проанализирован и оценен как группа механогенных мессенджеров. В частности, на культуре клеток скелетной мускулатуры, было показано, что механическая стимуляция роста клетки требует присутствия ростовых факторов в среде культивирования [Vandeburgh, 1990].

Многие типы клеток продуцируют аутокринные и паракринные ростовые факторы.

Таковыми, например, являются клетки миокарда и других типов скелетной мускулатуры. Таким образом, становится очевидным (и этому есть экспериментальные доказательства), что механические силы и факторы роста (эндогенные и экзогенные) находятся в тесном взаимодействии и тем самым принимают самое непосредственное участие в регуляции ростовых процессов во всех типах клеток, генерируя каскад вторичных мессенджеров.

5. ВЕРОЯТНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ГРАВИТАЦИОННОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ КЛЕТОК

Многоклеточные организмы обладают сформированными в ходе эволюционного развития специализированными клетками для восприятия и реализации гравитационного стимула (статоцитами, образующими статенхиму у высших растений, и клетками, составляющими основу отолитового аппарата у высших животных). Механизмы гравирецепции в большинстве из них к настоящему времени детально изучены и хорошо известны. Прежде всего, это относится к феномену геотропизма у растений, обладающих внутриклеточными сенсорами гравитации - статолитами.

Гораздо меньше было известно о механизме гравирецепции в клетках, не обладающих специализированными внутриклеточными структурами, ответственных за восприятие и реализацию гравитационного стимула.

Поэтому наше внимание было сосредоточено на одноклеточных свободноплавающих (обладающих активным двигательным аппаратом) организмах, принадлежащих преимущественно к двум классам *Ciliata u Flagellata* и клетках, растущих в культуре *in vitro* (фибробластах и остеобластах). Выбор в качестве объекта перечисленных типов клеток был продиктован соответствием их морфо-функциональных и эколого-физиологических характеристик основным задачам исследований [Таирбеков, 2000].

Как уже было сказано, клетки, изолированные из органов и тканей многоклеточных организмов и культивируемые *in vitro* в лабораторных условиях, свободны от влияния регуляторных и контрольных механизмов высшего порядка, лишены внутриорганых, а зачастую и внутритканевых связей, что дает возможность изучать эффекты, действующих на клетку факторов, в «чистом» виде, не «замаскированном» наличием системных механизмов регуляции и контроля.

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

Исследования с перечисленными выше объектами проводили как в лабораторных условиях 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 результатов собственных исследований и данных, имеющих в литературе, нами сформулирована рабочая гипотеза, объясняющая принципиальные различия и последовательность приспособительных реакций у одноклеточных организмов (*in vivo*) и клетках растущих в культуре (*in vitro*).

Стимулирующее влияние микрогравитации ($10^{-5}g$) различной степени выраженности наблюдалось во всех экспериментах со свободноплавающими одноклеточными организмами. Однако, по мере увеличения силы тяжести (5g) происходило торможение роста, скорости деления клеток и их двигательной активности [Таирбеков и др. 1997].

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 [Таирбеков и др., 1994]. Вместе с тем, были получены и сходные эффекты измененной силы тяжести на клеточном уровне. В частности, общим для всех типов клеток было приобретение клетками в условиях микрогравитации сфероидных форм и в результате уменьшение площади поверхности 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 уменьшению общей площади, занимаемой клетками, и к существенному ослаблению механического контакта клеточного пласта с подложкой (питательным субстратом), 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, увеличению скорости плавания и стимуляции роста популяции.

Вместе с тем, главная причина стимулирующего действия микрогравитации на рост и развитие одноклеточных организмов, с нашей точки зрения, 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, в соотношениях поверхностей газ-жидкость в сторону увеличения общей площади, занимаемой пограничными зонами [Авдуевский, Полежаев, 1985].

Известно, что большинство одноклеточных организмов являются гетеротрофами, проявляют четко выраженный отрицательный геотаксис и положительный окситаксис, их удельная плотность несколько выше плотности воды. В силу этих причин и, в первую очередь, необходимости постоянного снабжения клеток кислородом, ареал их существования - это тонкий слой (~0,5 см.) верхней границы раздела фаз газ-жидкость. Вследствие увеличения общей площади поверхности газ-жидкость при 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 процессов роста и деления клеток. Напротив, с увеличением силы тяжести, в условиях гипергравитации, ситуация меняется с противоположным знаком со всеми вытекающими отсюда обстоятельствами. Увеличиваются затраты энергии на поддержание жизнедеятельности отдельных клеток и популяции в целом.

Таким образом, можно утверждать, что гравитационная чувствительность одноклеточных организмов является функцией их двигательной активности, определяемой уровнем общего метаболизма клетки. Кроме того, учитывая факт существования обратной зависимости между размерами одноклеточного организма и двигательной активностью, можно предполагать, что с уменьшением размеров одноклеточного организма его гравитационная чувствительность будет возрастать.

Отсюда гравитационная чувствительность

$$S_g = E_m/V_c$$

где - E_m - энергия метаболизма, оцениваемая по двигательной активности, V_c - объем.

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 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, иницируя синтез эндогенного фибронектина, способствует повышению адгезивных свойств этих клеток.

Поэтому, 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.

Таким образом, гравитационная чувствительность

$$S_s = (C-C)(C-S)$$

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

Очевидно, что степень реализации этих взаимодействий находится в прямой зависимости от уровня энергозатрат, как отдельно взятой клетки, так и всей клеточной культуры.

Итак, 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 структурно-функциональной организации клеток можно качественно оценить уровнем изменения энергозатрат как отдельно взятой клетки, так и культуры в целом.

Для одноклеточных организмов затраты на движение каждой отдельной особи к источнику кислорода, необходимые для поддержания нормальной жизнедеятельности, находятся в прямой зависимости от величины силы тяжести. Чем выше напряженность гравитационного поля (величина силы тяжести), тем больше энергии необходимо затратить клетке для поддержания своего структурно-функционального статуса [Tairbekov, 1992].

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 являются энергозависимыми. В условиях нормальной силы тяжести (1g) они не требуют «сверхнормативных» расходов энергии. Более того, повышенная сила тяжести способствует сокращению расходов энергии по этой «статье». Напротив, при резком снижении напряженности поля силы тяжести, энергозатраты на обеспечение этих процессов в клетках и во всей культуре возрастают. Очевидно, что в гравитационном поле клетка одновременно испытывает прямое и опосредованное влияние силы тяжести. Прямое влияние этого фактора на клетку как биомеханическую конструкцию, согласно теоретическим положениям, обусловлено наличием разности плотностей внутриклеточных органелл и массы самой клетки, что налагает определенные требования на характер

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 указывают на существование тесной связи между механическими деформациями и изменениями общего метаболизма клетки. Показано, что изменение степени деформации клетки сопровождается пространственным перераспределением внутриклеточных органелл, реорганизацией цитоскелета и изменением уровня энергозатрат [Ingberg, 1997].

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 при взаимодействии клеток с окружающей средой.

Очевидно, что приведенная выше возможность двойственного влияния 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 лежат изменения энергетического пула как отдельно взятой клетки, так и популяции в целом.

По результатам наших исследований можно сделать два основных вывода: во-первых, эффекты измененной силы тяжести, выявленные в культуре клеток *in vitro* и популяции одноклеточных организмов прямо противоположны; во-вторых, в обоих случаях наблюдался широкий спектр изменений, происходящих в клетках в условиях измененной силы тяжести.

Таким образом, накопленный к настоящему времени экспериментальный материал о структурно- функциональной организации и поведенческих характеристиках различных типов клеток в условиях измененной силы тяжести, в том числе и микрогравитации, дает основание выдвинуть ряд предложений в теорию вопроса о механизме адаптации организмов к изменению величины и направления вектора гравитации на молекулярном и клеточном уровнях организации живых систем. Однако для окончательного решения проблемы требуются дальнейшие экспериментальные исследования. Главным в этих исследованиях, на наш взгляд, является получение ответа на вопрос о характере влияния на клетку гравитации не только как самостоятельного фактора, но и как фактора, моделирующего чувствительность клетки к действию физических факторов, в первую очередь сил электромагнитной природы сопутствующих космическому полету, (например космическая ионизирующая радиация, а также ускорения, вибрация и др.).

6. ЭВОЛЮЦИЯ ГРАВИРЕЦЕПТОРНЫХ МЕХАНИЗМОВ

Подвижность - одна из основных характеристик живого состояния, неотъемлемым образом связана с гравитацией, точнее, с возможностью восприятия этого физического

фактора живым объектом и определения полярности в гравитационном поле земли. Вторым базовым свойством активно движущихся живых систем является их способность определять собственные ускорения.

Первое из этих свойств (подвижность), присущее всем без исключения живым системам, несомненно, появилось в самом истоке живого состояния, на самых ранних этапах биологической эволюции, изначально относится к физической сущности (наличию массы). Второе - связанное с силами инерции - стало необходимым для организмов одновременно с развитием у них сложных форм поведения, сопряженных со все более сложными видами движения.

Согласно Винникову (1995), рассматривающему проблему формирования механизмов гравирецепции в эволюционном аспекте, земная сила тяжести (гравитация), наряду с другими факторами среды, такими как, свет, давление, механические и другие импульсы, будучи формообразующими факторами эволюции, «подталкивали» ген к созданию и развитию адекватных механизмов преодоления гравитации.

Морфологическая специализация и локальность соответствующих чувствительных к гравитации органов, как это следует из данных сравнительной физиологии и морфологии гравирецепции, выражены в различной степени у организмов различного уровня сложности и соответствуют - с одной стороны их положению в эволюционной временной иерархии и экологии и поведенческим характеристикам - с другой.

Как уже было сказано выше, физической основой восприятия силы тяжести служит масса живого организма. В качестве действующей (активной) массы, обеспечивающей первичное определение направления вектора гравитации, используются, как специально предназначенные для этого автономные (не закрепленные) компактные образования (отолиты, статолиты), находящиеся внутри (статоциста - у беспозвоночных, макулы (у позвоночных), так и собственно сама масса протоплазмы клетки (у простейших).

В первом случае давление воспринимается специализированными (волосковыми - hair cell) клетками, в основе которых, независимо от степени их сложности, лежит жгутик; во - втором - давление протоплазмы воспринимается механочувствительными ионными каналами нижней мембраны.

Рассмотрим эволюцию гравирецепторов по мере усложнения организма.

6.1. Простейшие (Protists)

Механизм подвижности и сенсорная организация одноклеточных организмов предполагают, что у индивидуальных клеток способность использовать ресурсы жидкой среды для поддержания жизнедеятельности сформировалась до появления у них сенсорных систем [Machamer et al, 1991].

Первичные сенсомоторные механизмы простейших, регулируя их подвижность, обеспечивают им доступ к источникам питания, а также ориентирование в пространстве. Два принципа локомоции; плавание вращением («кувыркание») и толчковые реакции (реверсирование) используются одноклеточными (прокариотами и эукариотами) для передвижения в пространстве и обеспечения доступа к объектам биосферы. Однако нет указаний на то, что подвижность сама по себе могла бы устанавливать какую-либо размерность мира клеток. Увеличение размеров клеток в ходе эволюции у простейших, продиктованное иными обстоятельствами, привело к необходимости появления у них крайне чувствительных механорецепторов для преодоления седиментации под действием силы тяжести. Полярная и/или градиентного типа организация мембранных рецепторов у одноклеточных организмов, деформируемых давлением, обеспечивает им определение вектора гравитации и позволяет устанавливать направление в биосфере - ее вертикальную ось.

Гравикинез предположительно использовался на ранних этапах эволюции для получения клеткой пространственной информации. Увеличение объема и количества физиологически управляемых и непосредственно ориентированных движений у простейших (например,

фототаксис, хемотаксис) также связано с возможностью определения таких параметров как свет или пища. В таксисах используется лишь одно направление пространства (свет/темнота, вверх /вниз).

Первые указания на использование второго измерения пространства имеются в отношении реснитчатых, (например, у *Paramecium*).

Описана современная модель, объясняющая поведение парамеции, построенная на основе ее гравитационной чувствительности (Mogami, Vaba, 1998). Согласно этой модели у *Paramecium*, в момент восприятия гравитационного импульса происходит деполяризация ионных каналов механорецепторов, локализованных в передней и гиперполяризация таковых в постериорной части клетки. Благодаря существованию тесной связи между значением мембранного потенциала и локомоторной активностью ресничек происходит изменение направления плавания вдоль спиральной траектории плавания.

Гравитационная ориентация у жгутиковых *Euglena* опосредована скорее активным физиологическим рецептором, чем пассивным выравниванием клеток по отношению к силе тяжести. В этом случае, возможно, имеет место активация чувствительных к давлению специфических кальциевых ионных каналов. Цепь сенсорной передачи может включать в себя мембранный потенциал с момента, когда блокаторы канала, ионофорез и ингибиторы АТФ-азы угнетают гравирецепцию [Hader et al., 1998].

В некоторых случаях у простейших формируется локальный гравирецептор в виде специализированной внутриклеточной органеллы. Так, например, у реснитчатых семейства *Loxodes* развилось трансцеллюлярное включение т.н. «органелла Мюллера», представляющее собой конкреции солей Ca^{++} окруженных мембраной [Block et al., 1999]. Высказываются и общие представления о порогах чувствительности. Показано, что пороговое значение для восприятия гравитационного стимула, для *Loxodes striatum* составляет около 10% от гравитационного поля земли, т.е. 0,1g. [Hemmersbach et al., 1999a,b].

Однако для подавляющего большинства одноклеточных организмов механизм гравирецепции основан на ориентационно-зависимых изменениях проводимости ионных каналов, осуществляемой благодаря существованию тесной связи между мембранным потенциалом и локомоторной активностью ресничек.

Это обеспечивает изменения направления плавания вдоль спиральной траектории следующим образом: сдвиг вверх оси спирального плавания, происходит вследствие гиперполяризации мембраны, а сдвиг вниз оси спирального плавания - вследствие деполяризации мембраны.

Вместе с тем высказывается также мнение, что тело клетки в целом, скорее, чем отдельные внутриклеточные органеллы, действует как статолит [Hader et al., 1997]. В результате цитоплазма создает давление на нижнюю мембрану, что в свою очередь активизирует чувствительные специфические ионные каналы.

Эти изменения являются первым звеном в сенсорной цепи передачи информации о гравитационном импульсе. В дальнейшем имеет место модуляция мембранного потенциала, приводящая к формированию гравитационного ответа. [Hemmersbach, Tairbekov, Gavrilva, 1999].

Среди прямых физических факторов эволюции локомоторно-сенсорной системы (ЛСС) гравитация играет основополагающую роль. На молекулярном уровне элементы «ЛСС» образуют основу формирования генов, контролирующих синтез белковых молекул: тубулина и динеина. Эти белки, обладающие высокой степенью АТФ-азной активности, лежат в основе сократительных элементов двигательного аппарата всех без исключения простейших одноклеточных организмов: ресничек или жгутиков.

6.2. Моллюски

Определенный интерес представляет организация гравирецепторов у моллюсков и различных обитателей планктона. Все еще мало известно относительно естественной

истории студенистых обитателей планктона, а их сенсорная экология остается областью догадок, основанных на ограниченных данных по морфологии, физиологии и поведенческим характеристикам.

Значительный состав сенсорных структур описан и для пелагических туникат, например, различной сложности фото - механо - и хеморецепторы.

Пелагические оболочники находятся в числе наиболее широко распространенных и многочисленных представителей студенистого зоопланктона, демонстрирующих широкий спектр поведения, которое, по-видимому, отражает характер их среды. Очевидно, что для их функционирования необходимы разнообразные виды информации. Так, например, информация необходима для поиска источников пищи или избегания хищника. Это должно повлиять на сенсорику т.н. ближнего действия - визуальных, механических и химических источников до информации дальнего действия - такой как гравитация, свет, температура, давление, механическая деформация и т.д. [Мадт, 1995]. Эти виды чувствительности весьма существенны для осуществления таких жизненно важных действий как вертикальная миграция популяции, онтогенетическая миграция, агрегация и репродукция. Наиболее адекватным объектом для этих исследований механизма гравирецепции у моллюсков могут служить гребневики *Borve*, простейшие многоклеточные беспозвоночные отряда кишечнополостных.

Тело гребневика обладает радиальной симметрией с восемью рядами гребных пластинок, проходящими сверху вниз по бокам. В свою очередь, гребные пластины состоят из ресничек, биение которых перемещает животное в воде. Ряды пластинок сгруппированы в четыре пары, каждая из которых контролируется как самостоятельная единица. Гребные пластины всегда активны, если только биение ресничек не тормозится. В верхней части тела гребневика находится орган равновесия - статоцист, содержащий твердые частички предположительно солей Ca^{++} или Ba^{++} . Статоцист поддерживается четырьмя пучками ресничек. От каждого пучка тянется цепочка нейронов к гребным пластинам соответствующей стороны. Когда тело животного находится в вертикальном положении, статоцист давит на все четыре пучка с одинаковой силой (равномерно) и все ряды гребных пластинок подвергаются нервной стимуляции в одинаковой степени. При изменении положения тела животного относительно вектора гравитации статоцист производит довольно большее давление на один из пучков, (тот, что находится ниже) и меньшее на другие (расположенные выше). В результате нервная стимуляция становится неравномерной, биение ресничек в районе погружения усиливается, а в остальных трех замедляется, и через некоторое время положение тела у гребневика выравнивается.

Медузы управляют положением своего тела в пространстве и движением сходным образом, но статоцист у них не один и органами движения служат не реснички гребных пластинок, а мышцы что свидетельствует о более высоком уровне развития медуз. Описанный выше механизм не сводится лишь к поддержанию тела животного в постоянном положении, но охватывает еще и такую функцию как управление движением. Гравитационно-чувствительный орган у другого представителя кишечнополостных *Aplysia californica* состоит из билатерально параллельных статоцистов, содержащих статосомы, представляющие собой кристаллы карбоната кальция $CaCO_2$ на органическом матриксе [Volkman, Tewmkel, 1996]. В период раннего эмбрионального развития *Aplysia* содержит всего одну гранулу, называемую статолитом. Развитие статокониев имеет место при созревании животного.

Гравирецептор осьминога *Octopus*, относящегося к отряду головоногих, представлен макулой, содержащей рецепторные волосковые клетки. Представляется вероятным, что эти образования являются вторичными сенсорными клетками в гравирецепторной системе [Budelmann, Thies, 1977].

Первичные сенсорные клетки у них представлены афферентными нейронами, которые, очевидно, являются элементами первого порядка. Афферентные синапсы осуществляют связь между вторичными сенсорными клетками (волосковые клетки) и афферентными

нейронами. Однако в этих клетках не найдено аксонов. Вместе с тем выявлены синапсы с визикулами внутри рецепторных клеток.

Исследована нейрональная и синаптическая организации сенсорного эпителия (макула) гравирецепторной системы *Octopus vulgaris* при помощи реконструкции ультратонких серийных срезов на электронном микроскопе [Colmers, 1977]. Описаны три типа афферентных нейронов: униполярные, биполярные и мультиполярные.

Присутствие моно- би- и мультиполярных нейронов под волосковым клеточным эпителием гравирецептора осьминога было продемонстрировано при помощи ионофоретического окрашивания кобальтом [Budelmann, Wolff, 1976]. Установлено, что на каждую макулу в среднем приходится около 2000 нейронов.

6.3 .Рыбы

У позвоночных гравирецептор представлен утрикулусом и группой гравичувствительных клеток-макулой (macula-пятно), образующих собственно сенсорную часть рецептора. Орган равновесия у позвоночных три полукружных канала, расположенные в трех взаимно-перпендикулярных плоскостях (у миног два, у миксин один полукружный канал). Перепончатые полукружные каналы заполнены эндолимфой и помещаются в хрящевых или костных тканях. Вблизи от утрикулуса имеются расширения каждого из каналов (ампула) с внутренней рецепторной структурой гребешком (кристой) из упорядоченно-расположенных чувствительных клеток, волоски которых пронизывают канальца купулы. Изменение положения тела или головы животного вызывает смещение купул эндолимфы. раздражающих чувствительные клетки и их волоски, что приводит к появлению потенциалов действия в отходящих от лабиринта нервных волокнах. Таковы общий план строения и принцип функционирования органа равновесия у позвоночных.

Устройство и функциональные особенности гравирецепторов и органа равновесия рыб изучены достаточно хорошо [Винников, 1995]. Так, например, у конголезкой кошачьей рыбы *Synodontis nigriventris* утрикула и препараты полукружных каналов были исследованы при помощи световой и электронной микроскопии [Muller et al.,1996].

Было показано, что макула утрикулы включает в себя вентральный, латеральный и дорсальный регионы. Киноцилия и стериовиллии клеток рецептора выступают в просвет утрикулы с трех направлений: вентрального, латерального и дорсального, что позволяет рыбе определять направление вектора гравитации во время плавания на спине, так же, как и в нормальном положении.

Макула может быть подразделена на три клеточные области, внутри которых киноцилии волосковых клеток ориентированы различным образом, в результате чего рыба может определять линейное ускорение в различных направлениях плавания.

Гребни в ампулах полукружных каналов включают в себя четыре различные зоны. Каждая из них характеризуется шириной чувствительного эпителия, углом рецепторных клеток и их пучками ресничек относительно поперечной оси ампулы, длиной киноцилия, высотой и шириной ассоциированной части купулы и наличием или отсутствием контактов купулы с поддерживающими клетками чувствительного эпителия. Удлиненные гребни связаны каждым из своих концов с широкими приподнятиями. Эти краевые приподнятия характерны для *Synodontis nigriventris* и, по-видимому, представляют собой приспособление для плавания в перевернутом положении на спине. Латеральный гребень асимметричен, а все три ампулы стериовиллия направлены к центру.

В другой работе [Nindl et al.,1996] была исследована региональная метаболическая активность сенсорного эпителия внутреннего уха цихлидовых рыб *Oreochromis mossambicus*, для чего гистохимическим методом определяли уровень цитохромоксидазной активности.

Характеристика распределения митохондрий, имеющих высокую активность фермента, была исследована в сенсорных и не сенсорных клетках отолитового аппарата взрослых животных. Была показана четкая корреляция содержания количественного фермента с

энергетическими потребностями исследованных структур.

Результаты космического эксперимента, проведенного на SLS-54 [Sebastian et al., 2001] показали, что в условиях микрогравитации энергообмен утрикулы (но не саккулы) снижается, тогда как в условиях гипергравитации (3g) этот показатель превышает норму. Более того, гипергравитация во всех трех случаях (2g, 2,5g, 3g) ускоряла морфологическое развитие. Таким образом, условия измененной силы тяжести оказывают заметное влияние на ход развития и функциональные характеристики клеток нейрональной сети. При этом наиболее чувствительными являются ранние стадии развития рецепторных структур.

Таким образом, общая картина сенсорной системы, в том числе и гравичувствительной, у рыб представляет собой следующую организацию.

Основу структуры составляют утрикула и полукружные каналы. Макула утрикулы включает три зоны: вентральную, латеральную и дорсальную. Киноцилия (kinocilia) и стереовилли (stereovilli) клеток рецептора выступают в просвет утрикулы с трех направлений: вентрального, латерального и дорсального. Эти особенности позволяют рыбе определять направление вектора гравитации во время плавания на спине так же безошибочно, как и в нормальном положении.

В процессе эволюции утрикула и саккула сохранили за собой функции основных гравирецепторных органов вестибулярной системы высших позвоночных-млекопитающих. Вместе с тем, вестибулярная система высших млекопитающих содержит чувствительные волосковые клетки, сохранившиеся на протяжении всей эволюции позвоночных. Эти клетки имеют непосредственное отношение к одной из древнейших сенсорных систем, ответственных за сохранение положения тела животного в пространстве, то есть проявлению чувства равновесия.

Обсуждение физиологических механизмов, лежащих в основе деятельности вестибулярного аппарата высших млекопитающих, в том числе и человека, является самостоятельной задачей и выходит за рамки настоящей работы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ:

Обширный экспериментальный материал, накопленный в литературе по проблемам гравитационной биологии, позволяет утверждать, что в основе процессов, ответственных за сохранение и поддержание физиологического гомеостаза организма при изменении параметров гравитационного поля, лежат молекулярные и клеточные механизмы регуляции.

Существующие на сегодняшний день теоретические положения о механизме восприятия и реализации гравитационного стимула в клетке основаны на правилах, описывающих клетку как неравновесную динамическую систему.

Исследования с клеточными моделями позволяют сделать заключение, что регуляторные функции в клетке выполняют механохимические механизмы. Это означает, что вариации в степени напряженности внутриклеточных элементов, возникающие вследствие перестройки цитоскелета и пространственного перераспределения органелл, являются одной из основных причин изменения метаболической активности клетки. Для реализации структурно-функциональных перестроек в клетке, вызванных внешними возмущениями, в том числе и изменением величины и направления гравитационного вектора, необходимо, чтобы внешний сигнал был воспринят специальными рецепторами, расположенными на поверхности клеточной мембраны.

В этом случае в качестве биологической «антенны» выступают механорецепторы, трансформирующие гравитационный сигнал во внутриклеточный континуум.

Вместе с тем, наличие механорецепторов является обязательным, но не достаточным условием для осуществления гравирецепторной реакции. Дело в том, что в гравитационном поле все структурные элементы клетки обладают весом и потенциальной энергией, величина которой зависит от их массы. Масса структур определяет степень их механического напряжения в клетке, а также влияет на количественное распределение

энергии, необходимой для осуществления внутриклеточных процессов. Любой процесс, протекающий в клетке (синтез структурных элементов, эндоцитоз, экзоцитоз, деление клетки), связан с движением. В структурированной цитоплазме, где диффузия пространственно ограничена, основную роль играет направленный транспорт (конвективные потоки) требующий затрат энергии, количественно определяемой весом перемещаемых структур. Отсюда ясно, что изменение величины и направления вектора гравитации должно влиять на скорость перемещения внутриклеточных частиц.

Для взаимодействия клетки с факторами окружающей среды необходимы; либо непосредственный механический контакт между клеткой и данным фактором, либо использование разного рода посредников - рецепторов, обеспечивающих это взаимодействие. В обоих случаях это взаимодействие должно привести к изменению уровня метаболической активности клетки. Исходя из общей концепции существования клетки, наиболее важными для обсуждаемой проблемы являются два условия: наличие механической напряженности клетки, с одной стороны, и сохранения состояния термодинамического равновесия - с другой. В первом случае это поддержание позиционного гомеостаза, во-втором, неравновесного, но устойчивого стационарного состояния.

Наличие структурной целостности элементов, обеспечивающих механизм передачи сигналов с поверхности клетки во внутриклеточный континуум, гарантирует быструю и надежную связь между ядром и цитоплазмой, что в свою очередь позволяет клетке сформировать ответную реакцию на внешнее раздражение - гравитационный стимул.

Как известно, гравитационное поле является источником очень слабых сигналов в биологических системах, такого уровня организации как клетка. Для того чтобы эти сигналы были восприняты клеткой и трансформированы во внутриклеточные структуры, этот сигнал должен быть многократно усилен и «отфильтрован».

Усиление уровня сигнала может быть достигнуто, прежде всего, при его фокусировании с последующей аккумуляцией в небольшой точке, сравнимой по размерам с точкой сфокусированного светового луча. Причем, время фокусирования сигнала должно совпасть с переходными процессами в клетке, которые сами по себе существенно повышают чувствительность клетки к внешним воздействиям. Кроме того, для передачи функционально значимого сигнала необходимы случайные бифуркации (возмущения) в системе.

Следует иметь в виду, что в разные периоды жизнедеятельности клетки (клеточного цикла) ее структуры, метаболизм и локомоции активированы не в одинаковой степени. Отсюда и чувствительность перечисленных параметров к тем или иным факторам, в том числе и гравитационному фактору, может усиливаться или ослабевать.

Так, например, во время деления клетки вклад силы тяжести будет наиболее значимым для процессов, обеспечивающих синтез нуклеиновых кислот (ДНК, РНК), формирование ядерного аппарата и генома клетки в целом, тогда как в период между делением (интерфазе) наибольший вклад сила тяжести вносит в процессы транспорта веществ через мембрану, их синтез во внутриклеточном объеме и поддержание структурной целостности клетки.

Из приведенных выше рассуждений можно сделать ряд основополагающих выводов.

1. Молекулярные механизмы адаптации к измененной силе тяжести, как правило, неспецифичны, и во многом сходны с механизмами приспособительных реакций к другим, традиционным факторам окружающей среды; высоким и низким температурам, широкому спектру влияния электромагнитных волн, механическим воздействиям и др.

2. Очевидно, что клетка в гравитационном поле испытывает одновременно прямое и опосредованное влияние силы тяжести. Согласно теоретическим предположениям, основанным на анализе экспериментальных данных, прямой (непосредственный) эффект гравитации базируется на разности плотностей внутриклеточных структур, тогда как опосредованный эффект на клетку имеет место вследствие наличия разницы плотностей между самой клеткой и окружающей средой. В обоих случаях в качестве окружающей

среды выступает жидкость. В первом это неструктурированная часть внутриклеточного объема - цитоплазма, во-втором: для одноклеточных организмов - вода, а для клеток, функционирующих в составе многоклеточного организма - кровь, лимфа и межклеточная жидкость.

3. По всей вероятности процессы, определяющие гравитационную чувствительность клеток, являются энергозависимыми, так как в любом случае, при изменении величины силы тяжести происходит изменение энергетического пула клетки и популяции в целом. Для одноклеточных организмов затраты энергии на движение каждой отдельной особи к источникам кислорода и света находятся в прямой зависимости от силы тяжести. Для клеток, растущих в культуре *in vitro*, энергозависимыми являются межклеточные взаимодействия и надежность клеток с субстратом (адгезия).

За последнее десятилетие в области гравитационной биологии клетки решены следующие задачи:

-установлены закономерности роста, морфофункциональный статус и поведенческие характеристики одноклеточных организмов (*in vivo*) и клеток в культуре (*in vitro*) в условиях измененной силы - определены комплексы внутриклеточных структур и процессов, ответственных за восприятие и реализацию гравитационного стимула в клетке

-выявлены вероятные механизмы гравитационной чувствительности различных типов клеток и клеточных ассоциаций.

Это дало возможность, прежде всего, сформулировать и обосновать гипотезу о механизме гравитационной чувствительности одноклеточных организмов. Суть этой гипотезы состоит в том, что гравитационная чувствительность (толерантность) одноклеточного организма как самостоятельной и самодостаточной биологической системы есть функция от ее двигательной активности.

В самом деле, у подавляющего большинства одноклеточных организмов, основные энергозатраты связаны в первую очередь с обеспечением их двигательной активности. Очевидно, что размеры этих организмов позволяют им сохранять равновесие между деструктивным влиянием силы тяжести, с одной стороны, и защитной ролью внутриклеточных процессов, связанных с интенсивным движением цитоплазматических структур - с другой. Непрерывное движение (локомоции) необходимо для сохранения позиционного гомеостаза одноклеточных организмов в гравитационном поле. В случае же с многоклеточными организмами, функции противодействия силе тяжести берут на себя опорная (у растений) и опорно-двигательная (у животных) системы.

Затраты энергии на поддержание и функционирование этих систем составляют большую часть общих энергозатрат у наземных многоклеточных организмов.

Не меньшее значение имеют результаты исследований гравитационной чувствительности клеток, растущих в культуре *in vitro*, которые позволили изучить влияние силы тяжести на такие аспекты жизнедеятельности клеток как пролиферативная активность, дифференциация, подвижность и межклеточные контакты. Совокупность этих характеристик, представляющих «клеточный фенотип» отражает «фенотип организма» в целом. Такой подход к проблеме дает возможность проследить и проконтролировать общие пути «структурогенеза», т.е. особенности процесса создания интегрированных макроструктур (клеточных колоний) являющихся первым звеном морфогенеза.

Для гравитационной биологии наиболее важным является получение ответа на два вопроса.

1) На самом ли деле, изменения, наблюдаемые в условиях микрогравитации, приводят к изменению поведения клеток, и, если это так, то происходит ли это благодаря сдвигу процессов передачи сигнала в клетке и механизма клеточной дифференцировки?

2) Насколько глубоко эти изменения затрагивают генетический аппарат клетки? Другими словами, может ли микрогравитация вызывать экспрессию генов?

Практический аспект проблемы для космической биологии и медицины состоит в возможности использования клеточных систем для изучения состояния определенных

физиологических характеристик организма человека в условиях невесомости. Вместе с тем, ряд наблюдений в исследованиях, выполненных в космическом полете дают повод для некоторых спекуляций в области молекулярной биологии, генной инженерии и фармакологии, которые можно объединить в одно общее направление - биотехнологию.

После выявления факта наличия гравитационного эффекта на скорость деления клеток, доказанного экспериментами на различных типах клеток и одноклеточных организмах, следующей ступенью фундаментальных исследований должно быть выяснение причин этого эффекта. И здесь нельзя обойтись без изучения глубинных механизмов, регулирующих внутриклеточный метаболизм. Эта проблема, зависит, во-первых, от выяснения возможности влияния гравитационного фактора на экспрессию генов, связанных со специфическими продуктами, например цитокином, и контролирующих этот процесс на ранних стадиях, генами *c-fos*, *c-jun* и *c-myc*, во-вторых, от степени влияния на обмен генетическим материалом между клетками.

ЛИТЕРАТУРА

- Авдуевский В.С., Бармин П.В., Гришин С. Д. и др.* Проблемы космического производства. М. «Машиностроение», 1980, 221с.
- Авдуевский В.С., Полежаев В.И.* Невесомость - модель - эксперименты в космосе. В кн. «Наука и человечество». М. «Знание», 1985, с.221-226.
- Белинцев Б.Н.* Физические основы биологического формообразования. М. «Наука», 1991
- Васильев Ю.М., Гельфанд И.М.* Взаимодействие нормальных и неопластических клеток со средой. М. «Медицина», 1970, 242с.
- Винников Я.А.* Гравитационные механизмы взаимодействия сенсорных систем беспозвоночных в эволюционном аспекте. Авиакосмич. и экологич. мед., 1995, № 1, с. 4-19.
- Габова А.В., Табаков В.Ю., Таурбеков М.Г.* Гравитационная чувствительность эукариотических одноклеточных организмов. Космич. биол. и авиакосмич. мед., 1991, №1, с.33-37.
- Гельфанд В. И.* Цитоскелет как механохимическая система. Отчет МГУ. 1994, с. 47-72.
- Глазер Р.* Очерк основ биомеханики М. «Мир», 1988, 128с.
- Земское В.С.* Новые научные представления о процессах кристаллизации растворов. Труды 7-го Российского Симпозиума «Механика невесомости». 2000, ИПМ РАН, с. 34-51
- Ирлина КС, Габова А.В., Райков КБ., Таурбеков М.Г.* Влияние условий космического полета на скорость размножения, морфологию клеток, содержание ДНК и белка у инфузорий *Teirahymena pyriformis*. Цитология, 1989, Т.31, №7, с. 829-838
- Кордюм В.А.* Биологические эффекты как следствие механохимических процессов и возможный механизм клеточной гравивосприимчивости. Киев, 1997, 123с.
- Пригожий И.* Время, структура, флуктуации. Успехи физич. наук, 1980, Т. 131, с. 185-207.
- Регирер С. А., Штейн А.А., Логвенков С.А.* Свойства и функции костных клеток: биомеханические аспекты. Современ. проблемы биомеханики. Изд. МГУ, 2000. с. 175-224.
- Романов Ю.А., Кабаева Н.В., Буравкова Л.Б.* Гравичувствительность эндотелия человека. Авиакосмич. и эколог.мед, 2000, № 4, с. 23-26
- Смит А.* Основы гравитационной биологии. В кн. Основы космической биологии и медицины: М. Наука, 1975, Т.2, кн.1, с. 141-176
- Таурбеков М.Г.* Физиологические механизмы адаптации клетки к измененной силе тяжести. В кн. Результаты исследований на Биоспутниках, М. «Наука», 1992, с.299-306
- Таурбеков М.Г.* Общие принципы гравичувствительности клеток. Изв. РАН (сер. биол.). 1996, т. 23, №2, с.133-140.
- Таурбеков М.Г.* Гравитационная биология клетки. М. 1997, 127с.
- Таурбеков М.Г.* Клетка как гравичувствительная биомеханическая система. Авиакосмич. и экологич. мед., 2000, №2, с. 3-17.
- Таурбеков М.Г., Габова А.В., Табаков В.Ю.* Культура одноклеточных организмов в гравитационном поле. Биотехнология, 1991, №2, с. 44-47.
- Таурбеков М.Г., Морголис Л.Б. и др.* Рост и подвижность клеток в культуре (*in vitro*) в условиях микрогравитации. Изв. РАН (сер. биол.), 1994, № 5, с. 745-750.
- Таурбеков 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,с.266-273
- Таурбеков М.Г., Климовицкий В.Я., Оганов В.С.* Роль силы тяжести в эволюции живых систем Изв.РАН (сер.биол.) 1997, № 5, с.517-530
- Тренкаус П.С.* От клетки к органам. М. «Мир», 1972, 185с.
- Холодный Н.Г.* Современная физико-химическая теория раздражимости. Изв. Петроград. Науч. Ин-та им. Н.Ф. Лесгафта, 1922, №5, с. 19-35
- Шбирси 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.
- Шмидт-Нильсен К.* Как работает организм животного. М. «Мир», 1976, 156 с.
- Штейн А.А.* Приложение методов механики сплошной среды к моделированию роста

- биологических тканей. В кн. «Сов. проблемы биомеханики». Изд. МГУ, 2000, с.148-173
Ястребов А.П., Осипенко А.В. Система крови и регенерация костной ткани. Свердловск, Изд. Уральского Ун-та, 1990, 124 с.
- Ajubi. K, Klein-Nulend J., Alblas M. et al.*, Signal transduction pathways involved in fluid flow - induced PGE₂ production by cultured osteocytes. *Amer. J. Physiol.*, 1999, V.276, p.p.171-178.
- Albrecht-Buechler G.* In defense of non-molecular cell biology. *Int. Rev. of Cytol.*, 1990, V.120, p.p. 191-241.
- Albrecht-Buechler G.* Possible mechanisms of indirect gravity sensing by cell. *ASGSB Bulletin*, 1991, V.4, p.p.25-34.
- Banes A., Sanderson M., Biatono S. et ai*, Mechanical load + - growth factor induce [Ca⁺⁺] release, cyclic D) synthesis and cell division in tendon cell. *Cell Mechanics and Cellular Engm.*,1994, N-Y, p.p.210-232
- Barocas V., Tranquillio R.* Biphasic theory and *in vitro* assays of cell-fibril mechanical interactions in tissue-equivalent gels. *Ibid*, 1994, p.p. 185-209.
- Bjorkmann T.* Perception of gravity by plants. *Adv. Space Res.*, 1988, V.15, p.p. 1-14.
- Block I., Wolke W., Briegleb K., et ai*, Gravitresponse of *Physarum*- investigation in actual on weightlessness. *Cell Biol. Int. Rep.*, 1992, V.16(1), p.p.1097-1102
- Block I, Frieberger F., Gavrilova O., Hemmersbach R.* Putative graviperception mechanisms of protests. *Life Sci. Microgravity Res.* 1999, V.24, p.p. 877-882.
- Boncinelli P., Vanini P.* Gravitational effects on biological systems. *J. Gravit. Physiol.*, 1998, V.5, N.2, p.p.51-54.
- Bonini N., Guatin M., Nelson D.* Regulation of the ciliary motility by membrane potential in *Paramecium*: a role of cyclic AMP. *Cell Motility Cytoskelet.*, 1986, V.6, p.p. 256-272.
- Bomens M.* The centriole as a gyroscopic oscillator. Implication for cell organization and some other consequences. *Biol. Cellulare*, 1979, V.135, p. p.115-132.
- Briegleb W.* Ground borne methods and results in gravitational cell biology. *The Physiologist*, 1988, V.31, p.p. 44-47
- Brighton C, Fisher S. et al.*. The biochemical pathway mediating the proliferative response of bone cells to the mechanical stimulus. *J. Bone Joint Surg.*, 1996, V. 78,N.9,p.p.1337-1347.
- Budelmann B., Wolff H.* Mapping of neurons in the gravity receptor system of the *Octopus* statocyst by ionophoretic cobalt staining. *Cell Tissue Res.*, 1976, V.171, N.3,p.p.403-406.
- Budelmann B., Thies G.* Second sensor cells in gravity receptor systems statocyst of *Octopus*. *Cell Tissue Res.*, 1977, V. 182, N.1, p.p. 93-98.
- Buck C, Horowitz A.* Cell surface receptors for ECM-molecules. *Ann. Rev. Cell Biol.*, 1987, V.3, p.p. 179-205.
- Chapek F.* Untersuchungen zum Geotropismus. *Jahrb. Wiss. Bot.*, 1895, B. 27, 243-339.
- Chapman F., Sudzuki C, Walter P.* Intracellular signaling from the endoplasmatic reticulum. *Ann. Rev. Cell and Develop. Biol.*, 1998, V.14, p.p. 459-485.
- Colmers W.*, Neuronal and synaptic organization in the gravity receptor system on the statocyst of *Octopus vulgaris*. *Cell Tissue Res.* 1977, V.185 , N.4, p.p. 491-503.
- Cowin S.* Bone stress adaptation models. *J. Biomech. Eng.*, 1993, V.115, N.4, p.p.528-533.
- Dennis E., Rhee S., et al.*, Role of phospholipases in generation lipid second messengers in signal transduction. *FASEB J.*, 1991, V.5, N.4, p.p.2068-2077.
- DesRosiers E., Methot S. et al*, Metabolic response of ACL/PCL and PT fibroblasts submitted to *in vitro* mechanical stimulation. 2nd World Congr. Biomech., 1994, V.1, Amsterdam, p.205
- Dixon S., Aubin J., Dainty J.* Electrophysiology of a clonal osteoblasts-like cell: evidence for the existence of a Ca²-activated K⁺ conductance. *J. Membr. Biol.*, 1984, V.80, N.1, p.p.49-58.
- Duncan R., Harter L., et al.*, Regulation of stretch activated cation channel activity via the cytoskeleton and similar to hormonal modulation. *Mol. Biol. Cell*, 1992, V.3..p.p.31-43.
- Duncan R., Hruska K.* Chronic, intermittent loading altars mechanosensitive channels characteristics in osteoblasts-like cells. *Amer. J. Physiol.*, 1994, V.267, N.6, p.p.909-916.
- Duncan R., Turner C.* Mechanotransduction and the functional response of bone to mechanical

strain. *Calcif. Tissue Int.*, 1995, V.57, N.5, p.p. 344-358.

Economos A. Gravity, metabolic rate, and body size of mammals. *The Physiologist*, 1979, V.22, N.6, p.p.101-103.

Fenchel T., Finlay B. Geotaxis in the ciliated protozoon *Laxodes*. *J. Exp. Biol.*, 1984, V.110, p.p.17-132.

Fenchel T., Finlay S. The structure and function of Muller vacuoles in *Loxodion* ciliates. *J. Protozool.*, 1986, V.33, p.p.69-76.

Folkmann J., Mascona F. Role of cell shape in growth control. *Nature*, 1978, V.273, p.p.345-349.

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

Gruener R., Hoeger G. Vector-averaged gravity alters myocyte and neuron properties in cell culture. *Aviation, and Space Environ. Med.*, 1991, V.62, p.p.1159-1165.

Guggino S., LaJeunesse D., et al. Bone remodeling signaled by a dihydropyridine and phenylalkylamine - sensitive calcium channel. *Proceed. Nat. Acad. Sci. USA*, 1989, V.86, N.8, p.p. 2957-2964.

Haberland C. Uber die Perception das geotropischen Reizes. *Ber. Detsct. Bot. Ges.* 1900, B.18, N.5, 261-270.

Hader D., Lebert M., Richter P. Gravitaxis and graviperception in *Euglena gracilis*. *Life Sci. Microgravity Res.*, 1998, V.33, p.p. 123-134.

Heegaard J., Beaupre G., Carter D. Early stage morphogenesis in diarthrodial joints. 2nd World Cong. Biomech. 1994, V.2 Amsterdam p.14

Hemmersbach-Krause R., Briegleb W., Hader D. Dependence of gravitaxis in *Paramecium* on oxygen. *Eur. J. Protistol.*, 1991a, V.27, p.p.278-282.

Hemmersbach-Krause R., Briegleb W., Hader D. Gravity effects in *Paramecium* cells: an analysis of a possible sensory function of trichocysts and simulated weightlessness on trichocysts exocytosis . *Eur. J. Protistol.*, 1991 b, V.27, p.p.85-92.

Hemmersbach R., Voormans R., Bromies N. et al., Comparative studies of the graviresponses of *Paramecium* and *Loxodes*. *Adv. Space Res.*, 1998, V.21, p.p. 1285-1289.

Hemmersbach R., Volkman D., Hager D-P. Graviorientation in Protists and Plants. *J. Plant Physiol.*, 1999a, V. 154, p.p. 1-15.

Hemmersbach R., Tairbekov. M., Gavrilova O. et al., Morphology and Physiology of *Loxodes* after cultivation in Space. *ESA*, 1999b, p.p.72-87.

Howard J., Roberts N, Hudspet H. Mechano-electrical transduction by hear cells. *Ann. Rev. Biophys. Chem.*, 1988, V.17, p.p. 47-53.

Hughes-Fulford M. Changes in gene expression and signal transduction in microgravity. *J. Gravit. Physiol.*, 2001, V.8.N.1, p.p. 1-4.

Ingberg D. Fibronectin controls capillary endothelial cell growth by modulation of cell shape. *Proceed. Natl. Acad. Sci. USA*, 1990, V.87, p.p. 3579-3583.

Ingberg D. Tensegnty: the architectural basis of cellular mechanotransduction. *Ann. Rev. Physiol*, 1997, V.59, p.p.575-599.

Ingberg D., Folkmann F. Tension and compression as basic determinants of cell forms and function. In: *Cell Shape*, 1989, Acad. Press, N-Y, p.p. 3-31.

Jones D., Nolle H., Scholubbers J. et al, Biochemical signal transduction of mechanical strain in osteoblast-like cells. *Biomaterials*, 1991, V.12, N2, p.p.101-110.

Jones D., Leivseth G. Different mechanical strain mode effects in osteoblasts - like cells. *J. Bioch. & Cell Biol*, 1995, V.73, N.7-8, p.p. 1-25,

Jones D., Levseth G., Tenbosch J. Mechano-reception in osteoblasts- like cells. *Biochem. Cell Biol.*, 1995, V.73, N.7-8, p.p. 525-534.

Klaus J., Todd P. et al., Functional weightlessness during clinorotation of cell suspensions. *Adv. Space Res.*, 1998, V.21, p.p.1315-1318.

Klein-Nulend J., Van der Plas A. et al., Sensitivity of osteocyte to biomechanical stress *in vitro*. *FASEBJ.*, 1995, V.9.N.5, p.p. 441-445.

- Kondepudi D., Prigogine I. Sensitivity of nonequilibrium chemical systems to gravitational fields. *Adv. Space Res.*, 1983, V.3, p.p.171-184.
- Kondepudi D., Storm P. Gravity detection through bifurcation. *Adv. Space Res.*, 1992, V.12,N.1,p.p.7-14.
- Kuroda K., Kamiya N. Propulsive force of *Paramecium* as revealed by the centrifuge microscope. *J. Exp. Cell Res.*, 1966, V.49, p.p.1063-1072.
- Kunznicki L. Behaviour of *Paramecium* in gravity field: sinking of unmobilized specimens. *Acta Protozoologica*, 1968, V.6, p.p.109-121.
- Lorenzi G., Perbal G. Actin filaments responsible for the location of the nucleus in the *Lentil* statocyte are sensitive to gravity. *Biol. Cell*, 1990, V.68, p.p.259-263.
- Machamer H., Machamer-Rohnisch R et al., Gravikinesis in *Paramecium*: theory and isolation of a physiological response to the natural gravity vector. *J. Comp. Physiol.*, 1991,V.168, p.p.1-12.
- Machamer H. Braucher K. Graviperception and graviresponses in ciliates. *Acta Protozool*, 1992a, V.31, p.p. 185-214.
- Machamer H. Braucher K. et al, Short-term microgravity to isolate graviperception in cells. *Micrograv. Sci. Tech*, 1992b,V.5, p.p.119-123.
- Machamer-Rohnisch R, Machamer H. et al., Electric-field effects on gravikinesis in *Paramecium*. *J.Comp.Physiol.*, 1996, V.179, p.p.213-226.
- Madin L. Sensory ecology of salps (*tunicata, thaliacea*): More questions than answers. *Marine and freshwater behavior and physiology*, 1995, V.26 , N.4 , p.p. 175-195.
- Mhlgaroli A., Medolesi J. et al., Control of cytosolic free calcium in rat and chicken osteoclasts. The role of extracellular calcium and calcitonin. *J. Biol. Chem*, 1989, V.264, p.p.14342-14347.
- Mc Donald S. Receptors for extracellular matrix. *Am. J. Physiol*, 1989, V.257, p.p.331-337.
- Mesland D. Gravity effect on cell. *Proceed. 4-th Europ. Sym. Life Sci. Res. in Space*, 1990, ESA-SP 307, p.p.221-225.
- Mesland D. Possible actions of gravity on the cellular machinery. *Adv. Space Res.*, 1992, V.12, p.p.15-25.
- Mogami Y., Baba S. Super-helix model: A physiological model for gravitaxis of *Paramecium*. *Life Sci. Microgravity Res.*, 1998, V.21, N.26, p.p.1291-1300.
- Monzer J. Actin filaments are involved in cellular graviperception of the basidiomycete *Flammulina velutipes*. *Europ. J. Cell Biol*, 1995, V.66, p.p. 151-156.
- Moore D. , Cogoli A. Gravitational and space biology at the cellular level. In *Biological and Medical Res. in Space* (Eds. D.Moore, P.Bie, H. Oser), Springer, 1996, pl-106.
- Mow V., Setton L et al. Stress, strain, pressure and flow fields in articular cartilage and chondriocytes. *Cell Mech.& Cell Engm.*,1994, p.p.345-379.
- Muller A., Hertwig I., SchneiderH. The structure of the utricle and semicircular canals in the *Congo catfish*. *Zoologischer Anzeiger* , 1996, B.59, p.p. 271-280.
- Nace G. Gravity and positional homeostasis. *Adv. Space Res.*, 1983, V.3, p.p. 159-163.
- Nation Y. Mechano-sensory transduction in protozoa. In *membrane and sensory transduction* (ed. Colombetti G., Lenci E.), Plenum Press, N-Y, 1984, p.p.13-134.
- Nemec B. Uber die art der Wahmenmung der Schwerkraft bie den Pflanzen. *Ber. Detsct.Bot.Ges.*, 1902, B.4, N.2, 241-245
- Nindl G., Kortje K., et al., Comparative electronmicroscopical investigation on the influences of altered gravity on cytochrome oxidase in the inner ear of fish: A space flight study. *J. Brain Res.*, 1996, V.45, p.p.291-300.
- Ooya M, Mogami Y., et al. Gravity-induced changes in propulsion of *Paramecium caudatum*: possible role of graviperception in protozoan behavior. *J. Exp. Biol.*, 1992, V.163, p.p.153-167.
- Otter M., Rubin C. McLeod K. Does stochastic enhancement of the Brownian ratchet enable osteoblasts to detect extremely weak stimuli? 3rd. *World Cong. Biomech.* 1998, Sapporo, p.164
- Paniceia R., Lucci S. et al, Immediately cell signal by bone- related peptides in human osteoklast-like cells. *Amer. J. Physiol.*, 1993, V.265, p.p. 1289-1297.
- Pickard B., Thimann K. Geotropic response of wheat coleoptiles in the absence of amyloplast

- starch. *J. Gen. Physiol*, 1966, V.49, p.p.1063-1086
- Pickard B., Ding J.* Gravity sensing by higher plants. *Adv.Comp.Envion. Physiol*, 1992, V.10, p.p. 81-110.
- Plesset S., Winet H.* Bioconvection pattern in swimming microorganism cultures as an example of Rayleigh-Taylor instability. *Nature*, 1974, V.248, N. 5447, p.p. 441-442.
- Plesset S., Whipple C Winet H.* Analysis of the steady state of bioconvection of swimming microorganisms. In: *Swimming and Flying in Nature* , Plenum Press, 1975, p.p. 339-347.
- Pollard E.* Theoretical studies of living systems in the absence of mechanical stress. *J. Theor. Biol*, 1965, V.8, p.p.112-123.
- Pollard E.* Physical determinants of receptor mechanisms. In: *Gravity and the Organism* (Eds. Gordon A., Cohen M.), Chicago Univ. Press., 1971, p.p. 25-34.
- Raisz L., Kream B.* Regulation of bone formation. *N. Engl. J. Med.*, 1983, V.309, N.1,p.p.35-39.
- Reider N.* Die Mullerschen Korpersch von *Loxodes magnus* (Ciliata, Holotricha) ur Bau und ihre mogliche function das Schwererezeptor. *Verh. Dt. Zool. Ges.*, 1977, V. 254, p.p.34-45.
- Reider N., Ott A.* X-ray microanalysis of the mineral contents of some Protozoa. *J. Protozool.*, 1982, V.19, p.15-18
- Reijnen P., Croot R., et ai*, Epidermal growth factor (EGF) induced signal transduction in A 431 cells sensitive to gravity. *Proc. Sym. ESA SP-1123*, 1990, p.p.21-27.
- Reitstetter R., Schatz D., et ai*, Changes in ion channels properties to gravity. *The Physiologist*, 1991, V.34, p.p. 68-69.
- Roberts A.* Geotaxis in motile microorganisms. *J. Exp. Biol*, 1970, V.53, p.p. 687-695.
- Sack F.* Plant gravity sensing. *Int. Rev. Cytol.*,1991, V.127, p.p.193-252.
- Schatz A.*, Gravity and the membrane-solution interface: theoretical investigations. *Adv. Space Res.*, 1989, V.9, N. 11, p.p. 61-64.
- Schatz A., Tenchert G* Effect of combined 0-g simulation and Hypergravity on eggs of the membrane *Ascans suum*. *Aerospace Med.*, 1992, V.43, p.p. 614-919.
- Schatz A. Reistetter R., Briegleb W.* Gravity effects on biological systems. *Adv. Space Res.*, 1992, V.12, N.1, p.p.51-53.
- Schatz A., Linke- Hommest R., Neubert J.* Gravity dependency of the gramicidin A channels conductivity. A model for gravity perception. *Eur. J. Biopsy. Chem.*, 1996, V25, p.p. 37-41.
- Schultz J., Pohl T., Klumpp D.* Voltage-gated Ca^{++} entry into *Paramecium* linked to intraciliary increase in cyclic GMP. *Nature*, 1986, V.322, p.p.271-273.
- Schwartz M., Both G., Lachene C.* Effect of cell spreading on cytoplasmatic pH in normal and transformed fibroblasts. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1989, V.86, p.p. 4525-4529.
- Schwartz M, CragoeE., Lachene C.* pH regulation in spread cells and round cells. *J. Biol. Chem.*, 1990, V. 265, p.p. 1327-1332.
- Schwuchow J., Kim D., Sack F.* Cauloemal gravitropism and amyloplasts sedimentation in the moss *Ceratodon*. *Cell Motil. Cytoskel* , 1994, V.29, p.p.336-374.
- Sebastian C. Esseling K, Hom E.* Altered gravitational forces affect the development of the static vestibuloocular reflex in fish *Oreochromis* *J.Neurobiol.*,2001, V.46, p.p.59-72.
- Sievers A., Buchen B., Volkmann D.* Role of the cytoskeleton in gravity perception. In: *Cytoskeleton Basis of Plant growth and Form* Acad. Press, London, 1991b, p.p. 169-182.
- Sievers A., Kramer-Fisher M. et al.* The polar organization of the Chara rhizoid and transport of statoliths are actin-dependent. *Bot. Acta*, 1991b, V.104, p.p.103-109.
- Sievers A., Busch M.* An inhibitor of the Ca^{++} ATP-ase in the sarcoplasmic of the endoplasmic reticila inhibits transduction of the gravity stimulus in Cress roots. *Planta*, 1992, V188, p.p. 619-622.
- Sievers A., Braun M., Hejnowicz Z.* Gravity and the cytoskeleton. *Proc. of 5-th Europ. Sym. of Life Sci. on Space*, 1994, p.p.15-17.
- Sievers A., Sondag K., et al*, Gravity induced changes in intracellular potentials in statocytes of Crsss roots. *Planta*, 1995, V.197, p.p. 392-398.
- TairbekovM.* Cell in gravitational field. *The Physiologist*, 1992, V. 35, p.p. 16-18.

- Tairbekov M.* The role of signal systems in cell gravisensitivity. *Adv. Space Res.*, 1996, V.17, N. 6\7, p.p. 161-164.
- Tairbekov M.G., Regirer S.A.* Regularities of cell growth and function under altered gravity. *Proc. Joint Europ-Rus. Sym. Physic. Sci. of microgravity*, St.-Petersburg, 1997, p.p. 255-262.
- Tairbekov M., Hemmersbach R., Gavrilova O.* Gravisensitivity of cells of several types. *J. Gravit. Physiol.*, 1998, V.5, N.1, p.p.155-156.
- Taneda K.* Geotactic behavior in *Paramecium caudatum*: Geotaxis assay in individual specimen. *Zool. Sci.*, 1987, V.4, p.p.781-788.
- Thompson D.* *On Growth and Form*. *Cambr. Univ. Press*, 1966, 246p.
- Todd P.* Gravity-dependent phenomena at the scale of the single cell. *ASGSB Bulletin*, 1989, V.2, p.p. 95-113.
- Todd P.* Gravity-dependent processes and intracellular motion. *ASGSB Bui*, 1991, V.4, p.p.35-39.
- Todd P.* Physical effects at the cellular level under altered gravity. *Adv. Space Res.*, 1992, V.12, N.1, p.p. 43-47.
- Tonoby J.* Gravity dependent bifurcations in microtubule dissipative structures. *Science*, 1994, V.264, p.p. 223-224.
- Vandenburgh H.* Mechanical forces and their second messengers in stimulating cell growth *in vitro*. *Amer. J. Physiol.*, 1992, V. 262, p. 350-
- Vandenburgh H., Halfaludy S. et al*, Mechanically induced alterations in cultured skeletal myotube growth. In: *The Dynamic State of Muscle Fibers*, N-Y, 1990 p.p.151-164.
- Vandenburgh H., Halfaludy S. et al.* Stretch-induced prostaglandins and protein in skeletal muscle. *Amer. J. Physiol.*, 1990, V.259, p.p.232-240.
- Volkman D., Buchen B., Hejnowicz Z., et al.* Oriented movement of statoliths studied in a reduced gravitational field during parabolic flight on rockets. *Planta*, 1991, V.185, p.p.153-163.
- Volkman D., Tewinkel M.* A mechanism of adaptation to hypergravity in the statocyst of *Apfysia californica*. *Hearing Res.*, 1996, V.48, p.51-62
- Watson P.* Function follows form: generation of intracellular signals by cell deformation. *FASEB J.*, 1991, V.5, p.p. 2013-2019.
- Wayne R., Staves M., Leopold D.* The gravity-depender polarity of cytoplasmic streaming in *Nitella*. *Protoplasma*, 1990, B.155, p.p.43-57.
- Weiss P.* Functional adaptation and a role of ground substance in development. *Amer. Naturalist*, 1993, V.118, p.p.389-407.
- Went F.* Wuchsstoff und Wachstun. *Res. Tran. Bot. Nethrland*, 1928, V.25, p.p.528-535
- Wienbaum S. Growin S., Zeng Y.* A model for the fluid shear stress oxidation of membrane ion channels in osteocytic processis due to bone strain. *Adv. Bioeng.*, 1991, V.41, p.p.317-322
- Williams J., Iannotti J., Ham A., et al* Effects of fluid shear stress in bone cells. *Biorheology*, 1994, V.31, N.2, p.p. 163-170.
- Xia S-L, Ferrier J.* Propagation of a calcium pulse between osteoblastic cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1992, V.186, N.3., p.p.1212-1219
- Xia S-L, Ferrier J.* Localized calcium signaling in multinucleated osteoclasts. *J. Cell Physiol*, 1996, V.167, N.1, p.p.148-155.

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	3
1. ФИЗИКОХИМИЯ ВНУТРИКЛЕТОЧНЫХ ПРОЦЕССОВ В ГРАВИТАЦИОННОМ ПОЛЕ	5
2. ГРАВИРЕЦЕПТОРЫ, ИХ ОРГАНИЗАЦИЯ И ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ В КЛЕТКЕ	14
2.1. Статоциты как специализированные гравирецепторы растительных клеток	15
2.2. Специализированные и неспециализированные гравирецепторы у одноклеточных	19
2.3. Интегральные гравирецепторы	21
3. ЭКОЛОГО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КЛЕТОК В ГРАВИТАЦИОННОМ ПОЛЕ	26
3.1. Многоклеточные организмы в гравитационном поле. Статолитная теория	27
3.2. Одноклеточные организмы в гравитационном поле. Биоконвекция	30
3.3. Культура клеток в гравитационном поле. Роль механических деформаций	40
4. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ ГРАВИТАЦИОННОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ	48
4.1. Механизмы влияния гравитации на клетку. Роль биомембран в гравирецепции	49
4.2. Неравновесная термодинамика. Теория бифуркаций	52
4.3. Цитоскелет	56
4.4. Межклеточные взаимодействия	61
4.5. Система внутриклеточной сигнализации	66
4.6. Вторичные мессенджеры	68
5. ВЕРОЯТНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ГРАВИТАЦИОННОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ КЛЕТОК	73
6. ЭВОЛЮЦИЯ ГРАВИРЕЦЕПТОРНЫХ МЕХАНИЗМОВ	80
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	88
ЛИТЕРАТУРА	93