

Общие принципы организации клетки (биофизические и биомеханические аспекты)

Развитие живых систем основывается на принципе эволюционной непрерывности, представляющего собой совокупность причин, вызывающих очень медленные, но целенаправленные изменения (усложнения) первичной прокариотической клетки. Этот принцип имеет два важных следствия. Во-первых, некоторые из наиболее важных молекул - компонентов современной клетки: аминокислоты, пуриновые и пиримидиновые основания, должны были возникнуть на самых ранних этапах эволюции и в дальнейшем оставаться неизменными. Во-вторых, последние стадии предбиологической (химической) эволюции должны были представлять собой, с точки зрения физических и химических законов, в достаточной мере вероятные события [2].

Предполагается, что самая примитивная прокариотическая клетка (протоклетка) появилась около 3,5 млрд. лет назад, и только спустя 2 млрд. лет сформировалась эукариотическая клетка. Однако, ключевым моментом в эволюции органического мира еще до появления прокариотической клетки был процесс взаимодействия структур - носителей информации (макромолекул нуклеотидов) с каталитическими структурами, обеспечивающими использование энергетических субстратов [9]. Возникшие в результате слияния новые соединения уже были способны к самосборке и дальнейшей самоорганизации в структуры более высокого порядка. Но самосборка, была лишь началом появления клетки, для окончательного ее формирования необходим был еще один шаг - вычленение (обособление) этой структуры из внешней (окружающей) среды.

В силу ряда причин, одна из которых заключается в нейтрализации воздействия гравитации, изначальный (примитивный) одноклеточный организм мог возникнуть и эволюционировать достаточно долгое время только в водной среде. В самом деле, иммерсионная среда, наряду с другими преимуществами, позволяет в значительной степени ослабить механическое давление на клетку, обусловленное наличием силы тяжести. В этом случае клетке, функционирующей в водной среде, во избежание гидростатического "стресса", достаточно было выработать хорошо отлаженный механизм осморегуляции, который давал ей возможность не только сохранять концентрационные градиенты основных ионов K^+ , Na^+ , Ca^{++} , Mg^{++} , но и поддерживать свою структурную целостность. Главным инструментом и материальной основой для реализации механизма формирования клетки служила биомембрана первый наиболее ранний в эволюционном плане и важный в функциональном отношении, элемент клетки.

Живая клетка для построения своей структуры и нормальной жизнедеятельности нуждается лишь в 22 элементах, из более 100, распространенных в воде и земной коре. Помимо названных катионов K^+ , Na^+ , Mg^{++} и Ca^{++} на 4 основных элемента: С, Н, N и О приходится около 99% массы всех биологических молекул, составляющих клеточное содержимое. Размеры и формы биомолекул, а также внутриклеточных компонентов, сконструированных из них, имеют решающее значение для клетки. Иерархическая организация структурных элементов клетки является четырехуровневой. Первый уровень - органические молекулы, являющиеся элементами второго уровня - макромолекул (моноклеотидов, аминокислот, жирных кислот и моносахаридов) Эти соединения, в свою очередь, образуют надмолекулярные полимеры, представляющие собой третий уровень организации живого (белки, липиды, полисахариды и нуклеиновые кислоты). Наконец, четвертый уровень организации - внутриклеточные органеллы. Перечень основных внутриклеточных органелл, информация об их размерах и биомеханических характеристиках суммированы в таблице 1.

Клетка представляет собой высокоструктурированную систему с достаточной степенью упорядоченности ее элементов и четкими параметрами их взаимодействия. Эти качества позволяют рассматривать клетку как единый архитектурный ансамбль, функционирующий в полном соответствии с законами биологической термодинамики. Вся биология клетки

построена на конформационных химических взаимодействиях. Принципиальная возможность изменения конформации молекулы за счет механического натяжения (деформации) передающаяся через химическую связь, позволяет предположить существование в клетке особого типа канализированной дальнедействующей регуляции. Считается [10], что основные процессы регуляции метаболизма, роста и дифференциации в любой клетке связаны именно с конформационными изменениями части ее макромолекул. Конформация макромолекул определяет самосборку структур, направление метаболических реакций в клетке и их временную последовательность. Пространственное взаимодействие макромолекул осуществляется за счет их связей с мембраной.

Биомембрана: Необходимость возникновения на самых ранних стадиях биологической эволюции селективной мембраны, ограничивающей клетку от внешнего окружения, была продиктована, прежде всего, тем, что живые системы, хотя и должны быть открытыми относительно окружающей среды для обмена с ней веществом и энергией, однако эта "открытость" должна быть относительной. Другими словами биомембрана должна обладать полупроницаемыми (избирательными) свойствами. Вместе с тем, биологические мембраны проявляют поразительно богатый набор свойств, обнаруживаемых в капельных жидкостях, твердых деформируемых телах и жидких кристаллах, включая диффузионные, электрические и химические эффекты.

По современным данным биомембрана толщиной в $70-100\text{Å}$, имеет сложную гетерогенную структуру и представляет собой глико-фосфолипидный димер, в который включены блоки белковых молекул, определяющие основные функции мембраны [8]. Биомембрана находится в квазикристаллическом состоянии и по своим механическим свойствам представляет собой вязкоупругое тело, что придает ей динамизм, эластичность и прочность [6]. Исходя из молекулярной организации биомембраны, можно сделать ряд предположений относительно ее механических характеристик, главная из которых заключается в том, что хорошо работая на изгиб, мембрана чрезвычайно чувствительна к растяжению. Образно говоря, биомембрана, по своему поведению больше напоминает стальную пластину, чем резиновый шнур. Диапазон упругости биомембраны, оцениваемый по модулю Юнга, колеблется от 10^9 до 10^8 дин/см² [7,11].

Современные представления о мозаичной структуре клеточной мембраны и ее динамике, которые могут быть обусловлены также компонентами цитоскелета, объясняют основы механики биомембран [13]. Существует несколько довольно убедительных концепций о механизме активной деформации мембраны [6];

Концепция	Концепция активного	Концепция
цитоскелета	изменения кривизны	неоднородной гибкости

Механохимические свойства мембраны в значительной степени зависят также от состояния ее липидной фазы, точнее от качественного и количественного соотношения жирных кислот, входящих в нее. Чем больше мембрана содержит ненасыщенных жирных кислот, тем она эластичнее, тем больше диапазон ее растяжения и сокращения, и, наоборот - с увеличением в составе липидной фракции мембраны насыщенных жирных кислот, она становится прочнее, но теряет свои эластичные свойства [46,53,62].

Таким образом, механические свойства, проявляемые мембраной, характеризуют ее как непрерывную структуру. Отсюда следует, что для того чтобы флуктуации в структуре мембраны, происходящие вследствие подвижности отдельных молекул, были незначительными, биомембрана должна быть составлена из довольно большого числа молекул. Очевидно, что функциональные свойства биомембран в определенной степени будут зависеть от количества молекул, расположенных как внутри, так и на поверхности ее континуума. Поэтому, поверхностные свойства биомембран и эффекты внешних сил на мембрану в значительной степени обусловлены ее молекулярной организацией.

Способность 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 проведения электрических сигналов через мембрану. Эта способность наиболее ярко проявляется в нервных клетках. Вместе с тем, эти свойства в различной степени присущи почти всем типам мембран.

Целый ряд форм клеточной активности обусловлен контактными взаимодействиями клетка-клетка или клетка-субстрат, осуществляемыми мембранами. От способности клеток прикрепляться к субстрату или к поверхности другой клетки существенно зависят их морфо-функциональные свойства, локомоции, а иногда, и дифференцировка [26]. Со стороны клетки во взаимодействии с внешним субстратом участвуют интегральные мембранные белки (рецепторы) с экспонированными наружу участками, содержащими углеводный компонент. Это взаимодействие всегда строго специфично (данному рецептору соответствует вполне определенный партнер, связь с которым обеспечивает прикрепление клетки к субстрату или к поверхности другой клетки)[1].

Кроме специфического, существует и неспецифическое взаимодействие. В этом случае речь идет о взаимодействиях, опосредованных внешним полисахаридным покрытием мембраны - гликокаликсом. Если мембрана прижата к субстрату уже образованными связями, то образование новых связей не требуется. 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, закоренный подложкой - 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 о роли "мембранного пьезоэффекта" в осуществлении механизма восприятия и реализации гравитационного стимула в клетке, сформулированная недавно В.А. Кордюмом [10]. Суть этой гипотезы состоит в том, что в мембране постоянно и во множественном числе возникают и исчезают механические напряжения на уровне отдельных макромолекул. В результате мембрана постоянно находится в некоем состоянии быстротечного мерцания по мере 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? На сегодняшний день, 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. Большое внимание в них уделяется значению связей клеточной мембраны с ядром и другими внутриклеточными органеллами, осуществляемых посредством цитоскелета.

Так, например, в работах [29, 40, 44] развиваются представления о механохимических функциях клеточной мембраны, влияющих на ряд характеристик жизнедеятельности клетки. Можно надеяться на появление в скором времени обобщенной теории о роли и значении механохимических процессов в клетке. Одной из составляющих элементов будущей теории является, на наш взгляд, гипотеза о мерцающем пьезопотенциале биомембраны - свойстве присущем всем эукариотическим клеткам, имеющим сократительные элементы цитоскелета.

Цитоскелет: В последнее время на первый план все более выдвигается значение контрактильных элементов клетки, образующих цитоскелет. Цитоскелет активно влияет на форму клетки путем изменения состояния клеточной мембраны. Роль цитоскелета в обеспечении формы заданной структуры клетки в настоящее время хорошо изучена [22]. С функциональной точки зрения цитоскелет представляет собой совокупность элементов,

ответственных за пространственную организацию клетки и состоит из трех основных сократительных структур: микротрубочек, микрофибрилл и промежуточных филаментов, содержащих, главным образом, актин, миозин и тубулин. Миозин - это единственный из белков, способный генерировать механическую работу за счет гидролиза АТФ в клетке. Эта реакция универсальна для всех видов биологической подвижности - от сложного акта мышечного сокращения до различных видов подвижности у самых примитивных форм.

Так, например, известно, [15,56], 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, составляющими часть комплекса цитоскелета, и приводятся в движение упомянутыми белками. Цитоскелет чрезвычайно динамичная система. Структура цитоскелета способна перестраиваться в течение долей секунды. Даже в стационарном состоянии происходит непрерывный обмен между полимерами комплексов цитоскелета и пулом свободных мономеров [5]. Динамика перестроек цитоскелета регулируется различными факторами; эндогенными и экзогенными (физическими и химическими), способными изменить ход метаболических процессов в клетке. Отсюда, можно ожидать, что механические деформации, вызванные, в частности, силой тяжести могут привести к перестройке цитоскелета, а также и формы клетки.

Таким образом, не исключено, что часть внутриклеточного объема, окруженная мембраной и содержащая сократительные элементы цитоскелета, может играть роль рецептора (сенсора) физических сигналов, поступающих из внешней среды. В частности, была выявлена высокая чувствительность этой области клетки к звуковым сигналам [3]. Этот пример показывает, что сигнал об альтерации механического состояния элементов цитоскелета, в частности при их возбуждении под действие факторов окружающей среды, в том числе и силы тяжести, может быть трансформирован на мембрану, и стать причиной изменений в структуре и функциональной активности клетки. Было высказано предположение, что цитоскелет при взаимодействии с клеточной мембраной может играть роль неспециализированного гравирецептора [47,48, 60,61].

Вместе с тем, в процессах восприятия и реализации гравитационного импульса, при взаимодействии с цитоскелетом, могут принимать участие и другие внутриклеточные структуры, например, такие как ядро, митохондрии, пластиды. В первую очередь это относится к ядру, плотность которого в 1,5 раза превышает плотность окружающей цитоплазмы. Поддержание нормального положения ядра в клетке имеет большое значение для реализации "алгоритма" клеточного деления и является одним из основных условий сохранения позиционного гомеостаза клетки. Последнее замечание, в большей степени относится к функциональной роли такой клеточной органеллы как центриоль.

В этой связи, особого внимания заслуживает теоретическая модель по регуляции энергетического обмена в клетке при взаимодействии всех элементов клеточной системы, предложенная Борнсом [26], ключевым элементом, в которой является центриоль, занимающая центральное положение в клетке и выступающая в роли гироскопического осциллятора. 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 во внутриклеточном объеме и других структур, имеющих достаточную массу и выполняющих в клетке определенные функции, таких как митохондрии и пластиды. Как известно, от формы, размеров, массы и функциональной активности этих органелл в значительной степени зависит общий метаболизм и чувствительность клеток к влиянию факторов внешней среды. Возможные варианты пространственного взаимодействия внутриклеточных органелл для выполнения гравирецепторных функций в клетке, представлены в схематическом виде на рис 1.

Процессы морфогенеза, включая эмбриогенез, сопровождаются различными механо-

химическими изменениями на структурных различных уровнях. Клеточные движения вызываются возникновением как активных, так и пассивных сил взаимодействия клетки с факторами окружающей среды. При этом в напряженном состоянии находятся все внутриклеточные элементы. Таким образом, механические силы могут не только осуществлять и контролировать локомоторные функции клетки, но и выступать в качестве регуляторов внутриклеточного метаболизма. В этом случае, мембранные пьезо-эффекты могут служить первичным фактором, а якорные молекулы мембраны, первичными акцепторами, которые воспринимают силу тяжести в клетках, не имеющих специализированного (морфологически выраженного), гравирецептора.

Жизнедеятельность клетки или ее структурно-функциональную организацию следует рассматривать с двух позиций. С одной стороны, клетка представляет собой микроскопический химический реактор, функционирующий в полном соответствии с законами биологической термодинамики, с другой - это механическая конструкция, которая находится в гравитационном поле в напряженном состоянии вследствие необходимости постоянного противодействия силе тяжести. В настоящее время изучение механических характеристик различных типов клеток и внутриклеточных комплексов является самостоятельным направлением в биомеханике.

Изучение механической прочности и стабильности клетки в гравитационном поле требует привлечения ряда теоретических положений и экспериментальных методов, используемых в пограничных дисциплинах, биофизике, биомеханике и молекулярной биологии. Эти методы внесли неоценимый вклад при исследовании структурно-функциональной организации, как самой клетки, так и внутриклеточных комплексов: мембран, сократительных элементов цитоскелета, ядра, пластид, митохондрий, рибосом и других структурных образований. [6, 13, 61]

Исходя из общей концепции существования клетки как биомеханической конструкции наиболее важным для обсуждаемой проблемы, с нашей точки зрения, являются два процесса: механической деформации, с одной стороны, и термодинамического равновесия - с другой. Как известно, клетка обладает множественными состояниями механохимической устойчивости. В механическом смысле это сохранение позиционного гомеостаза, а в термодинамическом - неравновесных, но устойчивых, стационарных состояний [1,49]. При вариациях параметров интенсивности общего метаболизма клетки, устойчивое стационарное состояние может измениться вследствие бифуркаций. В результате бифуркации, моделируемая генетическая система приобретает способность выбора нового режима гомеостатического регулирования [12].

Физико-химические механизмы взаимодействия структурных перестроек в клетке с изменениями внутриклеточного метаболизма, несомненно, связаны с ответной реакцией клетки на внешнее раздражение. Имеется два основных способа такого взаимодействия: первый - восприятие механического воздействия непосредственно теми клетками, которые изменяют свою метаболическую активность, и второй - использование разного рода посредников, обеспечивающих эту связь.

Восприятие клетками механического раздражения приводит в разных ситуациях к различным последствиям; могут измениться объем, размеры, масса и химический состав клеток, частота клеточного деления, скорость синтеза внеклеточных веществ, их состав и структура [13]. Метаболические реакции на механические воздействия обнаружены у самых разных типов клеток. В частности, отмечено увеличение митотического индекса у фибробластов, развивающихся в культуре *in vitro* при механической деформации [33].

Биомеханические аспекты гравитационного воздействия на клетку

Механические напряжения, возникающие в клетке в поле силы тяжести, есть результат двух противоположно направленных процессов; пространственной рандомизации внутриклеточных компонентов и стремления их к седиментации. Уровень напряженности и степень деформации клетки в гравитационном поле сильно варьирует в зависимости от

размеров клетки и количественного содержания в ней неоднородных по размерам и массе внутриклеточных структур.

Для количественной оценки значений механических деформаций, вызванных весом клетки в базальной мембране, нами были выполнены расчеты нагрузок, производимых на мембрану в зависимости от формы и размеров клетки [16]. Из полученных результатов видно, что давление, производимое весом клетки на базальную мембрану, не превышает 10^4 дин/см². При сравнении этих значений со средними значениями модуля упругости для мембран $10^6 - 10^8$ дин/см², приведенными выше должно заключить, что у клеток обычных размеров запас прочности базальной мембраны, по крайней мере, на два порядка величины превышает давление, оказываемое на эту мембрану собственным весом клетки. Однако не следует забывать, что с увеличением линейных размеров, следовательно, и объема клетки, эти соотношения будут меняться. Из этого следует, при сохранении прочности мембраны, масса самой клетки, следовательно, и нагрузка на базальную мембрану, будет возрастать. Соответственно будут увеличиваться и затраты энергии, необходимые для поддержания "позиционного гомеостаза" клетки [49].

Термин "позиционный гомеостаз", введенный в гравитационную биологию Нейсом (Nase, 1983), означает сохранение стабильного положения и оптимальной ориентации клетки в поле силы тяжести. Дело в том, что функциональное предназначение клетки зачастую диктует ее форму и размеры, которые, в свою очередь, лимитируются силой тяжести. Кроме того, напряженное состояние клетки в гравитационном поле обусловлено, как уже было сказано, противоположно направленными тенденциями, в основе которых лежат биомеханические характеристики. А именно; с одной стороны, внутриклеточные структуры существенно различаются между собой по удельному весу, с другой - наличие в клетке микротрубочек и других сократительных элементов цитоскелета создает противодействие явлению рандомизации. Кроме того, это приводит к компартиментизации внутриклеточного содержимого. Благодаря этим противоположно направленным процессам в клетке возникают механические напряжения и деформации.

Как уже было сказано, степень напряженности клетки в гравитационном поле сильно варьирует от ее линейных размеров. Нейсу [49] удалось количественно оценить эти значения. Так, в соответствии с расчетами автора, в клетках, имеющих размеры от 6,5 до 30 мкм. значения напряженности колеблются от $2,5 \cdot 10^{-13}$ до $8 \cdot 10^{-1}$ дин/см.²

Таким образом, с увеличением размеров напряженность конструкций клетки в поле силы тяжести возрастает. Очевидно, та же тенденция будет иметь место с возрастанием величины и длительности воздействия и самого фактора, Одновременно будут повышаться и энергозатраты на поддержания позиционного гомеостаза клетки.

Существует еще один аспект этой проблемы. Известно, например, что морфогенезу с последующей дифференциацией клеток, предшествует возникновение в них химических градиентов, как результат изменения характеристик внешнего физического поля, в частности, поля силы тяжести. Эти вопросы довольно обстоятельно обсуждаются Вольпертом в рамках его концепции "позиционной информации" [4].

Поляризация эмбриональных клеток на начальных стадиях морфогенеза - активный процесс, требующий затрат метаболической энергии. Процесс поляризации клеток в тканях, вследствие нарушения в них механохимического равновесия вызывает активные деформации эмбрионального материала. Деформации касаются не только клеточной мембраны, но и ведут к более глубоким перестройкам всего цитоскелета. Достаточно полное описание феноменологии процесса активной деформации было получено в экспериментах с культурами клеток *in vitro*, развивающихся на твердом субстрате [3]. Большинство клеток при этом образует с поверхностью субстрата адгезивный контакт. Установлено при этом, что адгезия клеток к подложке не есть простое прилипание, а активный процесс "псевдоподиального прикрепления", сопровождающийся деформацией клеток. Вслед за этим, клетки начинают активно передвигаться, в результате чего развивается значительное натяжение - около 10 дин на 1 клетку. В эмбриональном материале

подложкой для поляризующихся клеток служат окружающие. При этом фактор генерируемых упругих натяжений, в принципе, способен играть роль дальнедействующей сигнализации; механизм активации данной клетки должны "почувствовать" другие (соседние) клетки на значительном расстоянии от нее.

Отсюда становится очевидным существование неразрывной связи между механическими деформациями и изменением уровня общего метаболизма клетки.

Считается [40], что натяжение и сжатие являются основными факторами, определяющими форму клетки и ее функции. По мнению авторов, эти изменения могут возникать либо в результате взаимодействия сил, генерированных деятельностью внутриклеточных сократительных элементов цитоскелета, либо внешними силами. Для выяснения этого вопроса была сконструирована специальная трехмерная модель клетки с целью анализа роли механических сил в процессе модификации формы клетки. Клеточные модели, предложенные Ингбергом и Фолькманом, содержат различные типы взаимосвязанных элементов клетки, находящихся в напряженном состоянии, что обеспечивает стабильность архитектурных элементов клетки, следовательно, и определенную форму. Авторы предполагают, что рост клетки является формозависимым процессом. Эта гипотеза основана на том факте, что прикрепление клетки, развивающейся на твердом субстрате, требует большего с ним взаимодействия, чем контакт с подложкой. Клетка в этом случае должна быть распластана, и изменять свою форму до первой фазы деления и только после этого перейти к первой фазе деления.

Исследования с клеточными моделями позволяют сделать заключение о том, что регуляторные функции в клетке могут выполнять механохимические механизмы. Это означает, что изменение степени напряжения внутриклеточных элементов вследствие перестройки цитоскелета или пространственного перераспределения органелл во внутриклеточном объеме, может быть одной из основных причин изменения метаболической активности клетки.

Для реализации структурно-функциональных перестроек в клетке, возникающих в результате внешних возмущений, в частности, изменения напряженности гравитационного поля, необходимо, чтобы внешний физический импульс был трансформирован на клеточную мембрану и воспринят специальными рецепторами, расположенными на ее поверхности. Наличие структурной целостности элементов, обеспечивающих механизм передачи сигналов с поверхности клетки во внутриклеточный континуум и обратно, гарантирует непосредственную, быструю и надежную связь между ядром и цитоплазмой. Это, в свою очередь, позволяет клетке сформировать ответную реакцию на внешнее раздражение, в конкретном случае на гравитационный импульс.

Однако, гравитационное поле, как известно, является источником очень слабых сигналов в биологических системах такого уровня организации как клетка. Для того, чтобы эти сигналы были восприняты клеткой и транслированы на внутриклеточные структуры, они (сигналы) должны быть многократно усилены и "отфильтрованы". Для этого клетке необходимо иметь механизмы, способные специфическим образом усиливать слабые сигналы, поступающие из окружающей среды, накапливать их и выводить на более высокий уровень, превышающий, по крайней мере, уровень "шума". Другими словами, в клетке должна существовать система биологического накопления и усиления поступающих извне сигналов.

Увеличение уровня сигналов (амплификация) может быть достигнуто при выполнении ряда условий: во-первых, при фокусировании и аккумуляции сигналов одного и того же типа в небольшой точке (пятнышке), сравнимой по размерам с точкой сфокусированного светового луча. Теоретическая возможность такого усиления рассмотрена в работах Месланда [47,48]. Автор считает, что гравитационные возмущения, несущие незначительное количество энергии (около 40 кал.), изначально сфокусированное в определенной точке мембраны, может быть усилено почти в 60 раз с помощью специальных внутриклеточных систем. В поддержку высказанного предположения, автор приводит доказательства того, что энергия, сфокусированная в определенной точке клеточного континуума, достигает величины, достаточной, например, для полимеризации белковых мономеров в локальном участке клетки. Однако, для этого необходимо выполнение второго условия, а именно, совпадения по времени фокусирования сигнала с переходными процессами в клетке, которые сами по себе существенно повышают

чувствительность клетки к внешним воздействиям. Показано [52], что длительность переходных процессов (их временной период) может сильно различаться в зависимости от напряженности гравитационного поля. Эти, так называемые, "временные окна" повышенной гравитационной чувствительности, длящиеся при нормальной силе тяжести несколько секунд, в условиях микрогравитации могут продолжаться от нескольких минут до 1 часа [42]. Третье вероятное условие для передачи функционально значимого гравитационного импульса в клетку - случайные бифуркации (возмущения) в системе. Вполне естественно, что эти возмущения способны импрегнировать (усиливать) слабые сигналы, поступающие в клетку извне. Действуя многократно в одной и той же точке, они способны вызывать заметные перестройки в молекулярной организации элементов цитоскелета, стимулируя тем самым, изменения морфо-функционального статуса клетки.

Существующие на сегодняшний день теоретические предположения о механизме восприятия и реализации гравитационного стимула в клетке основаны на правилах, описывающих клетку, по крайней мере, часть ее внутриклеточного континуума, включая мембраны, сократительные элементы цитоскелета и внутриклеточные органеллы, как динамическую систему [47,48,60,61,63].

Вместе с тем, как справедливо отмечает Кордюм [10], анализ механизмов внутриклеточного воздействия силы тяжести на клетку был бы неполным без рассмотрения возможного статического восприятия этого фактора. Автор считает, что "любые идеи подобного восприятия отбрасываются из-за ничтожности рассчитываемых величин, обусловленных силой тяжести $1g$." Но это справедливо, если рассматривать клетку как некий неструктурированный объем живой материи с равномерно распределенными в нем частицами, производящими одинаковые нагрузки на мембрану по всей ее поверхности. Если же исходить из реальной ситуации, а именно, что содержимое клетки структурировано, в первую очередь благодаря наличию цитоскелета, и, в высшей степени гетерогенно, то отношение к данной проблеме может радикально измениться. Автор иллюстрирует это исходя из следующих расчетных величин для среднестатистической клетки размером 40 мкм. Объем такой клетки составит $4 \cdot 10^6$ мкм.³ При удельном весе = 1 вес такой клетки будет приблизительно равен $4 \cdot 10^{-3}$ мг. Если принять, что на поверхности мембран такой клетки имеется около 10^4 (10 тысяч) точечных молекулярных прикреплений, то на каждое такое закрепление приходится нагрузка, соответствующая $4 \cdot 10^{-7}$ мг-силы (дин). Таким образом, статические нагрузки на мембрану в поле силы тяжести $1g$, по мнению автора, оказываются в тех же диапазонах, что и динамические. Естественно, что в условиях невесомости они также исчезнут. Согласно гипотезе, предложенной В.А. Кордюмом [10] "мерцательный пьезопотенциал" мембран должен иметь место во всех клетках, обладающих цитоскелетом.

По нашему мнению, гравитационный импульс, генерируемый измененной силой тяжести, воспринимается комплексом взаимодействующих между собой внутриклеточных элементов (цитоскелета, ядра, центриоли, митохондрий, пластид). Изменение пространственного распределения этих органелл и их контактное взаимодействие вызывает сдвиг энергетического пула в клетке и перестройку алгоритма метаболических процессов. В качестве "биологической антенны" в этом случае выступают рецепторы, расположенные на поверхности клеточной мембраны.

Объекты и методы исследования в гравитационной биологии клетки.

При проведении экспериментальных исследований в области гравитационной биологии и анализе полученных результатов при оценке биомеханических параметров клетки, первостепенное значение приобретает выбор в качестве объектов исследований моделей, соответствующих трем основным типам клеток:

- культуре клеток монослая (или многослойной культуре), растущей на твердом субстрате (in vitro)
- ассоциации индивидуальных клеток или одноклеточных организмов, развивающихся в жидкой среде (in vivo)
- клеткам, функционирующим в составе единого многоклеточного организма животных или растений

С нашей точки зрения, наиболее подходящими объектами исследования для оценки гравитационной чувствительности биологических систем на клеточном уровне, могут служить:

- в качестве культуры клеток *in vitro*, монослой соединительнотканых клеток - фибробластов, растущих на твердом субстрате,
- в качестве клеток, средой обитания которых является жидкость *in vivo* - культура одноклеточных организмов-инфузорий
- в качестве клеток, функционирующих в составе многоклеточного организма *in situ* - статоциты высших растений

Культура клеток *in vitro* - фибробласты:

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.

Фибробласты - наиболее распространенный тип соединительно-тканых клеток у животных. Это крупные (до нескольких десятков микрон) удлинённые клетки с острыми отростками. Цитоплазма имеет две зоны, различающиеся по вязкости: внешнюю, более вязкую и менее вязкую - внутреннюю. В процессе своей жизнедеятельности фибробласты выделяют во внешнюю среду компоненты межклеточного вещества: коллаген, эластин и мукополисахариды (глюкозаминоглюканы). Синтез веществ в фибробластах подвержен влиянию различных 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 различного рода травм, и эта активность считается хорошей биологической моделью для изучения механических характеристик передвижения по субстрату других типов клеток. Характер активности зависит от состояния клетки и субстрата, а также от многочисленных внешних факторов, истинное влияние которых, является предметом специальных исследований. Например, определенный практический представляет, изучение динамики роста культуры клеток фибробластов в условиях микрогравитации.

Движение фибробласта сопровождается образованием отростков (псевдоподиев) Контакты клеток с любой подложкой имеют адгезивную природу, и в этом процессе участвуют как мембраны, так и белки цитоскелета [1,54]. Как правило, контакт осуществляется по поверхности множества нерегулярных микроскопических выступов мембраны - "пятен", носящих название "фокальных контактов". Аналогичную структуру иногда имеют и межклеточные контакты. По одной из хорошо проработанных гипотез образование этих "микровыступов" является результатом механической неустойчивости сплошного контакта [32]. Механические свойства мембран, цитоплазмы и внутриклеточных органелл у фибробластов изучены в работах [21, 34,36].

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 внутреннего механизма движения (устройства "двигателя").

Одной из форм коллективного поведения клеток во взвеси или на субстрате является образование агрегатов. Если клетка находится на твердом субстрате, агрегаты образуются только для нормальных клеток и только при выполнении определенных требований. Это означает, что клетки выбирают условия наилучшего прикрепления, другими словами, они наделены свойствами избирательной активности.

Движение фибробластов осуществляется благодаря волнам адгезивного контакта, возникающего на поверхности соприкосновения клеточной мембраны с субстратом, и возможно сопровождающим их волнам деформации клетки. Но действительный движитель связан с цитоскелетом, в частности с примембранным [24].

Известно, что элементы цитоскелета подвержены постоянной перестройке и обновлению, и именно кинетика этих процессов испытывают влияние внешних сил [5], 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 микрогравитации и нормальной силы тяжести [17].

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 [14], сосредоточение фокальных контактов приходится не на самую ведущую кромку, а на близкую к ней область ламеллоподий. Эта область, с богатой трехмерной сетью микрофиламентов, микротрубочек и промежуточных филаментов, отделена от ведущей кромки зоной, где сравнительно мало элементов цитоскелета. Цитоскелет центральной части клетки организован отличным от ламеллоподий образом и имеет сгущение у задней кромки. Фокальные контакты соответствуют схождению пучков микрофиламентов. Клетка оставляет след на субстрате вдоль пути своего движения, содержащий специфические белки. Характер вовлечения отдельных зон клетки в движение подробно описан в работе [54].

Культура одноклеточных организмов (*in vivo*)

За последние годы накоплен обширный экспериментальный материал по изучению гравитационной чувствительности одноклеточных организмов; активно плавающих и пассивно распределенных в жидкой среде. Значительная часть этих данных получена в исследованиях, выполненных при моделировании эффектов измененной силы тяжести в лабораторных условиях на земле с использованием клиностата и центрифуги. Исходно[^] эти исследования планировались с целью получения фоновых данных в процессе отработки методов полетных (космических) экспериментов. Однако по мере накопления данных стало очевидно их самостоятельное теоретическое значение и конкретная практическая польза для гравитационной и космической биологии. Вместе с тем, активно проводились исследования и в условиях реального космического полета.

В лаборатории гравитационной биологии нами были выполнены комплексные исследования на культурах свободноплавающих одноклеточных организмов инфузориях, принадлежащих к различным классам: Ciliata, Flagellata, Sarcodina, а именно: *Tetrahyena pyriformis*, *Bursaria truncatella*, *dileptus anser*, *laxodes striatum*, *Euglena gracilis*, *Clamydomonas reinhardtii* и *Ameoba proteus*. Перечисленные одноклеточные организмы имеют разные формы и размеры, обладают разным уровнем метаболической и двигательной активности, что определяет их эколого-физиологический статус и местообитание. Морфо-функциональные характеристики перечисленных одноклеточных организмов представлены в таблице 2.

В исследованиях, выполненных в условиях гипергравитации на центрифуге (ускорение силы тяжести от 2 до 5g), в начальный период развития культур у всех представителей одноклеточных наблюдался кратковременный эффект стимуляции пролиферативной активности и как следствие, прирост биомассы. Однако ход кривых роста для различных представителей одноклеточных был неодинаковым. Так, например, в логарифмической фазе роста у тетрахимены, эвглены и хламидомонады наблюдался наибольшее увеличение биомассы культуры при неизменных размерах клеток. У более крупных представителей; дилептуса и бурсарии, увеличение прироста биомассы в условиях гипергравитации в первые сутки эксперимента наблюдается в меньшей степени, а у крупной и малоподвижной амебы, этот показатель вообще остается неизменным.

Условия клиностатирования, имитирующие некоторые эффекты невесомости, не вызывают у данных одноклеточных организмов заметных изменений морфо-функционального статуса на клеточном и популяционном уровнях [20]. Полученные данные

свидетельствуют о том, что, несмотря на сходную картину кривых роста одноклеточных организмов, принадлежащих к различным таксономическим группам, их гравитационная чувствительность заметно различается между собой. Основная причина этих различий, по нашему мнению, заключается не только и не столько в их морфологических характеристиках (форма, размеры, масса), а в первую очередь и в гораздо большей степени зависит от уровня метаболизма, двигательной активности и особенностей среды обитания как отдельно взятой клетки, так и всей популяции в целом.

Таким образом, наши исследования показали, что свободноплавающие одноклеточные организмы, обладающие собственным двигательным аппаратом (жгутики, реснички) подчиняются иным закономерностям и имеют отличающиеся от наземных многоклеточных организмов механизмы восприятия и реализации гравитационного стимула (гравирецепции). Как известно [35,57], для крупных наземных животных - млекопитающих, степень гравитационной чувствительности является функцией размеров и массы. Чем большие размеры организма, тем выше его гравичувствительность. Ведущим фактором, определяющим степень гравитационной чувствительности (толерантности) свободноплавающих одноклеточных организмов выступает не их масса и размеры, а в первую очередь уровень метаболической активности клетки и условия среды обитания, т.е. эколого-физиологические особенности. Другими словами, доказано, что гравитационная чувствительность на уровне клетки или одноклеточного организма есть функция их метаболической и двигательной активности. Одним из факторов, определяющих особенности распределения и поведенческие характеристики свободноплавающих одноклеточных организмов в гравитационном поле служит биоконвекция. Явление биоконвекции впервые было отмечено Лойфером и Манфредом [45]. В экспериментах, проводимых авторами, было показано, что одноклеточные организмы- инфузории (культура тетрахимены или парамеций) образуют видоспецифические типы (паттерны) распределения в среде, которые возникают при определенной концентрации. В результате детальных исследований было выявлено, что процесс образования видоспецифических паттернов (падающих пальцевидных слоев) нечувствителен к изменению таких факторов окружающей среды как температура, осмотическое давление, рН, концентрация катионов, обеспеченность кислородом, не реагируют на действие химических агентов, изменение вязкости среды. Исключение составляют факторы, способные изменять скорость движения (плавания) клеток. Время жизни "паттернов" - от 30 до 60 мин. При изменении величины силы тяжести, по нашим данным, наблюдается сокращение или увеличение времени жизни "паттернов" [20]. Ранее было показано, что биоконвекция образуется в результате возникновения динамической неустойчивости клеточных слоев, плотность которых превышает критическую. Этот процесс подчиняется закономерностям состояния неустойчивости Релея-Тейлора [51,63]. Отсюда был сделан вывод о причастности силы тяжести к возникновению биоконвективных потоков в среде обитания одноклеточных организмов. Исходя из анализа теоретических и экспериментальных работ, приведенных выше, можно сделать общее заключение. Явление биоконвекции следует рассматривать с позиций термодинамики неравновесных систем. Это положение детально проанализировано в работе [12]. Автор выдвигает весьма обоснованное предположение о том, что пусковым механизмом возникновения биоконвективных потоков служит появление разницы в температурных градиентах между верхним и нижним слоями культуры.

Когда эта разница становится критической, система выходит из состояния покоя и начинается биоконвекция. По-видимому, такая ситуация является частным случаем поведения сложных многофазных систем в гравитационном поле. Отсюда биоконвекция может изменить общую картину распределения одноклеточных организмов в среде, а сила тяжести способна внести в этот процесс свои коррективы.

Статоциты - специализированные гравирецепторные растительных клеток

У растений существует эволюционно закрепленный комплекс реакций, объединенный

под общим названием геотропизма. На уровне целого организма эта реакция выражается в изгибе осевых органов совпадающая с направлением вектора гравитации в случае корня и противоположно этому направлению в случае стебля. В первом случае это отрицательный геотропизм, во втором - положительный.

Молекулярный механизм осуществления этой реакции пространственно сосредоточен в специализированных гравирецепторных клетках - статоцитах. Статоциты, объединенные в группу по 8-10 клеток, составляют так называемую статенхиму, локализованную в корневом чехлике. Каждый статоцит представляет собой клетку, внешний вид и внутренняя организация которой существенно отличается от других соматических клеток. Морфологические особенности строения статенхимы придают статоцитам форму вращающихся параболоидов, где каждая клетка аранжирована в плоскости радиальной симметрии. Гравирецепторные клетки строго поляризованы, а специфика распределения в них внутриклеточных органелл является структурной основой для восприятия и реализации силы тяжести. Эти клетки отличаются и ультраструктурной организации [58]. Если в меристематических клетках ядро занимает, как правило, 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 семян ориентируются в направлении гравитационного вектора. Одновременно внутри клетки возникает поляризация и специфическое пространственное распределение органелл. Ядро в подавляющем большинстве случаев локализуется недалеко от проксимального конца клетки. Ближе к дистальному концу клетки располагаются многочисленные пластинки эндоплазматического ретикулаума (Э.Р.), под которыми сосредотачиваются 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. Благодаря параболической форме статоцитов, перинуклеальные стенки каждого из них образуют угол 55-60 градусов с клетками корневой меристемы.

В период нормальной ориентации корня в вертикальном положении, совпадающем с направлением вектора силы тяжести; амилопласты, осаждающиеся на дистально расположенный комплекс Э.Р., 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 Э.Р. равномерно по всему объему клетки. Однако при минимальном отклонении от перпендикуляра, совпадающего с направлением вектора гравитации, происходит нарушение этого равновесия, которое приводит пространственному перераспределению внутриклеточных элементов и нарушению симметрии в распределении клеточных органелл в статоцитах и, как следствие - неравномерному росту клеток. Расчеты показывают, что возможный приемник гравитационного стимула или точнее "антенна" должна находиться внутри клетки [27].

Поскольку в специализированных гравирецепторных клетках растений, коими являются статоциты, имеются специальные (массивные по размерам и массе) органеллы - амилопласты, удовлетворяющие всем необходимым требованиям, то для них приводятся расчеты силы тяжести. При естественной седиментации, в растительной клетке, амилопласт 'должен развивать давление на мембрану $= 4,92 \cdot 10^{-14}$ Н, а его потенциальная энергия должна соответствовать $4,9 \cdot 10^{-19}$ Дж. Это на порядок выше минимальной энергии, необходимой для выполнения требований, определяемых расчетами.

Гравитационный изгиб (геотропическая реакция) на клеточном уровне рассматривается как цепь строго последовательных событий, происходящих в статоцитах. При изменении пространственного расположения клеточных органелл в момент получения гравитационного стимула, давление на мембраны Э.Р. вызывает в них обратимые конфигурационные изменения, которые приводят к изменениям фермент-субстратного комплекса, расположенного на

поверхности мембраны и затем сдвигу общего метаболизма клетки. Функциональные изменения, происходящие **во** внутриклеточном континууме клетки, приводят к изменению статуса пространственного распределения ростовых гормонов ИУК и АБК. В результате асимметричного распределения гормонов, на одной стороне клетки происходит усиленный рост и растяжение клеточной стенки, а на другой - торможение ростового процесса, что неизбежно приводит к геотропическому изгибу корня.

Роль систем внутриклеточной сигнализации и межклеточных контактов

Как известно, большинство свободноплавающих и пассивно распределенных в жидкой среде одноклеточных организмов, а также клетки, развивающиеся на твердом субстрате, не имеют специализированных гравирецепторов. Каким же образом в этих случаях, происходит восприятие и трансформация гравитационного импульса в клетку. Очевидно, что в этих случаях важнейшая роль принадлежит системе внутриклеточной сигнализации, при помощи которой осуществляется передача информации об изменении напряженности гравитационного поля от внешней мембраны клетки к цитоплазматическим структурам в ответ на связывание гормона с другими медиаторами. В большинстве случаев, мембранные структуры взаимодействующие с элементами цитоскелета, выполняют функции механорецепторов. При этом любой механорецептор представляет собой динамический преобразователь энергии, трансформирующий механический импульс в химическую энергию метаболизма клетки и оказывающий тем самым, воздействие на эти процессы [23]. Именно в сочетании с сократительными элементами цитоскелета, мембраны успешно осуществляют регуляторные и рецепторные функции в клетке.

Теоретические и экспериментальные исследования, выполненные в последнее время, показали, что вариации в величине силы тяжести четко коррелируют с чувствительностью молекулярных механизмов в системе внутриклеточной сигнализации. Так, например, теоретические исследования [55] показали, что в зависимости от того, в каком положении находится мембрана (горизонтальном или в вертикальном) -обнаруживается 20% разница в толщине ионных каналов. Экспериментальные исследования на нервно- мышечных препаратах лягушки выявили , что в условиях скомпенсированной силы тяжести (непрерывного вращения объекта на клиноstate) заметно снижается активность взаимодействия нейрона с миоцитом [37]. Исходя из этого, можно предположить, что условия космического полета, (микрогравитация) могут наложить запрет на осуществление процесса синаптогенеза и тем самым могут воспрепятствовать проведению нервного импульса. Убедительные доказательства в пользу такого предположения были/при исследовании других биологических объектов [31].

Рост и движение клеток как гравитационнозависимые процессы:

Геометрические формы в процессе жизни организма, в том числе и одноклеточного, равно как и на протяжении эволюционного развития, находятся в перманентном качественном и количественном изменениях. Простейшими среди таких изменений является рост, который включает в себя увеличение линейных размеров объекта (клетки или многоклеточного организма). Необходимым элементом развития, в том числе и клетки, является также морфогенез - количественное усложнение формы, которое можно интерпретировать как образование ранее отсутствующих геометрических особенностей. Простым примером морфогенеза может служить впячивание одного из участков ранее образованной сферической бластулы (начало гастрюляции). Наряду с геометрическими изменениями, происходят образование, миграция, деформация и разрушение структурных элементов, рождение, перемещение и гибель клетки.

Рост клеток происходит ритмически в геометрической прогрессии и сопровождается соответствующим увеличением общего объема (принцип Якоби).

Mn	2Mn	4Mn	8Mn	Масса ядер
Mc	2Mc	4Mc	8Mc	Масса цитоплазмы

При этом изменяются и ядерно- плазменные отношения (принцип Гертвига).

V_n -объем ядра
 V_c-V_n - объем цитоплазмы

Рост органов как функция размера тела подчиняется экспоненциальной зависимости.

$$Y = ax^b$$

y- размер органа или части тела,

x- размер всего организма

a- константа органа = 1

b- коэффициент пропорциональности

Взаимоотношения между массой органов (y) и массой тела (M~x) имеют в общем параболический характер $y=am^b$

Возможность и применимость этих закономерностей к клетке (организму) и внутриклеточным компонентам (органам) определяется предельной массой клетки или многоклеточного организма. Например масса одноклеточного организма- Paramecia 0,0001 Г (100мг.), икры лягушки - 0,1 Г (100мг), клетки водоросли Nitella -1Г (1000мг). Закон Дриша гласит, что путь развития части зародыша (клетки) есть функция положения этой части относительно целого организма. Процесс формообразования происходит в условиях совместного действия механических и физико-химических полей. Одним из простых примеров такой взаимосвязи между механическими и физико-химическими полями являются напряжения, возникающие в среде из-за способности клеток к хемотаксическому движению. Белинцеву [1] удалось вычислить значение хемиосмотической силы, которая оказалась пропорциональной градиенту концентрации аттрактанта. Этой силе приписывается решающая роль при деформации первоначально полусферического объекта - одной из стадий жизненного цикла слизевика *Dictyostelium discoideum* [43].

Все микроскопические ростовые процессы обусловлены деятельностью клеток, которая, в свою очередь, до известной степени контролируется макроскопическими физическими полями. Двигательная активность, присущая всем типам клеток, обеспечивается за счет преобразования химической энергии клетки в механическую. Клеточные движения вызывают возникновение активных сил как в самой клетке, так и сил взаимодействия с окружающей средой. При этом в напряженном состоянии находятся мембраны, цитоскелет и другие элементы клетки. Прямое измерение этих сил и напряженности, как правило, затруднительно. Двигательная активность одной (единичной) клетки неизбежно создает напряжение и (или) деформации в среде (субстрате, межклеточном веществе или в соседних клетках). Так, например, популяция соединительно-тканых клеток (фибробластов), помещенных на коллагеновую подложку с незакрепленными краями, вызывает ее постоянное втягивание со значительным (в десятки раз) уменьшением площади поверхности подложки. Если же края коллагеновой подложки закрепить, удастся наблюдать возникновение пространств периодических структур с повышенной концентрацией клеток. Это бесспорный пример самоорганизации живого материала[39]. В этом процессе, главенствующая роль принадлежит адгезии. Мера адгезивности - энергия, определяющая прочность контакта клетки с субстратом, едва ли может быть количественно оценена рецепторными системами клетки. Тем не менее, допускается, что некоторые другие физические свойства контакта, определяющие в конечном счете его энергию воспринимается рецепторами. Такие свойства клеток проявляются на анизотропном, растущем в одном направлении, субстрате [38]. Как было показано нами [17], гравитационные силы способны модифицировать степень адгезии клеток к субстрату. Это означает, что изменение величины силы тяжести может оказывать прямое (непосредственное) влияние на процессы роста, растяжения и дифференцировки, определяя тем самым основные морфологические характеристики (форму, размеры) клеток, растущих

в культуре *in vitro*.

Вместе с тем, в наших исследованиях показано, что степень гравичувствительности свободноплавающих одноклеточных организмов определяется, главным образом, уровнем двигательной активности, тогда как их морфологические характеристики (форма, размеры) играют второстепенную роль в процессе восприятия и реализации гравитационного стимула. На первый взгляд, рабочая гипотеза, выдвинутая нами, противоречит основному постулату гравитационной биологии, трактующему о наличии прямой зависимости между размерами (массой) организмов и их гравитационной чувствительностью. Однако, противоречие это кажущееся и легко разрешимое при рассмотрении данной проблемы с позиций биомеханики и биоэнергетики. Дело в том, что у подавляющего большинства одноклеточных организмов, средой обитания которых является жидкость, основные энерготраты необходимые для сохранения позиционного гомеостаза связаны с обеспечением постоянной двигательной активности на протяжении всей их жизнедеятельности, тогда как биомеханические характеристики (поддержание прочности и целостности по мере увеличения массы и размеров клетки) не имеют решающего значения для их роста и развития в поле силы тяжести [20]. Вместе с тем в клетках, растущих в культуре *in vitro* на твердом субстрате большая часть энергоресурсов расходуется на поддержание структурной целостности и роста в поле силы тяжести. В этом случае в определении их гравитационной чувствительности первостепенное значение приобретают перечисленные выше биомеханические характеристики, а именно, прочность сцепления с субстратом (адгезивные свойства и надежность межклеточных контактов).

Заключение:

Анализ результатов многочисленных исследований, выполненных нами в условиях измененной силы тяжести (микро-, гиро- и гипергравитации) на различных типах клеток и клеточных ассоциаций (*in vivo*, *in vitro*, *in situ*), позволил сформулировать ряд предположений и рабочих гипотез в гравитационной биологии.

Изменение величины и направления вектора силы тяжести, несомненно, приводит к нарушению структурно-функционального статуса клетки. В процессе адаптации к изменившимся условиям окружающей среды, клетка вследствие перестроек внутренней организации, переходит к новому стационарному состоянию. Механизм адаптации клетки к измененной силе тяжести предусматривает, прежде всего, реорганизацию мембран, элементов цитоскелета и пространственное перераспределение внутриклеточных органелл: ядра, пластид и митохондрий. Поскольку, все перечисленные параметры являются энергозависимыми, то их изменение требует дополнительных энергозатрат.

Прямое воздействие силы тяжести на клетку как биомеханическую конструкцию осуществляется путем активации механорецепторов, расположенных на внешней мембране, и трансформации импульса во внутриклеточный континуум (комплекс мембраны -цитоскелет - внутриклеточные органелл) с помощью системы внутриклеточной сигнализации. Данный механизм, преимущественно осуществляется в клетках, растущих в культуре *in vitro* на твердом субстрате.

Влияние силы тяжести на ассоциации индивидуальных клеток или на одноклеточные организмы, распределенных в жидкой среде, осуществляется, главным образом, опосредованно, вследствие изменения физико-химических параметров внешней среды: сдвига концентрационных и химических градиентов высокомолекулярных соединений, а также изменений площади поверхностей фаз: газ- жидкость.

В клетках, функционирующих в составе органов и тканей многоклеточных организмов (животных или растений), имеет место комбинированный эффект прямого и опосредованного воздействия силы тяжести, осуществляемый под контролем регуляторных механизмов высшего порядка: нервных или гормональных.

Таким образом, гравитационные силы играют решающую роль в фундаментальных биологических процессах, таких как рост (увеличение размеров и массы), морфогенез (изменение формы) и дифференцировка (образование клеток с различной структурой и функциями). Биомеханические параметры, обусловленные наличием силы тяжести, в соответствии с уровнем энергозатрат, обеспечивающих двигательную активность клеток, выступают в качестве регуляторов роста и функционирования биологических систем.

Установление взаимосвязи между биомеханическими характеристиками различных типов клеток, двигательной активностью и морфологическими характеристиками, с одной стороны, и их гравичувствительностью - с другой, даст возможность, с нашей точки зрения, регистрировать структурно-функциональное состояние на определенных этапах их роста и развития. Это, в свою очередь, позволит приступить к решению одной из частных, но важных практических проблем космической биологии - обоснованию возможности использования клеток в качестве «биосенсоров» гравитационных возмущений.

Список литературы:

1. *Бетищев Б.Н.* Физические основы биологического формообразования // М.Наука, 1991
- Брода Э.* Эволюция биоэнергетических процессов // М. Мир, - 1978
3. *Васильев Ю. М., Гельфанд И.М.* Взаимодействие нормальных и неопластических клеток со средой // М- Наука, -1981
4. *Вольперт Л.* //На пути к теоретической биологии. М. Мир, -1970
5. *Гельфанд В.И.* //Цитология, 1984, Т. 26, N.4, с.362 - 368
6. *Глазер Р.,* Очерк основ биомеханики // - М.- Мир, - 1988,
7. *Иванс А., Иванс Д., Скейлак Р.* Механика и термодинамика биомембран М. - Мир, - 1982,
8. *Кагава М.* Биомембраны. // М. - Высшая школа, -1985.
9. *Кальвин М.* Химическая эволюция // М. - Мир, - 1971
10. *Кордюм В.А.* Биологические пьезоэффекты как следствие механохимических процессов и возможный механизм клеточной гравивосприимчивости // - Киев , - 1997 .
11. *Пасечник В.И.* //Биофизика, - 1980, - Т. 25,- С. 265- 369.
12. *Пригожин И.* //Успехи физ. наук, 1980, Т. 131, N.2, С. 185-209
- 13-*Регирер С. А., Штег'ш А.А.* Механические аспекты процессов роста, развития и перестройки биологических тканей // Итоги науки и техники, ВНИТИ, 1985, С .3 -189
14. *Свиткина ТМ.* //Цитология, 1989, N12, С. 1435- 1439
15. *Серавин Л.Н.* //Механизмы регуляторных процессов Тр. Петергофского биологического института Изд. ЛГУ, 1972, 21, С. 3-27.
16. *Таурбеков М.Г.* Физиологические механизмы адаптации свободноживущих и растительных клеток к измененной силе тяжести // Доктор, диссертация, Москва, 1997
- 17.*Таурбеков М.Г., Марголис Л.Б., Байбаков Б.А., Габова А.В.,* II Изв. РАН (сер. биол), 1994. -N. 5,-С. 745-748
- 18.*Таурбеков М.Г.* II Авиакосмич. и экологич. мед, - 1994, - N5, - С. 3-10.
19. *Таурбеков М.Г.* //Изв. РАН, (сер. биол.) - 1996, -N.2, -С. 133 - 140
20. *Таурбеков М. Г. , Габова А.В., Гаврилова О.Н.* //Изв. РАН (сер. биол.)- 1997, - N.3, С.266.-272
- 21.*Терещенко Л.А.* Биомеханика поверхностей немышечных клеток //Доктор, диссертация. 1980
22. *Фултон Е.* Цитоскелет, архитектура и хореография клетки // - М.- Мир. -1985
23. *Черниговский В.Н., Миркин А.С., Машанский В.Ф.* II Изв АН СССР (сер. биол.) - 1970, N. 2,- С. 214-218.
24. *Albrechl Buechler G.* //Cell Motility and Cytoskeleton -1987, - V. 17, - N. 1, - P..54 - 65
25. *Albrechl-Buechler G.* II Int. Rev. of Cytol. - 1990, - V. 120, -P. 191-198.
26. *Ben-Zeev A.* II In Cell Shape, Acad. Press, - N-Y. - 1989
27. *Bjorkman T.* //Adv. Space Res., - 1992, - V. 12,- N1, -P.195-202.
28. *Bornens M.* II Biol. Cellular.- 1979, - V.135,- P.115-119
29. *Burrige K, Fath K., Kelly K et al.* //Ann. Rev. Cell. Biol,- 1988, - V.4 - P. 487- 502. | 30.
30. *Childress S.,* //Ann. Biomed. Eng., - 1983, - V.11,- N. 1,- P 65- 68.
31. *Cipriano I.* //The Physiologist,-1991,- V.34,- N.1,-P.72-78
32. *Coakly W., Galler D.* //Biosci. Res., - 1989,- V.9,-P. 679-681
33. *Curtis A., Seehar.* //Nature, 1978, - V.274 - P. 52-53
34. *Elson E, Schwab B., Zahalk G.* II In . World Congress of Biomech.- 1990,- V.2, -P. 137-144
35. *Economos A.* //The Physiologist, 1979,- V.22, - N.1,P.72-74