

Трехфазная (парадоксальная) дозовая зависимость реакции растительной клетки на факторы внешней среды

В. А. Веселовский, Т. В. Веселова, Д. С. Чернавский

ВЛАДИМИР АЛЕКСАНДРОВИЧ ВЕСЕЛОВСКИЙ — доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник кафедры биофизики Биологического факультета МГУ им. М. В. Ломоносова. Область научных интересов: адаптация и устойчивость растений, стресс на уровне клетки и популяции.

ТАТЬЯНА ВЛАДИМИРОВНА ВЕСЕЛОВА — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник кафедры биофизики Биологического факультета МГУ им. М. В. Ломоносова. Область научных интересов: адаптация и устойчивость растений, стресс, фосфоресценция при комнатной температуре биополимеров низкой влажности и семян растений.

ДМИТРИЙ СЕРГЕЕВИЧ ЧЕРНАВСКИЙ — доктор физико-математических наук, профессор, академик РАН, заведующий сектором теоретической биофизики Физического института РАН им. П. Н. Лебедева. Область научных интересов: синергетика, теория развивающихся систем, нелинейная динамика.

119899 Москва, Ленинские горы, МГУ, Биологический факультет, тел. (095) 939-32-73, факс (095) 939-11-15, E-mail moon@biophys.msu.ru

Понятие «доза» в биологическом эксперименте и зависимость «доза—эффект»

При исследовании механизма влияния факторов среды (химические агенты, электромагнитные излучения и др.) на биологическую систему в первую очередь изучают зависимость эффекта от дозы воздействия.

В биологическом эксперименте «доза» (мощность фактора, умноженная на время его действия) — понятие достаточно условное. Чувствительность организмов к факторам окружающей среды сильно (на несколько порядков) различается. О величине дозы (малая, средняя или большая) судят по отклику живой системы. Для оценки биологического отклика используют адекватные изучаемым системам динамические характеристики. Например, за реакцией популяции наблюдают, контролируя ее численность (плотность) и гетерогенность (разнообразие), а поведение клетки оценивают по изменению ее функциональных показателей. Естественно, что полурезультативные дозы внешних факторов воздействия для клетки и популяции клеток сильно различаются.

Положение критических точек на кривой «доза—эффект» зависит от того, исследуют ли фактор узконаправленного (специфического) или общего (неспецифического) действия. Специфический фактор, в частности высокоаффинное к данной системе вещество, обычно вызывает биологический эффект в низких концентрациях, но его высококонцентрированные растворы могут оказывать на клетку общее действие. Для специфических факторов характерна большая разница между стимулирующими и ингибирующими дозами. Неспецифические агенты (детергенты, осмотический фактор и др.) могут воспроизводить эффекты специфических факторов, но это имеет место при концентрациях неспецифического агента больших, чем специфического. Причем границы доз неспецифических факторов, оказывающих разнонаправленное действие, обычно сближены и желаемый биологический эффект, как правило, сопровождается негативным побочным действием. Например, трудно вызвать стимуляцию живого объекта, не повреждая клетки.

Форма кривой «доза—эффект» зависит от момента регистрации отклика живой системы. Пример тому представлен на рис. 1а — кинетика фотосинтетической активности листьев гороха при различных температурах. Если регистрировать эффект в разные моменты от начала действия температурного фактора — t_1 , t_2 , t_3 , то можно получить соответственно двухфазную, трехфазную и S-образную дозовые кривые (рис. 1б).

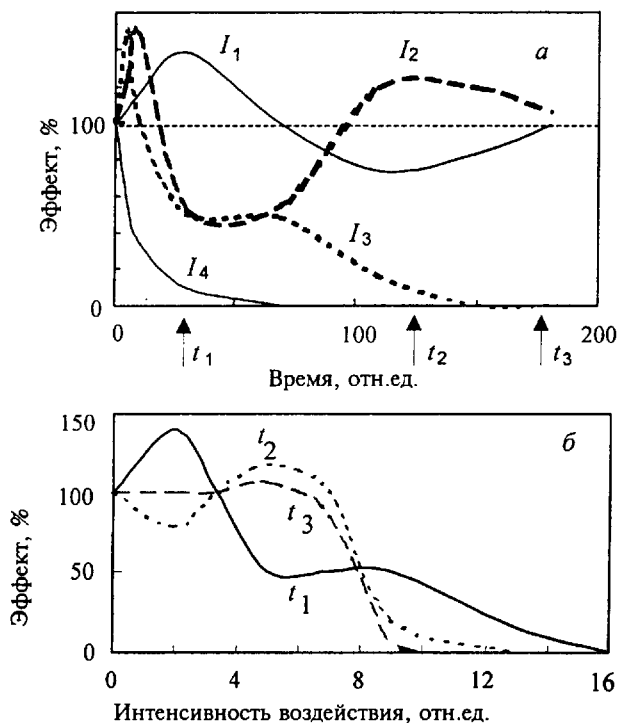


Рис. 1. Влияние теплового воздействия разной интенсивности ($I_4 > I_3 > I_2 > I_1$) на фотосинтетическую активность листа гороха:

а — кинетические кривые фотосинтетической активности. Стрелки указывают время действия теплового фактора (t_1 , t_2 и t_3); б — дозовая зависимость фотосинтетической активности на моменты времени t_1 , t_2 и t_3

Поскольку величину эффекта обычно нормируют относительно контроля, то характер дозовой кривой зависит от состояния исходного биологического материала. Так, при посеве на твердую питательную среду культуры бактерии *E. coli*, в которую были добавлены микроколичества меди (2—10 мкМ), мы наблюдали, что по сравнению с контролем вырастает разное количество макроколоний. Если в контрольной культуре не все клетки образовывали колонии, то ионы меди стимулировали их появление в опытной группе. Напротив, когда в контроле процент колониеобразующих клеток был высок, в опытной группе под влиянием ионов меди число колоний уменьшалось. Следовательно, исходное состояние клеточной популяции — доля компетентных (готовых к делению) клеток — определяет эффект, вызываемый ионами меди.

Таким образом, положение характерных точек на дозовой кривой может значительно смещаться в зависимости от многих причин: природы объекта, его функционального состояния, степени специфичности воздействующего фактора, времени регистрации отклика и т.п.

Наиболее часто зависимость биологического эффекта от дозы воздействия представляют двухфазной или трехфазной кривой [1]. При двухфазном ответе положительная реакция на слабое воздействие (стимуляция) сменяется отрицательной реакцией при большой дозе. В отсутствие стимулирующего эффекта отрицательная фаза реакции имеет вид S-образной кривой. При трехфазном ответе перед положительной реакцией фиксируется отрицательная фаза реагирования живой системы на сверхмалые воздействия. Смену с ростом дозы начального отрицательного ответа на положительный называют парадоксальной реакцией, поскольку меньшее по силе воздействие оказывает больший биологический эффект. Описаны и более сложные дозовые зависимости поведения биоты [2, 3].

Двухфазная дозовая зависимость — явление гормезиса

Диаметрально противоположное влияние на организм разных концентраций одного и того же вещества издавна известно в медицине как фармакологическая инверсия (лечебный эффект малых количеств ядов и вредное действие больших доз — постулат Парацельса). Сейчас это явление называют *гормезисом* [4, 5]. Существует несколько объяснений этому феномену.

Одно из них основано на предположении, что в норме регуляторные механизмы ограничивают функциональный потенциал клетки и таким образом исключают необходимость ее постоянно функционировать на пределе своих возможностей. Малые воздействия ослабляют контрольные механизмы, что вызывает активацию регулируемых процессов. При нарастании мощности фактора функционирование подконтрольных систем нарушается и может завершиться гибелью клетки [1, с.214]. Примерами такого пути стимуляции клеточных функций являются усиление поглощения кислорода митохондриями и ускорение фотосинтетического электронного транспорта в хлоропластах при выключении контроля со стороны системы фосфорилирования.

Другое распространенное объяснение двухфазной реакции живой системы заключается в том, что при слабом воздействии в клетке возникают нарушенияподобные тем, которые имеют место при действии фактора в большой дозе, но этих нарушений меньше.

В ответ клетка реализует защитные механизмы, которые могут не только компенсировать возникшие нарушения, но и вызвать гиперкомпенсацию. Иными словами, гормезис — следствие гиперфункции восстановительных систем клетки [4, с. 43].

И, наконец, гормезис рассматривают как стимуляцию нормальных физиологических процессов воздействием фактором в малой дозе. Причину стимуляции клеточных функций видят в активации мембранных рецепторов. При большой силе воздействия стимуляция сменяется замедлением и прекращением жизнедеятельности клетки. Поскольку клеточные функции могут стимулировать факторы совершенно несходной природы, то гормезис считают неспецифическим процессом — проявлением общебиологического закона Арндта—Шульца.

Трехфазный отклик на внешние факторы. Экспериментальные наблюдения

Трехфазный (парадоксальный) ответ биоты на внешнее воздействие настолько необычен, что некоторые исследователи до сих пор не могут примириться с мыслью, что слабые дозы действуют эффективнее средних, и относят трехфазные (бимодальные) зависимости к научным курьезам, артефактам некорректно поставленного эксперимента. Но накопленный к настоящему времени огромный экспериментальный материал не оставляет сомнения в реальности этого явления. Известный цитолог проф. В.Я. Александров в монографии [1] цитирует автора, который еще в начале века собрал 150 работ, содержащих парадоксальные дозовые зависимости.

Реакция живой системы на очень слабые сигналы не удивляет. Высокая чувствительность рецепторных систем организма, способность клеток реагировать на отдельные молекулы и «считать» кванты хорошо известны и эти экспериментальные факты получают научное объяснение.

Не менее важно понимать, почему при возрастании дозы воздействия ответ живых систем может уменьшаться (или вообще отсутствовать — «мертвая зона»)*. Распространено мнение, что средние дозы вредят клетке меньше, поскольку наряду с нарушениями они стимулируют клеточные защитные системы. Предполагают следующий ход событий при нарастании дозы. При малых воздействиях изменения в биосистеме происходят в отсутствие репарационных процессов и жизнедеятельность клеток снижается. При некоторой пороговой величине стимулирующего фактора клетка включает репарационные механизмы. Устанавливаемое равновесие процессов повреждения и восстановления обеспечивает существование клетки в неблагоприятных условиях [1, с.235]. Так на дозовой кривой появляется зона, соответствующая «недействующей» напряженности внешнего фактора. С увеличением мощности фактора повреждение нарастает и репаративные системы не могут его ликвидировать. Когда уровень нарушений становится несовместимым с жизнедеятельностью клетки, она погибает.

* Если принять, что в 1 см³ ткани содержится 10⁹ клеток, то при сверхмалых дозах (концентрации 10⁻¹⁴—10⁻¹⁷ М) на 10²—10⁶ клеток приходится одна молекула агента, а при средних дозах (концентрации 10⁻¹⁰—10⁻⁷ М) с каждой клеткой могут взаимодействовать тысячи молекул вещества.

Если соотнести этот сценарий поведения живой системы с принципом детектирования технической системой сигналов в широком диапазоне интенсивностей, то возникает ощущение неполноты приведенного описания поведения живого объекта. Измерительный прибор реагирует на слабые стимулы после их усиления. Для случаев, когда уровень входных сигналов слишком велик, чтобы измерительная система не была выведена из строя, в ее схеме предусматривают способ снижения чувствительности. Переключение системы с чувствительного на грубый режим работы является ответственным моментом. Чтобы уменьшить опасность разрушения системы, ее временно переводят в «нейтральное» или «низкочувствительное» состояние (например, для переключения скоростей у автомобиля предусмотрено сцепление и «нейтральное» положение шестеренок в коробке передач).

Что касается функционирования биологической системы, то переход ее при постоянном давлении внешних условий (стимулов) на новый режим жизнедеятельности (адаптация) требует некоторого времени (часы, дни). На этот период для предупреждения разрушения живая система нуждается в оперативном включении механизмов, понижающих ее чувствительность, и в одновременном поддержании определенного уровня энергозависимых процессов, необходимых для перестройки клеточных структур.

Ранее нами была предложена версия поведения клетки сразу после того, как под действием большого стимула она оказалась за границей толерантной области своего существования [6, 7]. Экспериментально было показано, что при пороговой (критической) силе воздействия живая клетка переходит из стационарного состояния, контролируемого гомеостатическими механизмами, в новое квазистационарное состояние. При этом чувствительность клетки резко уменьшается и возрастает устойчивость к различным факторам среды. Переход в новое состояние равновесия инициируют разные по природе факторы и его можно считать неспецифическим приспособительным клеточным актом. Приведем примеры.

Мы наблюдали возрастание теплоустойчивости тилакоидных мембран клеток водоросли *дуналиелла* при интоксикации среды ионами меди (рис. 2, кривая 1). Подобное действие оказывает фунгицид имазалил в концентрации 0,2 мкМ на клетки водоросли *сценедесмус*.

Подъем устойчивости тилакоидов к температурно-фактору наблюдали также в экспериментах на ли-

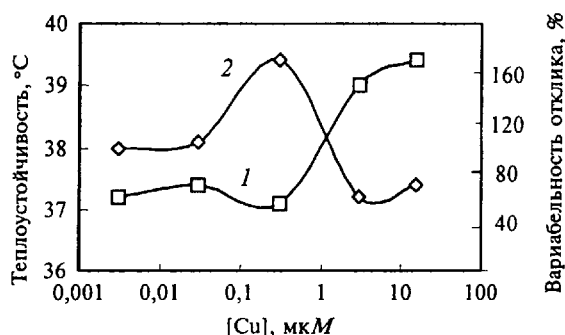


Рис. 2. Влияние ионов меди на теплоустойчивость тилакоидных мембран (1) и варибельность отклика (подвижность клеток) на температурный скачок (6 °C) (2) клеток водоросли *дуналиелла*

стьях гороха и хлопчатника, которые подвергали различным воздействиям: УФ-облучению (начальные стадии), фумигации озоном, обезвоживанию, действию хлорида натрия и перегреву. Поскольку УФ-радиация замедляет также дегидратацию клеток, то это означает одновременное с увеличением теплоустойчивости тилакоидов изменение свойств цитоплазматической мембраны клетки. Обработанные хлоридом натрия корни гороха становились устойчивее к фотодинамическому действию и, напротив, корни после облучения в присутствии эозина — генератора активированного кислорода (супероксид, пероксид водорода) в меньшей степени повреждались токсическим количеством соли. Эти наблюдения и другие данные подробно рассмотрены в [6].

Необходимо подчеркнуть, что речь идет о *быстром* переходном процессе, в котором клетка приобретает повышенную устойчивость. Так, в результате термошока теплоустойчивость растительной клетки может возрасти в течение нескольких секунд [8, с.47]. Это слишком малый срок для того, чтобы в данном процессе смогли принять участие репарационные механизмы, а тем более чтобы смогла произойти полная активация генов (транскрипция + трансляция). Напомним, что полная активация генов у растительных организмов занимает часы. Поэтому В. Я. Александров ввел специальный термин «первичная теплоустойчивость», чтобы отличать этот быстрый реактивный ответ от общей устойчивости, которая развивается при хроническом влиянии внешнего фактора как следствие взаимодействия разрушающих и созидующих сил в клетке.

Быстрый реактивный подъем устойчивости микробной клетки мы наблюдали при фракционированном действии ионов меди на культуру бактерии *E.coli* (контролировали выживаемость и рассеяние клетками света). После получасового экспонирования клеток в присутствии 150 мкМ ионов меди погибало 80% клеток. При фракционированном действии (75 мкМ + 75 мкМ ионов меди) доля погибших бактерий уменьшалась. Эффект зависел от промежутка времени между введением порций токсиканта. Уже при 20-ти секундном интервале, судя по изменению светорассеяния клетками, токсическое действие 150 мкМ меди уменьшалось вдвое. Это время заметно меньше чем то, которое обычно требуется для активации генов у бактерии *E.coli* (3—4 мин).

Неспецифическое увеличение устойчивости клетки наблюдается в достаточно узкой области действия внешнего фактора. Структурные и функциональные характеристики клетки изменяются резко по S-образному закону. При постепенном нарастании мощности воздействующего фактора (температура, обезвоживание, фумигация озоном, засоление растительных объектов) кривая подъема теплоустойчивости тилакоидных мембран, градиента концентрации протонов на них и других характеристик в координатах Хилла спрямляется. При этом коэффициент Хилла превышал значение 2, что говорит о высокой кооперативности проходящих в клетке перестроек [7, с.39].

Реактивная модификация свойств клетки, по-видимому, не вызвана грубыми нарушениями денатурационного типа. Скорее всего происходят обратимые перестройки в структуре белка с образованием дисульфидных мостиков, поскольку при этом снижается количество титруемых белковых меркаптогрупп. При обработке листьев растения блокаторами белковых меркаптогрупп (озон или *n*-хлормеркуробензоат) возникают

такие же характерные для рассматриваемой клеточной реакции признаки: снижение фотосинтеза, рост теплоустойчивости тилакоидных мембран и др. [6, с.120].

Природа «мертвой зоны» на дозовой зависимости

На основании описанных выше фактов, а также соответствующих литературных данных [9—11] было высказано предположение [6, 7], что растительную клетку можно рассматривать как достаточно жесткое в механическом смысле образование, способное к фазовым переходам, т.е. клетка — это триггерное устройство. Для проверки такого предположения был поставлен эксперимент, учитывающий, что триггерная система при переключении из одного устойчивого стационарного состояния в другое всегда проходит через область неустойчивости. При этом чувствительность системы возрастает, ее поведение становится нерегулярным и небольшие случайные флуктуации условий (шумы) могут изменить состояние системы.

Изменение состояния живой клетки возможно только после нарушения ее гомеостаза, которое происходит на границе толерантной области жизнедеятельности клетки. Поэтому в области перехода следует ожидать увеличения чувствительности клетки к различным стимулам и роста вариабельности ее свойств. Мы действительно наблюдали [12] у микроводоросли дуналиелла перед скачком теплоустойчивости (переход клеток в стресс под влиянием ионов меди) рост вариабельности подвижности клеток в ответ на тепловое тест-воздействие (рис. 2, кривая 2). Аналогичные данные были получены в опытах на одноклеточном организме тетрахимена.

Квазистационарное состояние повышенной устойчивости (аналог «нейтрального» состояния при переключении режимов работы технической системы), в которое реактивно переходит клетка и которое помогает ей пережить неблагоприятные условия на первом этапе адаптационного процесса, мы считаем стрессом на уровне растительной клетки [6, 7, 13] (термин «клеточный стресс» ранее был использован в [14, 15]). Последующие события — ликвидация нарушений и гензависимая перестройка клеточных структур переводят клетку в новое состояние активного функционирования в измененных условиях.

Возникает вопрос, в какой степени эта версия сочетается с традиционным представлением о «мертвой зоне» на дозовой зависимости как результат борьбы репарационных процессов с возникающими в клетке нарушениями? Для ответа на него мы проанализировали причины сходства трехфазных дозовых кривых для культуры одноклеточной водоросли сценедесмус и лишенных возможности осуществлять восстановительные процессы воздушно-сухих семян гороха.

Культуру водоросли выращивали в присутствии различных количеств фунгицида имазалила. Семена гороха подвергали тепловой обработке при 40 °С и атмосферной влажности 80% (так называемое ускоренное старение).

На рис. 3а представлена полученная зависимость роста культуры водорослей от дозы токсиканта, а также доля мертвых клеток. При объяснении данного биоэффекта мы учитывали изменение размерно-возрастной структуры популяции и ее ценобиального состава. Световые условия выращивания культуры (день—ночь, 12:12 часов) способствовали постоянному наличию в популяции двух размерно-возрастных групп клеток: молодых клеток, средний размер 3—3,5 мкм и готовых к делению клеток, 4,5 мкм. Перед делением четырехклеточные ценобии распались на двухклеточные. При торможении клеточной пролиферации размер клеток возрастал. Если деление клеток не возобновлялось, то они превращались в одиночных «гигантов» диаметром 10—12 мкм.

Уменьшение относительного количества клеток в культуре водорослей при низких концентрациях имазалила обусловлено не гибелью, а прекращением деления только части клеток на длительный срок (1 месяц), о чем свидетельствовало появление в популяции фракции одиночных гигантских клеток. Остальные клетки не чувствовали присутствия токсиканта в среде и продолжали нормально размножаться. По-видимому, низкие концентрации имазалила оказывают двоякое действие: сначала токсикант как «фактор роста» инициирует деление части клеток (через сутки численность клеточной популяции превышала контрольную на 20%), а затем повреждает их и выводит из цикла.

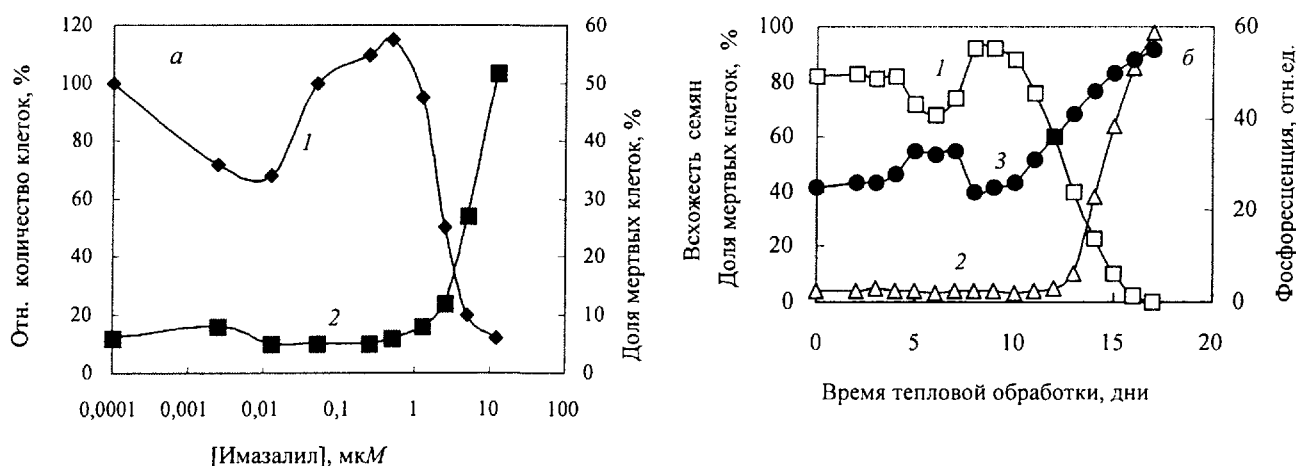


Рис. 3. Кривые «доза—эффект» для микроводоросли сценедесмус, обработанной имазалилом (а), и семян гороха после тепловой обработки (б):

а — изменение общей численности клеток (1) и доли мертвых клеток (2); б — изменение всхожести семян (1), числа мертвых семян (2) и интенсивности флуоресценции семян при комнатной температуре (3)

Имазалил в количестве, соответствующем «мертвой зоне» на дозовой кривой, прекращал деление водорослей. Но клетки продолжали расти в размере, их фотосинтетическая активность и чувствительность к тестовому воздействию уменьшались, а теплоустойчивость возрастала (оценки были проведены по параметрам замедленной люминесценции водорослей). Такие изменения характерны для клеточного стресса. Через несколько дней практически одновременно клетки начинали делиться, популяция по численности догоняла и даже превосходила контрольную культуру. Размерный спектр клеток восстанавливался, нормализовались их функциональные характеристики. Приобретенная повышенная устойчивость клеток сохранялась. По-видимому, стресс способствовал заживанию повреждений, структурным перестройкам и переходу клеток на новый режим функционирования, который позволял им нормально расти при повышенном содержании токсиканта в среде (акклимация). В случае же малых концентраций токсиканта, не вызывающих стресс, поврежденные клетки, очевидно, не адаптировались и их пролиферативная активность не возобновлялась.

При сублетальных количествах токсиканта прекращалось деление всех клеток, они не гибли, увеличивались в размере и к концу срока наблюдения превращались в одиночных гигантов. Клетки имели функциональные признаки стресса, но не могли выйти из этого состояния и возобновляли пролиферацию только после пересадки в чистую питательную среду.

Подобно росту водорослей в присутствии токсиканта всхожесть семян гороха в процессе тепловой обработки, а также их флуоресценция при комнатной температуре изменялись трехфазно (рис. 3б). Как и в случае водорослей, на первой фазе теплового воздействия (5—7 дней, малая доза) снижение всхожести семян было обусловлено не их гибелью, а задержкой деления клеток корня. Причем это наблюдалось не у всех прорастающих семян. Жизнеспособное семя считают невсхожим, если после набухания и проклеивания у него не растет корень. Такие семена имеют повышенную проницаемость оболочки и клеточных мембран для воды и электролитов. Гидратация «сухих» клеточных структур семени сопровождается их повреждением, которое возрастает при увеличении скорости поступления воды в клетку [16]. При проращивании семени внутриклеточные нарушения не успевают восстанавливаться, что является одной из главных причин снижения всхожести стареющих семян. Замедление поступления воды в семена (например, замачивание в осмотиках) увеличивает их всхожесть.

На 8—10-ые сутки теплового воздействия фиксировали скачкообразное улучшение качества семян (уменьшалась проницаемость клеточных мембран, возрастала всхожесть до контрольного уровня) и появлялась «мертвая зона» на дозовой кривой. Измерение флуоресценции показало, что «выздоровление» семян произошло не в момент проращивания, а раньше, еще в процессе прогревания. Условия старения (влажность семян во время опыта 18%) практически исключают ферментативные репарационные процессы. Значит, снижение чувствительности семян к температурному фактору (повышение всхожести) обусловлено физико-химическими процессами в твердой фазе (в отсутствие «свободной» воды).

Эти опыты показали, что состояние повышенной устойчивости семян может быть достигнуто и без

включения процессов репарации на фазе прорастания. Таким образом, «мертвая зона» на дозовой кривой — это не результат функционирования восстановительных процессов, а новое устойчивое состояние живой системы.

О причинах бимодальной дозовой зависимости растительной клетки в условиях нарастающих внешних воздействий

Сходная реакция популяции покоящихся семян и растущей культуры одноклеточной водоросли позволяет говорить об общих причинах парадоксального поведения живых систем в условиях линейно нарастающего воздействия. Очевидно, что при малых дозах снижение относительной численности водорослей и количества всхожих семян вызваны не гибелью клеток, а задержкой их деления. При средних дозах («мертвая зона») отсутствие биоэффекта обусловлено преимущественно не ликвидацией нарушений восстановительной системой клетки, а переходом последней в новое состояние, отличающееся от исходного более низкой чувствительностью как к фактору, вызвавшему переход, так и к другим факторам.

И, наконец, объяснение S-образной части трехфазной дозовой кривой разной выживаемостью нормально распределенных по устойчивости организмов, видимо, не во всех случаях справедливо. Так, в наших опытах двукратное снижение относительной численности водорослей было вызвано в основном задержкой их размножения, а не гибелью (50%-ный эффект токсиканта — не LD_{50}). Данное замечание относится и к дозовой зависимости всхожести семян. При уменьшении всхожести в два раза число мертвых семян составляло всего 5—10%.

Эти выводы можно подкрепить наблюдениями за реакцией культур сине-зеленой водоросли синекостис и бактерии *E. coli* на присутствие в среде физиологических количеств ионов меди, а также данными о росте проростков при различных температурах и уровнях засоления и др. [6].

Сравнивая наши наблюдения с литературными данными (см. обзоры [1, 4, 6—8]), мы пришли к выводу, что бимодальная дозовая зависимость есть отражение двух дискретных режимов функционирования клетки, в которых ее чувствительность к внешним стимулам сильно отличается. В толерантной области жизнедеятельности живая система имеет высокую чувствительность за счет работы механизмов амплификации. После адаптации, в процессе которой клетка переходит на новый уровень гомеостаза, ее чувствительность к воздействующим факторам уменьшается. Если бы число состояний клетки с разной чувствительностью, между которыми она могла совершать переходы, было большим, то возросла бы и модальность дозовой кривой.

Количественно выразить разницу в чувствительности клетки при изменении состояния не всегда просто. В наших опытах чувствительность водоросли синецедесмус к имазалилу снижалась в 1000 раз: 0,0025 и 2 мкМ токсиканта в одинаковой степени уменьшали численность популяции (см. рис. 3а). На три порядка различаются также концентрации ионов меди, уменьшающие на треть концентрацию клеток в культуре водоросли синекостис.

Уменьшение чувствительности клетки к внешним сигналам скорее всего не вызвано возникновением

нового специфического механизма их детектирования. Создание дополнительных механизмов требует больших энергетических затрат. На случай слишком большого давления окружающих условий природа предусмотрела возможность реализации в клетке более экономичного неспецифического двухтактного механизма понижения чувствительности.

При нарушении гомеостаза клетка для самосохранения производит частичную замену элементов мембранной системы. В процессе реализуются «спящие» программы генома. Последний работает достаточно медленно. Выручает быстрая неспецифическая кооперативная реакция цитоскелет-мембранного комплекса, в результате которой повышается устойчивость клетки, снижается метаболизм и останавливается пролиферация. В этом состоянии клетка имеет время для ликвидации нарушений и гензависимой модификации мембранных структур. Приобретая адекватную внешним условиям более низкую чувствительность (акклимация), клетка «занимает» на дозовой кривой «мертвую зону».

Двухтактную последовательность приспособления клетки к новым условиям демонстрирует изменение формы кривой «доза—эффект» во времени (см. рис. 1б). При малых временах действия фактора t_1 на дозовой кривой обнаруживается плато (ответ системы постоянен при нарастании силы стимула), свидетельствующее о временном переходе клетки в устойчивое состояние (стресс). К моменту t_2 перестройка завершена и S-образная кривая отражает ингибирование функции уже у адаптированных, т.е. низкочувствительных клеток. И только в момент t_3 фиксируется трехфазный ответ живой системы, ее высоко- и низкочувствительные состояния.

Для формального описания дозовых (и кинетических) кривых предложено несколько математических моделей. «Параметрическая» полупирическая модель трехфазной дозовой кривой основана на предположении, что ответ клеточной популяции отражает линейную суперпозицию N состояний, через которые она последовательно проходит после начала действия фактора [17]. Для удовлетворительного соответствия между теоретической кривой и экспериментальными данными необходимо, чтобы живая клетка имела по крайней мере семь состояний. В популяции одновременно существуют клетки в разных состояниях и доля таких клеток варьирует во времени. Биологический смысл состояний пока не ясен.

По нашему мнению, число устойчивых стационарных состояний живой системы должно быть невелико и адекватно целевым функциям клетки (накопление биомассы и переживание экстремальных ситуаций ради акта самовоспроизведения; гибель в условиях, несовместимых с жизнедеятельностью). Этим задачам, как мы ранее предположили [6, 7], вполне удовлетворяют три устойчивых стационарных состояния: «норма», в котором функционирование клетки контролируется гомеостатическими механизмами,

«защитное» квазистационарное состояние (стресс) и «мертвое». Переходы между этими состояниями мембранных структур клетки кооперативны.

На основании высказанного выше предположения о том, что живая система способна находиться в двух дискретных состояниях, различающихся по чувствительности к внешним стимулам, нами разработана математическая модель, удовлетворительно описывающая бимодальную дозовую зависимость потери всхожести семян под влиянием теплового фактора (ускоренное старение) [18].

* * *

Авторы выражают благодарность А. В. Веселовскому, Е. А. Леоновой, В. Ю. Прохочкой и И. Г. Сумаруковой, принимавшим участие в данной работе на разных ее этапах.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского фонда фундаментальных исследований № 96-15-97782.

ЛИТЕРАТУРА

1. Александров В.Я. Реактивность клеток и белки. Л.: Наука, 1985, 318 с.
2. Бурлакова Е.Б. Вестник РАН, 1994, т. 64, № 5, с 425—431.
3. Budagovsky A.V. In: BioPhotonics. Non-equilibrium and Coherent Systems in Biology, Biophysics and Biotechnology. Eds.: L.Belousov, F.Popp, Moscow. Bioinform Services Co., 1995, p. 234—255.
4. Кузин А.М. Идеи радиационного гормезиса в атомном веке. М.: Наука, 1995, 158 с.
5. Райнхарт Э. Биол. медицина, 1998, № 2, с. 4—8.
6. Веселовский В.А., Веселова Т.В. Люминесценция растений. Теоретические и практические аспекты. М.: Наука, 1990, 200 с.
7. Веселова Т.В., Веселовский В.А., Чернавский Д.С. Стресс у растений (биофизический подход). М.: изд-во МГУ, 1993, 144 с.
8. Александров В.Я. Клетки, макромолекулы и температура. Л.: Наука, 1975, 330 с.
9. Конев С.В., Аксенцев С.Л., Черницкий Е.А. Кооперативные переходы белков в клетке. Минск: Наука и техника, 1970, 204 с.
10. Романовский Ю.М., Степанова Н.В., Чернавский Д.С. Математическая биофизика. М.: Наука, 1984, 304 с.
11. Белоусов Л.В. Биологический морфогенез. М.: изд-во МГУ, 1987, 239 с.
12. Веселова Т.В., Веселовский В.А., Власенко В.В. и др. Физиол. растений, 1990, т. 37, вып. 4, с. 733—738.
13. Веселовский В.А., Джанумов Д.А. В кн.: Сверхслабые свечения в медицине и сельском хозяйстве. М.: изд-во МГУ, 1974, с. 89—98.
14. Ябров А.А. Цитология, 1967, т. 9, с. 692—706.
15. Календо Г.С. Успехи соврем. биологии, 1972, т. 73, с. 59.
16. Priestly D.A., Leopold A.C. Physiol.plant., 1980, v. 49, p.133—139.
17. Holzhutter H.-G., Quedenau J.J. Biol. Systems, 1995, v. 3, № 1, p. 127—138.
18. Веселова Т.В., Веселовский В.А., Колупаев А.Г. и др. Биофизика, 1999, т. 44, № 5, с. 510—517.