

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

# **СТРЕСС У РАСТЕНИЙ**

**(БИОФИЗИЧЕСКИЙ ПОДХОД)**



**Издательство Носковского Университета**

**1993**

ББК 28.071 + 28.081

УДК 535.37:574:577.3

Веселова Т.В., Веселовский В.А., Чернавский Д.С. Стресс у растений (Биофизический подход). - М.: Изд-во Моск. ун-та. 1993. 144 с. ISBN 5-211-02992-5

Рассмотрена концепция стресса на клеточном уровне. Предложено стрессом называть одно из дискретных устойчивых состояний клетки. Изложены элементы математического моделирования поведения биологических систем. Обсуждена роль триггерного принципа регулирования функционирования клетки в экстремальных условиях.

Для научных работников, аспирантов и студентов старших курсов биологических специальностей университетов, специализирующихся по физиологии растений, биофизике, экологии, а также всех тех, кто интересуется общими принципами устойчивости и надежности функционирования живых систем.

#### РЕЦЕНЗЕНТЫ

доктор физико-математических наук, профессор С.И.Аксенов,

кандидат биологических наук Г.А.Курелла

Печатается по постановлению  
Редакционно-издательского совета  
Московского университета

077 (02)-93-заказное

ISBN 5-211-02992-5



Веселова Т.В., Веселовский В.А.  
Чернавский Д.С., 1993.

## ВВЕДЕНИЕ

Возможно, что название книги некоторым читателям может показаться слишком претенциозным или даже неверным. Впервые термин "стресс"<sup>1</sup> в биологической и медицинской литературе появился для обозначения комплекса неспецифических морфологических и физиологических изменений у человека и животных во время болезни. Однако мы стоим перед свершившимся фактом - понятие "стресс" перенесено в физиологию растений и основательно закрепилось в ней. Существует уже целое направление - *стресс-физиология растений*.

В медицину этот термин был введен всемирно известным ученым Гансом Селье. Интересно, что при публикации своей первой работы на эту тему в 1936 г. Г.Селье был вынужден исключить из рукописи термин "стресс", заменив его на "повреждение". Использование этого слова для обозначения реакции организма на различные воздействия встретило слишком резкую критику рецензента. Но позже, как мы знаем, понятие нашло самое широкое распространение.

Представления Г.Селье явились альтернативой стереотипу большинства практикующих врачей, которые при диагностике болезни и подборе соответствующего (специфического) лекарства для эффективной терапии концентрировали внимание на немногочисленных "характерных" признаках заболевания. Исследователь заострил внимание на состоянии неспецифического "напряжения" в живом организме, которое проявлялось в морфо-физиологическом изменении ряда органов животного, отметив, что общий "синдром повреждения" накладывается на специфические проявления любой болезни. Подчер-

---

<sup>1</sup> Англ. "stress" - напряжение, усилие, давление или приведение в напряженное состояние системы.

квивая важность концепции стресса, Г.Селье писал: "Если на свете есть такая штука, как единая неспецифическая реакция организма на повреждение любого характера, то это само по себе может заслуживать внимания" (Г.Селье, 1972, С. 29).

Начинается стресс стадией *тревоги*. Во время нее мобилизуются защитные силы организма, но резистентность к стрессору (действующему фактору) падает ниже нормы. Причем, если реакция оказывается *слишком сильной*, то организм погибает уже на этой стадии. В ходе длительного нелетального воздействия наступает фаза *адаптации*, или *резистентности* – сопротивляемость организма возрастает. И, наконец, если действие вредного агента продолжается и достигнутая адаптация оказывается недостаточной, то происходит *истощение* живой системы. Симптомы этой фазы реакции похожи на те, что имеют место на стадии "тревоги": сопротивляемость падает и организм умирает.

Стоит напомнить, что цитологам со времен Вирхова были известны картины повреждения клетки различными по природе агентами. Исследователи отмечали однотипный комплекс структурно-функциональных изменений. Интерес к стереотипному ответу протоплазмы и попытки найти этому явлению объяснение привели в свое время к созданию мембранной теории, ионной теории возбуждения, теории липо-протеинового комплекса, теории возбудимого вещества, теории реакции поверхностной преципитации, денатурационной теории повреждения протоплазмы и другим. Появились представления о некробиозе (В.В. Лепешкин), парабииозе (Н.Е. Введенский), паранекрозе (Д.Н. Насонов, В.Я. Александров) как о ступенях повреждения протоплазмы клетки.

На уровне клетки предполагают трехступенчатый ответ протоплазмы на повреждение: *предпаранекротическое состояние*, *паранекротическое состояние* и *необратимая альтерация*. Под паранекрозом понимают такие изменения в поврежденной клетке, которые еще обратимы. Поскольку восстановление возможно за счет собственных усилий, то паранекроз рассматривают не как пассивную порчу протоплазмы, а как изменения, которые запускают цепь обменных процессов, направленных на репарацию клетки.

Недавно была сделана попытка сравнить учение о паранекрозе или, как его по-новому назвали, "неспецифическом адаптационном

синдроме клетки", с представлениями Г.Селье о стрессе (Браун, Моженок, 1987). В результате отмечено, что исследования на современном уровне процесса повреждения клетки подтверждают представления о неспецифическом характере изменений в альтерированной протоплазме, но для проведения полной аналогии нет достаточных оснований.

В ответе растения на повреждающее воздействие также было выделено три стадии. У О.Штокера они именовались: *фаза реакции*, *фаза реституции* (восстановления) и при сильном повреждении *необратимые изменения и гибель*. Наблюдаемый комплекс метаболических перестроек позже был назван *фитострессом*, с целью подчеркнуть специфичность стресса у растений (Генкель, 1982).

Формализуя проблему реактивности живой протоплазмы, можно выделить несколько достаточно ясных положений. 1. Возникающие в живой системе изменения зависят от величины и времени действия раздражителя. 2. Начальные перестройки обратимы, клетка и организм могут даже повысить устойчивость к воздействию фактору. 3. Когда повреждение слишком велико, изменения в системе становятся необратимыми и она погибает.

Цель данной книги — дополнить эти положения утверждением, что явление реактивного повышения сопротивляемости клетки различным воздействиям — следствие ее перехода в новое стационарное устойчивое состояние. Будут предложены объективные критерии для определения момента перехода живой системы из одного дискретного режима функционирования в другой — процесса, осуществляемого скачкообразно. Именно это *состояние* повышенной резистентности клетки мы предлагаем называть *стрессом*.

Читателя может удивить, что книга о стрессе у растений написана не физиологами, а биофизиками. Исходная подготовка авторов разная: физик, биолог, математик. Насколько плодотворным оказалось такое содружество, видимо можно будет судить после знакомства с содержанием книги.

Не секрет, что в настоящее время специализация наук и исследователей стала столь велика, что отдельному ученому, профессионально занимающемуся определенной дисциплиной, стало трудно понимать факты, позицию и язык работающего в смежной области знаний. Однако именно в силу этой ситуации существует большая

потребность в сосредоточении усилий исследователей разных профессий с целью разрушения консервативных традиций и нахождения новых путей развития биологической науки.

Теоретизация исследований в физиологии растений, в частности, в учении об устойчивости организмов, в настоящее время, с нашей точки зрения, весьма актуальна. Лаборатории постепенно пополняются дорогой, сложной и красивой аппаратурой. Зависимость от нее ведет к планированию эксперимента исходя из возможностей приборов. Загипнотизированные точностью и производительностью нового оборудования, исследователи начинают забывать, что сколь ни совершенны приборы и ценность получаемых с их помощью результатов, они не могут заменить необходимость *почувствия* проблемы.

Конечно, стремление исследователя к специализации, его желание стать законодателем в какой-то узкой области безусловно понятны с точки зрения его жизненных позиций. Но большая увлеченность исследованием, фокусирование внимания на деталях, боязнь ошибок и артефактов сужают поле зрения "наблюдателя проблемы". Возрастает вероятность поиска несуществующих *in vivo* структур и процессов в тщательно подготовленных "углях" живого, которые не существуют в целой живой системе. И не надо со скепсисом воспринимать напоминание, что проводя исследования на мембранном и молекулярном уровнях, нельзя забывать, что главная цель - понять *что такое жизнь*.

Популярное в последние годы среди ряда физиологов стремление работать на субклеточном уровне заставляет многих, чтобы не показаться старомодными, маскировать неологизмами свою приверженность традиционным морфо-физиологическим подходам. Скажем, наблюдение поведения растения в неблагоприятных условиях называют "анализом действия стрессовых нагрузок". Или, например, пытаясь произвести "неотразимый" эффект, украшают качественные положения математическими уравнениями, при этом не замечая того, что роль математики в этой ситуации сводится к описанию того же, что биологами было достигнуто интуитивным путем. В результате, исследование не сообщает ничего нового по сравнению с самой биологической идеей.

Мы не стремились "отнимать хлеб" у физиологов и писать исчерпывающий трактат о проблеме адаптации и устойчивости. Это

наполнило бы текст утомительными для читателя многочисленными и часто противоречивыми фактами. Поэтому глава I начинается с сообщения только тех определений и положений учения об устойчивости, которые, с нашей точки зрения, нуждаются в математической формализации. Затем изложены представления о структурно-функциональной целостности клетки, что должно помочь привыкнуть к мысли о том, что клетка ведет себя подобно триггерной системе.

Раздел о надежности биосистем не только информирует о направлении эволюции учения об устойчивости, но и указывает на необходимость найти место в нем нашей версии о стрессе. Заключает главу изложение экспериментальных фактов, послуживших основой для предположения о том, что при определенной критической нагрузке клетка совершает структурно-динамический переход в новое дискретное устойчивое состояние (стресс).

Основу "математической" главы составляет рассмотрение принципов, на первый взгляд никак не связанных с биологической спецификой. В рамках качественного анализа дифференциальных уравнений описано поведение нелинейной динамической системы в условиях изменения "окружающих условий". При усложнении модели, с ростом нелинейности уравнений, в ее поведении появляются свойства, которые могут быть уподоблены отдельным биологическим характеристикам. Это происходит в тот момент, когда модель перестает пропорционально реагировать на возмущающие воздействия, когда в ее поведении появляется автономность. При изложении математических принципов моделирования свойств сложных систем был риск показаться скучными и непонятными широкому кругу биологов, не владеющих математическими методами. Поэтому при написании этого раздела, по возможности, избегали математической формалистики и стремились наполнить его качественными рассуждениями.

Мы всеми силами не хотели подавлять мысль активного читателя специальной терминологией. Но избежать этого было невозможно. Восприятие некоторых определений, конечно, может встретить трудности, в частности, потому, что в математике и биологии ряд понятий звучащих одинаково, несут неодинаковую смысловую нагрузку. В первую очередь это касается терминов "переменная" и "параметр". Физиолог за функциональные параметры клетки обычно принимает ее фотосинтетическую активность или дыхание, концентрацию

веществ в протоплазме. При математическом моделировании поведения клетки для обозначения этих величин используют термин "динамическая переменная".

В главе 3 сделана попытка обсудить некоторые общебиологические закономерности реагирования клетки на изменение окружающих условий с позиций представления о клетке как биологическом триггере.

Предлагаемая в книге концепция стресса у растений на клеточном уровне рассмотрена преимущественно в теоретическом плане. Тем не менее мы думаем, что обсуждаемое в книге наше видение концепции стресса может помочь решению ряда практических проблем в области нормальной и патологической физиологии растений.

Авторы благодарят господина А.Плоткина, и господина А.А.Быкова за финансирование издания настоящей книги.



## I. ФОРМАЛИЗАЦИЯ ПРОБЛЕМЫ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТИТЕЛЬНЫХ ОРГАНИЗМОВ

### Определения и задачи физиологии устойчивости растения

Когда говорят о разной *устойчивости* растений, то имеют в виду, что одни растения могут довольствоваться определенной средой существования, тогда как другие в этих условиях погибают. Требования различных растений к условиям существования различны: одни могут выносить только небольшие изменения окружающей среды (их называют стенозками), другие, напротив, легко переносят изменения условий в широких пределах (эвриэки).

Для физиолога растений важно понимать, какие морфо-физиологические механизмы обеспечивают хорошую "подгонку" организма к условиям местообитания. Для выяснения этих механизмов необходимы наблюдения за изменениями в организме и клетке при воздействии неблагоприятных факторов, а также анализ картины гибели в условиях, несовместимых с жизнью растения.

В практике растениеводства существует необходимость в определении устойчивости растений к засухе, жаре, морозу, засолению и т.п., так как продуктивность посевов падает под влиянием этих факторов. Различают *биологическую* и *агрономическую устойчивость*. Под первой понимают выживаемость растений. Агрономическая устойчивость характеризуется степенью снижения урожая растений в неблагоприятных условиях.

Устойчивость растения является генетически детерминированным признаком, который наследуется. Это свойство изменяется в онтогенезе, а также под влиянием внешних условий (адаптация). Устойчивость – в значительной степени потенциальное свойство растения и может быть реализовано в полной мере в экстремальных ситуациях. Это означает, что для определения устойчивости растение или клетка должны быть подвергнуты повреждающему воздействию. И только наблюдая за характером ответной реакции, можно получить информацию об устойчивости организма к действующему фактору. Кроме того,

устойчивость является относительной характеристикой растения (сорта, вида), и поэтому при определении этого свойства пользуются сортами-классификаторами, у которых различия в устойчивости достоверно установлены.

Проблема сравнения растений по устойчивости в большой степени порождена сельскохозяйственной практикой человека, которая осуществляется с нарушением основных законов экологии. Для естественных растительных ценозов характерно разнообразие видового состава. Только в суровых условиях происходит его обеднение, когда из-за отсутствия конкуренции отдельный вид может быть представлен большим числом особей (правило Тинеманна). На сельскохозяйственных же угодьях выращивается монокультура. В погоне за максимальной продуктивностью посевов искусственно создают наиболее благоприятные условия для ее произрастания. При высоких урожаях ухудшается биологическое качество семян. Селекция ведет к выравниванию растений по генотипу, что, естественно, снижает устойчивость всей популяции. В результате пониженная устойчивость искусственных сельскохозяйственных сообществ растений требует для их сохранения постоянного ухода человека.

Для определения устойчивости стремятся из сложного фазно изменяющегося комплекса характеристик выбрать те, которые в большей степени отражают повреждения испытываемого организма. При отыскании физиологических критериев устойчивости возникает ряд вопросов.

Прежде всего непросто решить, какие изменения в клетке в момент или после нанесения воздействия следует считать признаками повреждения, а какие являются защитно-приспособительными. Патологические и адаптационные процессы можно рассматривать как разную степень стимулирования или угнетения предсуществующих физиологических, биохимических и биофизических реакций, которые протекают в клетке при оптимальных условиях. В таком случае исчезают качественные критерии для разграничения нормы реакции от повреждения живой системы. Обычно принимают во внимание направленность изменений и их количественную сторону. Неоднозначность в понимании природы возникающих в клетке перестроек является одной из причин многолетней дискуссии о роли специфических и неспецифических реакций в устойчивости растения.

Широко обсуждаются две точки зрения. Одни исследователи считают, что переживание растением неблагоприятных условий обеспечивает универсальный *неспецифический* комплекс адаптивных процес-

сов, характер которых не зависит от природы воздействующего фактора (Удовенко, 1977; Батыгин, 1986). Альтернативой этим представлениям является утверждение, что устойчивость растения определяют *специфические* приспособительные реакции, адекватные природе повреждающего фактора (Генкель, 1982).

Важным аргументом в пользу универсального характера защитных реакций является существование так называемой "перекрестной" устойчивости, т.е. реактивный подъем последней не только по отношению к данному воздействию, но одновременно и к другим факторам. Причем даже таким, адаптация к которым в природных условиях совершенно бессмысленна, например, ионам ртути, цианиду или гербицидам. Крайним выражением этой точки зрения является предположение о существовании единой физиологической устойчивости к различным экстремальным условиям.

Сторонники "специфической" концепции считают, что "перекрестная" устойчивость связана с существованием явления сопряженной (положительно) устойчивости. При этом не исключают и отрицательное сопряжение, когда рост устойчивости к одному фактору приводит к потере устойчивости к другому.

Делаются попытки сблизить эти точки зрения. Выдвигают тезис, что специфическое - это особенность выражения общего, т.е. разная степень проявления неспецифического (Урманцев, 1979).

Исследователи, стоящие на позиции универсального способа защиты растения, как специфическую рассматривают лишь первую фазу повреждения организма. Первичные специфические нарушения, по их мнению, не являются защитно-приспособительными, а представляют только сигнал для общего неспецифического ответного акта клетки. По мнению Г.В.Удовенко (1977), реакция растения на экстремальное воздействие начинается с фазы "раздражения", характеризующейся резкими и быстрыми колебаниями метаболизма. Затем наступает фаза "повреждения", отличающаяся снижением синтетических процессов и дезинтеграцией метаболизма. Если действующий фактор не является летальным, то через некоторое время наступает фаза "адаптации".

Развитие неспецифического адаптационного ответа клетки, включая реакцию генома, зависит от скорости нарастания воздействия. Причем фазный ответ живой системы четче (вплоть до проявления принципа "все или ничего") при быстрых изменениях условий. При этом разная степень устойчивости растений проявляется лишь при определенной напряженности экстремального фактора. Эмпиричес-

ки установлено, что она лучше выражена при такой степени воздействия, которая снижает продуктивность растения на 50%.

Те исследователи, которые полагают, что от каждого вредного воздействия растительный организм или клетка защищаются специфическим механизмом, тоже не исключают зависимости характера реакции от величины действующего фактора. При его малой интенсивности происходит "обычный" ответ и только при более значительном воздействии организм начинает защищаться от данного воздействия. Первая фаза реакции отражает "раздражение" или "узнавание" воздействия. В этот момент развивается целый ансамбль однотипных изменений. Они имеют "катоблический" характер, что выражается в нарушении ультраструктуры органелл клетки: митохондрий, хлоропластов и др. Наблюдаются: подавление роста, задержка развития, изменение проницаемости протоплазмы, тормозится фотосинтез, усиливается дыхание, нарушается сопряженность фосфорилирования и электронного транспорта, повышается активность гидролитических ферментов, и т.п. На следующей стадии реакции клетки - фазе адаптации - реализуются различные фенотипы за счет экспрессии неодинаковых или тождественных генов генома. К одному и тому же повреждающему фактору растения разных генотипов могут проявлять несходные или однотипные защитно-приспособительные реакции.

Из сказанного очевидно, что мнение разных исследователей относительно того, какой уровень воздействия вызывает приспособительные изменения и повышает устойчивость организма, неодинаково. Сошлемся еще на такие утверждения. П.А.Генкель (1982) считал, что приспособительные изменения в организме возникают уже в тех случаях, когда воздействие еще не вызывает повреждение. В.Я.Александров (1975) наблюдает приспособительные изменения к повышенной температуре только тогда, когда она приближается к повреждающей. Другие исследователи растительных организмов инкриминируют им специальные зоны жизнедеятельности (Дроздов и др., 1984; Родченко и др., 1988). Так, для теплового режима жизни растения выделяют фоновую зону, в которой теплоустойчивость растения остается весьма константной. В двух соседних температурных областях (выше и ниже фоновой) наблюдается температурная закалка растений. Более высокие и низкие температуры считаются повреждающими.

Нечеткость хронологической картины реактивных морфо-физиологических и биохимических перестроек в общем не мешает традиционному использованию методов ранжирования растений по устойчивости,

так как в основе методов лежит анализ преимущественно отдаленных или конечных результатов действия вредных факторов - оценка продуктивности или выживаемости. Однако данный этап развития физиологии устойчивости растений требует лучшего понимания природы начальных (первичных) изменений в клетке и организме при экстремальных ситуациях, поскольку актуальным стало создание физиологических экспресс-приемов диагностики.

Физиологи различают отдельные виды устойчивости: морозо- и холодоустойчивость, жаро- и засухоустойчивость, устойчивость к засолению, заболеваниям. Но количество видов устойчивости растет: "появились" газоустойчивость ( $O_3$ ,  $SO_2$ ,  $NH_4$ ), устойчивость к тяжелым металлам (ртуть, медь, кадмий и др.), гербицидам, углеводородам и другим техногенным факторам. Если развивать этот "факторный" принцип классификации устойчивостей, то можно прийти к существованию устойчивости к отдельным температурам ( $-25^{\circ}$ ,  $-5^{\circ}$ ,  $+40^{\circ}$ ,  $+50^{\circ}$ ) или различным концентрациям химических агентов. С точки зрения специфических механизмов устойчивости надо искать в клетке множество отдельных путей приспособления. Такая задача нам кажется слишком сложной и вообще нереальной. Трудно представить, что клетка обладает специфической устойчивостью к некоторому веществу, которого она в природных условиях ранее не встречала. Наверное рациональнее исходить из положения, что механизмы реагирования живой системы на внешние воздействия подвергались в эволюции естественному отбору и потому биохимическая стратегия адаптации клетки должна быть однотипнее и рациональнее. Поэтому разумнее отдельные виды устойчивости рассматривать как частные проявления общих принципов надежности живой системы (Гродзинский, 1983).

Но прежде чем развивать тезис о важности "надежного" подхода для анализа устойчивости биосистем, проведем некоторую формализацию представлений о структуре и метаболизме клетки как элементарной морфологической и функциональной единицы живого. Это поможет рассмотрению элементов теории надежности и анализу поведения клетки в экстремальных условиях с позиций синергетики (теории развивающихся систем). Подходы последней в настоящее время используют как наиболее общую теоретическую основу для изучения динамических свойств любых природных систем, включая биологические.

## Структурно-динамическая организации клетки

Анализ поведения такой сложной системы, какой является растительная клетка, в экстремальных условиях невозможен без некоторой формализации представлений об ее устройстве и принципах регуляции метаболизма. Поэтому сосредоточим внимание на общих чертах и не будем отвлекаться на детали, свойственные отдельным специализированным видам клеток.

Клетка является открытой динамической системой, ограниченной от внешней среды, но неразрывно с нею связанной. В свое время о протоплазме клетки возникло представление как о структурированном образовании, находящемся в постоянном движении (Бауэр, 1935; Гурвич, 1944). Считалось, что в живой клетке различить структуру и процессы на молекулярном уровне очень трудно. Структуру протоплазмы составляют неравновесные надмолекулярные образования (констелляции), которые сохраняются за счет постоянной подпитки их "структурной" энергией. Наблюдаемые в протоплазме фибриллярные образования уподобляли струе воды в фонтане - модель "структурированного" процесса.

подавляющее большинство процессов в клетке - ферментативные. Жизнь протекает при "низких" температурах, и без участия катализаторов химические превращения просто не могут происходить со скоростями, необходимыми для осуществления сложных реакций, с разрывом прочных ковалентных связей. Регуляция мощного каталитического потенциала клетки достигается двумя принципиально разными путями: изменением количества ферментов и активности последних. На активность фермента влияет количество доступного субстрата, физико-химические параметры среды и взаимодействие с особыми метаболитами, называемыми модуляторами. Ферменты, активность которых зависит от модуляторов, называют регуляторными. Они имеют для связывания субстрата центр, где протекает акт катализа, и еще один участок, называемый аллостерическим, для присоединения регулятора. Аллостерический путь регулирования обеспечивает "тонкую" настройку метаболизма в соответствии с изменяющимися условиями среды, и она осуществляется почти "мгновенно".

Регулирование концентрации фермента в клетке представляет

более высокий уровень метаболического контроля, который зависит от функции генома, процессов активации и репрессии генов. Этот путь регулирования имеет широкие возможности, но является очень медленным. При помощи гензависимого механизма может быть как увеличено, так и уменьшено количество ферментов, изменен их тип.

Клетка – интегрированная система, каждый ее элемент не автономен, а подчинен системе в целом. Реагируя на изменение внешних условий клетка модифицирует функциональную активность всех своих элементов, приспособлявая и уравнивая их с окружающей средой. Интеграция жизнедеятельности осуществляется несколькими путями. Первоначально единение клетки видели в химической общности продуктов деятельности биокаталитических систем: полифункциональных коэнзимах и единых промежуточных метаболитах, участвующих в разных метаболических циклах. Небольшое число типов и механизмов реакций действительно создает благоприятные условия для их координированного взаимодействия. Однако этого оказалось недостаточно. Объединение клеточного метаболизма без учета структурных элементов клетки невозможно. Обмен веществ регулируют ферменты не в растворенном состоянии, а их ассоциаты, смонтированные в слоистые морфологические образования – мембраны. В мембранах локализованы основные циклы клеточного обмена, тогда как бесструктурированная часть цитоплазмы бедна каталитическими компонентами и выполняет преимущественно "буферную" функцию.

Мембранные образования растительной клетки содержат в среднем около половины сухой массы клетки. Хотя различные мембраны состоят из близких по природе материалов (все содержат липиды и белки) и даже внешне похожи, но это сходство проявляется лишь в общих чертах. Различия обусловлены неодинаковым соотношением компонентов мембран, структурной организацией последних и их взаиморасположением. Имобилизация ферментных ассоциатов на мембране дает возможность не только ускорить течение каталитических реакций, но и ориентировать перемещение субстратов в пространстве, т.е. придать ферментативному процессу векториальность по отношению к мембране. Мембраны разделяют объем клетки на множество обособленных пространств – компартментов. Но последние разделены не наглухо, а, напротив, мембраны помогают интегрировать клеточный метаболизм в целом.

Примером единения клетки в общую функциональную систему является организация ее энергетического обмена. Известно, что

энергетический метаболизм у разных клеток построен по универсальному плану. В его основе лежит небольшое количество элементарных типовых процессов и структурных единиц. Разнообразие же достигается не числом, а комбинацией элементов и процессов, то есть структурно-динамическая целостность энергетического обмена обеспечивается минимальным разнообразием, экономичностью и стандартизацией типовых биохимических реакций и структурных элементов.

С.В.Конев, С.Л.Аксенцев и Е.А.Черницкий (1970) рассматривают клетку как единую систему, состоящую из интегрированных слабыми связями надмолекулярных (мембранных) ансамблей, способных находиться в разных конформационных состояниях и кооперативно переходить друг в друга. Сеть слабых связей удерживает мембранный каркас от тепловой коагуляции и обеспечивает возможность генерализованного перехода клетки на новый метаболический уровень. Последнее важно в экстремальных ситуациях, так как обеспечивает быструю мобилизацию защитных механизмов в клетке. Примером кооперативных переходов может служить скачкообразное изменение скоростей процессов при равномерном нарастании температуры среды.

Важную роль в интеграции метаболизма и упорядочивания поведения растительной клетки играет ее цитоскелет. Его образуют внутриклеточные фибриллярные структуры: микротрубочки (диаметр 20-30 нм), актиновые филаменты (5-7 нм) и промежуточные филаменты (10 нм). Предполагают еще существование в клетке тонковолокнистой (3-6 нм) богатой белком микротрабекулярной сети, которая объединяет микрофиламенты, промежуточные филаменты, элементы эндоплазматического ретикулума и цитоплазматическую мембрану (Porter, 1984).

Микротрубочки построены из белковых субъединиц тубулина и выполняют в клетке множество функций. Микротрубочки кортикального слоя протоплазмы ответственны за ориентацию целлюлозных микрофибрилл и значит функционально связаны со структурами на внешней стороне плазмалеммы. Микротрубочки веретена во время митоза участвуют в расхождении хромосом по разным концам делящейся клетки. Строительный материал (пектин) в виде везикул из аппарата Гольджи к месту образования клеточной пластинки, которая постепенно превращается в перегородку между дочерними клетками, транспортируется микротрубочками.

Структурную основу микрофиламентов составляет белок актин,



который образует ассоциаты с большим числом других, так называемых актин-связывающих белков. Среди последних основным считается сократимый белок - миозин. Актиновые филаменты выполняют в клетке опорную и двигательную функции. Они непосредственно участвуют в образовании структур, связывающих цитоскелет с цитоплазматической мембраной. Легко полимеризуясь, глобулярный актин превращается в фибриллы, которые могут образовывать трехмерную гелевую сеть, способную легко разбираться и вновь восстанавливаться. Гликолитические ферменты катализируют метаболизм глюкозы, будучи связанными некоторым образом с актиновым скелетом клетки, а не в растворенном виде.

Направленное движение цитоплазмы в крупных растительных клетках и малопорядочное (скачкообразное) в мелких - функция актиновых филаментов цитоскелета. Их пачки расположены на границе статического кортикального слоя и подвижной части протоплазмы. Органеллы клетки, например, митохондрии, в движущейся цитоплазме сцеплены с актиновыми нитями через молекулы миозина. Последние скользят вдоль актиновых фибрилл, увлекая органеллы и используя для этого энергию гидролиза АТФ. Характерное для растительных клеток светозависимое перемещение хлоропластов также осуществляют актиновые филаменты, которые быстро образуются при изменении освещенности листа. Эта функция цитоскелета особенно важна для растительной клетки не способной передвигаться из-за жесткой клеточной стенки.

Клеточная стенка представляет внеклеточный матрикс, тесно контактирующий с наружной поверхностью плазматической мембраны (плазмалеммой). Он образован волокнами целлюлозы, погруженными в полисахаридно-белковый матрикс (гликокаликс). Матрикс образуют, в основном, полисахариды - гемицеллюлоза и пектин, а также белки-гликопротеины. Каркасные фибриллы целлюлозы и полисахариды матрикса связаны друг с другом водородными связями в единую пространственную конструкцию, которая обеспечивает поддержание формы клетки.

Итак, надмолекулярные структуры растительной клетки, представленные мембранами, цитоскелетом и внеклеточным матриксом, можно рассматривать как общую механическую конструкцию. Хотя элементы этой механической системы постоянно обновляются, ее целостность сохраняется за счет избытка слабых связей (ван-дер-Ваальсовых, водородных, ионных и гидрофобных взаимодействий).

Последние легко разрушаются, так как их энергия всего в несколько раз превышает энергию молекул при комнатной температуре, но столь же быстро восстанавливаются. Поэтому механический каркас растительной клетки является динамическим образованием. Помимо выполнения опорной функции клеточный скелет влияет на пространственную и временную организацию метаболизма. Сигналы от поверхности клетки, где локализованы различные белковые рецепторы, через цитоскелет транслируются в геном (Bissele et al., 1982, Scott, 1984).

Механизм регуляции генов, т.е. их активация (включение) и репрессия (выключение) проявляется лишь в последние годы (Пташне, 1988). Ген считается включенным, если он копируется с образованием матричной РНК. Переключение генов в процессе регуляторного акта не сопровождается каким-либо их изменением. Работу РНК-полимеразы, транскрибирующей тот или иной ген, контролируют "регуляторные" белки. Последние связываются с ДНК и взаимодействуют с ДНК-полимеразой, определяя, какие участки ДНК будут использованы для транскрипции. Точность процесса обеспечивает комплементарность структуры поверхности регуляторного белка и определенного участка ДНК: они подходят друг к другу как ключ к замку.

Белок "чувствует" состояние клетки и "определяет" направление развития ситуации. Порядок регуляторных событий представляет каскадный механизм, т.е. ряд генов последовательно включаются и выключаются в соответствии с предопределенной программой. Высокая эффективность работы механизма переключения генов связана с его кооперативными свойствами. Это объясняет, почему небольшие изменения концентрации регуляторного белка надежно контролируют экспрессию генов.

Клетка является симбиотическим образованием (Маргелис, 1983). Она возникла в результате последовательного кооперирования первоначально независимо живущих прокариотических организмов (бактерий). Почти все метаболические процессы эукариотической клетки были "запатентованы" различными прокариотами еще до того как последние объединились, превратившись в хозяина и его органеллы. Симбиотические комплексы продолжали эволюционировать в направлении интегрирования их деятельности. Сосуществующие в клетке партнеры по симбиозу делались все более зависимыми друг от друга. Возникли новые условия организации и клетка постепенно превратилась в кооперативную систему, способную как единое целое реагировать на изменение окружающих условий.

И тем не менее при рассмотрении механизмов, определяющих поведение клетки в экстремальных условиях, важно учитывать последствия реагирования так называемых массовых и уникальных клеточных структур. Начальное представление о них дает количественное соотношение входящих в состав клетки веществ. Так, по данным Уотсона (1967), прокариотическая клетка *E. coli* содержит  $10^{10}$  молекул воды,  $10^7$ - $10^8$  молекул углеводов, аминокислот, липидов, нуклеотидов и других молекул. Белки содержатся в клетке в количестве  $10^6$  молекул, а РНК -  $10^4$ - $10^5$ . Уникально количество молекул ДНК: в зависимости от фазы клеточного цикла их 2 или 4. Уже это означает биологическую неравнозначность молекулярных компонентов клетки. Поэтому и принято выделять массовые (белки, липиды, углеводы и др.) и уникальные (ДНК) клеточные структуры. Такое разделение клеточных компонентов существенно, так как повреждение уникальных структур из-за их малого количества более опасно для клетки, чем разрушение молекул, имеющих у нее в большом количестве.

Ниже мы обсудим принципы надежности клетки, ее массовых и уникальных структур.

### **Надежность биологических систем**

Под надежностью системы понимают ее способность выполнять определенные функции с заданными характеристиками в определенных условиях в течение требуемого периода времени. Высокая надежность биосистем является эволюционно сформированным неотъемлемым их свойством. Оно обеспечивает эффективное функционирование организма в условиях постоянного действия большого числа случайных факторов. И хотя очевидно, что биологические системы "построены" из малонадежных элементов, их высокая надежность достигается за счет реализации общих принципов функционирования сложных систем. К этим принципам относятся резервирование элементов системы (их повторяемость) и механизмы ремонта разрушающихся элементов.

Согласно концепции надежности, элементы системы могут находиться в двух состояниях: активном (рабочем) и неактивном (отказ). Под отказом элемента системы понимают выход его характеристик за допустимые пределы или полное прекращение функционирования. Отказом биообъекта считают его смерть.

Если бы практически было возможно оценить время безотказного

функционирования элементов клетки или организма в конкретных условиях, то, используя математический аппарат теории надежности технических устройств, можно было бы рассчитать надежность целого биообъекта. Пока это невозможно, так как биосистемы очень сложны и слишком мало известно о свойствах их элементов. Однако понимание принципов и логики построения надежных технических систем должно творчески обогатить фитофизиолога-экспериментатора, занимающегося проблемой устойчивости. Например, это должно заставить ученого задуматься над вопросом, в какой степени выживаемость организма в каждом конкретном случае зависит от надежности его элементов, их резервирования и роли репарационных механизмов.

Подробный анализ механизмов обеспечения надежности клетки на уровне генома и множественных негенетических структур проведен в монографии Д.М.Гродзинского (1983). Мы остановимся только на некоторых общих положениях проблемы.

Сохранение живой системы при постоянных внешних и внутренних "помехах" возможно только при высокой надежности хранения и передачи наследственной информации в поколениях и от генома к негенетическим структурам клетки. Утверждают даже (Патти, 1970), что различия между живой и неживой природой заключаются не в уникальном строении макромолекул, матричной репликации или регуляции метаболизма, а в высокой надежности молекулярных кодов, т.е. связи между генотипом и фенотипом.

Отказы в генетической системе имеют для клетки драматические последствия: сильное нарушение функции, появление мутаций или гибель. Поддержанию надежности генетического аппарата способствует резервирование его элементов: двухспиральность ДНК, многоядерность, увеличение плоидности (количества генов в одном ядре). Однако возрастание устойчивости не пропорционально количеству ДНК и важную роль играет структурно-функциональная организация хромосом.

Подсчитано, что в геноме животной клетки в течение суток образуется  $10^5$  спонтанных повреждений ДНК (Виленчик, 1980). У растения эта величина должна быть больше, так как оно имеет меньше возможностей избегать внешних воздействий. Нарушения в геноме устраняются при помощи различных типов репарационных механизмов. Они изучены преимущественно на микробных и животных клетках, подвергнутых действию УФ и ионизирующей радиации. Процессы восстановления поврежденной ДНК обнаружены и у растительных клеток.

Сначала было непонятно, зачем в клетке существует такая мощная система репарации — только ли для того, чтобы восстанавливать нарушения после действия радиации в дозах, на много порядков превышающих естественный фон? В дальнейшем оказалось, что система репараций весьма универсальна, имеет древнее происхождение и рассчитана на устранение повреждений в ДНК, вызываемых как радиацией, так и химическими агентами.

Принципы разных способов защиты генома клетки далеко не всегда очевидны. На примере развития радиобиологии можно проследить, как первоначальный интерес к резервированию уникальных структур (размер и число мишеней) в последующие годы уступил место изучению механизмов ремонта поврежденных структур.

Для нормальной работы генома клетки важно надежное функционирование массовых структур, строгая внутриклеточная структурно-функциональная организация метаболизма. Повреждение мембран клетки ведет к ингибированию репарационных систем ДНК (Поливода и др., 1990). Значительные нарушения различных макромолекул не совместимы с сохранением жизнеспособности клетки.

Для организации метаболизма клетки характерно глубокое резервирование. В клетке существуют запасы (фонды) продуктов метаболизма и интермедиатов: аминокислоты, простые и сложные сахара, нуклеотиды, липиды, АТФ, ионы и др. Резерв метаболитов поддерживается в некоторых определенных пределах, так как клетка не должна перегружаться ими. Объемы фондов это динамическая величина, поскольку они постоянно обновляются с характерными скоростями.

Фонды метаболитов не равномерно распределены по клетке, а разделены мембранами и локализованы в отдельных отсеках (камерах, компартментах). Компартменты метаболических фондов клетки связаны между собой транспортными потоками. В соответствии с избирательной проницаемостью мембран происходит пространственное перераспределение интермедиатов и продуктов обмена. Например, в клетке запас АТФ поддерживается за счет "горизонтальных" связей процессов фотосинтетического и окислительного фосфорилирования.

Резерв метаболитов и макромолекул необходим для обновления и самосборки элементов клетки (мембран, цитоскелета), которые не только разрушаются при утрате ими функции, но и восстанавливаются, когда количество этих надмолекулярных образований оказывается недостаточным для нормального функционирования клетки (Лузиков, 1988).

Компартментация метаболитов позволяет осуществлять субстратное регулирование активности ферментов и повысить чувствительность системы к действию регуляторных агентов. Эффекты были бы значительно ниже при условии равномерного распределения метаболитов по клетке. Для регуляции скоростей процессов в клетке важно не среднее содержание субстратов в клетке, а их локальная концентрация в соответствующем компартменте.

Компартментация метаболитов мембранной системой "экономит" растворитель в клетке (Хочачка, Сомеро, 1977). Из-за содержания в клетке большого количества различных молекул емкость внутриклеточной водной среды ограничена, поэтому многие ферменты в клетке находятся не в свободном состоянии, а иммобилизованы на мембранах. Со своим субстратом контактирует только активный центр фермента. В результате возрастает надежность функционирования мультиферментных комплексов. Встроенные в определенной последовательности в мембраны они участвуют в цепях последовательных превращений метаболитов. Примером могут служить электронтранспортные цепи в мембранах хлоропластов и митохондрий.

Резервирование (избыточность) субклеточных структур – очевидная вещь. Под *структурной избыточностью* понимают наличие в клетке функционально однозначных элементов в большем количестве, чем это необходимо для нормальной работы системы. Это уменьшает вероятность отказа системы в случае очень большой нагрузки на ее элементы. Примером является большое количество хлоропластов в клетке и их организация из множества равнозначных в функциональном отношении тилакоидов.

Полагают, что в биосистеме в отличие от технических систем, избыточность функционирующих элементов достигается не только простым увеличением совокупности мало надежных элементов, но также их поочередным функционированием. При высокой нагрузке на систему в активное состояние переходит дополнительное количество "отдыхающих" элементов, поэтому задача резервирования в физиологическом смысле состоит не в том, чтобы поддерживать высокий уровень функционирования системы при перегрузках, а в том, чтобы обеспечить ее элементам режим, исключающий их необратимое нарушение (Федоров, 1988).

Множественные элементы клетки – биомембраны, по-видимому, обладают системой репарации повреждений, вызванных процессом пе-

рекисного окисления липидов. Причем принцип ремонта похож на ликвидацию нарушений в ДНК: один фермент отщепляет жирные кислоты с перекисными группировками, а другие вместо них вставляют новые (Бурлакова и др., 1980). Перекисное окисление липидов мембран зависит от их доступности активным формам кислорода и легче протекает в мембранах, богатых ненасыщенными жирными кислотами. Защищают мембраны, повышая их надежность, ферменты, разрушающие активированные молекулы кислорода и гидроперекиси, а также соединения, тормозящие свободнорадикальный процесс в мембранах - антиоксиданты. Существенную роль в повышении надежности мембран играет процесс внутриклеточного дыхания, понижающий парциальное давление кислорода и восстанавливающий последний до неактивного продукта - воды.

Важнейшим фактором обеспечения надежности биосистемы является ее *структурная и функциональная гетерогенность*. Это общее положение, которое сейчас уже не требует специального доказательства. Вполне вероятно, что существуют специальные механизмы поддержания гетерогенности биосистем. Гетерогенность - результат изменчивости (лабильности) клеток и организмов. Одной из причин клеточной гетерогенности является неоднозначность матричных процессов (репликации, транскрипции, трансляции), которые могут осуществляться поливариантно, т.е. несколькими способами (Инге-Вечтомов, 1977). Вследствие гетерогенности молекул матричной РНК и последующей поливариантной трансляции возникает полиморфизм белков. Это важный фактор при молекулярном отборе в процессах самосборки клеточных структур.

Неоднозначность репликации при воспроизведении клетки поддерживает гетерогенность клеточной популяции. Адаптивное значение неоднозначности транскрипции и трансляции состоит в расширении нормы реакции клетки. При супероптимальных условиях, когда для защиты клетки специфические механизмы уже недостаточны, возрастает роль неспецифических реакций и уровень неоднозначности матричных процессов. Стабилизирующий отбор поддерживает не только определенное распределение особей в популяции по степени выраженности отдельных признаков, но, по-видимому, и оптимальное проявление свойств неоднозначности.

В растительных тканях гетерогенность клеток создается асинхронностью процесса деления. В любой момент в меристеме имеются клетки на разных фазах митотического цикла и, следовательно, раз-

личающиеся по устойчивости. Под влиянием внешних и внутренних факторов может изменяться скорость прохождения клеткой отдельных фаз цикла и часть клеток может переходить в покой. В этом состоянии устойчивость клеток возрастает в несколько раз. В результате образуется резерв устойчивых клеток и повышается надежность ткани (Гудков, 1980).

В популяциях свободноживущих клеток, например, микроводорослей, обычно присутствует некоторое оптимальное количество устойчивых клеток. Они не являются бесполезным экологическим грузом для популяции, но защищают ее в неблагоприятных условиях от полной гибели. Основная часть клеток пролиферирует, а небольшая часть популяции находится вне митотического цикла. Если в экстремальных условиях основная часть клеток погибает и лизирует, то продукты их распада инициируют деление покоящихся клеток. Но могут быть популяции, в которых пул покоящихся клеток велик. В таких случаях клетки начинают легко пролиферировать в неблагоприятных условиях.

В популяции могут находиться мутантные клетки, которые активируются в экстремальной ситуации. Это изменяет генофонд популяции и увеличивает ее устойчивость к данному фактору. При возвращении системы к исходным условиям существования восстанавливается первоначальная культура.

Это примеры *репопуляционной* защиты растительных систем, которая основана на разной устойчивости ее элементов. Надежность биосистемы в этих случаях достигается за счет активации одних (новых) элементов после выхода из строя других.

"Надежный" анализ поведения биосистемы в экстремальных условиях учитывает иерархичность (ступенчатость) ее организации. Разные биосистемы по степени сложности могут быть расположены в виде своеобразного "биологического спектра", наподобие оптического спектра или логарифмической шкалы чисел:

экосистема  
популяция организмов.  
организм  
клетка  
геном и массовые негенетические структуры.

Каждая "ступенька" биоиерархической лестницы является системой, построенной из элементов нижележащего уровня. При объедине-



нии элементов в более крупные единицы (системы) появляются новые свойства, отсутствовавшие на предыдущем уровне, и потому свойства целого не могут быть целиком предсказаны на основании анализа его частей (принцип эмерджентности - несводимости).

При переходе от одного уровня биоиерархии к другому мера надежности изменяется. Например, в случае клетки за отказ предлагают принимать состояние, когда более половины ее основных функций находится в нерабочем состоянии. На уровне фитоценоза характеристикой его надежности может служить число активно функционирующих видов от их общего числа (Гродзинский и др., 1980). Чем ниже уровень организации, на котором совершаются отказы, тем выше надежность всей биосистемы. Требования к надежности элементов нижележащих уровней менее велики, так как их нарушение не обязательно ведет к отказу более высокого уровня системы. Наиболее опасны отказы элементов на высоком уровне организации. Для испытания биосистемы на надежность необходима достаточно представительная выборка биообъектов и предварительная договоренность, какие изменения во времени в системе считать отказом (Кутлахметов, 1980).

### **Адаптация и стресс**

Способность растительных организмов адаптироваться к новым условиям существования важна для проявления различных видов устойчивости. Этому явлению посвящена большая биологическая литература (Библь, 1965; Хочачка, Сомеро, 1970; Levitt, 1972; Александров, 1975, 1985; Удовенко, 1977; Лархер, 1978; Генкель, 1982; Гродзинский, 1983; Батыгин, 1986; и др.). Ее анализ показывает, что приспособительный акт может осуществляться на всех уровнях организации живой системы от биоценотического до клеточного. Механизмы адаптации в процессе эволюции биосистем подвергались естественному отбору и потому их количество невелико. Выбор той или иной стратегии приспособления организма или клетки определяется величиной возмущающего воздействия и фактором времени.

Если условия существования варьируют в пределах толерантной области жизнедеятельности организма, то это не нарушает высоко специализированной системы контроля каталитического потенциала клетки, основанного на действии регуляторных ферментов. Возникаю-

щие в организме изменения легко компенсируются существующими гомеостатическими механизмами (система приспосабливается). После удаления возмущающего воздействия она быстро возвращается в исходное состояние без явных "остаточных" явлений.

Когда воздействие выходит за границы толерантной области, то для сохранения интактности живой системы быстрые адаптивные перестройки в пределах возможности гомеостатических механизмов оказываются недостаточными. Включается более "высокий" механизм адаптации, сопряженный с репрессией одних и активацией других генов. Этот приспособительный акт называют акклимацией, или акклиматизацией. Для его завершения требуется больше времени, чем для осуществления гомеостатических перестроек. На реализацию предсуществующих программ генома при акклимации клетка затрачивает часы и даже дни. Самой медленной является эволюционная адаптация, которая осуществляется в результате накопления в геноме новой наследственной информации в течение многих поколений.

При дифференциации механизмов адаптации на основе иерархии времен процесса возникает вопрос: какие изменения в клетке обеспечивают поддержание ее нативности в тот момент, когда внешнее воздействие таково, что гомеостатические (регуляторные) механизмы уже недостаточны для поддержания жизнедеятельности, а новые ген-зависимые приспособительные преобразования (акклимация) хотя и начаты, но еще не завершены из-за их медленной реализации? Один из вероятных ответов состоит в том, что на этой фазе реакции клетка переходит в специальное состояние повышенной резистентности.

Предположение подтверждает анализ количественных закономерностей реагирования клетки на внешнее воздействие, т.е. зависимости биологического эффекта от дозы возмущающего фактора. Напомним, что под "дозой" подразумевают произведение величины возмущающего фактора на время его действия. Это означает, что увеличение дозы может быть достигнуто посредством увеличения времени воздействия при постоянной мощности (напряженности) фактора или путем изменения мощности при сохранении времени воздействия. Известно, что увеличение времени воздействия приводит обычно к уменьшению эффекта, а увеличение мощности - к его увеличению. Реакция живой системы на градуально нарастающее воздействие не является монотонной. Пропорциональность (линейность) ответа дозе повреждающего фактора наблюдается редко и характерна для "узкой" области используемых доз или "грубых" оценок конечных эффектов.

В физиологической литературе накоплен большой экспериментальный материал о кинетике реакции организмов и ее зависимости от дозы воздействия. В общем виде характер реагирования живой системы представляют либо двухфазной (правило Арндта-Шульца), либо трехфазной ("парадоксальный" эффект) кривой (Александров, 1985). Двухфазная кривая указывает на то, что при повышении дозы агента последний сначала действует как раздражитель, а затем как повреждающий фактор, вызывая угнетение функции и смерть организма. Трехфазная кривая означает, что меньшие дозы вызывают больший биологический ответ, чем средние, а дальнейший рост воздействия вновь увеличивает эффект.

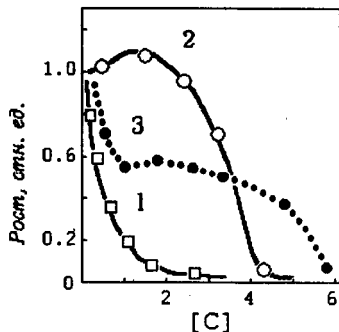
Существуют и другие классификации стадий реакции организма и клетки на раздражитель. О них подробнее рассказано в монографии (Браун, Моженок, 1987), из которой очевидно, что в настоящее время трудно судить о степени аналогии между предполагаемыми разными авторами фазами реакции клетки. По нашему мнению, основная причина этой ситуации в том, что исследователи не располагают объективными критериями для констатации смены фаз в реакции клетки и изменения состояния последней.

Отысканию таких критериев, по-видимому, должен помочь более внимательный сравнительный анализ дозовых зависимостей общих физиологических ответов растения и поведения мембранного аппарата клетки при учете нелинейных свойств живой системы.

Непропорциональность отклика организма и клетки на воздействие видна на дозовых кривых таких важных интегральных физиологических показателей, как рост корней в длину или изменение численности клеток в культуре водорослей (рис. 1). Ступенчатые кривые имеют область, где ответ медленно нарастает с увеличением дозы

Рис. 1. Зависимость роста корневой системы проростков или численности клеток водорослей от "дозы" действующего фактора (схема)

Экспоненциальная дозовая кривая (1) наблюдается, если мощность действующего фактора велика. При небольшой мощности действующего фактора кривая (3), наблюдаемая в ранние сроки его действия, трансформируется в S-образную (2), если эффект регистрируется позже



(плато), и перегибы (пороги), при которых происходит резкое изменение эффекта. Изменение мощности воздействия и сроков контроля ростового процесса может трансформировать кривые с "плато" в S-образные или экспоненциальные. Кривые с плато указывают на две причины торможения роста: при малых дозах эффект имеет "генетическую" природу (задержка процесса деления), а при больших - он вызван гибелью клеток вследствие массовых деструктивных процессов. Отметим, что при малых воздействиях часто наблюдается ускорение роста организмов.

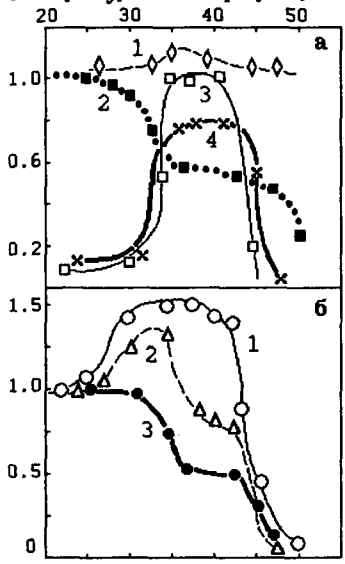
Начальное снижение прироста корней связано с нарушением деления меристематических клеток, но рост растяжением сохраняется. Последний прекращается только при больших дозах воздействия, вызывающих гибель клеток.

Аналогичные причины определяют изменение количества водорослей в культуре (по отношению к росту контрольной пробы) под влиянием какого-либо фактора, например, токсического агента. Снижение численности водорослей до плато вызвано задержкой размножения клеток. При больших дозах токсиканта клетки гибнут и лизируют.

Экспоненциальная форма дозовой кривой обусловлена быстрой гибелью клеток под влиянием сильного воздействия (большая мощность действующего фактора). S-образные ростовые кривые наблюдаются в тех случаях, когда имеют место вначале задержка деления клеток и последующее восстановление ростового процесса, поэтому такая форма дозовой кривой характерна при измерении отдаленного от момента воздействия биологического эффекта. Плато на ростовых кривых выявляется только при небольших воздействиях, не вызывающих разрушения клеток, но тормозящих их деление. Последний эффект - известное в физиологии явление "ростового покоя", представляет важную защитно-приспособительную реакцию организма и клетки, так как в это время живая система приобретает повышенную устойчивость не только к данному фактору, но и к другим повреждающим агентам.

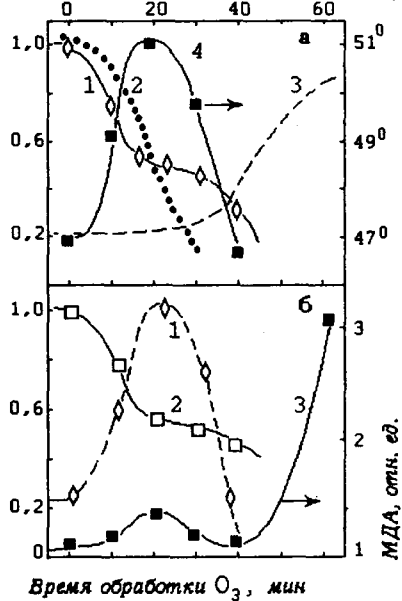
Общую устойчивость клетки характеризует ее сопротивляемость повреждающему действию высокой температуры. Нами была установлена корреляция между теплоустойчивостью клеток и термостабильностью тилакоидных мембран хлоропластов. Термостабильность мембран определяли по температурным зависимостям люминесцентных характеристик клеток *in vivo* (Веселовский, Веселова, 1990). При некоторой пороговой дозе (граница толерантной области) самые различные воздей-

Температура 5-мин прогрева, °C



Температура 5-мин прогрева, °C

Время обработки O<sub>3</sub>, мин T °C



Время обработки O<sub>3</sub>, мин

МДА, отн. ед.

Рис. 2. Изменение свойств фотосинтетического аппарата листьев гороха после пятиминутного прогрева при различных температурах.

а. 1 - количество малонового диальдегида (показатель уровня перекисного окисления липидов); 2 - содержание свободных SH-групп белков; 3 - температура максимальной замедленной люминесценции (показатель теплоустойчивости тилакоидных мембран); 4 - градиент протонов на тилакоидной мембране.

б. 1 - уровень межсистемного электронного транспорта; 2 - скорость фотосинтетического выделения O<sub>2</sub>; 3 - порог светового насыщения фотосинтеза.

Рис. 3. Изменение свойств фотосинтетического аппарата листьев гороха при фумигации озоном.

а. 1 - фотосинтетическая активность тилакоидных мембран; 2 - амплитуда светозависимых переходов в спектре флуоресценции при 77 K; 3 - уровень "постоянной" флуоресценции ( $\Phi_0$ ); 4 - температура максимума замедленной люминесценции.

б. 1 - градиент протонов на тилакоидной мембране; 2 - количество свободных SH-групп белков; 3 - содержание малонового диальдегида.

ствия, тормозящие рост, увеличивают теплоустойчивость клеток. В качестве примера на рисунках 2 и 3 показан характер изменения терморезистентности фотосинтетических мембран и некоторых других характеристик клетки под влиянием гипертермии и фумигации листьев озонем. Анализ структурно-функциональных перестроек в мембранном аппарате на фазе возрастания резистентности клетки показывает, что они способствуют выживанию клетки в этот период. Остановимся на этих изменениях подробнее.

Уровень фотосинтетической активности клетки снижается (рис. 2б, кривая 2, рис. 3а, кривая 1). Сравнение газообмена интактных листьев и водорослей с люминесцентными характеристиками хлорофилла а показало, что в этот момент не изменяется пигментный состав фотосинтетического аппарата, не нарушается поступление энергии от светособирающих пигментов в реакционные центры, не тормозится существенно скорость фотосинтетического электронного транспорта. Однако в это время отказывает один из гомеостатических механизмов фотосинтетического аппарата, регулирующий оптимальное распределение световой энергии между фотосистемами. В результате во время лаг-фазы фотосинтеза тормозится светоиндуцированный структурный переход тилакоидных мембран из "темнового" состояния 1 в "световое" состояние 2. Об этом свидетельствовало уменьшение светозависимого изменения спектров флуоресценции при температуре жидкого азота (рис. 3а, кривая 2).

Перераспределение энергии между фотосистемами вызвано фосфорилированием белковой части светособирающего комплекса и последующей его латеральной миграции в липидном бислое. Нарушение этого механизма, по-видимому, не определяет дефицит АТФ в хлоропластах. Энергизация мембран не нарушается. Напротив, вместе с подъемом термоустойчивости тилакоидных мембран увеличивается и градиент протонов на них (рис. 2а, кривая 4, рис. 3б, кривая 1). АТФ-синтезая функция тилакоидных мембран скорее всего тоже не ингибируется, так как в хлоропластах поддерживается высокий уровень АТФ (Klosson, Krause, 1981a,b; Weis, 1981, 1984; Kaiser, 1987; и др.). Видимо, причиной нарушения механизма светозависимой оптимизации распределения энергии между фотосистемами является ингибирование протеинкиназной функции хлоропластов - процесса фосфорилирования белка светособирающего комплекса. Экспериментально это было продемонстрировано для случая холодового шока (Moll, Steinback, 1986). Однако для окончательного решения этого

вопроса необходимы дальнейшие исследования. Кроме того, приведенные данные показывают, что на стадии реактивного подъема термостабильности тилакоидных мембран снижение фотосинтеза наполовину, по-видимому, не связано с нарушением процесса фотосинтетического фосфорилирования.

Более важной причиной торможения фотосинтеза, видимо, является ингибирование темновой стадии процесса. На это указывает снижение порога светового насыщения фотосинтеза (рис. 2б, кривая 3).

Нарушение механизма оптимизации распределения энергии между фотосистемами и торможение темновых фотосинтетических процессов опасно для клетки, так как повышает вероятность фотоокислительной деструкции мембран. Однако в период возрастания теплоустойчивости клетки мы не обнаружили заметного накопления продукта перекисного окисления липидов - малонового диальдегида, которое свидетельствовало бы об активации деструктивных процессов (рис. 2а, кривая I и рис. 3б, кривая 3).

Можно предположить, что окислительному разрушению тилакоидных мембран препятствуют по крайней мере две функциональные перестройки в них. Во-первых, это возрастание трансмембранного протонного градиента (см. рис. 2а, кривая 4, рис. 3б, кривая I), который способствует диссипации избытка световой энергии в тепло в фотосистеме 2 (Krause, Behrend, 1986). Во-вторых, в это время за счет переключения потока электронов с восстановления НАДФ<sup>+</sup> на O<sub>2</sub> продолжает поддерживаться достаточно высокий электронный транспорт, т.е. активируется фотодыхание. Это очевидно из факта замедления светозависимого выделения O<sub>2</sub> на фоне сохранения межсистемного электронного транспорта, о чем свидетельствует неизменность люминесцентных характеристик хлорофилла а (рис. 2 и 3). Многие исследователи отмечают, что при нарастании неблагоприятного воздействия на клетку фотосинтетическое выделение O<sub>2</sub> уменьшается быстрее, чем электронтранспортная функция хлоропластов. Явление объясняют возрастанием фотодыхания, которому отводят защитную роль, заключающуюся в предотвращении сверхвосстановленности переносчиков фотосинтетической электронтранспортной цепи (Powles et al., 1979; Sowinski, Zagdanska, 1984; Gillham, Dodge, 1985).

Таким образом, на стадии реакции клетки, характеризующейся подъемом устойчивости, в мембранной системе хлоропласта происхо-

дят перестройки, препятствующие разрушению последней. Этот факт может служить примером функциональной защиты биоструктур от деградации в условиях частичной утраты ими метаболической активности.

Одновременно с функциональной перестройкой внутриклеточных мембран изменяются свойства плазмолеммы. При гипертермии увеличивается теплоустойчивость цитоплазматической мембраны, однако ее барьерная функция существенно не страдает. Не изменяется заметно утечка из клеток аминокислот, сахаров и ионов (Lin et al., 1985). По нашим наблюдениям, нефизиологические концентрации соли в среде и частичное обезвоживание корней проростков осмотиком повышает теплоустойчивость эпителиальных клеток. В то же время уменьшается общее поглощение ими кислорода и активируется его альтернативный путь восстановления плазмолеммой, что сопровождается увеличением скорости хемиллюминесцентной реакции на ее поверхности. Активные формы кислорода ( $O_2^-$ ,  $H_2O_2$  - участники хемиллюминесцентной реакции) генерируют редокс-цепи плазмолеммы, окисляя эндогенный пиридиннуклеотид и выбрасывая во внешнюю среду протоны.

Характерное для фазы реактивного подъема устойчивости клетки повышение образования активных форм кислорода заставляет еще с одной стороны взглянуть на роль активированного кислорода в жизнедеятельности клетки. Нам кажется, что в последние годы опасность активных форм кислорода для клетки гиперболизирована. Возрастание стока восстановительного "потенциала" на  $O_2$  при определенных условиях можно рассматривать как клеточную защитно-приспособительную реакцию. Активированным молекулам кислорода вполне по силам выполнять некоторые регуляторные функции.

Известно, что светозависимое восстановление  $O_2$  естественно для лаг-фазы фотосинтетического процесса, во время которой активация ферментов фиксации  $CO_2$  запаздывает по отношению к запуску электронного транспорта (Marsho et al., 1979). При зеленении молодых листьев формирование темнового цикла фотосинтеза завершается позже становления электротранспортной функции и фотоокислительное разрушение хлоропластов в это время предотвращается за счет реакции Мелера (Gillham, Dodge, 1985). Возможное разрушительное действие супероксидного анион-радикала  $O_2^-$  и  $H_2O_2$  предотвращает мощная антиокислительная система стромы хлоропласта, включающая ферменты супероксиддисмутазу и аскорбат-пероксидазу (аскорбат-глутатионовый цикл) (Asada, Takahashi, 1987).



В строме хлоропласта при дисмутации супероксидных радикалов может образовываться  $H_2O_2$  в количестве  $10^{-5}M$ , что достаточно для ингибирования ключевых ферментов фиксации  $CO_2$  наполовину (Robinson et al., 1980). Эти ферменты, наряду с АТФ-азой и ферредоксин-НАДФ-редуктазой, являются светоактивируемыми, их функционально активная конформация зависит от градиента протонов на тилакоидной мембране и степени восстановленности тиогрупп. Наличие  $ArH$  предохраняет тиогруппы ферментов от окисления  $H_2O_2$  (Anderson, Avron, 1976; Valle et al., 1982). Компарментация этих ферментов на акцепторной стороне фотосистемы 1, где одновременно производится как окислитель ( $O_2^-$  или  $H_2O_2$ ), так и восстановитель (тиоредоксин), создает благоприятные условия для регулирования фотосинтетической функции при помощи активных форм кислорода (Shahak, 1985).

Из других важных функций активированного кислорода можно отметить его участие в лигнификации клеточных стенок (Elstner, Neupel, 1976) и организации "химической" защиты клеток от микрофлоры (Аверьянов, 1985; Albert et al., 1986). "Шуба" из активных форм кислорода на поверхности молодых корней не опасна для них, так как эта защитная система вынесена на поверхность клеток, а время жизни токсических продуктов невелико. Любопытно, что свойство эпителиальных растительных клеток генерировать активированный кислород очень напоминает поведение полиморфноядерных лейкоцитов (компонентов иммунной системы животных) во время фагоцитоза. Последние образуют токсические кислородсодержащие продукты и используют их для убивания бактерий. Активные формы кислорода играют важную роль в реакции сверхчувствительности растительной клетки (Doke, 1983a, 1983b). Они могут быть индукторами синтеза гормонов "тревоги" (алармонов), способных экспрессировать гены (Rogers et al., 1988).

Стабилизации мембран против окислительной деструкции на фазе повышения резистентности клетки способствуют активация ферментативных систем, удаляющих из клетки избыток висореакционных недо-восстановленных молекул кислорода, и накопление антиоксидантов. Например, при водном дефиците и действии низких температур в клетке увеличивается количество ферментов и их субстратов, которые препятствуют развитию процесса ее фотоокислительного повреждения (Gillies, Vidaver, 1990). Известно, что даже такие агенты, как  $O_3$ ,  $SO_2$ , паракват и другие гербициды, механизм биологического

действия которых во многом определяется перекисным окислением мембранных липидов, в низких дозах увеличивают в клетке содержание супероксиддисмутазы и других компонентов ферментативной антиокислительной системы (Petolino et al., 1983; Chamway, Runeckles, 1984; Tanaka et al., 1982a, 1982b; Schmidt, Kunert, 1986).

По нашим наблюдениям, в этот момент в ассимиляционной ткани и корнях индуцируется образование низкомолекулярных мембранотропных антиоксидантов. УФ облучение активирует биосинтез в листьях  $\alpha$ -токоферола и биофлавонов. В корнях хлопчатника после термошока, интоксикации цистеином, при инфекционном вилте возрастает содержание госсипола. В корнях гороха под влиянием  $\gamma$  и нейтронного облучения, а также засоления среды повышается антиокислительная активность суммы эндогенных фенолов.

Таким образом, хотя в период неспецифического подъема устойчивости клетки в ответ на различные воздействия увеличивается образование активных форм кислорода, тем не менее они не представляют для нее серьезной опасности, так как одновременно в клетке возникают факторы, препятствующие перекисному окислению ее мембранных структур.

Процесс окислительной деструкции клеточных мембран, сопровождаемый значительным накоплением малонового диальдегида, активируется при дозах воздействия больших тех, которые индуцируют переход клетки в состояние повышенной резистентности. К этому моменту термоустойчивость тилакоидных мембран уже уменьшается. Нарушается полупроницаемость плазмалеммы, резко увеличивается утечка калия из клеток (De Vos et al., 1991). По нашим данным, после обработки листьев дикватом (катализатор образования радикала  $O_2^-$ ) дегградация фотосинтетических мембран, характеризующаяся накоплением малонового диальдегида и выцветанием хлорофилла, наблюдается не в первые часы, когда реагент увеличивает образование супероксид-иона, а на вторые сутки, во время падения электронного транспорта и теплоустойчивости мембран. Светоиндуцированное перекисное окисление липидов мембран у выделенных хлоропластов также возрастает не на фазе активации образования  $O_2^-$ , а в период, когда этот ферментативный процесс тормозится вместе с замедлением электронного транспорта (Pallett, Dodge, 1980; Sakaki et al., 1983; Wise, Naylor, 1987a, 1987b). Вследствие этого увеличивается вероятность генерации в фотосистеме 2 синглетного кислорода ( $^1O_2$ ) при взаимодействии триплетно-возбужденных молекул хлорофилла с  $O_2$

(Takahama, Nishimura, 1976; Мерзляк, Погосян, 1988).

На фазе повышенной устойчивости клетки наряду с накоплением протекторов перекисного нарушения мембран ускоряется синтез ряда низкомолекулярных защитных веществ. Хорошо известно, что под влиянием высокой и низкой температур, засоления, водного дефицита и т.п. в клетке многократно увеличивается количество иминокислоты пролина (Aspinale, Paleg, 1981). Ее ускоренный синтез, как и запуск биосинтеза антиоксидантов – пороговое явление. Индуктором накопления пролина, по-видимому, является абсцизовая кислота (Кефели и др., 1989). Молекула иминокислоты своей гидрофобной частью встраивается в мембрану, а торчащий наружу ее гидрофильный конец увеличивает водоудерживающее свойство мембран (Schobert, 1977). Последнее существенно для выживаемости клетки в условиях водного дефицита, причиной которого могут быть различные воздействия.

В экстремальных ситуациях в растительной клетке в десятки раз возрастает содержание полиаминов (путресцина, спермина, спермидина) (Flores, Galston, 1984). Развитию процесса, продолжающегося несколько часов, предшествует I–2-часовая лаг-фаза. После удаления индуктора синтеза полиаминов (гиперосмотика) снижение их уровня происходит значительно медленнее восстановления тургорного давления в клетке. За накопление путресцина и пролина, по-видимому, ответственны разные механизмы. Полиаминам у растений, как в животных клетках и бактериях, отводят роль регуляторов процессов пролиферации и дифференциации. Возможно, что полиамины являются вторичными мессенджерами при передаче внешнего гормонального сигнала в клетку (Kanchanaroom et al., 1991). Хотя количество полиаминов в растительной клетке коррелирует с ее устойчивостью, механизм этого явления не ясен. Например, повышение уровня этих соединений в клетке при стрессе не препятствует утечке электролитов, сахаров и аминокислот (Basu, Ghash, 1991).

В животных клетках эффект накопления полиаминов более изучен (Браун, Моженок, 1987). Они, наряду с моно- и дивалентными ионами, специфически стимулируют полимеризацию белка актина микрофиламентов цитоскелета. При полимеризации актина образуется пространственная молекулярная сетка, цитоплазма желатинизируется. И это, полагают, должно стабилизировать клетку, уменьшить ее чувствительность к действию внешних факторов.

В момент реактивного роста устойчивости клетки происходит

экспрессия новых программ генома, о чем свидетельствует появление в ней стресс-белков. Этой группе белков в последнее время уделяют много внимания, так как большинство исследователей убеждено, что стресс-белки поддерживают резистентность клетки. Такие факты получены на бактериях, дрожжах, грибах, насекомых, птицах и млекопитающих.

У растений образование стресс-белков может быть вызвано тепловым и холодовым шоками, водным дефицитом, засолением, действием ингибиторов дыхания, травмой и др. Насчитывается несколько десятков стресс-белков. Спектр их представлен двумя основными "полосами": тяжелой (70-110 кДа) и легкой (15-28 кДа) фракциями. Стресс-белки кодируются ядерными генами и после синтеза транслируются из цитоплазмы в органоиды клетки (Suss, Yordanov, 1986; Matters, Scandolios, 1987; Nieto-Solelo, Ho, 1987). Однако механизм протекторного действия стресс-белков пока остается не выясненным. В ряде случаев показано, что накопление белков теплового шока (БТШ) не связано с подъемом теплоустойчивости клетки. Например, на реактивное увеличение теплоустойчивости дрожжей после теплового шока не влияли ингибиторы синтеза белка. Слабая кислота настолько быстро проникала в клетки и поднимала их теплоустойчивость, что о каком-либо достаточном синтезе БТШ речи не могло идти. Дрожжевые клетки приобретали дополнительную устойчивость даже после их прогрева при 45<sup>0</sup>, тогда как синтез БТШ прекращался при 42-43<sup>0</sup> (Coote et al., 1991).

За последние годы стала проясняться роль БТШ, относящихся к семейству белков с массой 70 кДа. Некоторые из этих белков представлены в клетке при нормальных условиях роста, синтез других индуцируется только повышением температуры. Это семейство БТШ относят к новому функциональному типу белков, получивших название шаперонов (Иванюшина и др., 1991; Marshall et al., 1990)<sup>1</sup>. Биохимический смысл слова - препятствие нежелательным контактам между комплементарными поверхностями и разрушение ненужных связей в случае их возникновения. Белки-шапероны предотвращают образование неспецифических меж- и внутримолекулярных связей в полипептидных цепях или разрывают их. Шапероны ассистируют при сборке и разбор-

<sup>1</sup> Франц. "chaperon" - пожилая дама, сопровождающая девушку при ее выходе в свет.

ке мультимерных структур и транспорте белков через биологические мембраны. Белки через мембрану проходят в развернутом виде, а шапероны способствуют их разворачиванию перед транслокацией через мембрану и последующему сворачиванию с образованием третичной структуры по завершении процесса.

Тепловой шок частично денатурирует некоторые клеточные белки. При этом обнажаются их гидрофобные области, которые неспецифически взаимодействуют друг с другом и образуют нерастворимые агрегаты. БТШ 70 кДа препятствуют этому процессу. Растворяя агрегаты денатурированных белков, они дают им возможность ренатурировать. В условиях теплового повреждения клетки БТШ 70 кДа помогают доставке белковых блоков в различные ее компартменты. Например, сборка фермента рибулезобифосфат карбоксилазы, состоящего из двух субъединиц, осуществляется в хлоропласте при участии шаперона.

Синтез БТШ представляет пороговое явление. Он начинается в ответ на тепловое воздействие в температурной области (37...45°). Чем выше температура, тем меньше требуется времени для запуска биосинтеза стресс-белков и одновременной задержки процесса образования основных белков. Например, при 40° максимальный синтез БТШ в проростках сои наблюдается через 2 часа после нагревания. Но такой же эффект дает 10-минутный тепловой шок при 45° и последующее выдерживание в течение 2-3 часов при 28°, т.е. для полного проявления эффекта нужно одно и то же время с начала прогрева. Моменту максимального содержания в клетке БТШ соответствует повышение теплоустойчивости ростового процесса и плазмолеммы клеток (Lin et al., 1984; 1985).

Сопоставление кинетики перестройки функции фотосинтетического аппарата при гипертермии с появлением в клетке БТШ (Кулаева и др., 1988) показывает, что реактивный подъем устойчивости тилакоидных мембран несколько опережает по времени (и дозе) изменение активности генома. Максимум содержания БТШ в клетке наблюдается спустя 1-2 часа после начала раздражающего воздействия, то есть в то же время, когда накапливаются антиоксиданты и другие протекторы множественных клеточных структур.

Закаливание растения в искусственных условиях к низким отрицательным температурам путем его охлаждения от 20 до 0-5° протекает значительно медленнее, чем адаптация к высоким температурам, оно продолжается 10-14 дней. Подъем устойчивости к низкой темпе-

ратуре происходит скачком через несколько дней после начала закаливании. Процесс сопровождается экспрессией генов и синтезом новых полипептидов. "Тяжелая" фракция стресс-белков накапливается в клетке после скачка холодоустойчивости (Tseng, Li, 1990). По-видимому, первичные структурно-функциональные изменения создают условия (являются индукторами) для модификации функции генома, синтеза стресс-белков и других протекторов мембран.

Из анализа приведенных выше данных о дозовых и кинетических закономерностях реакции клетки на различные воздействия видно, что задержка деления клетки, торможение энергообмена и синтез белка, рост теплоустойчивости и другие эффекты развиваются в общем одновременно. Иными словами можно сказать, что при воздействии, превышающем границу толерантности, клетка переходит на новый функциональный уровень жизнедеятельности как единая система. Наблюдаемые при этом структурно-функциональные перестройки направлены на сохранение живой системы т.е. имеют адаптивный характер. Они обратимы, но их восстановление происходит медленнее прямого процесса.

Переход клетки на новый уровень жизнедеятельности представляет кооперативный процесс: при градуальном увеличении воздействия структурно-функциональные изменения совершаются в достаточно узкой области действующего фактора. Положение о кооперативных свойствах клетки иллюстрируют данные на рис. 4, где в координатах Хилла показано изменение теплоустойчивости тилакоидных мембран, градиента протонов на них и количества белковых SH-групп в клетке под влиянием различных воздействий. Коэффициент Хилла (тангенс угла наклона прямых), больший единицы, свидетельствует о кооперативном характере изменения этих параметров клетки. Наблюдаемая модификация свойств клетки, по-видимому, не обусловлена грубыми структурными реорганизациями по типу денатурационного процесса. Они скорее связаны с тонкими перестройками, например, образованием дисульфидных мостиков в белках, о чем свидетельствует падение в это время количества титруемых белковых SH групп. То, что легко проникающие в клетку блокаторы белковых SH-групп (парахлормеркурийбензоат и  $O_3$ ) индуцируют характерные для рассматриваемой фазы реакции клетки обратимые структурно-функциональные изменения в фотосинтетическом аппарате (падение фотосинтеза, снижение порога светового насыщения этого процесса, рост термостабильности тилакоидных мембран и градиента протонов на них), подтверждает это

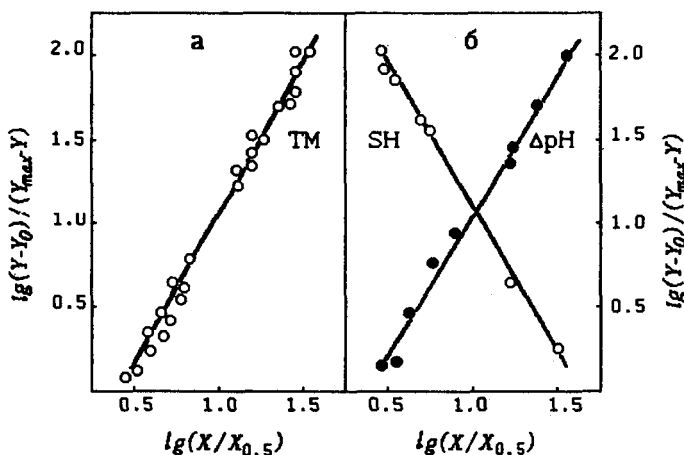


Рис. 4. Зависимости теплоустойчивости тилакоидных мембран (TM), содержания SH-групп белков (SH) и градиента протонов на тилакоидной мембране ( $\Delta pH$ ) от дозы действующего фактора (прогрева, обезвоживания, фумигации  $O_3$  и засоления) в координатах Хилла.

Координаты Хилла позволяют сравнивать по величине реакцию клетки на факторы различной природы. Тангенс угла наклона прямой в координатах Хилла, больший 1, свидетельствует о кооперативном характере отклика клетки

предположение.

Закономерности поведения клетки на границе толерантной области позволяют предположить, что в этот момент клетка переходит в новое дискретное детерминированное состояние. Его можно рассматривать как резервное, защитное состояние, во время которого появляются условия для активации и реализации достаточно медленных аварийных гензависимых перестроек, обеспечивающих постепенную акклимацию живой системы к новым условиям. Мы назвали это состояние *стрессом* (стресс на уровне клетки), принимая во внимание, что термин уже был использован для обозначения похожего комплекса реактивных изменений у микробных (Яоров, 1967) и животных (Календо, 1972) клеток. В термин мы вкладываем смысл отличный от того, который имеет в виду, когда говорят о фитострессе, как о любом комплексе отклонений в метаболизме растительной клетки от

нормы (Генкель, 1982).

Напомним, что в *фитофизиологии* термин "стресс" используют в двух разных смыслах. В одних случаях "стресс" служит синонимом слову "воздействие" (стрессовое воздействие, индуцировали стресс..., стрессовые нагрузки, подвергаться постоянным стрессам и т.д.). Такое использование понятия можно оправдать только при условии, если "стресс" отражает количественную характеристику раздражителя. В других случаях, когда например говорят о водном, солевом, холодовом или окислительном стрессе, то под последним понимают целый комплекс ответных неспецифических и специфических изменений. Если акцентируют внимание на неспецифических признаках ответной реакции и подчеркивают их приспособительное значение, то наблюдаемому картину изменений называют "*неспецифическим адаптационным синдромом*" (на уровне клетки или организма).

Итак, по нашей версии, в критической ситуации живая система переходит на "особый" запасной путь метаболизма (стресс) и может некоторое время поддерживать свою жизнедеятельность в этом состоянии. Утверждение о переходе системы на новый стационарный устойчивый уровень функционирования (в новое состояние) не является тривиальным. Вспомним для примера очевидные различия между агрегатными состояниями воды: газообразным, жидким и твердым. Переходы между ними происходят скачком при определенных критических температурах. При нагревании воды от комнатной температуры до 60° она не изменяет своего агрегатного состояния. Однако среди биологов распространено мнение, что под влиянием окружающих условий клетка адекватно модифицирует свой метаболизм, последовательно переходя из одного состояния в другое. При этом забывают о том, что под изменением состояния любой системы правильно иметь в виду качественную модификацию ее свойств.

Идея о том, что биологическая система способна находиться в нескольких отличающихся по уровню функциональной активности состояниях не нова. Для примера приведем классификацию состояний организма, предлагаемую А.М.Голдовским (1981) и основанную на учете соотношений уровней процессов ассимиляции и диссимиляции. В ней разграничены состояния жизнедеятельные (гипербиоз, биоз, гипобиоз) и нежизнедеятельные (мезобиоз, анабиоз). Нежизнедеятельное необратимое состояние является биологической смертью. Активная жизнедеятельность (биоз), иногда сопровождаемая повышенным функционированием организма, названа гипербиозом. Гипобиоз - вре-



менное снижение жизнедеятельности, имеющее место, например, во время осенне-зимнего покоя растения. Мезобиоз представляет промежуточное состояние между жизнедеятельностью и анабиозом, которое проявляется у семян с влажностью выше, чем при анабиозе, но еще недостаточной для их прорастания. Несмотря на кажущуюся очевидность данной классификации состояний живой системы, в ней не идет речи о состояниях как таковых. Не ясно, как по соотношению скоростей ассимиляционных и диссимиляционных процессов различить состояния биоза и гипербиоза, в чем разница по предлагаемому критерию между мезобиозом и гипобиозом?

По нашей версии, живая жизнедеятельная клетка может пребывать в двух дискретных устойчивых стационарных состояниях, отличающихся уровнем метаболизма (норма и стресс). Но чтобы это утверждение не показалось голословным постараемся сначала дать определение понятию *состояние* и выявить критерии перехода системы из одного состояния в другое. Для этого в следующей главе мы последовательно познакомим читателя с тем, что по данному поводу говорит математическая наука. Ее сила, как утверждают, состоит в том, что она делает свои утверждения на основании закономерностей, проявляющихся в качественно различных системах.

## Глава II. ЭЛЕМЕНТЫ МАТЕМАТИЧЕСКОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ ПОВЕДЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМ

В начале постараемся ответить на вопрос, нужны ли сведения из области математического моделирования биологических процессов физиологу, занимающемуся определением устойчивости растений или выяснением конкретных механизмов этого явления?

Вопрос не простой. Действительно, математическое моделирование вошло в биологию недавно. До этого биология развивалась, практически не соприкасаясь с математикой (кроме статистики), и ее логика была основана на вербальном (словесном) описании. Но именно на этом пути были достигнуты замечательные результаты, поэтому распространено мнение о том, что и впредь в биологии можно обойтись вербальной логикой, не привлекая математики. Иными словами, если что-то важное уже понято и сделано, не прибегая к математике, то это может быть изложено простыми словами (и это необходимо) без привлечения сложных формул и вычислений.

На наш взгляд, это утверждение в целом правильное и не только по отношению к биологии. Однако сам процесс понимания, а не изложения понятого, порою труден и мучителен и математика в состоянии существенно облегчить его.

Современное состояние физиологии устойчивости растений таково, что даже в вербальном отношении там далеко не все ясно. Большой фактический материал, по нашему мнению, содержит много трудно согласуемых друг с другом и даже противоречивых фактов. Отсутствует единая система понятий, что мешает классификации многих наблюдаемых явлений. Видимо для выработки единой внутренне согласованной системы понятий и критериев целесообразно использовать математический аппарат. Его подходы могут оказаться не только полезными, но и необходимыми. Ниже мы постараемся на конкретном экспериментальном материале показать, как математика действительно помогает классифицировать биологические эффекты различных воздействий на живую систему и решать важные вопросы физиологии

устойчивости.

При рассмотрении этих проблем конечно необходимо знать, какую именно математику следует использовать для изучения данного явления, поскольку в математике имеется много разделов. По нашему мнению, такие явления и понятия как *гомеостаз*, *устойчивость*, *надежность*, *стресс* и т.д. наиболее адекватно описываются теорией нелинейных динамических систем, на которой основано математическое моделирование многих биологических процессов. Этот раздел математики разработан сравнительно недавно. Во времена Чарльза Дарвина, например, его просто не существовало (сам ученый математикой не пользовался). По мере развития этой области математики, ее все чаще стали использовать для исследования биологических явлений. Появилась модель сердечных сокращений Ван-дер-Поля, модель сосуществования хищника и жертвы Лотки-Вольтерра, сейчас существуют математическая экология и математическая теория эволюции. Последняя представляет перевод на математический язык теории Дарвина. При этом выяснилось, что ряд положений Ч. Дарвина нуждаются в уточнении и развитии.

В последнее время приобрел популярность раздел теории нелинейных динамических систем, называемый *теорией катастроф*. Катастрофой считается резкое (скачкообразное) изменение характеристик состояния системы в процессе градуального (постепенного) изменения условий (параметров). Теория оперирует сравнительно простыми и преимущественно геометрическими понятиями. В ней фигурируют образы движения лыжника по складчатому склону, перекатывание шарика из одной лунки в другую и т.п. Однако в популярных книгах по теории катастроф отсутствует ответ на вопрос, каким образом математика может помочь понять биологические явления, и лишь обращается внимание на некоторые аналогии между поведением биологических и простых физических систем.

В основе этих аналогий лежит тот факт, что при моделировании биологических явлений приходят к уравнениям, которые совпадают с уравнениями, описывающими движение, например, обычного шарика в одной лунке или перескакивание его между несколькими. И ничего удивительного в этом нет. В том и заключается мощь математики, что одинаковые по форме уравнения описывают различные процессы в физике, химии и биологии.

Все это означает, во-первых, что для понимания биологического явления можно использовать опыт и интуицию, накопленную в

повседневной жизни. Каждый из нас, независимо от образования, может предсказать поведение шарика в лунке. Роль математического моделирования для изучения биологического процесса заключается в сведении сложного явления к более привычному и наглядному. И, во-вторых, математические модели, особенно геометрические или механические, наглядны и позволяют выделить общие свойства процесса и отделить их от частных, специфических для данного конкретного случая. Это обстоятельство играет важную роль при формулировании понятий, таких как специфические и неспецифические реакции, устойчивость к данному фактору и общая устойчивость. Определить эти понятия вербально, т.е. без модели, порой очень трудно, и возникающая подчас терминологическая неразбериха мешает как прояснению сути проблемы, так и ее дальнейшему развитию.

Таким образом, математическое моделирование должно обеспечить определенными преимуществами процесс понимания биологических явлений. Однако для того чтобы воспользоваться им, необходимо, преодолев отвращение к абстракции, познакомиться с элементами этой науки. Ниже мы попытаемся их изложить, используя преимущественно геометрические и механические образы и избегая по возможности сложных формул. Но сначала остановимся на тех особенностях биологической системы, которые учитывают при математическом моделировании протекающих в ней процессов.

## **Стационарные состояния в биологических системах.**

### **Устойчивость**

Биологические объекты являются далекими от термодинамического равновесия с окружающей средой. На границах между внутриклеточной и внешней средами существуют различные молекулярные барьеры и градиенты. В то же время биологические системы – открытые в том смысле, что постоянно обмениваются с внешним окружением веществом и энергией. Прекращение этих направленных процессов означает гибель. Стабильность биологических объектов, способность сохранять постоянство своей внутренней среды, поддерживать физиологические характеристики при наличии случайных колебаний во внешней среде была названа У.Кенноном в 1929 г. *гомеостазом*. Последний обеспечивается в клетке и организме за счет авторегулирования и управления процессов метаболизма.

Когда говорят о гомеостазе, то подразумевают стационарный уровень обменных процессов в небольшой по сравнению с периодом развития организма отрезок времени. Однако живая система сочетает в себе стремление к стабилизации своих параметров с одновременным направленным их развитием. Это свойство биосистем учтено в концепции *гомеореза*, предложенной К.Уолдингтоном в 1957 г. Гомеорез означает поддержание неравновесных изменений в живой системе, сохранение устойчивой динамики последней. Но устойчивые системы не способны к развитию, так как гомеостаз препятствует изменению в системе. Эволюция возможна лишь в том случае, если система в состоянии хотя бы временно приобретает неустойчивость. Иными словами дестабилизация живой системы может быть конструктивной, поскольку она способствует развитию системы. Естественно, что участвующие в этом процессе силы в состоянии восстанавливать гомеостаз. Примером может служить нарушение гомеостаза при делении клетки.

Гомеостаз на уровне организма или клетки – это частный случай наблюдаемого в природных открытых системах поддержания *стационарного состояния*. В простых физико-химических системах стационарное состояние определяется постоянством внешних условий. Биологические системы способны активно противостоять изменениям окружающей среды и стационарное состояние у них – следствие функционирования механизмов регуляции.

В рамках математических представлений стационарным состоянием системы считается то, характерное время жизни которого велико (вечно). Но поскольку на самом деле такого быть не может, то вводят понятие *квазистационарного состояния*, которое за достаточно долгий промежуток времени может измениться и сильно. Если время жизни состояния мало, то оно нестационарно и его называют *переходом*, т.е. переходы это процессы, которые протекают быстрее по сравнению с характерным временем существования самого состояния.

Важным свойством стационарного состояния является его *устойчивость*: если при достаточно малом отклонении от стационарного состояния система никогда далеко от него не уйдет и возвратится в него вновь, то состояние устойчиво. Если же после выведения системы из стационарного состояния она будет продолжать удаляться от него, то это состояние является неустойчивым.

Предположим, что поведение системы, например, изменение во

времени концентрации какого-то вещества  $X$ , описывается уравнением

$$dX/dt = P(X). \quad (1)$$

При стационарном состоянии системы концентрация  $X$  во времени не изменяется (обозначим ее через  $\bar{X}$ ),

$$P(\bar{X}) = dX/dt = 0. \quad (2)$$

Пусть система отошла от состояния равновесия  $\bar{X}$  на небольшую величину  $\xi$  (отклонение столь мало, что  $\xi/\bar{X} \ll 1$ ), тогда  $X = \bar{X} + \xi$ , и уравнение (1) можно переписать в следующем виде:

$$dX/dt = d(\bar{X} + \xi)/dt = d\xi/dt = P(\bar{X} + \xi). \quad (3)$$

После определенных преобразований уравнения (разложения в ряд Тейлора и отбрасывания нелинейных членов ряда) и интегрирования получим выражение, которое показывает, как изменяется отклонение системы от состояния равновесия во времени,

$$\xi(t) = C \cdot e^{\lambda t}, \quad (4)$$

где  $\lambda$  - первая производная функции  $P(X)$  в состоянии  $\bar{X}$ , т.е.  $\lambda = P'(\bar{X})$ , а  $C$  - постоянная величина.

Если  $\lambda < 0$  ( $P'(X) < 0$ ), то при  $t \rightarrow \infty$   $\xi \rightarrow 0$ , и, следовательно, первоначальное отклонение со временем уменьшается. В этом случае говорят, что стационарное состояние устойчиво (по критерию Ляпунова). Напротив, при  $\lambda > 0$ , ( $P'(X) > 0$ ), если  $t \rightarrow \infty$ , то  $\xi \rightarrow \infty$ . Следовательно, состояние неустойчиво, так как отклонение растет во времени.

Есть еще один критерий оценки устойчивости системы, эквивалентный предыдущему, "механический". Система устойчива, когда ее энергия минимальна и она находится в "потенциальной яме". За "потенциальную энергию" системы, поведение которой описывает знакомое уравнение  $dX/dt = P(X)$ , принимают функцию

$$U(X) = \int P(X) dX, \quad (5)$$

которую называют функцией Ляпунова.

На рис. 5 приведены примеры "потенциальных" профилей устойчивых (а, б) и неустойчивого (в) состояний системы. Если систему (шарик в ямке) отклонить от своего устойчивого состояния, то возникает "сила", возвращающая его обратно. При малых отклонениях величина возвращающей силы пропорциональна отклонению. Если ямка глубокая, и склоны ее крутые, то при одинаковых отклонениях возвращающая сила будет больше, чем в случае пологой ямки. Мерой устойчивости системы служит коэффициент пропорциональности между отклонением и возвращающей силой. Этот коэффициент ( $\lambda$ ) называют

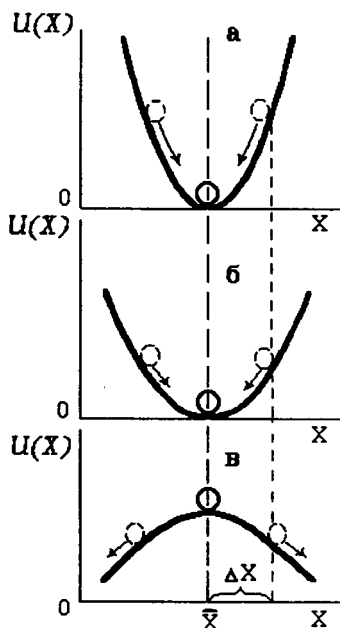
числом Ляпунова. Если оно велико, то система более устойчива по

Рис. 5. Потенциальные профили системы, имеющей одно стационарное состояние  $\bar{X}$ .

а и б — устойчивое состояние, так как при отклонении шарика он возвращается на исходное место. Система в — неустойчивая. После отклонения шарика от равновесия он не возвращается в исходное состояние

сравнению с системой с меньшим числом. Обращаем внимание, что в математике принято для сравнительной характеристики устойчивых состояний использовать отрицательные числа Ляпунова, а для неустойчивых — положительные.

Важно подчеркнуть, что в математике понятие устойчивости системы, выводимое из характера ее реакции на возмущающее воздействие, не адекватно такому в биологии. В биологии под устойчивостью организма обычно понимают его свойство сохранить жизнеспособность и оставить потомство после контакта с повреждающим фактором, т.е. для определения устойчивости живой системы надо контролировать реакцию на грубые нарушения, в то время как в математике при оценке устойчивости оперируют с малыми возмущающими систему воздействиями. Математической устойчивости ближе по смыслу понятие "чувствительности" биологического объекта, которую принято определять по реакции на небольшие тестовые нагрузки. Биологическому понятию "устойчивость", по-видимому, скорее соответствует "предел прочности" механической или какой-либо другой технической системы. Но вот в радиобиологии принято называть радиоустойчивые организмы радионечувствительными — такова традиция.



## Нелинейность биологических систем

Нелинейность присуща поведению большинства природных систем, включая и биологические, и проявляется в том, что при определенных условиях эти системы становятся крайне "чувствительными" и реагируют не пропорционально возмущающей силе, а часто и вообще непредсказуемо. Например, при падении камня со склона горы он может вызвать эффект (лавину), несовместимый с тем воздействием, которое было на него оказано. Но эта возможность реализуется лишь в том случае, если камень находился на склоне.

Нелинейный характер биосистем проявляется в наличии колебательных периодических процессов на всех биоиерархических уровнях (колебания активности ферментов, численности организмов в популяции и т.п.), кооперативности регуляторных актов организма и клетки, эволюции биоструктур (морфогенез). Примерами нелинейного поведения живой системы могут служить ее "парадоксальный" ответ, во время которого слабый фактор оказывает большее действие по сравнению со средним или "плато", на дозовой кривой, т.е. неизменность биологического эффекта при многократном увеличении силы воздействия.

Исследователи живой и неживой природы тяготеют к линейному анализу изучаемых систем. Этот традиционный подход, который можно назвать еще однозначно-детерминистическим, подразумевает жесткую предопределенность событий в природе и отвергает всякую случайность, считая последнюю следствием случайных ошибок экспериментатора. Линейный подход предполагает соизмеримые причинно-следственные связи событий: одна причина порождает одно следствие, малое воздействие не может вызвать больших последствий, а сильное - должно сопровождаться значительными последствиями.

Однако пришло время линейное поведение биологической системы рассматривать лишь как частный случай ее нелинейности. Линейность обнаруживается тогда, когда анализ является грубым или производится в малой пространственно-временной области ее существования.

Обычно регистрируемую неоднозначность отклика клетки принято воспринимать как предсуществующую неоднородность исследуемого



материала и недостаточную "чистоту" постановки опыта. Такое чаще имеет место при регистрации физиологических ответов объекта на относительно небольшие возмущения. Реакция экспериментатора на подобную ситуацию определенная - создавать "оптимальные" условия для проведения опыта с целью наблюдения прямых причинно-следственных связей. С точки зрения нелинейных свойств биообъектов неоднозначность отклика может означать, если, конечно, соблюдена "культура" эксперимента, что система имеет несколько устойчивых состояний. Такое объяснение ранее было предложено (Конев и др., 1970; Белоусов, 1987). Задача исследователя состоит в том, чтобы выявить эти стационарные состояния в биосистеме, описать их свойства и найти внутренний фактор, обеспечивающий их существование. Наконец, важно понять биологическую значимость неоднородности системы и попытаться использовать эту информацию для характеристики физиологической активности всей системы.

При математическом описании поведения живой системы в экстремальных ситуациях должна быть учтена нелинейность отклика биологических систем. Исследованием свойств нелинейных систем занимается теория развивающихся систем - *синергетика*. Исходные для синергетики математические понятия возникли в рамках *качественной теории дифференциальных уравнений*. Ее методы позволяют выявить важные свойства системы, в частности, наличие стационарных состояний, их устойчивость, переходы между ними, колебательные режимы и прочее, не прибегая к непосредственному решению самих уравнений, описывающих поведение системы. Остановимся на некоторых основных положениях этой теории.

### **Иерархия времен процессов в биологической системе**

Полное математическое описание процесса метаболизма возможно только при детальном знании последовательности превращения всех веществ и констант скоростей их взаимодействий.

Если в системе изменяется  $n$  различных веществ, то для ее описания потребуется  $n$  дифференциальных уравнений.

$$\begin{aligned}
\frac{dX_1}{dt} &= \frac{1}{T_1} P_1(X_1, X_2, \dots, X_n, a_1, a_2, \dots, a_n) \\
\frac{dX_2}{dt} &= \frac{1}{T_2} P_2(X_1, X_2, \dots, X_n, a_1, a_2, \dots, a_n) \\
&\vdots \\
\frac{dX_{i-1}}{dt} &= \frac{1}{T_{i-1}} P_{i-1}(X_1, X_2, \dots, X_n, a_1, a_2, \dots, a_n) \\
&\vdots \\
\frac{dX_n}{dt} &= \frac{1}{T_n} P_n(X_1, X_2, \dots, X_n, a_1, a_2, \dots, a_n).
\end{aligned}
\tag{6}$$

Каждое уравнение содержит *переменные* ( $X_1, X_2, \dots, X_n$ ) и *параметры* ( $a_1, a_2, \dots, a_n$ ). Переменные – это величины, которые изменяются во время их наблюдения, тогда как параметры – величины, которые в этот период поддерживаются постоянными. В разных биологических системах переменными могут быть концентрации веществ, число микроорганизмов в популяции, их суммарная биомасса, численность вида и т.д.; параметрами обычно служат температура, влажность, pH среды, содержание солей, коэффициенты размножения и гибели клеток и т.п.

В уравнениях (6) правые части специально записаны в форме  $\frac{1}{T_i} P_i(X_i, a_i)$  с целью подчеркнуть, что скорость изменения каждого из веществ ( $X_1, \dots, X_n$ ) разная и времена их превращения ( $T_1, T_2, \dots, T_n$ ) неодинаковые, причем

$$T_1 > T_2 > \dots > T_n. \tag{7}$$

Неравенство (7) отражает временную иерархию процессов в системе.

Принцип иерархии скоростей процессов широко используют при математическом моделировании поведения физических и химических систем, в которых скорости отдельных реакций во многих случаях могут быть измерены. В живых системах для ряда случаев показано, что даже в пределах одной цепи взаимопревращений субстрата существуют стадии, различающиеся по скоростям. В биологии это явление известно больше как принцип "узкого места". Согласно этому принципу, скорость превращения вещества во всей цепи определяет наиболее медленную стадию реакции. Однако чаще последовательность обменных процессов и характерные времена превращения продуктов в живых объектах недостаточно хорошо известны. Но очевидно, что для

такой сложной самоорганизующейся системы, какой является биологическая, временная иерархия внутренних процессов является необходимой. В противном случае неизбежен хаос в метаболической сети, который возникнет из-за близости скоростей различных реакций. Примером временной иерархичности в целой биологической системе является одновременное протекание быстрых ферментативных реакций (характерные времена оборота фермента  $10^{-1}$  -  $10^{-5}$  с), физиологических процессов в минутной временной области и значительно более медленных репродуктивных процессов.

Использование положения о временной иерархии процессов позволяет существенно упростить исходную математическую модель, по существу сведя описание кинетического поведения всей системы к изучению ее *определяющей* стадии. Таким образом, хотя биологические процессы и включают огромное число промежуточных стадий, свойства этих систем могут регулироваться сравнительно небольшим числом отдельных звеньев, и, следовательно, их модель может содержать значительно меньше уравнений. Поясним это на примере.

При исследовании какого-либо конкретного вопроса, например, *перехода* системы из одного физиологического состояния в другое, интерес представляют те переменные, время изменения которых порядка сроков перехода. Допустим, что такая переменная одна, именно  $X_1$  с характерным временем  $T_1$ . Остальные времена сильно отличаются от  $T_1$ , т.е.  $T_{1-1} \gg T_1 \gg T_{1+1}$ . Это означает, что процессы с временами  $T_1, \dots, T_{1-1}$  очень медленные по сравнению с основным процессом изменения  $X_1$ , а процессы с временами  $T_{1+1}, \dots, T_n$  значительно более быстрые.

Поскольку изменение переменных  $X_1, \dots, X_{1-1}$  происходит очень медленно, это позволяет сократить число дифференциальных уравнений в системе (6), исключив из рассмотрения уравнения с медленными переменными, вплоть до  $X_1$ .

Рассмотрим уравнение

$$\frac{dX_1}{dt} = \frac{1}{T_1} P_1(X_1, X_2, \dots, X_{1-1}, \dots, X_n, a_1, a_2, \dots, a_n). \quad (8)$$

Переменные  $X_1, X_2, \dots, X_{1-1}$  во время перехода можно считать постоянными, так как они изменяются очень медленно, и рассматривать их как параметры. Для удобства введем обозначения  $X_1 = b_1, X_2 = b_2, \dots, X_{1-1} = b_{1-1}$ , чтобы не путать их с переменной  $X_1$  и постоянными внешними параметрами  $a_1, a_2, \dots, a_n$ . Тогда уравнение (8)

можно переписать в форме

$$\frac{dX_1}{dt} = -\frac{1}{T_1} P_1(b_1, b_2, \dots, b_{1-1}, X_1, \dots, X_n, a_1, a_2, \dots, a_n). \quad (9)$$

Рассмотрим систему оставшихся уравнений, описывающих более быстрые процессы:

$$\begin{aligned} \frac{dX_{1+1}}{dt} &= -\frac{1}{T_{1+1}} P_{1+1}(b_1, \dots, b_{1-1}, X_1, X_{1+1}, \dots, X_n, a_1, a_2, \dots, a_n) \\ &\vdots \\ \frac{dX_n}{dt} &= -\frac{1}{T_n} P_n(b_1, \dots, b_{1-1}, X_1, X_{1+1}, \dots, X_n, a_1, a_2, \dots, a_n). \end{aligned} \quad (10)$$

Переменные  $X_{1+1}, \dots, X_n$  изменяются значительно быстрее, чем  $X_1$ . За время перехода  $T_1$  они успеют прийти к своим стационарным значениям  $\bar{X}_{1+1}, \dots, \bar{X}_n$ , которые согласно определению стационарного состояния (независимость от времени) вычисляются из условий:

$$\begin{aligned} P_{1+1}(b_1, \dots, b_{1-1}, X_1, \bar{X}_{1+1}, \dots, X_n, a_1, a_2, \dots, a_n) &= 0 \\ &\vdots \\ P_n(b_1, \dots, b_{1-1}, X_1, \bar{X}_{1+1}, \dots, X_n, a_1, a_2, \dots, a_n) &= 0. \end{aligned} \quad (11)$$

Уравнения (10) из дифференциальных стали алгебраическими и это позволяет определить переменные  $X_{1+1}, \dots, X_n$  как функции отдельных параметров:

$$\begin{aligned} \bar{X}_{1+1} &= f_{1+1}(b_1, \dots, b_{1-1}, X_1, a_1, \dots, a_n) \\ &\vdots \\ \bar{X}_n &= f_n(b_1, \dots, b_{1-1}, X_1, a_1, \dots, a_n). \end{aligned} \quad (12)$$

Таким образом удается выразить и быстрые переменные  $X_{1+1}, \dots, X_n$  через главную переменную  $X_1$  и параметры.

Возвращаясь к уравнению (9) и подставив в него выражения (12), мы получим одно уравнение

$$\frac{dX}{dt} = -\frac{1}{T} P_1(b_1, \dots, b_{1-1}, X, f_{1+1}, \dots, f_n, a_1, \dots, a_n). \quad (13)$$

Здесь мы вместо  $X_1$  ввели уже переменную  $X$ , поскольку все остальные переменные уже выражены через нее. Если принять

$$P_1(b_1, \dots, b_{1-1}, X, f_{1+1}, \dots, f_n, a_1, \dots, a_n) = \\ = \bar{P}(b_1, \dots, b_{1-1}, X, a_1, \dots, a_n), \quad (14)$$

получим

$$\frac{dX}{dt} = \frac{1}{T} \bar{P}(b_1, \dots, b_{1-1}, X, a_1, \dots, a_n). \quad (15)$$

Отметим, что метод исключения быстрых переменных давно использовался в химической кинетике и был известен как метод стационарных концентраций. Математическое обоснование его было дано в работах А.Н. Тихонова и Л.С. Понтрягина. Поэтому сейчас утверждение о возможности исключения быстрых переменных называют теоремой Тихонова.

В окончательном уравнении (15) присутствуют параметры двух разных типов. Во-первых, исходные параметры, обозначенные как  $a_1, a_2, \dots, a_n$ . Они связаны с внешними условиями и не изменяются, если последние постоянны. Во-вторых, параметры  $b_1, \dots, b_{1-1}$ , которые наряду со стационарными значениями  $X_1$ , медленно меняются с характерным временем, поэтому стационарные состояния модели (6) строго говоря не являются абсолютными и в данном случае их правильнее считать квазистационарными.

Такие состояния очень распространены. В биологии они все квазистационарны. Действительно, в любом живом организме практически все показатели медленно и необратимо меняются в течение жизни.

Таким образом, используя принцип иерархии времен, можно решение системы из нескольких уравнений со многими неизвестными свести к решению одного уравнения с одним неизвестным.

### **Исследование дифференциальных уравнений с одной переменной, используемых для моделирования поведения биологических систем**

Напомним, что при моделировании поведения биологической системы с помощью дифференциальных уравнений выясняют следующие вопросы:

- 1) существуют ли в системе стационарные состояния,
- 2) сколько их,

- 3) какова их устойчивость,
- 4) как зависит устойчивость стационарных состояний от внешних условий (параметров),
- 5) возможны ли переходы между состояниями?

Для этого надо решить дифференциальное уравнение, т.е. найти те значения переменных, при которых их изменение во времени равно нулю (найти корни уравнения). Однако решение уравнения в аналитической форме не всегда возможно. Разработаны приемы качественного решения уравнений, при помощи которых поведение системы исследуют по виду правых частей дифференциальных уравнений. Для качественного исследования уравнения можно использовать либо его геометрический образ, либо механическую аналогию, например, движение шарика по неровной поверхности.

Начнем с простейшего случая, когда поведение биологической системы моделирует одно линейное уравнение

$$P(X) = dX/dt = aX + b, \quad (16)$$

которое можно решить даже в аналитической форме;  $X$  – переменная,  $a$  и  $b$  – параметры).

Рассмотрим пример геометрического представления решения этого уравнения (рис. 6, а и б).

Система находится в стационарном состоянии, если изменение переменной  $X$  равно нулю, т.е.  $dX/dt = 0$ . Прямая  $P(X) = aX + b$  пересекает ось абсцисс в точке  $X = \bar{X} = -b/a$ , что соответствует стационарному состоянию системы. В зависимости от знака и величины параметра  $a$  прямая будет пересекать горизонтальную ось под разными углами.

Чтобы определить устойчиво ли состояние в точке  $\bar{X}$ , отклоним систему вправо и влево. Для случая на рис. 6, а, когда  $X < \bar{X}$ , то  $dX/dt > 0$  и значение  $X$  со временем увеличивается, стремясь к  $\bar{X}$ . Если же  $X > \bar{X}$ , то  $dX/dt < 0$ , и значение  $X$  с течением времени уменьшается, также стремясь к  $\bar{X}$ . Таким образом, отклонение в любую сторону от стационарного состояния через некоторое время уменьшается и система возвращается в стационарное состояние  $\bar{X}$ . Такое состояние равновесия системы является устойчивым. Чем больше угол наклона прямой к горизонтальной оси, тем быстрее  $X$  стремится к  $\bar{X}$  и, следовательно, более устойчиво состояние.

На рис. 6б прямая  $P(X) = aX + b$  имеет другой наклон. Если в данном случае отклонить систему от стационарного состояния влево ( $X < \bar{X}$ ,  $dX/dt < 0$ ), то значение  $X$  с течением времени будет продол-

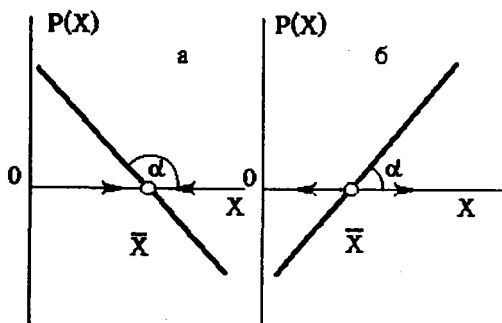


Рис. 6. Графическое представление решения уравнения  $P(X)=aX+b$ .

При  $a < 0$  состояние  $\bar{X}$  устойчиво (а), поскольку при отклонении  $X$  вправо от него  $P(X)$  отрицательно и со временем величина отклонения уменьшается. Система возвращается в исходное состояние. При отклонении влево  $P(X)$  положительно и  $X$  с течением времени увеличивается. Система также возвращается в исходное состояние.

При  $a > 0$  состояние  $\bar{X}$  неустойчиво (б), поскольку при отклонении  $X$  вправо  $P(X)$  - положительно и  $X$  с течением времени увеличивается, удаляясь от  $\bar{X}$ . При отклонении влево  $P(X)$  отрицательно и  $X$  уменьшается, удаляясь от  $\bar{X}$ .

жать уменьшаться, удаляясь от  $\bar{X}$ . Если систему отклонить вправо ( $X > \bar{X}$ ), то  $dX/dt > 0$ , и значение  $X$  будет возрастать, тоже удаляясь от  $\bar{X}$ . Такое состояние равновесия является неустойчивым, так как небольшое отклонение от равновесия приводит к возрастающему во времени удалению системы от него. Чем круче пересечение прямой с осью  $X$ , тем быстрее система удаляется от состояния равновесия.

Таким образом, по углу наклона, под которым прямая пересекает горизонтальную ось, можно судить о том, является ли стационарное состояние системы устойчивым или нет. Оценить устойчивость стационарного состояния можно также по знаку первой производной функции  $P(X) = aX + b$ , равной  $a$ . Если  $a < 0$ , то состояние устойчиво, если  $a > 0$ , то состояние неустойчиво. Это положение достаточно очевидно, так как первая производная ( $a$ ) и есть тангенс угла наклона прямой к оси абсцисс ( $\operatorname{tg}\alpha = a$ ).

Для исследования устойчивости рассматриваемой системы кроме геометрического подхода можно использовать "потенциальный" (энергетический). "Потенциальные" профили на рис. 5 представляют собой

примеры решений уравнения типа  $P(X) = aX + b$ . "Потенциал" имеет один минимум (ямку), т.е. у системы есть только одно стационарное состояние. Устойчивость состояния определяет кривизна поверхности, зависящая от параметра  $a$ . Если  $a$  большое (ямка глубокая и крутая, рис. 5,а), то шарик, будучи отклоненным от равновесия, быстро вернется обратно - система устойчива. Если  $a$  мало, то лунка пологая и система менее устойчива (рис. 5,б). Когда кривизна отсутствует, то система нейтральна. Ясно также, что если кривизна отрицательна (максимум "потенциала"), то шарик после отклонения в точку  $\bar{X}$  вообще не вернется (стационарное состояние неустойчиво - рис 5,в).

Таким образом, условие устойчивости стационарного состояния (параметр  $a$  отрицателен) не зависит от способа оценки устойчивости: по знаку ли первой производной или же с использованием геометрического или "потенциального" образов.

Мы рассмотрели, как исследуют характеристики поведения линейной системы. Однако биологические системы нелинейны и для их описания необходимо использовать уравнения более высоких порядков.

Возьмем дифференциальное уравнение второй степени с одним неизвестным. Оно, например, может описывать работу проточного культиватора микроорганизмов или ферментативную реакцию с постоянной скоростью притока субстрата:

$$P(X) = a - bX + cX^2. \quad (17)$$

Предположим, что переменная  $X$  отражает концентрацию клеток в культиваторе; параметры системы: скорость притока клеток в культиватор ( $a$ , параметр управляет работой всей системы), коэффициент размножения ( $c$ ) и гибели ( $b$ ) клеток.

Приняв для простоты  $c = 1$  и приравняв уравнение нулю,  $a - bX + X^2 = 0$ , можно найти его корни, которые соответствуют двум стационарным состояниям системы:

$$\bar{X}_1 = \frac{b}{2} + \sqrt{\frac{b^2}{4} - a}, \quad \bar{X}_2 = \frac{b}{2} - \sqrt{\frac{b^2}{4} - a}.$$

Поскольку концентрации клеток  $\bar{X}_1$  и  $\bar{X}_2$  должны быть действительными числами, то сразу возникает ограничение - управляющий параметр  $a$  не должен быть больше  $\frac{b^2}{4}$ . При слишком большой скорости притока клеток в культиватор ( $a > \frac{b^2}{4}$ ) стационарное состояние систе-



мы не достижимо. При  $a = \frac{b^2}{4}$  стационарное состояние одно:  $\bar{X}_1 = \bar{X}_2 = \frac{b}{2}$ , а при  $a < \frac{b^2}{4}$  их два.

(Недостатком модели является то что, если  $c \neq 1$  и мало, может возникнуть решение, при котором значения переменных становятся неограниченно большими. В реальной биологической системе ни одна из величин не может принимать бесконечных значений.)

Графическое изображение рассматриваемой функции показано на рис. 7, а. Судя по тому, как в зависимости от  $X$  изменяется  $P(X)$  в точках  $\bar{X}_1$  и  $\bar{X}_2$ , можно по углу наклона определить, как и в случае линейного уравнения, что состояние  $\bar{X}_1$  является неустойчивым, а  $\bar{X}_2$  - устойчивым.

Влияние величины управляющего параметра  $a$  на количество и устойчивость стационарных состояний видно из рис. 7, б. При любом значении  $a < \frac{b^2}{4}$  система имеет два стационарных состояния. Определенные устойчивости этих состояний по знаку первой производной показывают, что стационарное состояние на верхней ветви является не-

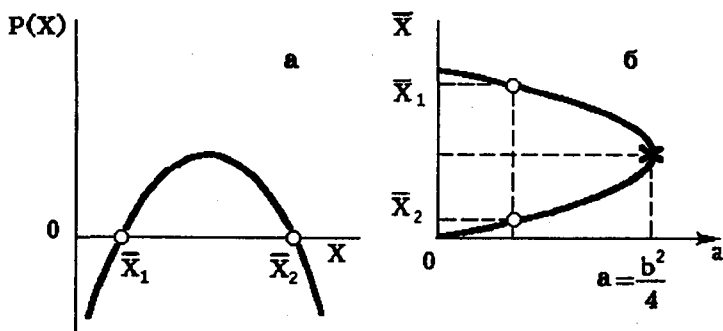


Рис. 7. а. Графическое решение уравнения  $P(X) = a - bX + cX^2$ .

б. Зависимость стационарных состояний  $\bar{X}$  уравнения  $P(X) = a - bX + cX^2$  от управляющего параметра  $a$ .

При значениях  $a > (\frac{b^2}{4})$  стационарных состояний в системе нет. При  $a = (\frac{b^2}{4})$  в системе одно стационарное состояние, помеченное крестиком. При  $a < (\frac{b^2}{4})$  существуют два стационарных состояния  $\bar{X}_1$  и  $\bar{X}_2$

устойчивым, так как  $P'(X_1) = 2\sqrt{\frac{b^2}{4} - a} > 0$ , а на нижней - устойчивым, поскольку  $P'(X_2) = -2\sqrt{\frac{b^2}{4} - a} < 0$ . Значение переменной  $X$  при  $a=b^2/4$ , отмеченное на рисунке крестиком, является критическим и его называют *бифуркационной точкой*. Слово бифуркация древнегреческого происхождения и означает "раздвоение". В математике первоначально оно употреблялось для описания простейших неустойчивых состояний системы типа движения шарика по гребню водораздела, где есть только две возможности: скатиться вправо или влево. Позднее термин "бифуркация" был распространен на все ситуации, в которых система теряет устойчивость. Бифуркационная точка - это точка предела устойчивости системы.

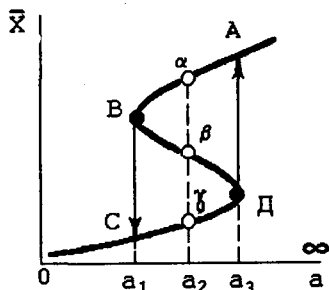
"Потенциальный" профиль рассматриваемой системы представляет кривую, на которой есть один минимум ("потенциальная" яма) и максимум ("потенциальная" горка). Глубину ямки, высоту горки, их взаиморасположение и крутизну склонов определяют параметры  $a$ ,  $b$  и  $c$ . На горке (неустойчивое стационарное состояние системы) шарик долго находиться не может и обязательно скатится в ямку (устойчивое состояние). Когда же при изменении параметров системы горка и ямка сливаются, появляется бифуркационное состояние.

Однако квадратное уравнение с одной переменной все же недостаточно богато (недостаточно нелинейно) для описания поведения сложных биологических систем, которые при одних и тех же значениях параметров могут находиться в нескольких устойчивых стационарных состояниях, между которыми возможны переходы (переключения) триггерного характера. Чтобы описать такую систему нужно иметь уравнение по крайней мере третьей степени.

Такие уравнения моделируют, например, свойства открытой ферментативной реакции с субстратным ингибированием. Не будем приводить дифференциальное уравнение этой реакции и описывать процедуру преобразования ("обезразмеривания"), необходимую для графического представления конечного результата - построения кривой стационарных состояний реакции с субстратным ингибированием и притоком субстрата в зависимости от внешнего управляющего параметра. Она имеет S-образный вид. На этой кривой каждому значению управляющего параметра отвечают три различных стационарных состояния системы. Вместо этого рассмотрим достаточно "примитивный" физический пример, который может служить аналогом поведения такой системы - фазовые изменения агрегатного состояния воды в зависимости

Рис. 8. Зависимость стационарных состояний  $X$  системы, поведение которой описывает уравнение третьей степени от управляющего параметра  $a$

В областях  $(0, a_1)$  и  $(a_3, \infty)$  система имеет только одно стационарное состояние. В области  $(a_1, a_3)$  существуют три стационарных состояния, два из которых (ветви АВ и СД) – устойчивые а одно (ветвь ВД) – неустойчивое. Точки В и Д – бифуркационные состояния системы, в которых сливаются устойчивое и неустойчивое состояния



от температуры (рис 8).

Пусть увеличение параметра  $a$  на рис. 8 означает повышение температуры. В точке  $a_2$  ее значение равно  $0^{\circ}$ . При обычных условиях переход "вода – лед" происходит по траектории  $A\alpha\beta\gamma C$ . При  $0^{\circ}$  вода может быть как в жидком ( $\alpha$ ), так и в твердом ( $\gamma$ ) состояниях, и кроме того образуется смесь этих состояний ( $\beta$ ). Известно, что при охлаждении, соблюдая некоторые предосторожности, можно получить переохлажденную жидкую воду при температуре ниже  $0^{\circ}$  (отрезок  $\alpha\beta$ ), которая при этих условиях тоже будет в устойчивом состоянии. Но достижение некоторого критического значения температуры  $a_1$  (бифуркационной точки В) обязательно вызовет резкий переход воды в другое устойчивое состояние (лед) – точку С на нижней ветви. Обратный процесс при повышении температуры пойдет по другому пути –  $C\gamma D$  (отрезок  $\gamma D$  – перегретый лед), где Д – вторая бифуркационная точка. Она соответствует такому значению температурного параметра  $a_3$ , выше которого (температура выше  $0^{\circ}$ ) лед ни при каких условиях не будет устойчивым состоянием – происходит скачок на верхнюю ветвь в точку А.

Таким образом, в рассматриваемой системе реализация одного из двух устойчивых состояний и направления скачкообразных переходов (переключений, "катастроф") зависят от того, уменьшается или возрастает величина управляющего параметра, а также от исходного состояния системы. Такое свойство системы – "помнить" о своем прежнем состоянии и, следовательно, совершать переходы из одного состояния в другое разными путями, называют *гистерезисом*.

Иными словами, по ходу изменения температуры в прямом или обратном направлениях вода испытывает гистерезисный цикл качественных изменений своих стационарных свойств, претерпевая триггерные переходы при достижении критических (бифуркационных) значений температуры, соответствующих пределам устойчивости своих агрегатных состояний.

Рассмотрим теперь "потенциальный" образ поведения системы, имеющей два устойчивых и одно неустойчивое состояния.

"Потенциальный" профиль этой системы (рис. 9) имеет два минимума в точках  $\bar{X}_1$  и  $\bar{X}_2$  (состояния 1 и 2) и один максимум - горку между ними. Устойчивость состояний в точках  $\bar{X}_1$  и  $\bar{X}_2$  различна и определяется глубиной ямок и крутизной их склонов. При наличии случайных внешних воздействий (их называют *шумами*) система может с некоторой вероятностью переходить из состояния 1 в состояние 2 и обратно. Вероятности переходов зависят от высоты барьеров  $U_{1-2}$  и  $U_{2-1}$ , точнее глубин ямок. На рис. 9,а барьер  $U_{2-1}$  меньше, чем  $U_{1-2}$ , и поэтому "потенциальная энергия", необходимая для переброса шарика из одной ямки в другую, т.е. перехода системы из второго состояния в первое, меньше чем для обратного процесса. Это приводит к тому, что нахождение шарика в первом состоянии более вероятно по сравнению со вторым.

На последующих рисунках показано, как изменение параметров системы влияет на форму "потенциальных" профилей, от которых зависит характер переходов системы между состояниями. Варьирование параметров системы может одновременно изменять как глубину ямок ( $U_{1-2}$ ,  $U_{2-1}$ ), так и высоту барьера между ними. Рассмотрим два варианта.

В первом (рис. 9,б, в,) изменение параметров, в основном, влияет на глубину ямок (дно первой поднимается, второй - опускается) и мало сказывается на высоте горки между ними. На рис. 9,б глубины ямок уже сравнялись, но барьер почти не изменился. Оба состояния остаются устойчивыми, и вероятность перехода между ними все еще мала. Когда же дно ямки 1 сравняется с высотой горки (рис. 9,в), состояние 1 сначала становится нейтральным, а далее и неустойчивым (бифуркационное состояние). В этот момент система быстро (скачком) переходит в состояние 2.

При обратном изменении параметров системы, она в конце концов возвращается в исходное положение. Однако это происходит

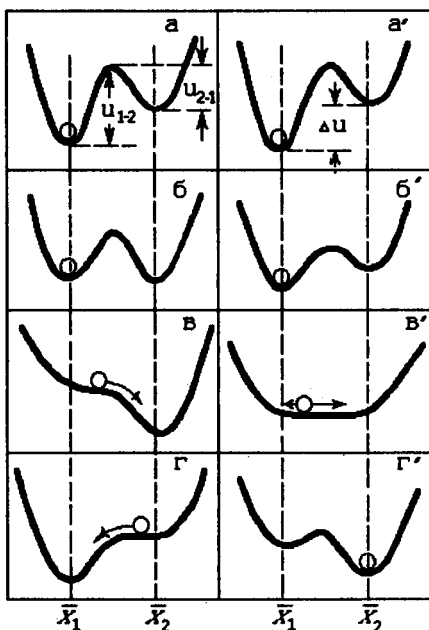


Рис. 9. Потенциальные профили системы, имеющей три стационарных состояния

Стационарные состояния  $X_1$  и  $X_2$  - устойчивы. Шарик может находиться в любой из ямок но нахождение его в первой более вероятно.  $U_{1-2}$  и  $U_{2-1}$  - "потенциальные" барьеры. Два способа перехода из состояния 1 в 2 показаны последовательностью кривых а - в и а' - г'. Кривая г - показывает способ возврата из состояния 2 в 1

только в тот момент, когда барьер  $U_{2-1}$  становится равным нулю - ямка и горка сравниваются (рис. 9,г), т.е. пути прямого и обратного перехода шарика не совпадают - имеет место гистерезис.

Второй вариант представлен на рис. 9,б', в', г'. В данном случае параметры системы сильнее влияют на высоту барьера между ямками. Горка исчезает до того, как сравниваются глубины ямок (рис. 9,б'). В результате, когда глубины ямок равны, имеет место

одно стационарное состояние с почти нулевой устойчивостью (рис. 9, в). Даже небольшие "шумы" вызывают блуждание шарика по всему отрезку  $X_1 - X_2$  (стационарное состояние размыто). В дальнейшем при углублении ямки  $X_2$  система медленно и плавно переходит в состояние 2 (шарик скатывается в ямку 2). При обратном ходе параметров система возвращается в исходное состояние тоже плавно, без гистерезиса.

Сопоставляя оба варианта переходов между состояниями, можно отметить следующее. В первом случае новое состояние 2 как бы имеется заранее, т.е. в принципе система может находиться и в нем. Переход совершается быстро, скачкообразно. Такие скачкообразные переходы в синергетике (теории катастроф) получили название "катастрофы типа складки" (происхождение термина мы поясним позднее).

Во втором варианте новое состояние даже если и существует заранее, но исчезает в момент перехода, а затем возникает вновь. Примером такого перехода может служить система "жидкость - пар" в критической точке. В этот момент нет состояния "жидкость" и нет состояния "пар", а есть только некоторая их смесь. Такие переходы получили название "катастрофа типа сборки".

В заключение этого раздела отметим, что слова "потенциал" и "энергия" мы не зря брали в кавычки. Дело в том, что использование их основано только на аналогии с движением шарика, тождественности математического описания, но никак не на сходстве реальных процессов. Поэтому понятия "потенциальный" барьер (или "энергетический" барьер) не связаны с энергией (или свободной энергией). Так, например, если переменная  $X$  - число особей в популяции, то параметры функции  $P(X)$  к энергии вообще никакого отношения не имеют.

### **Система двух дифференциальных уравнений. Фазовый портрет системы**

Несмотря на важные выводы о поведении сложной системы, которые следуют из математических моделей, представленных уравнением с одной переменной, эти модели все же недостаточны для описания ряда свойств биологических систем. Поэтому целесообразно познакомиться с системой дифференциальных уравнений с двумя переменными.

Они моделируют гораздо более широкий класс биологических явлений. В частности, позволяют проследить возникновение периодических процессов, играющих важную роль в биологических системах разной степени сложности.

Полезным математическим образом системы двух уравнений, при помощи которого можно представить ход процесса – эволюцию состояния системы и степени ее организованности, является *фазовый портрет* системы. Этот компактный, удобный для наглядного описания поведения динамической системы способ первоначально появился в механике (теории механических колебаний). Простейшим примером могут служить колебания шарика (вверх – вниз), подвешенного на упругой резинке. Каждому мгновенному состоянию такой колебательной системы (осциллятору) на плоскости, координатами которой служат положение ( $X$ ) и скорость движения ( $Y$ ) шарика, соответствует одна точка ( $X, Y$ ). Она отражает определенную фазу колебаний шарика и отсюда возникли термины *фазовая плоскость* и *фазовый портрет* поведения системы.

Если шарик колеблется вверх и вниз без трения, эта точка описывает замкнутую кривую (окружность). Когда колебания постепенно затухают, то фазовая траектория сходится по спирали к предельной точке, где шарик останавливается. Эта точка – устойчивое стационарное состояние, так как если шарик подтолкнуть, то он опять вернется в эту точку. Она как бы "притягивает" все близлежащие траектории. Ее называют неподвижной притягивающей точкой, или *аттрактором*.

Построение фазового портрета динамической системы означает выбор плоскости (пространства) всех возможных ее состояний и отображение на этой фазовой плоскости наблюдений, проводимых с объектом. Фазовый портрет передает типичные закономерности перехода объекта от одного состояния к другому, т.е. правила, по которым одна ситуация сменяется другой во времени. Взглянув на фазовый портрет системы, можно судить о ее свойствах.

Рассмотрим пример построения фазового портрета системы, поведение которой описывают два дифференциальных уравнения:

$$\begin{aligned}dX/dt &= P(X, Y) \\ dY/dt &= Q(X, Y),\end{aligned}\tag{18}$$

где динамические переменные  $X$  и  $Y$  являются, например, концентра-

циями двух веществ (или численности разных организмов, клеток). Функции  $P(X,Y)$  и  $Q(X,Y)$  содержат притоки и оттоки веществ  $X$  и  $Y$  (или процессы рождения и гибели клеток).

На рис. 10 представлена плоскость  $X,Y$ , а точнее ее положительный квадрант (т.е. часть, где обе величины положительные), так как биологические переменные отрицательными быть не могут. Выберем на плоскости произвольную точку  $X_0, Y_0$ , которая показывает, что в данный момент времени концентрации веществ составляют  $X_0$  и  $Y_0$ . Эта точка называется изображающей. Перемещение точки по плоскости свидетельствует об эволюции системы (изменении концентрации веществ). Используя исходные уравнения (18), можно определить направление смещения точки в данный момент времени (т.е. мгновенные изменения концентрации веществ). Вычислим величины  $\Delta X$  и  $\Delta Y$  за время  $\Delta t$  — малый отрезок времени от  $t$  до  $t + \Delta t$ . Они составят

$$\Delta X = P(X_0, Y_0)\Delta t; \quad \Delta Y = Q(X_0, Y_0)\Delta t.$$

Вычисления нетрудно провести, поскольку функции  $P(X,Y)$  и  $Q(X,Y)$  известны и координаты  $X_0$  и  $Y_0$  заданы. Отрезок  $\Delta t$  выбирают произвольно. Отложим полученные отрезки  $\Delta X$  и  $\Delta Y$  на плоскости  $X,Y$ ; их равнодействующая (диагональ прямоугольника) и будет вектором направления смещения точки. Угол смещения  $\alpha$  не зависит от величины  $\Delta t$ , он определяется уравнением

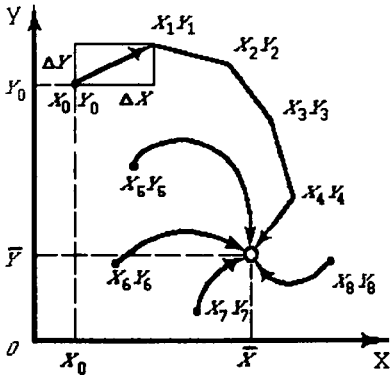
$$\operatorname{tg} \alpha = \Delta Y / \Delta X = Q(X,Y) / P(X,Y). \quad (19)$$

Старательный исследователь такие вычисления может провести для многих точек и после этого на плоскости появится поле направлений — *фазовые траектории* (рис. 10). Это и есть фазовый портрет системы уравнений (18). В данном случае мы имеем пример, в котором все траектории, начинаясь в различных местах плоскости, собираются в одну единственную точку. Как мы упоминали, эту точку называют *аттрактором*. Она соответствует устойчивому стационарному состоянию системы с координатами  $\bar{X}, \bar{Y}$ , в котором функции  $P(\bar{X}, \bar{Y})$  и  $Q(\bar{X}, \bar{Y})$  равны нулю. На рис. 10 также видно, что характер эволюции системы — стремление к стационарному состоянию — может быть разным в зависимости от исходного состояния системы. Движение изображающей точки по фазовым траекториям рисует качественную картину изменения динамических переменных  $X$  и  $Y$  во времени.

Фазовый портрет не передает скорость движения, хотя в общем случае точка движется по траектории неравномерно. Определить, где



Рис. 10. Пример построения фазового портрета динамической системы вида  $dX/dt=P(X,Y)$   $dY/dt=Q(X,Y)$ .



этих точек на фазовой плоскости образует фазовую траекторию. На рисунке приведены фазовые траектории, исходящие из начальных точек  $(X_5, Y_5)$ ,  $(X_6, Y_6)$ ,  $(X_7, Y_7)$  и  $(X_8, Y_8)$ , стягивающиеся в конце концов в одну точку  $(\bar{X}, \bar{Y})$  - аттрактор, которая является стационарным состоянием системы

скорость велика, а где мала, можно снова обращаясь к уравнениям (18).

Вычисление полного поля направлений - большой труд, и поэтому ленивые, но сообразительные люди придумали более простой способ построения фазового портрета. Для этого на плоскости проводят линии, проходящие через точки, в которых либо функция  $P(X,Y)=0$  ( $X$  не изменяется), либо  $Q(X,Y)=0$  ( $Y$  не изменяется). Эти линии называются *главными изоклинами* (или нуль-изоклинами). Изоклины - термин латинский, означает линии одинаковых направлений (изо - одинаковый, клин - наклон). Так по всей линии  $P(X,Y)=0$  смещение  $\Delta X=0$  и, следовательно, вектора перпендикулярны оси  $X$ ; на всей линии  $Q(X,Y)=0$  смещение  $\Delta Y=0$  и вектора параллельны оси  $X$  (перпендикулярны оси  $Y$ ). Точка пересечения изоклин - стационарное состояние, поскольку в ней  $\Delta X=0$  и  $\Delta Y=0$ . В системе из двух дифференциальных уравнений возможно несколько "типов" стационарных состояний.

Переход системы из произвольного начального положения в ста-

ционарное в "бесколебательном" режиме изображается на фазовой плоскости монотонным перемещением точки, и конечным "стационарным" пунктом ее движения является *устойчивый узел* (рис. II,а). Стационарное состояние, к которому система приближается, совершая затухающие движения (например, колебание шарика на упругой резине), называют *устойчивым фокусом* (рис. II,б). На первый взгляд отличить фокус от узла трудно. Говорят, что их портреты топологически подобны. Однако в реальном биологическом процессе вопрос о том, будет ли процесс колебательный или монотонный, весьма важен.

Неустойчивое стационарное состояние системы характеризует *седловая точка* (рис. II,в). Малое отклонение от этой точки, например, вправо, ведет к дальнейшему удалению системы в этом же направлении. Отклонение влево сопровождается подобным же удалением системы от стационарного состояния. Траектории, подходящие к седлу (сверху и снизу), разделяются на два потока – вправо и влево. Следовательно, должна существовать линия, разделяющая потоки на две части. Она называется *сепаратрисой* (разделяющая). На рис. II,в она представлена пунктирной линией. Если изображающую точку поместить абсолютно точно на сепаратрису, то она попадет в седло. Однако абсолютно точное задание состояния в реальных условиях невозможно, и поэтому седловая точка практически недостижима. Все остальные траектории обтекают седловую точку. Существует лишь еще одна особая траектория, проходящая через седло. Она разделяет потоки, пришедшие сверху и снизу. Все изображающие точки, расположенные на ней, удаляются от седла. Седло, как и всякое неустойчивое состояние, формально является стационарным, но реально в нем система долго существовать не может.

Седловая точка играет важную роль при описании *триггерных* свойств биологических систем. Она располагается между двумя устойчивыми точками. В зависимости от того, с какой стороны от сепаратрисы и седла находится начальное стационарное состояние системы, изображающая точка мигрирует в область притяжения той или иной устойчивой точки.

В биологической системе при постоянных внешних условиях могут возникать периодические колебания ее свойств (автоколебания). Класс автоколебательных систем включает периодические биохимические реакции, периодические процессы фотосинтеза, колебания численности клеток и организмов и т.д. На фазовой плоскости ста-

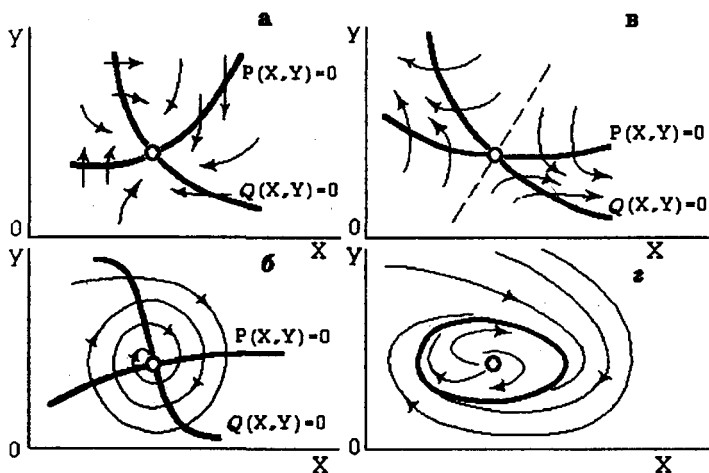


Рис. II. Особые точки на фазовой плоскости.

а. Устойчивый "узел" — точка, к которой сходятся все фазовые траектории на плоскости (у неустойчивого узла фазовые траектории направлены в противоположную сторону).

б. Устойчивый "фокус" — точка, к которой асимптотически стремятся все фазовые траектории, имеющие вид спиралей, вложенных друг в друга (у неустойчивого фокуса движение изображающей точки по спирали происходит от фокуса).

в. "Седло" — особая точка неустойчивости. Где бы ни находилась изображающая точка в начальный момент (за исключением самого седла или сепаратрисы), она всегда будет удаляться от состояния равновесия.

г. Устойчивый предельный цикл. Все траектории снаружи от него и внутри навиваются на предельный цикл. Внутри неустойчивый фокус

ционарное состояние автоколебательной системы представляет *устойчивый предельный цикл*. Это особая замкнутая линия, окружающая неустойчивый фокус (рис. II, г). Все траектории как внутренние, так и внешние, навиваются на предельный цикл. Иными словами он является аттрактором (хотя и не точечным). Хотя предельный цикл и означает стационарное состояние, но это несколько условно. Разумеется, переменные  $X$  и  $Y$  при автоколебаниях не постоянны во времени, а меняются по определенному периодическому закону, и это продолжается сколь угодно долго.

## Регулирование переходов системы из одного состояния в другое. Биологические триггеры

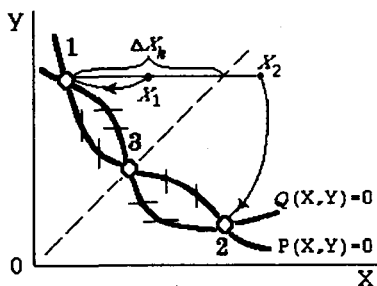
Важным свойством биологических систем является их переход (переключение) из одного режима функционирования в другой. Это возможно лишь в тех системах, которые имеют несколько устойчивых стационарных состояний. Переключения могут быть обратимыми и необратимыми. Первые могут осуществляться на протяжении жизни клетки многократно, например, при адаптации к постоянно меняющимся условиям существования. Второй тип переключения называют еще блокировкой, и он имеет место при делении клетки, приводящем к дифференциации (дочерные клетки отличаются от материнских).

На фазовой плоскости такие системы имеют по крайней мере две устойчивые особые точки (узла). Области (бассейны) влияния этих точек разделяются сепаратрисой, которая проходит через особую неустойчивую точку типа седла (рис. 12). Особые точки это места пересечения главных изоклин. Системы, имеющие подобный фазовый портрет, т.е. обладающие двумя устойчивыми стационарными состояниями, между которыми возможны переходы, называют триггерными.

Рассмотрим, каким образом можно перевести (переключить) такую систему из исходного состояния, например, 1 в состояние 2. Это может быть достигнуто двумя принципиально разными способами. Первый, который называют *силовым* (или динамическим), заключается в том, что воздействие производится непосредственно на динамические переменные, т.е. величины  $X$  или  $Y$ . Например, можно добавить в систему вещество  $X$ , тем самым увеличив его концентрацию на величину  $\Delta X$  (рис. 12). Если концентрация  $\Delta X$  не достигнет порогового значения  $\Delta X_K$ , то изображающая точка, переместившись сначала в положение  $X_1$ , затем вернется в исходное состояние (по траектории, показанной на рисунке). В этом случае переход системы в новое состояние не произойдет. Если же  $\Delta X$  больше  $\Delta X_K$ , то изображающая точка займет положение  $X_2$ . После этого она сама перейдет в состояние 2 по изображенной на рисунке траектории. Отсюда видно, что силовое переключение вызывает резкое (сверхпороговое) воздействие веществом — непосредственным участником реакции. Переключение происходит достаточно быстро, так как эффект достигается пу-

Рис. 12. Пример силового переключения системы.

Фазовый портрет системы, имеющей два устойчивых состояния типа "узла" (1 и 2), между которыми находится неустойчивое состояние (3) - "седло". Через "седло" проходит сепаратриса (пунктирная линия), разделяющая области притяжения устойчивых состояний. Если в систему добавить вещество X в количестве  $X_2 > X_K$ , то она окажется в области притяжения устойчивого состояния 2, и перейдет в него. Если концентрация  $X < X_K$ , то система попадает в точку  $X_1$ , и переключения не произойдет.



тем использования конкретного интермедиата метаболизма. Способ переключения называют *специфическим*.

Второй более мягкий способ переключения является *параметрическим*, так как в данном случае воздействию подвергаются не динамические переменные, а параметры системы. Это может происходить, например, при изменении температуры или кислотности среды, скорости поступления субстрата и др.

Возможно несколько вариантов изменения управляющего параметра, приводящих к деформации фазового портрета и смещению положения главных изоклин:

- 1) постоянное действие не очень сильного фактора,
- 2) постепенное нарастающее воздействие;
- 3) скачкообразное (импульсное) включение и выключение внешнего фактора.

Рассмотрим их по порядку.

Постоянно действующим слабым внешним фактором можно изменить положение изоклин. Например, изоклину  $P(X, Y) = 0$  сместить вверх и вправо, а изоклину  $Q(X, Y) = 0$  - вниз и влево, как показано на рис. 13,б. Положение стационарного состояния хотя и приблизится к седлу (сепаратрисе), но оно не сольется с ним. И сколь долго бы ни действовал подпороговый фактор, система в другое состояние не перейдет.

Если воздействие будет нарастать, то изоклины сместятся так,

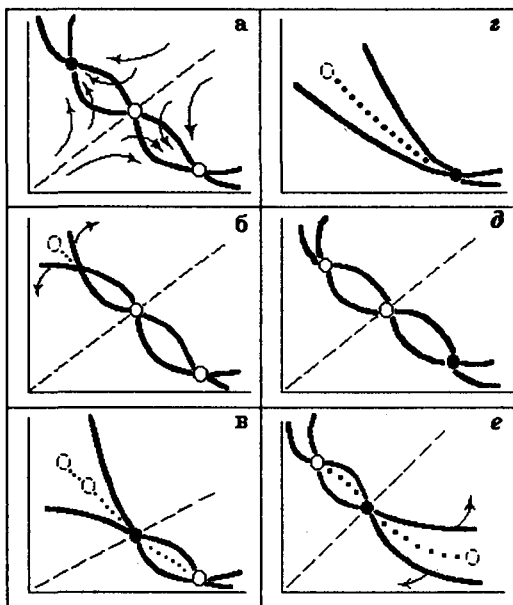


Рис. 13. Пример параметрического переключения системы.

Фазовый портрет системы имеющей два устойчивых состояния типа узла (1 и 2), между которыми находится неустойчивое седло. Через седло проходит сепаратриса (пунктирная линия).

а. Исходное состояние системы.

б. При разведении изоклин (показано стрелками) состояние 1 сместилось, но изображающая точка осталась в области притяжения исходного состояния; система полностью релаксирует, если параметрам возвратят исходные значения.

в. Более сильное смещение изоклин ведет к слиянию устойчивого состояния 1 и неустойчивого узла (бифуркационная точка).

г. Далее система сама быстро устремляется к единственному теперь устойчивому состоянию 2.

д. Если параметрам вернуть исходные значения, система все же останется в состоянии 2.

е. Для возвращения системы в исходное состояние 1 нужно параметрами так изменить положение изоклин (показано стрелками), чтобы состояние 2 слилось с неустойчивым седлом; только после этого система перейдет в устойчивое состояние 1, и параметрам можно вернуть исходные значения.

что состояние 1 сольется с седлом (неустойчивое состояние) и оба они исчезнут (рис. I3,в). Изображающая точка при этом сама устремится к единственному теперь устойчивому состоянию 2 по траектории, изображенной на рисунке штрихпунктиром (рис. I3,г).

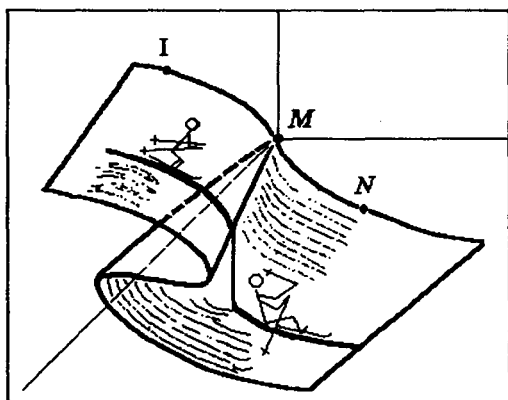
Когда фактор включается на небольшой отрезок времени, то тоже возможны два варианта. Если кратковременное смещение изоклин таково, что изображающая точка состояния 1 не сольется с седлом (воздействие ниже критического), то при возвращении параметров к исходным значениям система релаксирует в исходное состояние 1.

Большой импульс смещает состояние 1 до сепаратрисы, после чего система быстро переходит в состояние 2 (рис. I3,г). И хотя после этого все параметры возвращаются к исходным, система остается в состоянии 2 (рис. I3,д).

Для возвращения системы в исходное состояние 1 необходимо таким образом сместить изоклины, чтобы фазовый портрет приобрел вид, показанный на рис. I3,е, т.е. изоклину вертикалей сдвинуть вверх и вправо, а изоклину горизонталей – вниз и влево. После этого состояние 2 станет неустойчивым и изображающая точка устремится в состояние 1 по штрихпунктирной траектории, отличающейся, вообще говоря, от траектории рисунка I3,в. Только после перехода изображающей точкой сепаратрисы можно вернуть параметрам исходные значения и система будет вновь находиться в исходном состоянии 1.

Процесс перехода системы из исходного состояния 1 в новое состояние 2 состоит из двух фаз: медленного движения изображающей точки до сепаратрисы при смещении изоклин и быстрого скачка от сепаратрисы до устойчивого состояния 2. В популярных книгах по теории катастроф изображающую точку представляют лыжником, движущимся по пологому склону к обрыву. Сорвавшись с него (скачок), лыжник продолжает движение по другому пологому склону, но в другом состоянии (даже лежа). Этот процесс называется катастрофой типа "складки". Термин "складка" возник из объемных (трехмерных) представлений о движении системы (рис. I4). На этом же рисунке показан переход IMN типа "сборки" – через критическую точку (без скачка).

Сопоставляя силовое и параметрическое переключения, можно сделать ряд замечаний. При параметрическом переключении прямой и обратный пути не совпадают, т.е. наблюдается эффект гистерезиса. Это положение справедливо и для силового переключения. В послед-



**Рис. 14.** Переходы системы из одного состояния в другое в трехмерных координатах.

Катастрофа типа "складки": движение лыжника по верхнему склону (состояние 1) - жесткий скачок - движение по нижнему склону (состояние 2).

Катастрофа типа "сборки": мягкий переход по линии  $IMN$  из состояния 1 в 2, где  $M$  - точка перехода типа сборки

нем случае это и не удивительно: прямой и обратный пути не должны совпадать, поскольку различны силы воздействия. Для прямого перехода в систему добавили, например, вещество  $X$ , а для обратного надо добавить (или уменьшить) вещество  $Y$ .

Вид фазового портрета, в частности, положения изоклин, зависит от параметров системы ( $I8$ ), т.е. от внешних и внутренних условий. Поскольку сдвиг изоклины можно осуществить за счет различных внешних факторов, то параметрическое переключение системы из одного состояния в другое можно в отличие от силового (специфического) назвать *неспецифическим*. Различные факторы приводят к одному и тому же результату - переходу системы во второе состояние, и не важно, какой фактор действовал. На биологическом языке это означает, что при определенной напряженности внешнего фактора его природа не играет принципиальной роли. Фактор выступает лишь как средство для проявления внутренней динамической структуры



живой системы.

Если при смещении изоклин главная изображающая точка остается в области притяжения исходного аттрактора 1 (неспецифическое переключение не происходит), то это действие факторов нельзя считать специфическим. Поскольку направление сдвига изображающей точки может зависеть от природы действующего фактора (на какую из изоклин он действует или на обе вместе), такое изменение стационарного состояния скорее следует считать специфическим.

Иными словами, деление факторов на специфические и неспецифические с точки зрения их действия на биологическую систему достаточно условно. Один и тот же фактор может оказывать на систему как специфическое, так и неспецифическое действие.

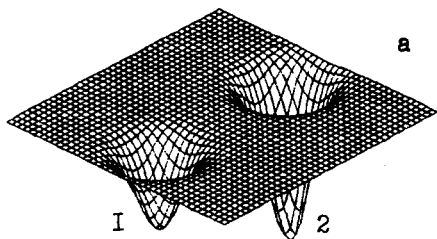
Подчеркнем также, что для силового (специфического) переключения относительное изменение амплитуды воздействия должно быть больше, чем в случае параметрического (неспецифического) переключения. Силовое переключение вызывается импульсным воздействием ("концентрационный удар"), а параметрическое происходит в более мягких условиях. С точки зрения поведения биологической системы параметрическое переключение, по-видимому, более удобно и целесообразно.

Ранее при обсуждении параметрического переключения модели, содержащей одну переменную, мы наряду с геометрическим использовали "потенциальный" подход. Приведем механическую аналогию и для модели, содержащей две переменных.<sup>1</sup>

Естественно, что в данном случае речь должна идти о движении шарика не по линии, а по плоскости X, Y. Потенциал является третьей осью координат. На рис. 15 изображен "потенциальный" рельеф с двумя лунками (устойчивыми стационарными состояниями системы - "узлами"). Седловой точке соответствует максимум потенциала. Шарик исходно помещен в лунку 1. Это означает, что биологическая система находится в устойчивом состоянии 1.

Силовому (специфическому) переключению соответствует процесс, в котором некто, например, с помощью щипцов переносит шарик из ямки 1 в ямку 2. Воздействие оказывается только на шарик. При

<sup>1</sup> Подчеркнем, что это можно сделать лишь для моделей определенного класса (но не в общем случае). Например, модели, содержащие стационарные состояния типа фокуса и предельного цикла, в квазипотенциальной форме представить невозможно.



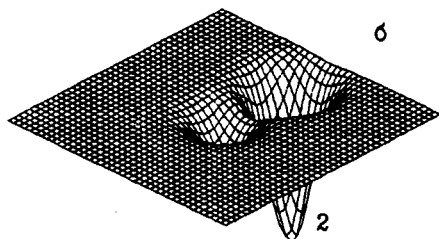
а

Рис. 15. "Потенциальный" профиль системы дифференциальных уравнений  
 $dX/dt = P(X,Y)$   
 $dY/dt = Q(X,Y)$ .

Ямки - стационарные состояния системы:

а. исходное состояние - шарик находится в ямке 1.

б. ямка 1 при изменении параметров сместилась



б

этом, естественно, "потенциальный" профиль плоскости не изменяется. Если варьировать параметры системы, то это отразится на глубине ямок и

крутизне их склонов, взаимном расположении ямок на поверхности  $XU$  и величине барьеров между ними (рис. 15, б).

Очевидно, что миграция ямки может происходить в разных направлениях, которые определяются характером действующего фактора. Поэтому смещение лунки можно считать специфическим процессом. Пока воздействие не превысит некоторую критическую величину и не произойдет аннигиляция (исчезновение) ямки 1 и максимума потенциала (седла), система будет оставаться в состоянии 1. Район миграции ямки, где исходное состояние системы сохраняется, можно уподобить толерантной зоне жизнедеятельности организма (клетки). В этой области измененный метаболизм клетки быстро восстанавливается после нормализации внешних условий, т.к. гомеостатический режим не нарушается, переключения системы не происходит.

Если же смещение параметров так изменит глубину лунки 1 или барьер между ней и лункой 2, что состояние 1 станет неустойчивым (нарушится гомеостаз), тогда шарик сам перекатится в новое состояние 2. Ясно, что переход совершается по определенному пути, "оврагу" - линии наименьших градиентов. Эта линия, вообще говоря, не обязательно совпадает с прямой, соединяющей ямки. При возвращении параметров к исходным значениям шарик будет оставаться в

лунке 2. И только тогда, когда параметры изменятся таким образом, что лунка 2 "станет" неустойчивым состоянием, шарик сам перейдет в лунку 1.

Таким образом, картина перехода системы из одного стационарного устойчивого состояния в другое не зависит от метода описания. Основные закономерности переходов одни и те же.

### Вариабельность

Рассмотрим теперь, как происходит переход (переключение) системы из одного стационарного состояния в другое, если она представлена не одним объектом, а группой. Это важно в тех случаях, когда не все черты процесса переключения системы могут быть поняты при исследовании свойств отдельных объектов, например, клеток. Из-за существенного влияния клеток друг на друга при моделировании необходимо рассматривать одновременно их ансамбль.

Хорошо известно, что во всякой группе родственных биологических объектов составляющие ее особи отличаются друг от друга. Различия эти иногда очень велики, иногда почти незаметны, но они всегда имеются. Одинаковые значения признака могут встречаться чаще или реже. Обычно бывает одна группа значений, которая проявляется заметно чаще других.

Изобразить распределение признака можно различными способами: гистограммой, вариационной кривой и т.д. Для этого по оси абсцисс откладывают числовые значения признака  $X$  (по интервалам  $\Delta X$ ). По оси ординат указывают число особей (или их долю от общего числа), которые характеризуются значением признака в данном интервале. Пример распределения клеток водорослей по размерам приведен на рис. 16. По горизонтальной оси отложен размер клеток водорослей  $X$ . В каждый интервал (0,5 мкм) включены клетки, величина которых варьирует

от 0,8 до 1,25 мкм

от 1,3 до 1,75

от 1,8 до 2,25

от 2,3 до 2,75 мкм и т.д.

На вертикальной оси отложена доля от общего числа клеток водорослей ( $\Delta N/N$ ), имеющих такой размер.

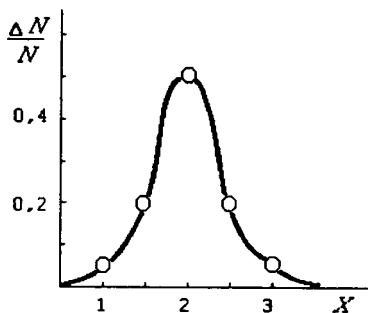


Рис. 16. Распределение клеток  
вдорослей по размерам.

По оси абсцисс размер клеток в  
микронах, по оси ординат - доля  
клеток соответствующего размера

Наиболее часто характеристики  
биологических объектов имеют нор-  
мальное распределение Гаусса, би-  
номальное распределение и рас-  
пределение редких событий Пуассо-

на. Количество максимумов в распределении определяет его модаль-  
ность: один максимум - *уни*модальное распределение, два - *би*мо-  
дальное, три и более - *мульти*модальное.

В большинстве случаев, с которыми приходится встречаться  
биологу, проявляется закономерность: крайние значения появляются  
редко, а чем ближе значение к среднему арифметическому, тем они  
попадают чаще, поэтому такое распределение получило название  
*нормального* распределения Гаусса. Его можно представить следующей  
формулой

$$\frac{\Delta N}{N} = \frac{1}{\sigma} e^{-\frac{(X - \bar{X})^2}{\sigma^2}},$$

где N - число объектов,  $\sigma$  - среднее квадратичное отклонение,  
определяемое как

$$\sigma^2 = \frac{\sum (X - \bar{X})^2}{n - 1},$$

X и  $\bar{X}$  - случайное и среднее значения измеряемого признака.

Таким образом, характеристиками группы особей являются: сред-  
нее значение признака в группе  $\bar{X}$ , среднее квадратичное отклоне-  
ние  $\sigma$  и дисперсия D (или полуширина распределения).

Однако для сопоставления различных групп между собой по сте-  
пени однородности такие характеристики как  $\sigma$  и D можно использо-  
вать только в том случае, когда средние значения отличаются между  
собой незначительно. Если различия в средних велики, то лучше  
использовать относительные характеристики - относительную диспер-

сию или коэффициент вариации  $\sigma/\bar{X}$  (его иногда называют *вариабельностью*). Например, при сопоставлении между собой двух групп, которые характеризуются значениями  $10 \pm 5$  и  $100 \pm 20$ , несмотря на то, что  $\sigma_2 > \sigma_1$ , вторая группа является более однородной, поскольку  $(\sigma_1/\bar{X}_1) > (\sigma_2/\bar{X}_2)$ ,  $0,5 > 0,2$ .

Различия между объектами в группе - результат проявления случайных (стохастических) процессов. Вопрос о том, как возникают случайные процессы - один из центральных в современной науке. Сейчас уже доказано, что хаотические (случайные) явления могут наблюдаться даже в замкнутой системе, если процессы внутри нее неустойчивы из-за *внутреннего динамического шума*. В открытой системе, взаимодействующей со средой, хаос может возникнуть в результате случайных внешних воздействий (*внешних шумов*). В обоих случаях система может в той или иной степени либо усиливать шумы, либо подавлять их.

Ранее мы рассматривали процессы перехода системы из одного стационарного устойчивого состояния в другое без учета внешних или внутренних шумов. При этом использовали простейшую модель, в которой анализировали движение шарика в "потенциальном" поле, содержащем несколько ямок (по крайней мере две). Это позволяло представить процесс в наглядной форме и качественно исследовать его не прибегая к громоздким вычислениям.

При наличии случайных воздействий (шума) движение шарика в ямке напоминает поведение броуновской частицы. Последняя, как известно, перемещается скачкообразно, а частота скачков и их величина зависят от температуры. В нашем случае роль температуры играет величина случайных возмущений. Благодаря этому шарик может с определенной степенью вероятности перескочить барьер  $\Delta U$  и перейти в соседнюю лунку до того, как барьер исчезнет, т.е. до бифуркации. С другой стороны, благодаря тому же шуму шарик может вернуться в исходное состояние. Вероятность того и другого процессов зависит от величины случайного воздействия, высоты барьера и разницы глубин ямок. Частота этих событий обычно мала.

Рассмотрим систему, состоящую из ансамбля (группы) близких по характеристикам объектов. На языке математической модели (ее механической аналогии) это означает, что в ямке находится множество беспорядочно движущихся шариков и каждый из них может переж-

ти из одной ямки в другую.

Пусть в начальный момент все шарики находятся в ямке 1. Распределение числа шариков по координате имеет один максимум и является нормальным. Дисперсия распределения зависит от кривизны ямки. Если ямка пологая - дисперсия велика, если крутая - мала. Обозначим эту дисперсию  $D_1$ . После перехода всех шариков в ямку 2 (конечное состояние) дисперсия их распределения будет  $D_2$ . Если барьер между состояниями 1 и 2 уменьшится, то распределение между этими состояниями станет размытым. Дисперсия увеличится - возникнет "хаос". Когда все шарики перейдут в состояние 2 (ямку 2), распределение сделается более узким, дисперсия опять уменьшится, из "хаоса" вновь возникнет порядок. Поскольку средние значения переменной в состояниях 1 и 2, соответственно  $\bar{X}_1$  и  $\bar{X}_2$ , различаются и как правило значительно, то для характеристики степени однородности системы лучше использовать относительную дисперсию, или вариабельность. Как и дисперсия, в момент исхода шариков она возрастает значительно и вновь уменьшается после достижения конечного пункта - ямки 2.

Изменение вариабельности зависит от величины внешнего воздействия и его длительности. Рассмотрим различные случаи: действие постоянного не очень сильного фактора, градуально нарастающее воздействие и ситуацию, когда внешний фактор включается на определенное время, а затем выключается.

В начальный момент заселено состояние 1. Это значит, что все шарики расположены в ямке 1. Распределение нормальное, вариабельность в данном случае принимаем за единицу. При появлении не очень сильного, но постоянно действующего фактора, изменятся глубина и крутизна склонов ямки 1. Ямка станет более пологой, что приведет к увеличению дисперсии и вариабельности распределения. Если величина фактора такова, что барьер между состояниями все же остается достаточно высоким, перехода шариков в другую ямку не произойдет. И сколь бы долго ни действовал этот фактор, основным результатом будет только увеличение дисперсии и вариабельности распределения.

Если при действии нарастающего внешнего фактора барьер между состояниями уменьшается настолько, что все шарики перекачиваются в ямку 2, то в этот момент распределение также резко расширится. Оно захватит область состояний 1 и 2. После перехода шариков в

ямку 2 размытость распределения уменьшится, вариабельность упадет.

Если фактор влияет главным образом на глубину ямок, то в некоторый момент распределение может стать "двугорбым" (бимодальным), при этом дисперсия тоже будет максимальной. Если же фактор влияет на барьер между состояниями 1 и 2, то распределение, будучи унимодальным до и после перехода, при переключении сильно расширится, но все же останется унимодальным; дисперсия и вариабельность при этом возрастут.

При временном включении внешнего фактора нужно различать два случая. Величина действующего фактора такова, что перехода в новое состояние не происходит. При этом возрастают дисперсия распределения и вариабельность, которые довольно быстро возвращаются в норму после удаления фактора, так как восстанавливаются все параметры системы.

Если наблюдается переключение системы в состояние 2, то этот случай аналогичен переходу с увеличением дисперсии распределения и вариабельности. После переключения вся система остается в состоянии 2, поскольку для ее возвращения в состояние 1 необходимо дополнительное деформирующее ямку 2 воздействие.

Таким образом, анализ закономерностей перехода ансамбля частиц из одного устойчивого стационарного состояния в другое показывает, что процесс сопровождается ростом вариабельности свойств элементов системы. Во время переключения характерный для исходного устойчивого состояния "порядок" в системе нарушается и она хаотизируется. После перехода в новое состояние "порядок" в системе восстанавливается. Система становится вариабельной (квазистохастическое поведение), когда ее параметры приближаются к бифуркационным значениям. В бифуркационной области возрастает чувствительность системы к внешним случайным воздействиям. Причем сама система может усиливать внешние шумы. Иными словами, стохастические свойства у системы возникают тогда, когда ее состояние становится неустойчивым, и исчезают, когда она переходит в устойчивое состояние.

С биологической точки зрения увеличение вариабельности как следствие потери устойчивости - необходимое условие развития системы (гомеорезиса). Вариабельность уменьшается после прохождения этапа усложнения и наступления периода закрепления нового свой-

ства системы.

Отметим, что термины устойчивость и неустойчивость здесь были использованы не в физиологическом, а в математическом понимании. В биологической системе рост вариабельности должен сочетаться с повышением чувствительности к возмущающим воздействиям.

В заключение обсудим вопрос о методах определения вариабельности в случае, когда исследуется популяция живых организмов. При этом, строго говоря, следовало бы измерить свойства каждого организма, затем определить средние величины и дисперсию. Однако это не всегда удается. Часто непосредственно измеряемая величина уже является усредненной по большому числу ( $n > 10^3-10^4$ ) живых объектов. Для определения дисперсии измерения повторяют несколько раз и вычисляют дисперсию средних величин. Она, конечно, отличается от дисперсии свойств самих объектов (т.е. она существенно меньше). Однако направленность изменения этой дисперсии при переходах популяции в другое состояние та же, что и поведение "истинной" дисперсии. Кроме того, сама величина "дисперсии средних" дает дополнительную информацию о свойствах популяции. Обсудим это подробнее.

Пусть непосредственное измерение дает уже усредненную по большому числу ( $n=10^4$ ) объектов величину. Если все объекты ведут себя независимо друг от друга, то повторное измерение должно совпасть с предыдущим с относительной точностью  $1/n = 10^{-2}$  (т.е. порядка 1 %). При таком малом разбросе определить дисперсию и ее свойства практически невозможно. Однако часто оказывается, что отличия в повторных измерениях существенно больше приведенной оценки. Последнее свидетельствует о том, что живые организмы в популяции ведут себя во времени и пространстве не независимо. Это довольно естественно, поскольку живые объекты в популяции, как правило, "чувствуют" друг друга. Клеточную популяцию можно рассматривать как определенное единство, в котором межклеточные взаимодействия играют фундаментальную роль. Клеточно-популяционный гомеостаз поддерживается посредством "гормональных" контактов. Например, водоросли могут выделять в среду до половины синтезируемого ими органического вещества. Участие последнего в самоорганизации популяции несомненно.

Возникает вопрос, какова мера зависимости особей в популяции, каков размер (численность) той субпопуляции, внутри которой



поведение организмов необходимо считать взаимозависимым и кооперативным. Ясно, что в очень большой популяции отдельные ее части практически независимы. Ответ на вопрос о размерах области кооперативности (взаимозависимости) можно получить, измеряя дисперсию средних значений выбранного показателя. Для этого оценивают среднее значение показателя для нескольких независимых больших популяций и вычисляют дисперсию средних ("независимость" означает, что каждая из популяций наверняка содержит несколько кооперативных субпопуляций).

Далее процедуру повторяют, уменьшив размер популяции; при этом дисперсия увеличивается. Такие же измерения проводят, постепенно уменьшая объем популяции. В результате находят такую, у которой дисперсия уже не возрастает. Эту популяцию считают кооперативной. Измеренную при этом дисперсию можно считать уже не дисперсией средних, а истинной дисперсией свойств независимых объектов. Под объектом при этом следует понимать не отдельный организм, а коллектив организмов (кооперативную субпопуляцию), ведущих себя согласованно и взаимозависимо.

Реально столь сложный анализ никто не проводит, но довольствуются измерением дисперсии больших популяций. Как упоминалось выше, этого достаточно, если речь идет об установлении самого факта перехода популяции в другое состояние или даже приближения к критической ситуации.

В следующей главе рассмотрим применение математических представлений к конкретным физиологическим ситуациям.

### Глава III. РОЛЬ ТРИГГЕРНОГО МЕХАНИЗМА В РЕАКЦИИ КЛЕТКИ НА ЭКСТРЕМАЛЬНЫЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ

Цель этой главы - обсудить важность математических идей и подходов для разработки проблемы устойчивости и адаптации живой системы к колебаниям условий окружающей среды. Конечно, математические модели не могут полно передать поведение сложных биологических систем, но они помогают анализу их динамических свойств и исследованию путей интегрирования во времени и пространстве молекулярных и мембранных процессов в клетке до уровня физиологических функций.

Ниже рассмотрим некоторые общие закономерности реагирования растительной клетки на экстремальные воздействия, используя термины и понятия теории нелинейных динамических систем (качественной теории дифференциальных уравнений).

#### Гомеостаз и стресс - устойчивые стационарные состояния клетки

Из кинетических моделей биологических процессов следует, что живые объекты могут находиться в нескольких различных стационарных состояниях при одних и тех же значениях параметров системы. Это свойство систем называют мультистационарностью. Стационарное состояние может быть устойчивым и неустойчивым. Устойчивая при небольших отклонениях от равновесия система может потерять это свойство, если отклонение слишком велико. Множественность стационарных состояний обеспечивает важную особенность биологических систем - возможность работать в триггерном режиме, т.е. переходить (переключаться) из одного устойчивого стационарного состояния в другое. Триггерные свойства биосистем реализуются в известном принципе "все или ничего", проявляющемся при возбуждении нервного волокна, ряде мембранных процессов, при клеточной дифференциации, при включении и выключении генов и т. д.

Переход биологической системы из одного устойчивого состояния в другое (переключение, "катастрофа") происходит через неустойчивое стационарное состояние. Его нельзя избежать и природа с успехом использует это явление. Без неустойчивости невозможны перестройка структуры системы, возникновение нового состояния, развитие (эволюция) системы. И, наконец, в мультистационарных системах наблюдается гистерезис. Динамическая система *помнит* о своем прежнем состоянии, и потому характер ее перехода в новое зависит от того, в каком направлении изменяются внешние условия.

В физиологии сложилось определенное понимание стационарного состояния и его роли в устойчивости организма и клетки. Растительные системы являются открытыми. Сети и цепи реакций в клетке поддерживаются в стационарном состоянии благодаря балансу превращений и переносу веществ между внутренней и внешней средами. Число стационарных состояний считается неограниченным и зависит от внутренних свойств системы (концентрации компонентов, скорости реакций, константы диффузии) и внешних условий (температура, осмотическое давление и др.). Изменение условий стационарного состояния ведет к перераспределению кинетических и диффузионных характеристик клетки и установлению нового состояния. Переход между стационарными состояниями может быть плавным, например, экспоненциальным, или происходить через максимум или минимум (кривые с "избыточным отклонением" или "ложным стартом").

При изменении условий стационарности в системе развиваются процессы, направленные на ее сохранение. Это осуществляется за счет обратных связей (динамическая аутостабилизация). При сильном воздействии сначала теряется способность к аутостабилизации стационарного состояния, а затем и к его поддержанию вообще.

Реальным выражением этих формальных положений является давно поражавшая биологов особенность живых существ сохранять постоянство внутренней среды. В.Кэннон назвал это свойство *гомеостазом*. Сначала термин относился только к организмам, так как В.Кэннон отрицал существование гомеостаза в отдельных клетках. Позже идея клеточного, или протоплазматического, гомеостаза была сформулирована Л.Гейльбруном. Исходно под гомеостазом понимали

стремление организма или клетки в разных условиях поддерживать в довольно узком интервале колебания обменных процессов. Сейчас это понятие наполняют более широким смыслом. Гомеостаз считают основой фенотипической адаптации живой системы. Его рассматривают как частное проявление фундаментального свойства биосистем – надежности. Говорят о гомеостазе у популяции, подразумевая контроль соотношения между хищниками и жертвами. Выражением "генетический гомеостаз" обозначают устойчивость популяции к изменению ее генетического состава. ДНК-гомеостазом считают регулируемое равновесие между процессами возникновения спонтанных повреждений ДНК и их репарацией.

По уровню гомеостаза предлагают судить о потенциальной устойчивости организма и клетки. Поэтому малость отклонения в живой системе по сравнению с величиной воздействия его вызывающего должна свидетельствовать о большей устойчивости системы (Левич, 1976). По нашему мнению, в последнем случае правильнее было бы говорить не об устойчивости живой системы, а о ее "робастности" (robust), т.е. об устойчивости к возмущениям. Явление *биологической устойчивости* много сложнее понятия стабильности гомеостатического состояния. Например, "реакция сверхчувствительности" – важный компонент устойчивости у растения, обеспечивает его выживаемость именно из-за высокой реактивности клеток организма к внешнему воздействию.

Для биолога устойчивость – во многом интуитивное понятие, за которым скрывается способность организма или популяции сохранить жизнеспособность в изменяющихся условиях обитания. Уровень устойчивости непостоянен. Он изменяется под влиянием внешних факторов, например, может повышаться в результате закалки. Устойчивость варьирует в течение онтогенеза: низкая в период прорастания семян, она повышается при заложении у растения вегетативных органов и падает при формировании генеративных (минимальна при спорогенезе). Максимально устойчив организм в состоянии *анабиоза*.

Определение устойчивости по числу погибших организмов в большей степени характеризует состав популяции, чем устойчивость "средней особи". Использование продуктивности популяции в качестве показателя сопротивляемости организма неблагоприятным усло-

виям тоже проблематично. Урожай - не есть сумма продуктивностей отдельных особей, а представляет результат их сложного взаимодействия на всех этапах онтогенеза. В течение всего вегетационного периода из-за конкуренции между особями и самоизреживания состав популяции меняется. Правда, в культурных посевах, где растения выровнены по генотипу и фенотипу, свойства природных популяций влияют на урожай в меньшей степени. Как и в лабораторном опыте, где отобраны "типичные" организмы, в этом случае с большей определенностью можно говорить о "средней устойчивости" особи.

Оценку устойчивости клеток в культуре или популяции микроводорослей осложняет процесс репопуляции. В результате дозы воздействия, приводящие к гибели отдельных клеток, оказываются меньше доз, летальных для популяции.

Сложный характер устойчивости проявляется в варьировании результатов измерений в зависимости от характера воздействия (внезапное, пролонгированное, хроническое) и условий наблюдения за поведением организма после удаления возмущающего фактора. Если производят интенсивное кратковременное воздействие (например, нагрев) с регистрацией эффекта сразу после него, то определяемую устойчивость называют *первичной*, так как контролируют нарушения компонентов клетки, в судьбе которых не участвуют восстановительные процессы (Александров, 1975). В случае измерения устойчивости в длительном эксперименте, результат которого зависит от развития и ликвидации повреждения, ее считают *общей*. При игнорировании различий между "первичной" и "общей" устойчивостью возможно получение противоречивых выводов.

Нельзя не упомянуть мнение, согласно которому считается, что если при резкой смене условий возникают повреждения, отсутствующие при постепенном достижении того же уровня воздействия, то повреждение вызвано не самим изменением условий, а скоростью нарастания воздействия. Для проверки, вызвано ли нарушение новой средой или скоростью ее изменения, организм немедленно возвращают в исходные условия. Э.С.Бауэр (1935) полагал, что ответы на скорость изменения окружающей среды и длительное воздействие являются независимыми друг от друга процессами. К этой проблеме он подходил с позиций своей теории *устойчивого неравновесия* живой

протоплазмы. "Неравновесность", по его мнению, поддерживается в стационарном состоянии за счет подпитки системы *структурной энергией*, вырабатываемой в процессе метаболизма клетки. Постоянное воздействие только смещает "неравновесное" состояние протоплазмы, не нарушая его. В этом случае нового состояния протоплазмы, соответствующего изменившейся среде, не возникает. Это и есть процесс адаптации. Истощение сил, поддерживающих "неравновесность", соответствует пределу адаптации. Напротив, при аккордном воздействии "неравновесное" состояние не сдвигается, а нарушается, так как отказывают силы его поддерживающие. Иными словами, важным фактором, от которого зависит измеренный уровень биологической устойчивости, является *время*, и, следовательно, не только доза воздействия, но и его *мощность*.

Для определения устойчивости в ряде случаев в соответствии с рекомендуемыми методическими разработками регистрируют не отдаленные последствия воздействия (выживаемость, урожай), а величину и характер быстрого отклика растительного организма. Насколько изменения контролируемых параметров отражают чувствительность объекта к действующему фактору или же они - следствие повреждения исследуемой системы, решить не всегда просто.

Между чувствительностью, характеризуемой величиной физиологического порога, ниже которого растение не реагирует на воздействие, и устойчивостью организма - свойством сохранять жизнеспособность при более значительном изменении условий среды, существует взаимосвязь. Однако пропорциональность между этими характеристиками совсем не очевидна. Непременно надо иметь основания говорить о том, что неустойчивый к данному фактору организм является и высоко чувствительным к нему.

Еще раз обращаем внимание на принципиально трудное разделение физиологических и патологических процессов в живой системе. И те, и другие - лишь проявление ее биологической сущности. Поврежденную клетку можно считать качественно не отличающейся от здоровой, полагая болезненные симптомы теми же физиологическими свойствами, видоизмененными в своей интенсивности. В этом случае повреждающий фактор (как причина появления изменений в клетке) - это всего навсего индуктор превращения возможного в действительное. И потому вопрос о том, какие изменения вредные (патологи-

ческие), а какие полезные (защитно-приспособительные), является предметом вечной дискуссии о сущности болезни живой системы.

Положим, как надо относиться к активации свободнорадикальных реакций в клетке, сопровождаемых перекисным окислением липидов биомембран? Процесс вызывает различные грубые воздействия, и потому его можно считать патологическим. Однако в это время идет разборка поврежденных мембран, что полезно для клетки. Или явление выцветания хлорофилла листа на ярком свете – это хорошо или плохо? Разрушение фотосинтетического аппарата можно посчитать патологическим процессом, но в тоже время это приспособительный акт. В результате снижения количества пигмента уменьшается опасное для клетки избыточное поглощение световой энергии.

Устойчивость клетки принято оценивать по степени ее повреждения, т.е. уровню развития патологического процесса. Глубину последнего трудно охарактеризовать изменением отдельных реакций. Ни одну из них в клетке в отдельности нельзя считать патологической (качественно новой). И только изменение в соотношении различных процессов может в определенной степени отражать уровень нарушения метаболизма. Причем предварительно необходимо договориться, какое изменение в соотношении процессов (и почему) можно считать признаком патологии.

Итак, биологическое понятие гомеостаза можно уподобить устойчивому стационарному состоянию живой системы. Из этого положения вытекают два следствия. Во-первых, нарушение гомеостаза нельзя принимать за критерий устойчивости живой клетки, так как это лишь условие и момент ее перехода в новое устойчивое состояние (стресс). Во-вторых, определение устойчивости системы в математике далеко не равнозначно понятию биологической устойчивости. Последнюю физиолог ассоциирует с развитием в живой системе целого комплекса защитно-приспособительных реакций. В математике критерием устойчивости системы является ее поведение при малом отклонении от равновесия, что более соответствует представлению о чувствительности биологического объекта.

В соответствии с динамической моделью биологической системы гомеостатический режим клетки является одним из ее дискретных устойчивых стационарных состояний (см. рис. 12). На фазовой плоскости это состояние изображается устойчивой точкой типа узла

(аттрактор). Область плоскости, в которой изображающая точка может перемещаться под влиянием зависящих от внешних условий управляющих параметров системы, можно уподобить толерантной зоне жизнедеятельности клетки. Здесь стационарное состояние остается устойчивым (относительная чувствительность сохраняется) за счет работы регуляторных ферментативных механизмов.

Механической моделью гомеостаза может служить шарик на дне "потенциальной" ямки (см. рис. 15). Глубина и форма ямки характеризуют устойчивость модельной системы. Она тем выше, чем глубже ямка и круче ее склоны. Это соответствует высокой робастности и малой чувствительности биологического объекта. Толерантная зона представляет некоторую область плоскости, в которой ямка под влиянием внешних условий может мигрировать. Гомеостаз системы в этой зоне сохраняется.

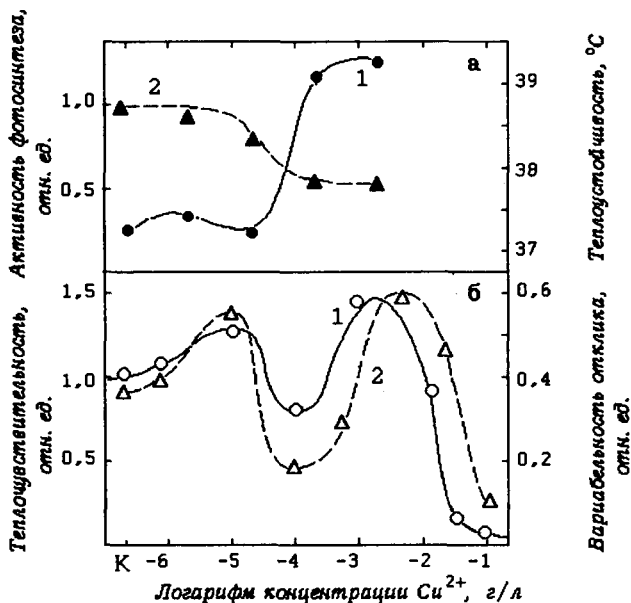
При переключении (переходе) системы в новое устойчивое состояние она должна подойти к области неустойчивости (седловая точка в пространстве переменных или бифуркационная точка в пространстве параметров). Здесь поведение системы делается нерегулярным (стохастичным) и небольшие случайные флуктуации условий (шумы) фатально изменяют ее состояние. Поэтому переход клетки в новое устойчивое состояние (стресс) возможен лишь при ее отклонении от исходного состояния (гомеостаза) до границы толерантной области, где последний нарушается. В результате должна возрасти чувствительность клетки к различным воздействиям. Кроме того, как следствие влияния малых неконтролируемых возмущений (шумов) следует ожидать рост вариабельности свойств клетки.

Эти особенности поведения биологической системы на границе толерантной области нуждаются в экспериментальной проверке. Их наблюдение может служить доказательством перехода клетки в новое дискретное устойчивое стационарное состояние - стресс. Экспериментальная проверка состоит в измерении величины отклика физиологически значимого показателя на постоянную тестирующую нагрузку во время нарастания внешнего воздействия на клетку. Величина тест-нагрузки не должна выходить за границу толерантной области, чтобы возникающие изменения контролируемого показателя быстро восстанавливались после прекращения тестового воздействия.

Мы исследовали действие ионов меди в токсических концентра-



циях на микроводоросль *Dunaliella salina* и одноклеточный организм *Tetrahymena pyriformis* (Веселова и др., 1990). Критерием физиологической активности клеток служила их подвижность. Среднюю по ансамблю скорость движения клеток определяли методом лазерно-доплеровской спектроскопии. Тестирующей нагрузкой служил резкий подъем температуры на  $6-8^{\circ}$ . Наблюдаемое при этом изменение подвижности клеток характеризовало их чувствительность, а за вариabельность отклика принимали величину относительного среднеквадратичного отклонения из 7-10 измерений.



**Рис. 17.** Влияние ионов меди в разной концентрации на а - термостабильность (1) и фотохимическую активность (2) фотосинтетического аппарата клеток дуналиеллы; б - чувствительность процесса подвижности клеток дуналиеллы к нагреву от  $22$  до  $28^{\circ}$  (1) и вариabельность ответа на это воздействие (2); К - контроль

При инкубации водорослей в течение 3-5 часов в среде с  $1 \cdot 10^{-4}$  г/л  $\text{Cu}^{2+}$ , судя по прижизненным характеристикам замедленной люминесценции хлорофилла а, клетки скачком увеличивали свою теплоустойчивость на  $2,5^{\circ}$ , а их фотосинтетическая активность снижалась наполовину. Клетки переставали делиться, изменялся характер движения, т.е. налицо были признаки перехода их в состояние стресса (рис. 17). Фазные изменения теплочувствительности и вариабельности у клеток подтверждают это. Обе характеристики возрастали накануне перехода (бифуркационная область) клеток в состояние стресса и уменьшались ниже исходных после завершения этого процесса. При "бифуркационных" дозах было отмечено ускорение деления клеток и увеличение их подвижности.

Поведение клеток при концентрациях ионов меди выше "стрессовых" сначала (временно) напоминало состояние стрессированных клеток, а затем они погибали и опускались на дно культиватора. На терминальной стадии жизни чувствительность к температурному фактору и вариабельность этой характеристики у водорослей вновь возрастали и затем падали по мере отмирания клеток.

Аналогичные фазные изменения в характере движения, чувствительности, устойчивости и вариабельности в ответ на интоксикацию среды ионами меди были обнаружены у одноклеточного организма тетрахимена (рис. 18). Переход между состояниями в данных опытах наблюдали при концентрации токсиканта почти на порядок выше, чем в случае водоросли. Вероятно это было связано с меньшим временем экспонирования клеток в токсиканте (1-1,5 часа) или с большей его устойчивостью к ионам меди. Однако закономерности изменения анализируемых характеристик носили такой же характер, как и у водоросли: чувствительность и вариабельность падали ниже исходных значений в стрессе и возрастали в переходные периоды между состояниями.

Для оценки устойчивости клеток тетрахимены определяли время до прекращения их движения под влиянием постоянного нагрева при  $38^{\circ}$  или действии токсических количеств  $\text{H}_2\text{O}_2$  (1,8 мм). В состоянии стресса клетки при высокой температуре и в присутствии  $\text{H}_2\text{O}_2$  сохраняли подвижность заметно дольше, чем в контроле (рис. 19), что указывало на возрастание устойчивости этой функции. В тоже время в переходных фазах, когда чувствительность к температурно-

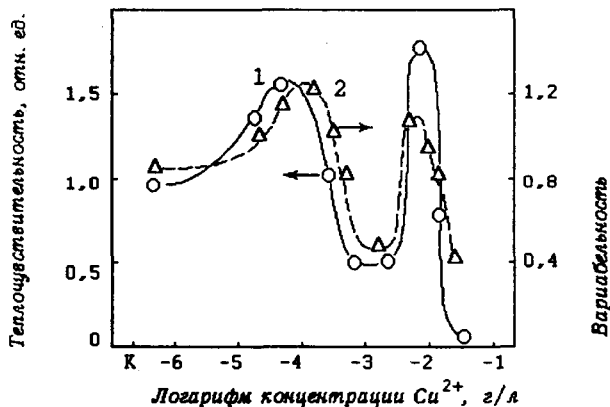


Рис. 18. Влияние ионов меди в разной концентрации на чувствительность процесса движения клеток тетрахимены к нагреву от 20 до 28° (1) и вариабельность ответа на этот нагрев (2); К - контроль

му фактору возрастала, происходило снижение их устойчивости как к нагреву, так и к окислителю и уменьшалось время сохранения движения.

Добавим, что анализируя данные других исследователей (Джамусова, 1965; Бычковская, 1970; Sisson, Caldwell, 1977; и др.), которые наблюдали изменения свойств живых объектов в ответ на возрастающую дозу воздействия, мы обнаружили, что, как и в наших опытах, существует теоретически предсказанное фазное изменение вариабельности признаков.

Описанные факты являются важным аргументом в пользу нашей версии о том, что при определенном уровне воздействия клетка переходит в состояние, отличающееся повышенной резистентностью (стресс). Если бы при нарушении гомеостаза клетка не имела шанса переключиться в более устойчивое состояние, то она бы погибла. При стрессе открываются дополнительные возможности для развития адаптационного процесса, активируются механизмы защиты, появляется время для реализации достаточно медленных предшествующих

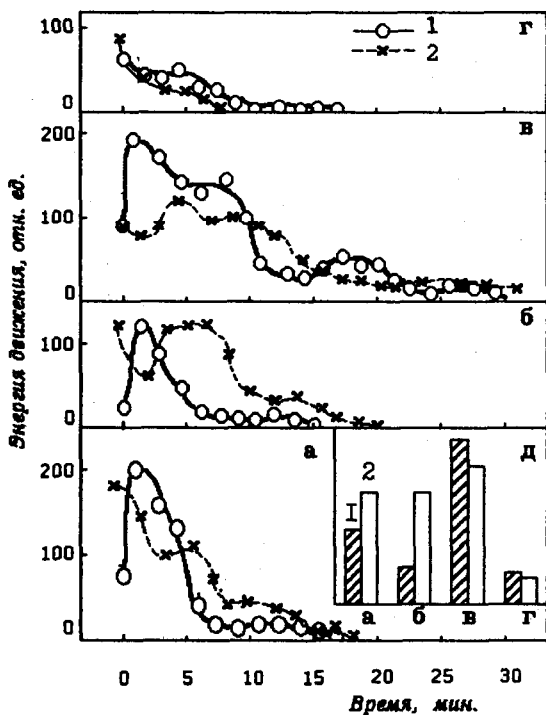


Рис. 19. Изменение "энергии" движения при тепловом "шоке" (нагрев от 20 до 38°) (1) и добавлении в среду  $H_2O_2$  (2) у клеток тетрахимены предварительно обработанными солями меди в концентрациях 0,03 (Б), 1,2 (В) и 5 (Г) мг/л; А - контроль. На гистограмме (Д) приведены относительные величины сумм под кинетическими кривыми 1 и 2 на рис. А, Б, В и Г (спящих) программ генома.

Результаты проведенного опыта показывают, что у такой сложной системы, какой является клетка, переменность признаков характерна не только для ее переходного состояния. Реальные системы обладают некоторой степенью неустойчивости при любых условиях существования. Это означает, что устойчивое стационарное состояние сложной системы на фазовом портрете должна отображать не точка, а некоторая область, в которой эта точка совершает хаотическое движение. В потенциальной модели положение шарика в ямке, передающее состояние системы, тоже должно быть "размыто".

Причины хаотичности нуждаются в пояснении. Их две - воздействие на систему внешних и внутренних шумов. Внешние случайные флуктуации окружающей среды могут хаотизировать поведение клетки. По мере ее приближения к границе толерантной зоны (бифурка-

ционной области) "потенциальный" профиль состояния клетки изменяется, ямка делается мельче, шире и становится похожей на блюдечко. Теперь внешним шумам легче "раскачать" систему. Максимум флуктуаций в системе приходится на момент бифуркации, когда дно ямки по высоте сравнивается с хребтом (см. рис. 9).

Внутренней причиной хаотизации поведения клетки, видимо, является неустойчивость биохимических процессов вследствие асинхронности функционирования отдельных частей клетки (органелл, компартментов) в изменяющихся условиях. Такое возможно и в отсутствии внешних шумов. Взаимовлияние частей клетки друг на друга, их "конкуренция" ухудшает гомеостатический контроль, повышая чувствительность и нестабильность клетки, хаотизируя ее функциональную активность. Рассогласованность регуляторных механизмов нарастает по мере приближения биосубъекта к бифуркационной области.

Однако экспериментально в биологической системе выяснить, какая из двух причин флуктуаций является главной, не представляется возможным. Хаотическое поведение внутри некоторой области выглядит одинаковым независимо от причин, его вызывающих. Причем практическое их выяснение часто не очень важно. В первом приближении для изучения переходных процессов не существенно также, отображается ли состояние системы точкой или небольшой областью. Главное в том, что хаотическое поведение биосистемы целесообразно с точки зрения адаптационного процесса. Хаотизация функциональных свойств способствует отслеживанию биосистемой внешних условий и приспособлению к ним.

Изучение роли неустойчивого режима, характеризующегося хаотизацией функциональных показателей живой системы, в жизнедеятельности организма и клетки только начинается. Он также важен, как и устойчивый. Можно даже сказать, что поведение неустойчивой системы интереснее и неожиданнее, чем устойчивой. Пока идет накопление фактов. Интересные данные получены в физиологии животных и человека.

В начале 80-х годов, когда исследователи начали применять теорию хаоса к физиологическим системам, они полагали, что хаотические свойства последних наиболее очевидно будут наблюдаться у больных и стареющих организмов. Например, исходя из концепции

гомеостаза, считали, что вариации сердечного ритма являются ответом на флуктуацию окружающей среды. Поскольку большому организму трудно поддерживать постоянство своего состояния, то полагали, что вариации сердечного ритма должны возрасти. Но бытовые понятия здесь дали осечку. Оказалось, что нормально работающее сердце имеет "рваный" ритм, промежутки между ударами неровные. Спектральный Фурье-анализ вариаций частоты сердечных сокращений дает широкий спектр вместо ожидаемого узкого (один удар в секунду), что свидетельствует о неритмичном характере работы системы. Это подтверждает и "фазовый портрет" функционирования сердца у здорового животного и человека. За нерегулярность в сердечном ритме ответственна парасимпатическая нервная система.

Оказалось, что обонятельная сенсорная система организма (набор рецепторных клеток), по-видимому, лучше воспринимает запахи тогда, когда специальные механизмы (например, вещества-модуляторы) переводят ее в нестабильное состояние, в котором чувствительность системы возрастает (Фриман, 1991).

В последние годы исследователи приходят к мысли о том, что хаотическая динамика является нормальным свойством многих сенсорных систем организма. В этом режиме система имеет ряд функциональных преимуществ, обеспечивающих возможность ее работы в широком диапазоне условий и, следовательно, адаптироваться к их изменениям (Гольдберг и др., 1990).

По-видимому, гомеостаз, как стремление физиологических систем вести себя так, чтобы сохранить постоянство функции, в настоящий момент уже нельзя считать главным принципом работы живой системы. Настало время обратить внимание на то, что хаотичность поведения живой системы является ее нормальным неотъемлемым свойством. Пребывание в состоянии неустойчивости и повышенной чувствительности - функционально важное событие в жизнедеятельности организма и клетки. Возможно, что таким образом удастся объяснить факты сверхвысокой чувствительности биологических объектов: эффекты малых доз, реакцию на отдельные молекулы и кванты, поскольку система в хаотическом состоянии обладает удивительным свойством экспоненциально усиливать начальные малые изменения.

Интерес к этой проблеме за последнее время увеличился ("Ме-

ханизмы действия сверхмалых доз". Симпозиум 22-24 сентября 1992, Москва, Институт химической физики РАН). Необходимо понять, почему многие соединения оказывают близкий по величине биологический эффект будучи использованы в сильно отличающихся концентрациях ( $10^{-12}$ - $10^{-14}$  и  $10^{-6}$ - $10^{-3}$ М), тогда как действие этих веществ не проявляется при промежуточных концентрациях ("мертвая" зона)?

Если принять, что 1 см<sup>3</sup> ткани содержит  $10^9$  клеток, то в 1 литре это будет  $10^{12}$  клеток и, следовательно, при концентрации агента в среде  $10^{-12}$ - $10^{-14}$  М/л с каждой клеткой будут взаимодействовать единицы и сотни молекул. Реакция клетки на такие дозы не должна вызывать удивления. Известно, что светочувствительные клетки откликаются на единицы и сотни квантов (зрение, фототаксис). Клетки могут модифицировать свое поведение при контакте с несколькими молекулами (гормоны, феромоны и др.).

Вопрос, с нашей точки зрения, в другом: почему отсутствуют эффекты при концентрациях  $10^{-7}$ - $10^{-9}$  М/л? По-видимому, уже начальное воздействие таких количеств агента снижает чувствительность клетки (зрительные клетки могут в  $10^4$  раз изменять чувствительность) и она не реагирует на повышение количества возмущающего фактора. В этом может состоять причина так называемого явления парадоксальных ответов клетки, когда последняя на возрастающее воздействие снижает силу реакции.

### **Настройка, закалка и стресс**

Установление факта фазного изменения чувствительности клетки и варибельности ее характеристик в зависимости от дозы внешнего воздействия указывает объективный критерий для выделения толерантной области (биокинетическая зона, физиологически нормальный диапазон) функционирования живых систем. Это важно, поскольку считается, что механизмы адаптации живой системы к умеренным (в толерантной области) и экстремальным (супероптимальным) воздействиям принципиально различны.

Рассмотрим этот вопрос подробнее на примере адаптации клетки к температурному фактору.

Живые объекты функционируют преимущественно в условиях, близких к оптимальным. При значительном варьировании температуры существования клетка и организм могут реализовать свои потенциальные возможности, заложенные в генотипе и фенотипе, и приобрести дополнительную устойчивость - приспособиться.

Микро- и макроводоросли, а также простейшие в состоянии за несколько дней изменить свою теплоустойчивость при колебаниях температуры во всем температурном диапазоне (Суханова, 1968). Полагают, что эффект достигается за счет температурной модификации ферментативной системы и активности генетического аппарата. Явление получило название тепловой "настройки" (Александров, 1975). У высших растений ее в течение некоторого времени не замечали. В.Я.Александров полагал, что реактивный подъем теплоустойчивости у высших растений (закалка) возможен только под воздействием супероптимальных (повреждающих) температур. Поводом для этого служили наблюдения, что прогревание листьев в течение 16-18 часов в области температур толерантной зоны не увеличивает их теплоустойчивости, но последняя прогрессивно нарастает при 30- 38° (Александров, Фельдман, 1958). Был сделан вывод, что варьирование температуры ниже границы закаляющей зоны не влияет на теплоустойчивость высших растений. Правда, позднее появились данные, что теплоустойчивость по крайней мере фотосинтетического аппарата не остается постоянной при изменении температуры среды в толерантной области, т.е. он "настраивается" (для обзора см. Александров, 1985).

Поэтому многие исследователи признают, что адаптивный подъем теплоустойчивости любых растительных организмов при длительном воздействии умеренными температурами и быстром прогревании при температурах за пределами толерантной зоны осуществляется разными способами. Это положение считается справедливым и в случае действия на организм других факторов.

Однако существует другая точка зрения, согласно которой адаптивные реакции как при шоковом воздействии, так и при длительной, но меньшей по интенсивности нагрузке, однотипны. И если шоковые условия вызывают закалывание биосистемы за минуты и часы, то для акклимации требуются дни и недели (Levitt, 1980). Регулярно предпринимаемые попытки выявить различия в механизмах



адаптивного подъема теплоустойчивости растения при нормальных физиологических и супероптимальных нагрузках пока не имеют успеха.

Компромиссным предложением можно считать деление всего биологического диапазона температур на пять зон: фоновую (оптимальную для вегетации), две закаливающие и две повреждающие (в области низких и высоких температур) (Дроздов и др., 1984). Границы зон предполагают детерминированными генетически, специфичными для каждого вида и сорта. Но в зависимости от предшествующих и сопутствующих условий роста растения, границы могут сдвигаться в ту или иную сторону. В области фоновых температур теплоустойчивость остается постоянной. В зонах закаливания изменение устойчивости зависит от длительности температурного воздействия. При повреждающих температурах устойчивость падает и растение может погибнуть.

Необходимо отметить, что границы между температурными зонами обычно не бывают четкими. В случае низких температур это объясняется тем, что закаливающая область приходится на температуры фазовых переходов липидов. Температурная область изменения агрегатного состояния липидов в зависимости от их состава может составлять  $10^{\circ}$  и более. У водорослей, адаптированных к незначительным суточным колебаниям температуры воды, эта область более узкая по сравнению с высшими растениями, живущими в режиме значительных суточных колебаний температуры. Связано это с тем, что высшие растения имеют более гетерогенный липидный состав клеточных мембран.

Сопоставляя условия опытов по термоадаптации в толерантной и супероптимальной областях, мы пришли к выводу, что в большинстве работ авторы используют фактически одни и те же температуры, соответствующие закалочной зоне (по терминологии Дроздова с соавт., 1984), а не температуры из разных областей. Причем "настройку" и "закалку" индуцируют одинаково большими температурными градиентами.

Например, у высших растений тепловую настройку фотосинтеза наблюдали, когда смещали температуру культивирования совсем не на малую величину: от 18/14 до 27/23<sup>o</sup> (Кислюк, Палеева, 1990) или от 20/15 до 35/25 и даже до 45/33<sup>o</sup> (Mooney et al., 1978) (в

числителе и знаменателе – дневные и ночные температуры, соответственно). Условием закалывания к низким температурам также является резкое снижение температуры содержания растения от 30–20° до 10–5 и 0°.

Напомним, что перепад 8–10° достаточен для скачкообразного торможения синтеза белка и индукции образования стресс-белков и других мембранотропных протекторов в клетках растения.

По нашим наблюдениям, тепловой шок поднимает теплоустойчивость зеленых и синезеленых водорослей на 2–3°. При увеличении температуры выращивания этих водорослей на 10° их первичная теплоустойчивость возрастает на те же 2–3° (Веселовский, Веселова, 1990). Закалывание к отрицательным температурам увеличивает устойчивость различных функций растительной клетки тоже на несколько градусов (Родченко и др., 1988). Много примеров подобного (на несколько градусов) сдвига верхней летальной температурной границы в процессе привыкания растений к новым условиям содержит монография Р.И.Библя (1965). Получается, что независимо от способа индукции температурной адаптации происходит сдвиг устойчивости клетки, если не на одну и ту же, то, по крайней мере, на достаточно близкую величину.

Поэтому мы не можем согласиться с утверждением, что для приобретения организмом дополнительной устойчивости достаточно изменения температуры в толерантной области. Это положение противоречит даже формальному определению последней как совокупности условий, при которых состояние биосистемы поддерживается гомеостатическими регуляторными механизмами. Нам кажется, что смещение температуры организма на 10–15° от оптимальной сначала приводит к нарушению гомеостаза, скачкообразному изменению метаболизма и подъему устойчивости (стрессу), а затем развивается акклимационный процесс.

Сценарию первого этапа адаптационного акта клетки соответствует поведение динамической модели триггерной системы при изменении ее управляющих параметров. Свойства модели позволяют объяснить причину часто наблюдаемого нарушения закона "изодоз" (гиперболической зависимости). Закон подразумевает пропорциональность биологического эффекта произведению мощности фактора на время его действия, т.е. один и тот же результат может быть

достигнут как длительным маломощным воздействием, так и краткосрочным, но более сильным.

Типичным примером невыполнения закона может служить факт непропорционально сильного возрастания времени тепловой закалки при невысоких температурах (см. Александров, 1975, стр. 47). Феномен был объяснен смелой индуктора, повышающего теплоустойчивость. С позиции математической модели нарушение закона изодоз должно быть следствием того, что управляющий параметр либо очень медленно, либо вообще не может подвести систему к седловой (бифуркационной) точке и система оказывается где-то рядом с ней. В этом случае система все же может попасть в критическую точку и переключиться за счет флуктуации управляющего параметра. Но поскольку вероятность такого события мала, то время процесса переключения системы резко возрастает.

Итак генерализованный переход клетки из нормального состояния в стресс при интенсивном нагреве индуцирует надпороговые концентрации переключающего "фактора" (управляющего параметра), а при слабом - подпороговые. В первом случае время переключения сокращается пропорционально скорости накопления этого "фактора" (он накапливается быстрее при высокой температуре), а во втором - амплитудой и частотой флуктуации его подпороговой концентрации. Причем с понижением действующей температуры "активность" флуктуационного механизма резко убывает и возрастает время, необходимое для переключения состояния клетки.

### **Структурно-динамические характеристики клеточного триггера**

Для описания поведения клетки в экстремальных условиях при помощи триггерной модели необходимо представлять, какие процессы в клетке можно уподобить динамическим переменным с характерными для переключения временами и что принять за управляющие параметры - медленно изменяющиеся характеристики, переключающие систему. При переходе клетки из одного состояния в другое скачкообразно изменяются именно динамические переменные. Переключение, видимо, имеет параметрическую природу, поскольку наблюдается

типичная для этого процесса неустойчивость системы (рост чувствительности и вариабельности функциональных характеристик клетки).

В основе процедуры выбора динамических переменных и параметров при моделировании поведения системы лежит временная иерархия процессов, а не их внутренняя специфика. В случае биосистем выбору помогают особенности последних. Природа как бы позаботилась о том, чтобы скорости отдельных клеточных событий сильно различались: ферментативные реакции длятся секунды и минуты, синтез новых белков составляет десятки минут, самовоспроизведение клетки занимает много часов. Делению характеристик живой системы на переменные и постоянные (параметры) способствует также принцип "минимума" ("узкого места"). В цепи реакций общую скорость процесса определяет наиболее медленное звено. Варьирование скоростей быстрых стадий не отражается на длительности всего процесса - им управляет наиболее медленная стадия. В биологических объектах, где превалируют ферментативные реакции, отличающиеся насыщенностью и слабой обратимостью, принцип "минимума" работает более эффективно, чем в простых химических системах. Разница в скоростях биохимических реакций даже на 20 % может оказаться лимитирующим фактором. В отсутствие этого принципа клетка должна была бы контролировать тысячи различных превращений и обеспечить надежность метаболизма было бы крайне сложно. В стационарных условиях следить за отдельными ключевыми реакциями, игнорируя множество других, очень выгодно.

Принимая во внимание принцип "минимума", концентрацию медленно меняющегося субстрата (агента) можно считать постоянной (параметром). И даже если в какой-то начальный момент времени субстрат изменяется быстро, а затем устанавливается его постоянная концентрация, то он из разряда переменных переходит в разряд параметров.

Итак, предстоит решить несколько вопросов. Во-первых, перестройки каких элементов клетки при стрессе имеют такие характерные времена, что позволяют отнести эти элементы в разряд динамических переменных. Во-вторых, что управляет переходом клетки в стресс (непосредственно ли это первичное воздействие или эффект реализуется через вторичные внутриклеточные посредники), и нако-

нец, откуда производится регулирование: из ядра, цитозоля или плазмалеммы.

Современные представления об организации клетки позволяют реально рассматривать ее как единый цитоскелетно-мембранный архитектурный комплекс, обладающий нелинейными свойствами и способный находиться в нескольких дискретных пространственно-временных устойчивых состояниях. В каждый данный момент клетка функционирует в одном из них и может под влиянием внешних стимулов кооперативно переходить из одного состояния в другое, т.е. работать как биологический триггер. Последнее особенно существенно для растительной клетки, которая из-за своей жесткой клеточной стенки не способна к передвижению в ответ на изменение окружающих условий.

Генерализованные изменения цитоскелетно-мембранной системы клетки обеспечивают кооперативные свойства белковых макромолекул и их надмолекулярных ассоциатов. Среди последних особо следует выделить актин и актин-связывающие белки. Актин составляет около 20 % от общего белка протоплазмы. Он способен к обратимой полимеризации - деполимеризации и потому в клетке может находиться в глобулярной и фибриллярной формах. В полимерной форме он в свою очередь может образовывать структуры высших порядков: пучки микрофиламентов и трехмерное переплетение филаментов - гель. Последний наряду с микротрубочками выполняет опорную функцию цитоскелета, определяя форму клетки. Полимеризация актина достаточно быстрый процесс и потому механические свойства белка могут меняться в течение минут. Процесс приводит к желатинизации протоплазмы - событию важному для жизнедеятельности клетки. Желатинизация протоплазмы лежит в основе многих реакций клетки на возмущающее воздействие.

Для выбора динамических переменных и управляющих параметров существенно некоторые особенности поведения клетки в экстремальных условиях. Обратимся к фактам реагирования клетки на гипертермию. Среди них в первую очередь обращает на себя внимание способность клетки приобретать дополнительную устойчивость (закалка) в течение минутного или секундного прогрева. Это важное наблюдение означает, что эффект скорее всего не связан с заменой исходных элементов клетки на более теплоустойчивые. Самообновле-

ние цитоскелетно—мембранных структур клетки протекает медленнее по сравнению с действием закаляющих температур. Процесс представлен двумя компонентами: быстрой (время полуизменения 2-3 часа) и медленной (2-3 дня). Медленная стадия соответствует обновлению элементов клеточного каркаса, а быстрая - заменой других поверхностных структур (Волков, Полежаев, 1983).

Интересно, что в ряде случаев подъем теплоустойчивости клеток кажется биологически бессмысленным. Например, психрофильные водоросли, обитающие в воде с температурой, близкой к нулю градусов, после теплового шока увеличивают устойчивость к температурам, которые они вообще не встречают на протяжении своей жизни. Вытекающее отсюда предположение, что за феномен реактивного подъема теплоустойчивости ответствен какой-то универсальный механизм, реализованный за время теплового удара, - подтверждает целый ряд фактов. Так, в ответ на одну и ту же по величине тепловую нагрузку одновременно увеличивается теплоустойчивость клеточных процессов, отличающихся по первичной устойчивости. Подъем теплоустойчивости можно вызвать не только тепловым воздействием, но и факторами другой природы. Причем вместе с теплоустойчивостью увеличивается сопротивляемость клетки повреждающему действию различных агентов, в том числе таких, которые совершенно чужды живой клетке. Анализируя эти факты, В.Я.Александров (1975, 1985) приходит к выводу, что за неспецифическую генерализованную реакцию клетки, сопровождаемую ростом ее теплоустойчивости, ответствен некоторый эндогенный фактор - стабилизатор клеточных структур.

В этой реакции, видимо, маловероятно предположение о подключении более надежных резервных клеточных элементов взамен отказавших. Как было показано выше, подъем теплоустойчивости тилакоидных мембран сопровождается снижением уровня фотосинтеза. В этой ситуации трудно представить включение новых мембранных компонентов. Использование резерва было бы оправдано при необходимости активации энергодающей функции клетки, а не в условиях выключения синтеза белков и замедления других основных функций.

Таким образом, при триггерном переходе клетки в термостабильное состояние первоначально более вероятны конформационные изменения предсуществующих в ней структур, чем адаптивный ресин-

тез новых. Отсюда следует, что динамическими переменными, отражающими процесс переключения клетки, могут служить показатели структурно-динамического состояния цитоскелетно-мембранного каркаса. Например, количество титруемых белковых SH-групп, градиент протонов на мембранах, скорость фотосинтетического выделения  $O_2$  и др. Эти интегральные характеристики состояния клетки действительно, как показано на рис. 2, 3, 4, могут испытывать быстрые кооперативные изменения в ответ на воздействие внешнего фактора.

Для ответа на вопрос, какие факторы управляют кооперативной перестройкой цитоскелетно-мембранной системы и клеткой в целом, примем во внимание, что большинство химических событий в клетке регулируются одними и теми же немногочисленными механизмами, и познакомимся со способами рецепции клеткой внешних воздействий и передачей сигнала о них внутрь.

В настоящее время наиболее разработана схема проведения внешнего сигнала в клетку от эффекторов гормональной природы и некоторых метаболитов (Северин, 1991; Карафоли, Пеннистон, 1986; Расмуссен, 1989). Большинство эффекторов проявляют свое действие в низких концентрациях, что указывает на их высокую специфичность. В то же время клетка в состоянии реагировать на большое количество физико-химических факторов, для которых трудно предположить существование специфических рецепторов. Причем известно, что при определенной степени раздражения изменения в клетке если не тождественны тем, что вызывают специфические метаболиты, то по крайней мере однотипны. Поэтому заложенные в эти схемы принципы, видимо, можно использовать при обсуждении механизмов воздействия различных факторов.

Начальной стадией процесса является восприятие и распознавание биологически активного вещества его рецептором, находящимся на поверхности клетки. Далее следует сложный процесс трансмембранной передачи сигнала с внешней стороны мембраны на внутреннюю и образование внутриклеточного эффектора (вторичный мессенджер). При возрастании концентрации вторичного мессенджера включаются ферментные ансамбли, которые в свою очередь регулируют функцию цитоскелетно-мембранной системы. И, наконец, изменение активности клеточных компонентов может модифицировать функцию ядра. Таким образом, внешний сигнал через цитоскелет транслоциру-

ется в геном клетки.

Уже давно предполагали, что универсальным посредником (вторичным мессенджером), передающим внешние сигналы внутриклеточным исполняющим механизмам, является  $\text{Ca}^{2+}$ . Известно, что этот ион выступает в качестве регулятора многих клеточных процессов.

Однако, чтобы  $\text{Ca}^{2+}$  эффективно управлял клеточными процессами, его концентрация в свою очередь тоже должна регулироваться. В процессе эволюции в клетке возникла сложная система, поддерживающая концентрацию  $\text{Ca}^{2+}$  в нормальных условиях на уровне 0.1 мкМ. Основными регуляторами концентрации свободного  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоле являются кальций-связывающие белки плазмалеммы и мембран эндоплазматического ретикулума и митохондрий. Низкая концентрация иона — необходимое условие для метаболизма, основанного на энергии фосфатной связи. Если бы концентрация была высокой, то фосфат, образующийся при расщеплении АТФ, выпадал в виде кристаллического нерастворимого осадка. Кроме того, благодаря низкой концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  невелики затраты энергии при его использовании в качестве внутриклеточного мессенджера.

Традиционно поступление "кальциевого сигнала" в клетку описывают следующим образом. Внешний стимул (например, гормон) открывает в клеточной мембране каналы, и поток кальция устремляется в клетку, где его концентрация быстро возрастает в несколько раз. Ионы связываются с белками цитозоля, например кальмодулином, который, в свою очередь, влияет на функциональную активность ферментных ансамблей. После падения концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоле кальций-зависимые системы возвращаются в исходное состояние. Таким образом, в процессе передачи информации от клеточной поверхности внутрь клетки кальций работает как простой переключатель, изменяющий состояние управляемой системы. При исполнении кратковременных клеточных реакций, например, сократительном акте, кальций несомненно играет роль спускового крючка.

Для объяснения продолжительных клеточных реакций с участием кальция предполагали длительное повышение концентрации иона в цитозоле. Однако непосредственные измерения уровня кальция во время продолжительных стимулов показали, что концентрация иона в цитозоле испытывает лишь кратковременные изменения. Если бы поток  $\text{Ca}^{2+}$  возрастал на длительное время, то, естественно, его



внутриклеточная концентрация могла сильно увеличиться и вызвать гибель клетки. На самом деле оказалось, что вместе с ростом потока  $\text{Ca}^{2+}$  внутрь, активируется система, откачивающая ион наружу. В результате модель действия кальциевой сигнальной системы пришлось модернизировать.

Если первоначально допускалось, что в сигнальной системе клетки параллельно и независимо друг от друга действуют два переключателя (внутриклеточных посредника) – кальций и цАМФ, то теперь сложилось представление о совместном регулировании ими поведения клетки. Один и тот же эффектор увеличивает поток кальция внутрь клетки и повышает концентрацию цАМФ одновременно. Многие эффекты кальция и цАМФ реализуются при участии общего для этих двух посредников механизма – путем регуляции активности протеинкиназ.

Взаимосвязь между кальцием и цАМФ в регуляции поведения клетки столь сложна, что описывать ее здесь нет смысла. Принципиально важным является то, что изменение концентрации кальция в цитозоле необходимо как для кратковременных клеточных реакций, так и для начальной стадии продолжительной реакции. Передачу информации от клеточной поверхности к внутриклеточным мишеням осуществляет не сам кальций, а "каскад" протеинкиназ. Функциональная роль последних в жизнедеятельности клетки разнообразна.

Если воздействие на клетку столь велико, что уровень свободного кальция в цитозоле возрастает чрезмерно, то это может быть причиной "кальциевой смерти" клетки. Картина трансформации обратимых изменений в необратимые с нарастанием количества свободного кальция в клетке при некоторых воздействиях (цитотоксины, ионофоры, окислительный стресс) подробно описана у животных клеток (Bellomo et al., 1991).

В исследовании механизмов транслокации внешних сигналов в растительную клетку фитопфизиологи идут по следу тех, кто решает эту проблему на животных клетках. В растительных тканях обнаружены компоненты цАМФ-регулирующей системы. Однако если в животной клетке цАМФ и кальциевая системы выступают как "синергетические", то в растительной, по-видимому, превалирует "кальциевый" тип регулирования метаболизма (Magne, 1985).

Функции кальция в жизнедеятельности растительной клетки

столь же разнообразны, как и в животной. От концентрации свободного кальция в цитозоле зависит поддержание клеткой тургора, движение цитоплазмы и органелл. Кальций оказывает высокоспецифическое действие на поведение цитоскелета, от состояния которого в свою очередь зависят многие процессы в растительной клетке. Путем регулирования ионных потоков через плазмалемму и тонопласт кальций влияет на рост и развитие растения, его гравитационную реакцию.

Содержание свободного кальция в цитозоле растительной клетки столь же низко, как и у животных клеток. У водорослей, в зависимости от концентрации иона во внешней среде, его уровень колеблется от 2 до 0,2 мкМ. В качестве депо кальция растительные клетки наряду с эндоплазматическим ретикулулом и митохондриями используют вакуоль и хлоропласты. В вакуоле и клеточной стенке концентрация свободного иона может на несколько порядков превышать его содержание в цитозоле.

Низкий уровень свободного кальция в цитозоле обеспечен динамическим равновесием иона на плазмалемме и тонопласте клетки (подробнее см. Briskin, 1990). Откачивание  $Ca^{2+}$  через плазмалемму во внешнюю среду против градиента концентрации иона происходит при помощи кальмодулин-зависимой  $Ca$ -АТФазы. Тонопласт беден этим ферментом, и поступление ионов кальция в вакуоль в обмен на протоны поддерживается электрическим градиентом на мембране. Ингибирование этих механизмов может увеличить поток кальция в цитозоль и быть причиной нарушения кальциевого гомеостаза клетки и даже привести ее к гибели.

Кальций является посредником в транслокации внешнего сигнала в геном растительной клетки (Враам, Davis, 1990). Механические воздействия (ветер, полив, травмирование), тормозящие рост листьев и стебля арабидопсиса, в десятки раз увеличивают экспрессию нескольких генов, которые кодируют синтез кальмодулина и близкородственных белков. Полагают, что процесс начинается с повышения уровня свободного кальция в цитозоле под влиянием раздражения клетки. Затем ион в виде комплекса с кальмодулином взаимодействует с генами.

В физиологических концентрациях кальций участвует в обратимом фосфорилировании растворенных и мембрансвязанных белков, что

является важным механизмом интеграции внешних стимулов на уровне растительной клетки (Marpe, 1985; Ranjeva et al., 1984). Фосфо-рилизирование тилакоидных полипептидов на свету влияет на функционирование хлоропласта.

Наряду с кальцием активации протеинкиназ растительной клетки способствуют фосфолипиды плазмолеммы, где локализована протеинкиназа С (фосфатидилинозитольная регуляторная система). Продукт распада фосфолипида – инозитолтрифосфат управляет выходом кальция из вакуоли в цитозоль.

Итак, посредническая функция ионов кальция в жизнедеятельности растительной клетки несомненна. Рецепция внешнего сигнала поверхностью клетки повышает концентрацию свободного кальция в цитозоле. "Кальциевый сигнал" воспринимается внутриклеточными исполнительными структурами – ферментативными ансамблями и может достигнуть ядра. Иными словами, "командное устройство" клетки, которое воспринимает изменение окружающей среды и кодирует полученную информацию в виде кальциевого сигнала, располагается на поверхности клетки. Будучи вмонтированное в цитоплазматическую мембрану, это "устройство" контролирует чувствительность всей клетки: оно может либо приближать, либо удалять ее от критической бифуркационной границы.

Структурно-динамические перестройки в клетке при посреднической функции кальция осуществляются оперативно, так как при этом оказываются задействованными исходные элементы клетки и их замена не требуется. Кроме того, посредник выполняет интегративную функцию, согласуя во времени и объеме работу отдельных систем клетки. Путем изменения концентрации ионов кальция, например, может быть быстро исполнена команда на гравистимул – "затормозить рост" или, напротив, индуцирован переход клетки из состояния покоя к пролиферации. Подъем уровня свободного кальция может увеличить теплоустойчивость клетки, так как ион способен непосредственно взаимодействовать с мембранными белками и липидами, поднимая температуру их плавления и денатурации.

Таким образом, при изменении условий существования клетки в качестве параметра, управляющего ее поведением, выступает не сам внешний фактор непосредственно, а вторичные внутриклеточные мессенджеры. Прямое воздействие внешних условий на структурно-

функциональные системы клетки становится доминирующим при чрезмерно высоких нагрузках на живую систему, когда очевидны массовые нежелательные изменения элементов цитоплазмы (коагуляция белков, механическое разрушение мембранных барьеров, распад белок-липидных и других комплексов и т.п.).

Итак, уподобляя поведение клетки как структурно-функционального целого, работе динамической триггерной системы, надо в качестве динамических переменных рассматривать интегральные характеристики цитоскелетно-мембранного каркаса клетки, а в качестве управляющих параметров - вторичные внутриклеточные мессенджеры.

### **Переключение режимов функционирования клетки.**

#### **Специфические и неспецифические реакции.**

#### **Восстановление клетки после стресса, гистерезис**

Триггерный принцип широко используют при моделировании фундаментальных биологических процессов (функционирование единого генетического кода, дифференциация тканей, регулирование белкового синтеза и т.д.) (Романовский и др., 1984). Он важен для регулирования жизнедеятельности клетки в экстремальных условиях. Триггерный режим затрудняет переходы клетки между стационарными состояниями, так как срабатывание триггера возможно только при достижении порогового уровня сигнала. Это предохраняет клетку от принятия поспешных решений. В то же время при помощи этого принципа клетка может осуществлять свои ответы наиболее организованно и оперативно.

Глядя на фазовый портрет или механический аналог триггерной системы (см. рис. 9, I2, I3), можно сказать, что существуют два способа переключения режимов ее функционирования. Согласно первому за счет внешнего воздействия необходимо так сильно изменить значение динамической переменной  $X$  (или  $Y$ ), что изображающая точка пересечет границу (сепаратрису), разделяющую области притяжения узлов 1 и 2, и попадет в точку  $X_2$ . После этого система сама устремится к устойчивому положению 2 и окажется переключен-

ной (см. рис. 12). Этот способ называют *силовым*, поскольку в механической модели для перекачивания шарика из одной лунки 1 в другую надо приложить внешнюю силу.

При моделировании ферментативного процесса силовое переключение соответствует добавке большого количества определенного (специфического) субстрата реакции. Поэтому этот тип переключения системы считают *специфическим*. Силовое переключение интактной клетки можно вызвать введением такого ингибитора метаболизма, который одновременно изменит структурно-функциональное состояние большинства элементов клетки.

Другой, более тонкий способ переключения триггерной системы называют *параметрическим*. Его особенность в том, что непосредственному воздействию подвергают не динамические переменные ( $X$ ,  $Y$ ), а управляющие параметры системы ( $a$ ,  $b$  и т.д.). Изменение последних деформирует фазовый портрет за счет смещения главных изоклин (см. рис. 13). Точка их пересечения 1 (исходное состояние) сначала смещается к седловой точке 3 и сливается с ней (система становится неустойчивой), а затем самопроизвольно переходит в узел 2 (новое конечное состояние). Если управляющим параметрам вернуть исходные значения, то начальный фазовый портрет восстанавливается, но система продолжает работать в режиме 2. Поскольку эффект достигается без прямого воздействия на динамические переменные, этот способ переключения еще называют *неспецифическим*.

На "потенциальной" модели параметрическое переключение выглядит как воздействие не на шарик, а на профили ямок или барьер между ними (см. рис. 9). Примером параметрического переключения живой клетки может служить ее переход в стресс.

Возникает естественный вопрос, как два способа индукции триггерных переходов в живой системе соотносятся с представлениями о специфических и неспецифических клеточных реакциях на внешнее воздействие.

В цитофизиологии различают две категории факторов, способных вызвать ответ клетки. К одной относят агенты, которые прямо включаются в метаболизм клетки. Другую группу агентов составляют те, которые изменяют поведение клетки, но сами в реакции не участвуют. Их условно можно назвать *информационными*, так как прояв-

ление биологического действия этих факторов опосредовано активацией и работой вторичных усиливающих механизмов. Такое деление факторов, естественно, условное и реально в зависимости от условий может преобладать тот или иной механизм. Так, слабый красный свет активирует фитохром, его начальное фотохимическое изменение индуцирует сигнал, который усиливается за счет вторичных механизмов и после этого формируется ответ всей клетки. Реакция клетки на интенсивный свет иная. Она состоит не только в первичном возбуждении фотосинтетического аппарата, но и последующей постоянной аккумуляции энергии квантов.

В делении возмущающих факторов по принципу действия просматривается определенная аналогия с двумя способами переключения клетки: прямым (силовым, специфическим) изменением динамических характеристик (переменных) клетки и параметрическим (неспецифическим), достигаемым смещением концентрации специальных внутриклеточных агентов (параметров - вторичных мессенджеров). Очевидно, что переход клетки в новое дискретное состояние независимо от вида переключения следует рассматривать как кооперативную неспецифическую реакцию цитоскелетно-мембранного комплекса.

Неспецифическими принято считать однотипные изменения клеточных характеристик в ответ на несходные воздействия. Эти реакции демонстрируют структурно-функциональное единство компонентов клетки. Напротив, специфические ответы свидетельствуют о гетерогенности, разной чувствительности компонентов клетки к изменению окружающих условий. Полагают, что оба типа реакции развиваются как при варьировании оптимальных для жизнедеятельности условий, так и при повреждении клетки. Поэтому разграничить специфические и неспецифические ответы клетки практически трудно.

Для наблюдения специфических изменений используют так называемые адекватные раздражители, действие которых адресовано к определенным структурам или системам клетки. К агентам узко направленного действия относят яды, антибиотики и др. Но даже и они проявляют специфичность только в низких концентрациях, а их крепкие растворы оказывают на клетку общее раздражающее действие. Кроме того, эффекты адекватных раздражителей могут быть воспроизведены веществами общего действия (ионы тяжелых металлов, гипер- и гипосмотические растворы, детергенты и др.).

Специфические черты поведения клетки чаще проявляются в начале действия фактора при его контакте с отличающимися по чувствительности клеточными элементами. В дальнейшем вследствие структурно-функциональных взаимосвязей последних начальные изменения начинают сказываться на других компонентах и поведении клетки в целом. Первичные различия в конце концов сглаживаются и предстают в виде общих неспецифических проявлений. Поскольку этот процесс во времени может быть различным у отдельных клеток, то специфику часто видят в неодинаковой кинетике начальных стадий ответа. Специфические агенты оказывают биологический эффект обычно в меньших концентрациях, чем вещества общего действия. Для них характерна также большая разница между стимулирующими и ингибирующими дозами. Границы доз для неспецифических агентов обычно настолько сближены, что трудно вызвать стимуляцию не повреждая клетку.

Таким образом, существуют объективные трудности при разграничении факторов и клеточных ответов на специфические и неспецифические. Во многом это объясняется субъективным подходом к определению специфического и общего в поведении клеток, а также абсолютизацией этих понятий. В результате ситуация в вопросе о роли специфических и неспецифических процессов в устойчивости и адаптации растительных объектов остается запутанной, что часто порождает неконструктивные споры.

Если принять во внимание положение о том, что живая клетка как триггерная система может находиться в нескольких дискретных структурно-функциональных состояниях, то для дифференциации ее специфических и неспецифических ответов можно предложить дополнительные критерии. Будем считать, что стационарные состояния, между которыми клетка совершает скачкообразные переходы (переключения, "катастрофы"), качественно отличаются. Выше на примере температурных изменений агрегатного состояния воды (жидкость - лед) мы уже пояснили, что понимаем под качественно разными состояниями системы.

Поскольку качественная перестройка в поведении клетки (переход в новое состояние - стресс) наступает при критической (пороговой) напряженности возмущающих факторов и мало зависит от их природы, то она является неспецифической. Реально этот неспеци-

Физический акт клетки выражается в одновременном скачкообразном количественном изменении ее динамических переменных - функциональных и структурных характеристик (фотосинтетическое выделение  $O_2$ , темновое поглощение  $O_2$ , движение протоплазмы, ионные градиенты на мембранах, количество белковых тигроупп и др.). О переходе клетки в качественно отличное состояние свидетельствует изменение соотношения динамических переменных. Существенно также, что к начальному состоянию клетка возвращается не сразу, а, запомнив возникшие изменения, некоторое время продолжает работать в новом режиме. Т.е. релаксация клетки в исходный гомеостатический режим представляет гистерезисный процесс. И, наконец, во время перехода клетки в новое состояние она приобретает неустойчивость, сопровождаемую ростом вариабельности клеточных свойств.

Специфическую перестройку поведения клетки на фазовом портрете отражает траектория движения системы от начальной точки к бифуркационной границе (сепаратрисе) под влиянием управляющего параметра. Этот путь на плоскости определяют две переменные (хотя одна из них может и не изменяться). На "потенциальной" поверхности специфическое поведение системы передает маршрут, по которому ямка 1 приближается к ямке 2. Его направление определяют изменение по крайней мере двух переменных. Отсюда следует, что специфическим является начало ответа клетки на возмущающее воздействие, за которым нужно следить, контролируя одновременно несколько динамических характеристик. Специфику будет отражать неодинаковое изменение соотношения этих характеристик при нарастании напряженности фактора в пределах толерантной зоны.

Действительно известно, что начальные перестройки в физиологии целого организма (соотношение процессов транспирации, фотосинтеза, водного обмена и др.) в экстремальных условиях проявляются по-разному в зависимости от конкретного воздействия. О том же говорят наблюдения на клеточном уровне (Семихатова, 1990). Анализ реакции дыхательного аппарата клетки на изменение экологической обстановки показывает, что общий уровень дыхания, цианид-резистентное поглощение  $O_2$ , энергетическая эффективность дыхания изменяются в неодинаковой степени при повышении и понижении температуры, засолении и водном дефиците.



Таким образом, принятые при математическом моделировании определения специфического (силового) и неспецифического (параметрического) переключения стационарных состояний биологической системы не соответствуют физиологическому пониманию специфических и неспецифических процессов. В математике эти понятия характеризуют направленность действия фактора, переключающего систему: влияет ли он на ее переменные или параметры (постоянные). С позиции триггерного принципа регулирования живой системы, специфику поведения клетки определяет *состояние* процессов, которые развиваются в ответ на возмущение, не выходящее за границу толерантной области. Неспецифической физиологической реакцией живой системы является сам акт ее переключения в новое устойчивое стационарное состояние.

Как мы уже отмечали, при приближении к седловой (бифуркационной) точке стационарное состояние динамической системы приобретает неустойчивость, а ее поведение хаотизируется. Соответственно на границе толерантной зоны возрастает чувствительность живой клетки к возмущающим воздействиям и это сопровождается подъемом уровня ее метаболизма и активацией пролиферативной активности. В случае процесса дифференциации бифуркационное состояние уподобляется приобретению клеткой компетенции. Теперь стимулы, к которым система ранее была индифферентной, ускоряют прохождение ее клеточного цикла или индуцируют переход клетки из покоя к пролиферации. Реально в этой ситуации может наблюдаться приблизительно 20%-е увеличение численности популяции. Явление называют *стимуляцией* роста живых объектов *под влиянием малых доз* (например, при низких концентрациях токсиканта).

Резкие изменения в поведении клетки на границе толерантной зоны, перемена знака реакции живой протоплазмы в процессе нарастания альтерации составляют давно интересующую физиологов проблему двойственной природы действия факторов на живую протоплазму. Проблема возникла столетие назад во времена классика общей физиологии Клода Бернара и актуальна сейчас (Гейльбрун, 1957; Александров, 1985). Вопрос состоит в том, почему в клетках совершенно разных типов и у разных организмов многочисленные агенты, известные как раздражители, могут подавлять реакцию на раздражение, т.е. быть анестетиками. Причем потеря раздражимости

живого объекта под влиянием анестетика не является полной и, увеличивая стимул, можно добиться ответной реакции. Иными словами имеет место только возрастание порога раздражения. В то же время большинство агентов, ведущих себя как анестетики, могут быть стимуляторами. Их слабые растворы вызывают не наркоз, а прямо противоположный эффект - уменьшают, а не увеличивают порог чувствительности. Медикам это явление хорошо известно как фаза возбуждения при наркозе.

Физиологи допускают, что реактивное падение раздражимости клетки может быть разного происхождения. Триггерный принцип поведения живой системы предполагает две причины снижения порога возбудимости. Во-первых, под влиянием возмущающих агентов возможно удаление устойчивого стационарного режима функционирования клетки от бифуркационной области. Во-вторых, клетка может, пройдя бифуркационный режим, переключиться в новое устойчивое стационарное состояние (стресс), где ее чувствительность будет ниже, чем в исходном состоянии.

Наблюдения показывают, что в стрессе клетка может пребывать и несколько часов и несколько дней. Длительность состояния определяет природа действующего фактора, а также то, продолжается ли воздействие или оно прекратилось. Для возобновления нормальной жизнедеятельности клетке необходимо выйти из стресса в любом случае. При сохранении экстремальной ситуации релаксация в активное состояние должна естественно сопровождаться адаптивной модификацией белок-липидных компонентов цитоскелетно-мембранного каркаса клетки и установлением нового уровня клеточного гомеостаза.

Наиболее достоверными являются примеры изменения липидного состава мембран при смене температурных режимов выращивания клеток. Нормальный рост и осуществление клеткой других физиологических функций в новых температурных условиях возможны при определенной степени вязкости ("текучести") мембранных липидов, т.е. соответствующих физических свойствах их бислойной структуры. Достигается это в основном за счет изменения жирнокислотного состава мембранных липидов (гомеовязкостная адаптация). Процесс начинается, по-видимому, во время пребывания клетки в состоянии стресса. Физические свойства липидного бислоя мембран в зависи-

мости от температуры выращивания изменяются у водорослей по сигмоидной кривой, т.е. перестройка имеет характер порогового явления (Ono, Murata, 1981a).

Триггерный принцип переключения рабочих режимов динамической системы предопределяет соответствующие закономерности нормализации клетки после стресса. Согласно "потенциальной" модели (см. рис. 9 и 15), прямое переключение системы состоит в попадании шарика в ямку 2 после выпячивания дна ямки 1 до уровня "потенциального" барьера 3 под влиянием управляющего параметра. Независимо от того, приобрел ли после этого управляющий параметр исходное значение (дно ямки 1 опустилось), или он продолжает действовать (дно ямки осталось на уровне "потенциального" барьера) состояние 2 системы сохраняется (шарик лежит в ямке 2). В обеих ситуациях для обратного перехода системы из состояния 2 в исходное необходимо воздействие уже другого управляющего параметра, преимущественно влияющего на характеристики ямки 2. Он должен поднять дно последней и, когда оно сравняется с "потенциальным" барьером, шарик вернется в ямку 1 – система переключится в исходное состояние. Причем в зависимости от того, прекратилось или нет первичное воздействие, уровень стационарного состояния (положение ямки 1) будет различным. Однако в любом случае новое положение ямки 1 окажется в ареале исходного состояния (т.е. в зоне толерантности).

Итак, важно, что возвращением системы в начальное состояние управляет уже другой параметр, не тот, который вызвал прямой процесс. Отсюда следует, что если переход клетки в стресс был осуществлен, скажем, возросшим уровнем свободного иона кальция в цитозоле (главный управляющий параметр), то для возвращения клетки к активной жизнедеятельности недостаточно понизить концентрацию кальция до исходного уровня. Процессом восстановления (обратного переключения) клетки должен управлять уже другой параметр(ы). Это положение согласуется с фактом более медленного выхода клетки из стресса, по сравнению с прямым процессом (другая кинетика).

По поводу конкретных параметров (механизмов), управляющих обратным переходом клетки в активное состояние пока возможны лишь спекуляции. Можно предполагать, что накапливающиеся в клет-

ке во время стресса антиоксиданты изменяют антиокислительные свойства и тем самым увеличивают пролиферативную активность клетки (Бурлакова и др., 1975). Важным условием возобновления клеточного цикла является восстановление уровня белковых SH-групп. Причиной этому может быть возросшая активность глутатионредуктазной системы, которая разрушает тиоловые мостики в молекулах мембранных ферментов и реактивирует их. В возвращении клетки в исходное состояние определенную роль должны играть стресс-белки (шапероны), количество которых при экстремальных условиях жизнедеятельности резко увеличивается по сравнению с нормой. Они способствуют транслокации белков через мембраны, разборке и сборке белков во время клеточного цикла, защите белков от денатурации и агрегации. Таким образом, внутриклеточными факторами (параметрами), индуцирующими переключение клетки в исходное состояние, могут быть метаболиты, накопленные при стрессе. Избыточные фонды этих продуктов становятся неадекватными условиям существования и вызывают переход клетки в исходное состояние.

Согласно триггерной модели выход клетки из стресса также должен проходить через неустойчивое состояние (бифуркационную точку). Но из-за отсутствия соответствующих экспериментальных данных характер переключения неясен: плавный ли он, как в случае перехода по типу "сборки" или резкий скачкообразный по типу "складки". Возрастание вариабельности в это время действительно наблюдается, но для окончательного ответа на этот вопрос необходимо накопить данные о характере распределения признаков.

В заключение обсудим вопрос о том, каким образом переключение дискретных состояний может повлиять на развитие и ликвидацию нарушений клеточных функций в экстремальных условиях. Рассмотрим это на примерах реагирования клетки на действие лучистой энергии и нагрева. Для них закономерности первичных повреждений, их реализация и репарация лучше изучены по сравнению с другими воздействиями. Речь пойдет о репарации самих поврежденных клеток, а не явлении репопуляции - восстановлении погибшей части популяции за счет размножения наиболее устойчивых клеток, перенесших критическое воздействие.

Проникающая радиация равновероятно легко взаимодействует

как с множественными, так и с уникальными генетическими структурами. Избежать нагрева растительные клетки тоже не могут, но, в отличие от ионизирующей радиации, вероятность прямого теплового повреждения нуклеиновых кислот при переходе клетки в состояние стресса мала. Однако "сигналы" об индуцированной нагревом структурно-динамической перестройке мембран и цитоскелета транслоцируются в геном и модифицируют его поведение.

Радиационные повреждения уникальных структур могут долгое время оставаться в скрытой форме (быть потенциальными) и реализоваться в процесс репликации генетического аппарата. Но часть потенциальных повреждений восстанавливает специальная ферментативная система репарации ДНК. Процесс начинается уже во время облучения. Система рассчитана на ликвидацию дефектов нуклеиновых кислот не только радиационного происхождения, но и возникающих при других нефизиологических воздействиях. Это не удивительно, поскольку нерадиационные факторы индуцируют мутации в принципе не отличающиеся от тех, которые вызывает облучение. Радиационное поражение массовых структур зачастую для клетки нелетально, но является причиной остановки клеточного деления и модификации многих физиологических функций и ферментативных процессов. Возобновление клеточного цикла знаменует освобождение от повреждений, послуживших причиной задержки деления.

Основными способами залечивания радиационных повреждений является ренативация частично инактивированных ферментов, ресинтез и замена денатурированных белков и других биологически важных молекул. Для возобновления клеточного цикла существенно восстановление дисульфидных групп белков. Устранению последствий облучения благоприятствует определенное сочетание условий культивирования клеток. Восстановлению клеток способствует их экспонирование на "голодных" средах, тормозящих возобновление деления, и условия оптимальные для метаболизма (температура,  $O_2$  и др.). Противоречивые на первый взгляд требования находят объяснение в свете новых данных об условиях синтеза в клетке стресс-белков (Matin, 1990).

Внешним проявлением способности клеток залечивать радиационные нарушения является характер дозовых кривых (наличие "плато") и зависимость их от условий облучения, а также опыты с

фракционированием доз радиации. Предварительное облучение клетки (или даже действие другого фактора) часто ослабляет эффект повторного воздействия радиации.

Репарация термоиндуцированных изменений в клетке, как и при облучении, начинается одновременно с их появлением. В.Я.Александров назвал этот процесс репараторной адаптацией, полагая, что ликвидация тепловых нарушений происходит не пассивно, а в результате функционирования специальных ремонтных механизмов.

Как и воздействие проникающей радиации, последствия тепловой обработки "запоминаются" клеткой. Это приводит к тому, что повторное прогревание вызывает меньшие изменения и они быстрее ею устраняются. Существенно, что для наблюдения этого явления клетка должна быть подвергнута серьезному нагреву, который сильно, но обратимо, угнетает клеточные функции. Предварительное воздействие может быть кратковременным (5-10 мин), но интенсивным. При снижении температуры инкубации тот же эффект достигается в течение нескольких часов. В результате повышается устойчивость разных клеточных функций, а также скорость их восстановления после окончания нагрева. Однако обычно трудно решить, в какой степени снижение чувствительности объекта к повторному воздействию зависит от активации репараторного механизма и в какой - от реактивного подъема его устойчивости.

Состояние повышенной устойчивости клетка постепенно "забывает". Времена сохранения термоиндуцированной устойчивости, приводимые в литературе, варьируют от часов до нескольких суток (Александров и др., 1990). Причина кроется в том, что измерения выполнены на разных объектах и неодинаковыми методами. Кроме того отсутствуют объективные критерии оценки устойчивости, игнорируется определяющая роль условий восстановления организмов.

Репараторные возможности клетки характеризуют скорость восстановления возникших структурно-функциональных изменений, а также глубина нарушений, которые клетка в состоянии ликвидировать. Потенциальную репараторную способность клетки В.Я.Александров предлагает оценивать по разнице между температурой начального ингибирования функции и температурой, после нагрева до которой, функция уже не возобновляется. Эта температурная область, названная *репараторной зоной*, была исследована у разных растений

путем тестирования остановки и возобновления движения протоплазмы (экспериментальные подробности см. Александров, 1985. С. 246). Оказалось, что ширина зоны зависит от глубины и длительности гипертермии, т.е. метода воздействия на клетку. При определенном соотношении силы и длительности теплового воздействия на объект репараторная область расширяется скачком (кооперативно), одновременно возрастает теплоустойчивость процесса движения протоплазмы и сокращается время возобновления ее движения после термошока.

Описанные закономерности реагирования растительной клетки на облучение и гипертермию вполне объяснимы в рамках триггерной модели поведения живой системы. При переключении клетки из контролируемого гомеостатическими механизмами состояния в более устойчивое - стресс, активируются защитные системы, стабилизирующие это состояние. Видимо, они и являются причиной возрастания потенциальных репараторных возможностей клетки. Так, если движение протоплазмы прекращается, а клетка остается в исходном стационарном состоянии (экспонирование листьев при  $38,6^{\circ}$  в течение 1000 минут), то для возобновления движения требуется 1500 минут. При нагреве, переключающем клетки в стресс (пять минут при  $45^{\circ}$ ), движение протоплазмы восстанавливается через 40 минут, т.е. в десятки раз быстрее (Александров, 1985. С. 251).

В конце этого раздела мы хотим еще раз подчеркнуть, что фенотипическая адаптация клетки к экстремальным условиям начинается с резкого подъема ее резистентности и изменения внутриклеточных условий.

Возрастание устойчивости клетки в начале стресса скорее всего связано со стабилизацией белков за счет изменения их микроокружения (ионы металлов, субстраты, ионная сила). На мезофильных и термофильных микробных клетках достоверно показана важная роль заряда макромолекул и ионных взаимодействий между ними для термостабильности белков. Видимо существенным является уменьшение числа сульфгидрильных групп цистеина, обычно расположенных на поверхности молекул белка и легко подвергающихся окислительно-восстановительным превращениям. Изменение в количестве SH-групп отражается не только на ферментативной активности молекул белков, но и их стабильности.

Объяснить начальный рост терморезистентности клетки самообновлением белков цитоскелетно-мембранного каркаса не реально, так как это более медленный процесс по сравнению с описанным механизмом стабилизации белковых макромолекул. При стрессе синтез основных полипептидов тормозится, и это тоже уменьшает вероятность замены поврежденных белков на синтезированные *de novo*. Подъем теплоустойчивости клеток в этот момент трудно связать с появлением БТШ. Процесс накопления последних занимает несколько часов, т.е. стабилизация клетки происходит еще при низком уровне стресс-белков. Кроме того, существуют наблюдения, что на начальное увеличение устойчивости клетки ингибиторы синтеза белка не влияют, хотя и тормозят образование БТШ. Модификация внутриклеточных условий при стрессе активирует другие механизмы, препятствующие разрушению мембранных белок-липидных комплексов, микрофиламентов протоплазмы, ядерного матрикса и других структур. Деградацию клеточного каркаса по механизму перекисного окисления липидного бислоя мембран и протеолиз денатурированных белков тормозят возросший уровень антиоксидантов (ферменты и низкомолекулярные соединения) и накопление стресс-белков. Роль последних особенно важна.

В норме БТШ составляют в клетке 2-3% от общего содержания белка. При гипертермии, например, количество БТШ в клетке, увеличивается до 20%. Поэтому несомненно, что эти белки участвуют в поддержании стабильности клетки при стрессе. Полагают, что стресс-белки ответственны за явление "перекрестной" устойчивости клетки (Donati et al., 1990; Matih, 1990). Часть БТШ выполняет функцию шаперонов: транспортируют макромолекулы белков через мембраны, предотвращают образование неправильной конфигурации белков при их сворачивании, препятствуют агрегации белков, подвергшихся частичной денатурации. Связываясь с агрегированными белковыми комплексами шапероны могут растворять последние, а затем в АТФ-зависимой реакции вновь диссоциировать. Прямо показано, что один из шаперонов (БТШ 70 кДа) *in vivo* репарирует термоинактивированную РНК-полимеразу (Skowuwa et al., 1990). Сигналом активации трансляции генов, ответственных за синтез БТШ, по-видимому, является возникновение белков "нарушенной" конфигурации или денатурированные белки.



После прекращения воздействия возобновление активной жизнедеятельности (переключение клетки из стресса в основное гомеостатическое состояние) сопровождается восстановлением клеточного цикла, синтеза белка и "забыванием" других последствий пребывания в стрессе. При сохранении экстремальных условий адаптация немыслима без выхода клетки из состояния стресса и соответствующей модификации белок-липидных мембранных комплексов. Возобновление синтеза белка в новых условиях, по-видимому, приводит к появлению в клетке полипептидов с измененными физико-химическими характеристиками (рН и температурный оптимум, гидрофильность и др.) и изоферментов. Этот факт отмечен при закаливании растений к высоким и низким температурам. Причем изменения в электрофоретических спектрах растворимых белков отмечают позже, чем возрастает устойчивость растительного организма. Нам представляется, что во время стресса, когда синтез основных белков выключен, в репарации нарушенных белковых структур протоплазмы должен превалировать механизм их ренативации. Для этого в живой клетке существуют специальные ферментные системы (изомеразы белковых дисульфидов, тиоредоксин) и белки-шапероны, стабилизирующие частично развернутые макромолекулы и препятствующие их необратимым внутри- и межмолекулярным взаимодействиям (Gething, Sambrook, 1992).

### **Зависимость реакции клетки от дозы.**

#### **Парадоксальный эффект**

Описывая зависимость биологического эффекта от величины возмущающего фактора, мы отмечали, что форму дозовой кривой определяют мощность воздействия и время, через которое наблюдают его последствие. Так, выглядящая вначале ступенчатой кривая реагирования позже может трансформироваться в S-образную. Если альтерирующий агент настолько "сконцентрирован" (большая мощность), что сопротивление живой системы подавляется сразу, то дозовая кривая инактивации и гибели клеток приобретает экспоненциальный вид. Многообразие кривых реагирования определяют конкуренция процессов реализации и ликвидации первичных нарушений, а также

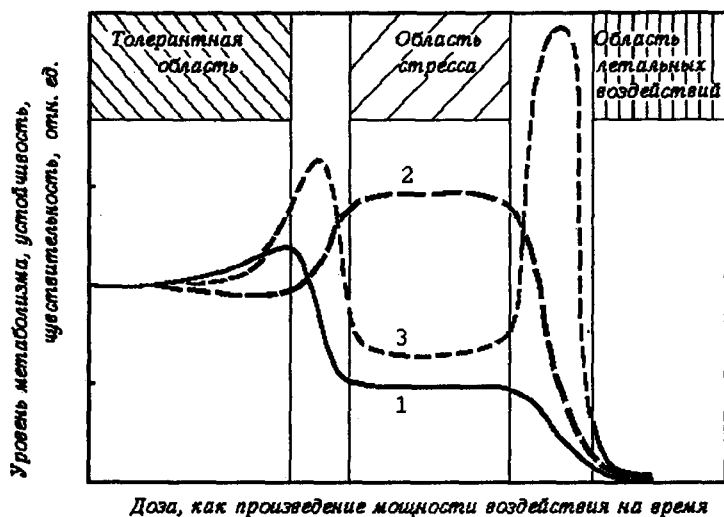
реактивное увеличение устойчивости живой системы, ее перестройка, от которой в свою очередь зависит развитие этих процессов.

Было показано, что при критических условиях разные клеточные характеристики изменяются кооперативно, свидетельствуя о структурно-динамическом единстве клетки. Чувствительность клетки и вариабельность ее динамических показателей претерпевает фазовые колебания в ходе нарастания внешнего воздействия. Они отражают процесс перехода клетки из одного устойчивого структурно-функционального состояния в другое. Эти закономерности передает схема на рис. 20.

Процесс переключения клетки в состояние стресса и обратно был подробно рассмотрен выше. Обратим внимание на то, что продолжение воздействия на клетку, находящуюся в состоянии стресса, вновь может вызвать возрастание нестабильности ее функционирования (второй максимум вариабельности), которое предшествует гибели клетки.

В динамической модели живой системы отмирание клетки является переходом последней в новое устойчивое (мертвое) состояние. Поэтому "потенциальный" рельеф активности живой системы в области условий, изменяющихся от нормальных до несовместимых с жизнедеятельностью системы имеет три ямки, разделенные двумя барьерами. Нахождение шарика в первой ямке - это нормальное состояние, переход во вторую - стресс, а после попадания в третью - "мертвую" шарик остается в ней навечно. Для некоторых организмов на "потенциальной" плоскости необходимо предусмотреть еще одну ямку, в которую система может обратимо переходить из "стресс-ямки". Это состояние соответствует нахождению системы в анабиозе. На обсуждаемый в научной литературе вопрос: гибель клетки это постепенный процесс или он подчиняется принципу "все или ничего", исходя из выше изложенного, надо ответить - отмирание клетки - это триггерный (кооперативный) переход. Возросшая чувствительность (утрата устойчивости) клеток на терминальной стадии существования, по-видимому, способствует ускоренному отмиранию тех из них, которые оказались необратимо поврежденными.

Предлагаемая версия о трех устойчивых (норма, стресс, мертвое) и двух неустойчивых (барьеры между ними) состояниях у клетки (в математическом их понимании) позволяет непротиворечиво



Доза, как произведение мощности воздействия на время

Рис. 20. Схема поведения растительной клетки в условиях нарастающего внешнего воздействия.

- 1 - уровень метаболизма; 2 - устойчивость;  
3 - чувствительность живой системы (пояснения в тексте)

Объяснить ряд общих закономерностей поведения живых систем. Для примера рассмотрим явление, получившее в биологии название *парадоксального эффекта*. Оно состоит в том, что биологические объекты на действие средних доз могут отвечать слабее, чем на малые воздействия. Поскольку при больших дозах реакция системы вновь возрастает, то вместо привычной двухфазной кривой (стимуляция малыми и ингибирование большими дозами) наблюдается трехфазная. К сожалению, исследователи нередко, видя "парадоксальные" отклонения, принимают их за погрешность опыта и не обсуждают. Плохую услугу иной раз оказывает статистический подход, когда с его помощью экспериментатор стремится "подправить" опытные кривые, сделать их более плавными, т.е. "статистика" может даже вредить наблюдению парадоксального эффекта.

И тем не менее существование последнего доказано у микробов, растений и животных. Сам термин появился и существует потому, что в большинстве случаев остаются непонятными причины меньших изменений в живой системе при средних дозах по сравнению с малыми. Несомненно, что парадоксальный эффект самым тесным образом связан с восстановлением начальных нарушений и способностью клетки реактивно изменять свою устойчивость. На его проявлении сказываются природа действующего фактора и особенности клеточного метаболизма. Трехфазный ответ трактуют по-разному. В случае действия тяжелых металлов эффект принято считать следствием начального видоизменения поверхности клетки, которое тормозит дальнейшее поступление ионов внутрь. Его также объясняют функционированием репараторных механизмов, нормализующих первоначально подавленные функции. Предполагают, что с нарастанием воздействия могут последовательно активироваться различные ферментные системы, вызывающие наблюдаемые изменения.

Примером парадоксального эффекта является фазное изменение пигментного состава листьев и появление некрозов при нарастании гипертермии. Так на пятый день после 15-минутного прогрева при разных температурах было обнаружено, что листья меняли окраску (бурели) при 42–45°, оставались зелеными при 50–52° и погибали при 55° (Wagenbreth, 1968). Автор, как и его предшественники, наблюдавшие подобную картину, объяснил эффект тем, что при 50–52° клетки листа претерпели тепловую закалку, стабилизирующую белки и хлорофилл.

В очень похожих по постановке экспериментах (Завадская, Антропова, 1979) трехфазное изменение пигментации листьев трактуют как результат разной температурной устойчивости хлорофиллазы и полифенолоксидазы. Правда, не совсем ясно, почему авторы остановились именно на таком объяснении. Судя по их данным, на фазе уменьшения степени разрушения хлорофилла и отсутствия бурых пятен на листьях (средняя степень прогрева) возрастает степень теплоустойчивости клеток, измеренная по движению протоплазмы.

Парадоксальным можно считать хорошо известное явление возрастания водоудерживающей способности клеток в ответ на частичный водный дефицит и действие других факторов. Мы, например, наблюдали замедление отдачи воды листьями хлопчатника во время

подсушивания, а также после средней по величине гипертермии и определенных доз УФ облучения. Некоторые авторы отмечают, что подъему водоудерживающей способности предшествует кратковременная фаза увеличения проницаемости клетки для воды.

Исходя из схемы реагирования живой системы на нарастающее внешнее воздействие (см. рис. 20) можно предполагать, что парадоксальный эффект представляет проявление перехода клетки в состояние стресса. Предшествующее переключению клетки в стресс возрастание чувствительности, по-видимому, и является причиной наблюдаемых непропорционально больших изменений в системе при сверхмалых дозах ("малыми" принято называть те, которые стимулируют жизнедеятельность организма).

Схема позволяет сделать еще ряд общих замечаний. Например, изменение чувствительности живой системы и вариабельности ее ответов может служить объективным критерием для выделения фаз в реакции клетки на внешнее воздействие. Очевидны причины разграничения понятий *чувствительность* и *устойчивость*. Для определения чувствительности живого объекта по порогу и величине отклика на стандартное воздействие уровень последнего не должен выходить за границу толерантной области, чтобы не нарушать механизмы гомеостаза клетки и не переключить ее в состояние стресса. Измерение устойчивости живой системы, т.е. отыскание границ переносимых ею условий, производится при напряженности фактора соответствующего второму максимуму на рис. 20. Это воздействие нарушает функцию репараторных механизмов клетки.

Предлагаемые критерии разделения стадий реагирования клетки могут быть использованы для объективного определения допустимых, не опасных для организма нагрузок. Они помогают выявить уровни воздействий, увеличивающие чувствительность живого объекта. Последнее важно в тех случаях, когда стоит задача сенсibilизировать клетку к действию каких-либо факторов, например, гербицидам, антибиотикам или ионизирующей радиации. В ходе смены условий существования вариабельность функциональных характеристик как показатель состояния биологического объекта изменяется раньше, чем средние значения этих величин. На рис. 17 видно, что стохастизация свойств у клеток начинается до того, как они переходят в стресс или отмирают. В связи с этим в настоящий момент

актуальны разработка и создание несложных технических устройств для быстрого измерения вариабельности (гетерогенности) физиологических показателей отдельных особей в популяции.

Дозы воздействия, инициирующие переход клетки в стресс, являются для нее закаляющими. Реализуемые в этой ситуации механизмы адаптации обеспечивают существование клетки в неблагоприятных условиях и подготавливают ее к дальнейшей жизни в случае сохранения этих условий. По-видимому, переход клетки в глубокий покой (анабиоз) осуществляется тоже через состояние стресса. Знание "адаптивной" дозы важно для биотехнологических работ, так как при стрессе в клетке активируется синтез ряда ценных продуктов, например, витаминов. Консервация живых организмов замораживанием и лиофилизацией оказывается более успешной после их предварительного перевода в состояние стресса.

Представленную на рис. 20 схему многофазной реакции растительной клетки на нарастающее внешнее воздействие целесообразно сопоставить со стадиями стресса, предлагаемыми некоторыми физиологами. Мы имеем в виду тех из них, которые находят параллели между трехфазным ответом у высших животных (стадии тревоги, сопротивления и истощения), обнаруженным Г.Селье, и поведением растения (или клетки) при стрессе. Отметим, что такая классификация фаз реакции животного не является единственной. Например, И.А.Аршавский с соавторами (1987) предлагает различать физиологический и патологический стрессы. Первый характеризуется ростом напряженности организма, активацией анаболических процессов, повышением неспецифической резистентности и адаптационных возможностей, способностью организма сохранять гомеостаз. В условиях, выходящих за пределы физиологического стресса, развивается патологический: снижается общая резистентность, катаболические процессы преобладают над восстановительными, организм теряет энергетический резерв, устойчивость и надежность. Оба типа стресса являются многофазными реакциями.

В данной книге стрессом мы назвали только одну из фаз ответа клетки - стационарное устойчивое состояние, в которое она переключается при воздействии, превышающем границу толерантной зоны. На вооружение этот термин был взят еще в ту пору, когда он был сугубо научным и обозначал по замыслу Г.Селье неспецифичес-

кое приспособительное повышение устойчивости организма в ответ на всевозможные неблагоприятные воздействия. Перенос понятия, обозначающего поведение или состояние биосистемы, с одного иерархического уровня организации на другой не является криминальным действием. Говорят же о росте и дыхании, имея в виду как организмы, так и клетку. Важно, чтобы при этом был уточнен уровень организации системы. Конечно сумма признаков, наблюдаемых у более низко организованной системы, не может полностью объяснить всех событий, происходящих на более высоком уровне. Здесь действует принцип эмерджентности - несводимости свойств более высокоорганизованной системы к сумме свойств низко организованной. Иными словами, проявлениями стресса на уровне клетки нельзя полностью объяснить поведение популяции клеток в это время. Необходимы дополнительные специальные исследования с целью выявления характерных признаков этого *состояния* на уровне популяции. Однако общие свойства биосистемы должны проявляться: вероятно существование нескольких дискретных состояний, отличающихся устойчивостью, триггерные переходы между ними и гистерезис.

Итак, вставая на путь аналогий, за стадию тревоги можно принять неустойчивое состояние клетки, возникающее на границе толерантной области. Фаза сопротивления в таком случае соответствует состоянию повышенной резистентности - стрессу, а фаза истощения падает на второе неустойчивое состояние клетки, которое может завершиться летальным исходом. Параллели с учетом концепции И.А.Аршавского предполагают считать первый максимум чувствительности на дозовой кривой рис. 20 признаком физиологического стресса, а второй - патологического.

В заключение подчеркнем, что рассмотренная схема поведения клетки в широкой области экологических условий, как правило, не противоречит данным, полученным другими исследователями. Это как будто свидетельствует об общебиологическом значении предлагаемой версии дозовой зависимости реагирования клетки. Однако мы не сомневаемся, что дальнейшая разработка этого вопроса, выполнение проверочных экспериментов с позиции этих представлений должны принести немало новых и возможно неожиданных результатов. Поэтому предположение о мультистационарности живой клетки и значении триггерных переключений между состояниями в адаптационном про-

цессе и надежности следует рассматривать как рабочую гипотезу, подтверждение которой нуждается в постановке новых экспериментов.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Явление стресса у растительных организмов рассмотрено нами с позиций теории поведения сложных динамических систем. Основное внимание мы сосредоточили на анализе изменений структурно-динамических характеристик отдельных клеток. Желание провести такой анализ было связано с тем, что с нашей точки зрения в настоящее время в физиологии термин стресс используется неоправданно широко и часто весьма вольно.

Первоначально явление стресса, или неспецифического адаптационного синдрома, рассматривали как универсальную реакцию организма на воздействие факторов различной природы, которая способствует переживанию неблагоприятной окружающей ситуации. Однако теперь, когда говорят о стрессе, то как правило имеют в виду факт возникновения в живой системе чего-то "нехорошего". Появился даже неологизм "стрессустойчивость", для обеспечения которой, как считают, организм и клетка нуждаются в реализации энергетических и метаболических стресс-защитных механизмов. Стресс стал двуликим: он и жизненно необходимая защитно-приспособительная реакция и в то же время - проявление нежелательных изменений в живой системе. Поэтому возникает необходимость определиться: является ли стресс фазой адаптационного акта клетки, или, напротив, адаптационные изменения в ней направлены на защиту организма от стресса?

В практическом плане более четкая концепция стресса нужна физиологу для того, чтобы представить, какие перестройки на молекулярном, мембранном и клеточном уровнях целесообразно ис-



пользовать для ранжирования растений по устойчивости. При этом приходится решать, какие изменения на уровне клетки можно считать признаками стресса, а какие отражают ее нормальную физиологическую реакцию. Принципиальные трудности при разграничении функциональных и патологических процессов, а также специфических и неспецифических реакций в живой системе являются объективными.

Нам представлялось, что ситуацию можно прояснить, если уподобить функционирование живой клетки в экстремальных условиях поведению нелинейной (кооперативной) динамической системы. Такой подход должен помочь отысканию объективных критериев перехода клетки в стресс.

Теперь является общепризнанным, что все природные системы нелинейны, а линейность проявляется только при грубом анализе их поведения в ограниченной пространственно-временной области. Нелинейные системы характеризуются тем, что при определенных условиях реагируют непропорционально возмущающей силе (возможны и непредсказуемые ответы). Такие системы могут находиться в нескольких дискретных состояниях (устойчивых и неустойчивых), в них возникают колебательные режимы, они способны скачкообразно (кооперативно) переходить из одного состояния в другое, т.е. функционировать как триггер.

Концепция о возможности существования клетки в нескольких дискретных структурно-энергетических состояниях подробно проанализирована в широко известной монографии С.В. Конева с соавторами (1970). В ней продемонстрировано, что клетка как нелинейная система способна осуществлять "фазовые" (кооперативные) переходы между этими состояниями. Структурную основу таких генерализованных перестроек составляют надмолекулярные образования - биомембраны, представляющие в клетке непрерывную систему и обладающие достаточными кооперативными свойствами. Из-за неодинаковых структурно-функциональных свойств различных мембран в клетке может быть представлено большое число переходов с разной степенью генерализации, от строго ограниченной до распространяющейся на всю клетку.

Накопленные за последние годы данные о строении цитоскелета и его взаимосвязи с мембранным аппаратом клетки подтверждают основные положения концепции. Клетку можно считать механически до-

статочно жестким образованием, способным работать в триггерном режиме.

Приведенные в главе III дозовые зависимости реагирования клетки свидетельствуют о том, что число дискретных устойчивых состояний, в которых она может находиться, невелико. Состояние, при котором клетка за счет реактивных перестроек цитоскелетно-мембранной системы приобретает дополнительную устойчивость, мы назвали стрессом, поскольку по одному из определений стресс представляет активацию защитных сил организма на борьбу с заболеванием. Клеточный стресс вызывают воздействия, превышающие порог толерантности живой системы. Физиологический смысл пребывания клетки в этом состоянии в том, что, повысив на некоторое время свою резистентность, она может использовать это время на активацию предсуществующих, но медленно реализуемых ген-зависимых защитных механизмов. Переключение клетки в стресс является началом фенотипического адаптационного процесса (акклимации). Он контролируется геномом в том смысле, что процесс включает изменения на уровне транскрипции и трансляции. Но акклимация не связана непосредственно с наследованием возникших морфо-физиологических изменений.

Клетка как параметрически управляемая триггерная система переключается в новое устойчивое состояние (стресс) из неустойчивого (бифуркационного) состояния. В неустойчивом состоянии вырастают чувствительность клетки к различным возмущающим факторам и флуктуации ее динамических переменных (функциональных характеристик). Это - результат расстройств гомеостатических механизмов, поддерживающих стационарный режим жизнедеятельности клетки. Бифуркационный режим соответствует приобретению клеткой компетенции, способности реагировать на индукторы деления. Переход к пролиферации происходит под влиянием малых флуктуаций условий. Случайность последних, видимо, - одна из причин гетерогенности клеточной популяции.

Приближение клетки к бифуркационному состоянию может быть экспериментально обнаружено по возрастанию чувствительности клетки к тестовому воздействию и увеличению вариабельности откликов на него. В результате можно найти границу толерантной области организма и определить уровень воздействий, которые включают ответственные за закалывание клетки механизмы. Таким образом мы

получаем критерий для определения момента перехода клетки от одного адаптационного принципа обеспечения своей надежности — компенсации давления внешней среды гомеостатическими механизмами, к реализации другого, основанного на новых генных программах приспособительных перестроек. Объективность критерия состоит в том, что он не зависит ни от природы действующего агента, ни от регистрируемых характеристик клетки. Кроме того появляется новый подход к определению специфического в поведении клетки в экстремальных условиях, которому в физиологии устойчивости уделяют много места.

Выше мы обращали внимание на то, что практически трудно избежать субъективности в оценке степени специфичности воздействующего фактора и реакции живой системы. Специфические агенты вызывают как специфические, так и неспецифические ответы организма. Факторы общего действия также индуцируют оба типа ответов в зависимости от силы воздействия. Из сопоставления динамики поведения клетки под давлением внешней среды с изменением свойств триггерной системы (динамических переменных), вызываемых управляющим параметром, возникает критерий специфичности реагирования живой системы. В условиях сохранения устойчивого стационарного состояния (толерантная область) любая модификация свойств живой системы, выражающаяся в изменении соотношения контролируемых динамических переменных (измеряемых характеристик), является специфической. Неспецифическим ответом на факторы разной природы является сам акт переключения клетки — генерализованные (кооперативные) изменения большинства ее свойств при переходе в новое состояние (стресс или гибель клетки).

Используемые при математическом моделировании биологических процессов определения специфического (силового) и неспецифического (параметрического) механизмов переключения систем не могут быть уподоблены соответствующим понятиям в биологии.

Предполагая малое число рабочих режимов клетки, надо попытаться ответить на вопрос: почему это может быть так и как это положение совместимо с феноменом мультистационарности элементов клетки? Биохимики и физиологи считают, что митохондрии могут находиться в 4–5 структурно-функциональных состояниях, 2–3 режима активности выделяют у хлоропластов, вероятно, несколько состояний

характерно для субъединично построенных рибосом.

Необходимо признать, что поведение компартментов клетки, их переключение из одного дискретного состояния в другое синхронизированы и подчинены задачам, решаемым в каждый данный момент. Большое количество цитологических и биохимических данных свидетельствует о тесной взаимосвязи органоидов, о существовании точной во времени и пространстве регуляции этих взаимодействий на субклеточном и клеточном уровнях. Если бы элементы клетки были независимыми друг от друга, то клетка как ансамбль этих элементов могла бы иметь большое число состояний. При количестве элементов  $n$  число состояний было бы не менее  $2^n$  и можно было говорить о плавном изменении свойств клетки. Но поскольку это не так, то значит элементы не независимы. Небольшое число состояний биологически оправдано. Это согласуется с требованиями общей теории регулирования сложных систем. Поясним это положение на примере.

Телевизор имеет несколько программ (дискретных состояний). Управление им, т.е. выбор программы осуществляется одной ручкой, хотя на самом деле в это время изменяется функция (состояние) многих транзисторных элементов. Если бы настраивать нужно было каждый из  $n$  элементов специальной ручкой, то число переключений выросло бы до  $2^n$  и пользоваться таким прибором практически было бы невозможно. Отсюда следует, что для успешного регулирования системы необходимо небольшое число управляющих параметров. На формальном языке это звучит так: условием оперативного и эффективного контроля системы является *свертка информации*.

В случае с телевизором речь шла об его управлении извне. Перед клеткой несколько иная задача - самоуправление. Однако и в этом случае общие положения о свертке информации и небольшом числе управляющих параметров остаются в силе. Другими словами, число состояний системы должно соответствовать решаемым ею задачам. Если телевизор рассчитан на прием четырех программ, то количество переключаемых состояний - четыре плюс пятое - "выключено". Целевые задачи (программы) клетки можно сформулировать так: 1) накопление биомассы и размножение в благоприятных условиях; 2) переживание экстремальных ситуаций; 3) консервация генома в случае, если условия не совместимы с активной жизнедеятельностью. Адекватно этим задачам у клетки может быть четыре состояния: нормаль-

ное функционирование (отслеживаемое и контролируемое гомеостатическими механизмами); защитное состояние, отличающееся повышенной надежностью и пониженным уровнем метаболизма (стресс); а также состояние фактически полного, но обратимого торможения жизнедеятельности (анабиоз) и летальное (мертвое). Физиологи и биохимики выделяют еще режим максимальной работоспособности клетки (гипербиоз). Последний в соответствии с принципом работы триггерной системы скорее всего соответствует активности клетки вблизи бифуркационной области, т.е. на границе толерантной зоны.

Итак, стресс на клеточном уровне является одним из режимов функционирования клетки, переход на который представляет нормальный адаптивный рефлекторный акт. Если стресс – системное явление, то возникает вопрос, как он проявляется у биосистем, стоящих на более высоких ступенях биоиерархической лестницы, например, у популяции свободноживущих клеток или клеток в составе структурно организованной растительной ткани, в фитоценозе (совокупности популяций).

Если клетка обладает нелинейными свойствами и способна к кооперативным переходам, то логично ожидать проявление подобных свойств в более сложных системах. Возможность существования живых систем разной степени сложности в сходных по функциональной значимости состояниях вытекает из общих для системы целевых функций: активно жить, накапливать биомассу и преодолевать неблагоприятные условия должны и клетка, и популяция и фитоценоз, т.е. стресс, как форма переживания живой системой экстремальных ситуаций, должен иметь общебиологический смысл.

Ряд наблюдений показывает, что взаимодействие клеток в популяции может приводить к появлению дискретных пространственно-временных режимов. В составе тканей клетки образуют различные достаточно лабильные межклеточные контакты. Эти связи возникают и разрушаются в течение нескольких минут. Модификация одной клетки может распространяться на соседние (эффект дальнего действия). Совместное однотипное поведение клеток, видимо, осуществляют небольшое число регуляторных факторов, которые выполняют подобную функцию на уровне отдельной клетки. В популяции свободно живущих бактерий или водорослей контакты более слабые и достигаются путем выделения клетками в воду органических соединений. Кажущаяся не-

выгодной для отдельной клетки потеря метаболитов становится полезной для существования популяции. Примером важности межклеточных контактов в таких системах является феномен критического объема клеток при росте популяции и торможение последнего при переходе от логарифмической к стационарной фазе развития совокупности клеток.

Однако проявления стресса на клеточном и популяционном уровнях должны быть разными. Простое суммирование изменений свойств отдельных клеток и учет модификации взаимодействия между ними не может дать полной картины о стрессе у популяции.

Популяцию образуют организмы (клетки) одного вида. И даже если она фенотипически относительно однородна, то все равно состоит из гетерогенной смеси генотипов. Многие характеристики популяции нельзя уподобить отдельным свойствам клетки.

Клетки живут и умирают, а для популяции важно соотношение скоростей воспроизведения и отмирания ее членов. Устойчивость популяции к давлению внутренних и внешних факторов выше, чем у отдельных клеток. Даже отмирание значительной части особей еще не означает гибели всей популяции. Система может восстановиться (репопулировать) за счет небольшого числа клеток, оставшихся живыми после гибели основной массы клеток. Наконец, именно популяция является элементарной единицей приспособительной эволюции. Эволюционируют не особи (клетки), а их популяция. Отбор наиболее приспособленных осуществляется в интересах не одной особи, а всей популяции.

В растительном сообществе (фитоценозе) каждая популяция существует индивидуально. Они обладают разными жизненными стратегиями, но их объединяет зависимость от общих энергетических и питательных ресурсов. Эволюционный процесс состоит в том, что отдельные популяции приходят и уходят из фитоценоза.

В математических моделях, описывающих поведение клетки и популяции, для каждой из этих систем используют собственные (разные) динамические переменные и управляющие параметры. Напомним, что переходы клетки между устойчивыми состояниями (норма — стресс) передают изменения структурно-функциональных характеристик цитоскелетно-мембранного комплекса (динамические переменные). Параметром, переключающим режимы функционирования клетки,

является внутриклеточное вещество - посредник, транслирующее внешний сигнал внутрь клетки.

В качестве динамической переменной для характеристики состояния популяции выбирают численность клеток (биомасса системы). В условиях давления на популяцию внешних условий для описания ее поведения одной переменной, по-видимому, недостаточно, поскольку одновременно с сокращением объема популяции модифицируется ее генотипическая структура. Нужна еще одна переменная, отражающая генотипическое разнообразие популяции. Как управляющие параметры в модели используют коэффициенты размножения и гибели клеток. В зависимости от величины возмущающего воздействия роль каждого из параметров в регулировании состояния популяции меняется. В условиях совместимых с жизнедеятельностью клеток главным управляющим параметром является коэффициент размножения. При более сильном воздействии на популяцию происходит смена управляющего параметра, превалирующим становится коэффициент гибели клеток. Возмущающий фактор влияет на численность клеток теперь напрямую, без посредников. Вместе с уменьшением объема популяции изменяется ее генофонд: относительное разнообразие (гетерогенность) генотипического состава (концентрация генотипов) и устойчивость оставшейся части популяции.

Итак, какое же состояние популяции можно считать стрессом? У клетки это ее особое состояние повышенной резистентности, служащее первой фазой фенотипического приспособительного процесса. В результате стресса в фенотипе клетки проявляются признаки, заложенные в генотипе, пробуждаются (экспрессируются) "спящие" гены. Видимым изображением их деятельности являются: индукция синтеза адаптивных ферментов, модификации и др., т.е. ненаследуемые структурно-функциональные изменения. Молекулярный механизм появления последних был разработан Ф. Жакобом и Ж. Маном. Названные изменения возникают в клетке при уровне возмущающего воздействия, который соответствует первому максимуму чувствительности (и несколько выше) дозовой кривой реагирования живой системы (рис. 20). В этих условиях вероятность появления новых мутантных форм, изменение генофонда популяции крайне мала.

Для инициации эволюционных приспособительных изменений самой популяции на нее необходимо оказать такое давление, при

котором начнется элиминация из совокупности особей (клеток), имеющих комбинации генов неадекватные новым условиям внешней среды. Этот уровень селектирующего воздействия будет соответствовать уже второму максимуму чувствительности на дозовой кривой (см. рис. 20). Живая система при этом переходит в неустойчивое стационарное состояние (бифуркация), ее чувствительность к случайным воздействиям повышается. Неустойчивое состояние системы становится причиной ускоренной гибели части членов популяции и повышения частоты мутаций. В результате отбора численность популяции сокращается, она делается более резистентной по сравнению с родительской, ее генотипическая структура смещается по отношению к той, которая была в момент максимальной численности популяции. Затем в новых условиях происходит размножение имеющей измененный генофонд популяции, начинается следующая "волна жизни". С каждой новой "волной" популяция все дальше и дальше уходит от начального состояния (микроэволюционирует).

Если, однако, отбор на резистентность прекращается и исходные условия восстанавливаются, то "дикие" формы быстрее вытесняют приобретенную устойчивость совокупность организмов.

По-видимому, минимальную по численности переживающую популяцию, имеющую максимальную устойчивость и измененную генотипическую структуру следует считать находящейся в состоянии стресса. Благодаря ему популяция способна выжить в неблагоприятных условиях и трофический уровень экосистемы не будет разрушен. С позиции учения о микроэволюции (Тимофеев-Рессовский и др., 1977) стресс популяции можно рассматривать как начальную фазу элементарного эволюционного явления. Примером популяции в состоянии стресса является состояние той небольшой совокупности клеток (доли процента от начальной общей массы), которая образует "хвост" на дозовой кривой выживания биообъектов, подвергнутых повреждающему воздействию. Именно эти оставшиеся в живых клетки (они находятся в состоянии стресса), возобновят популяцию и станут началом новой "волны жизни". Популяция, выходя из состояния стресса, по логарифмическому закону нарастит свою численность до максимального уровня, скорость размножения клеток уменьшится, наступит фаза стационарного роста. Это нормальное жизнедеятельное состояние популяции — проявление клеточно-популяционного



гомеостаза. В тоже время на стационарной фазе роста популяции большая часть образующих ее клеток может находиться в состоянии стресса (клеточного): то есть иметь повышенную устойчивость и низкий темп деления. Из сказанного видно, что необходимо различать понятие стресса на клеточном и популяционном уровнях.

Очевидно, что для утверждения предлагаемой в книге концепции стресса у живых систем разной степени сложности необходимо еще собрать массу доказательств. Понимая это, при написании книги мы однако исходили из известной в разных областях интеллектуальной деятельности человека мудрости, что истина вначале никогда не выглядит правдоподобной. Поэтому, ради привлечения к концепции внимания, желая мобилизовать исследователей на ее проверку, мы сделали ее более "правдоподобной", чем она есть на данный момент. Будущее покажет, насколько мы были правы.

## Л И Т Е Р А Т У Р А

- Аверьянов А.А.* Генерация супероксидного радикала интактными корнями гороха // Физиолог. растений. 1985. Т. 32. С. 268-273.
- Александров В.Я.* Клетки, макромолекулы и температура. Л., Наука. 1975. 330 с.
- Александров В.Я.* Реактивность клеток и белки. Л., Наука. 1985. 318 с.
- Александров В.Я., Денко В.И., Ломажин А.Г.* Изменение во времени теплоустойчивости фототаксиса хлоропластов и движения цитоплазмы в растительных клетках после теплового шока // Физиолог. растений. 1990. Т. 37. Вып. 1. С. 133-141.
- Александров В.Я., Фельдман Н.Л.* Исследование реактивного повышения устойчивости клеток при действии нагрева // Ботан. журн. 1958. Т. 43. № 2. С. 194-213.
- Аршавский И.А., Немец М.Г., Рабинович Э.З.,* и др. Принцип доминанты в индивидуальном развитии и в детерминации особенностей преобразования гомеостаза и надежности в различные возрастные периоды (от антенатального до старческого) // В кн. Надежность и гомеостаз биологических систем. Киев, Наукова думка. 1988. С. 112-124.
- Батыгин Н.Ф.* Онтогенез высших растений. М., Агропромиздат. 1986. 100 с.
- Бауэр Э.С.* Теоретическая биология. Л., Изд-во ВИЭМ. 1935. 206 с.
- Белоусов Л.В.* Биологический морфогенез. М., Изд-во МГУ. 1987. 239 с.
- Биль Р.И.* Цитологические основы экологии растений. М., Мир. 1965. 464 с.
- Браун А.Д., Моженко Т.П.* Неспецифический адаптационный синдром клеточной системы. Л., Наука, 1987. 231 с.
- Буракова Е.Б., Алесенко А.В., Молочкина Е.И.,* и др. Биоканцерогены в лучевом поражении и злокачественном росте. М., Наука. 1975. 211 с.
- Буракова Е.Б., Артюлова Г.В., Пальмина Н.П., Молочкина Е.И.* Надежность системы регуляции клеточного метаболизма мембранами // В кн. Надежность клеток и тканей. Киев, Наукова думка. 1980. С. 34-41.
- Бычкова И.Б.* Динамика пострadiационной гибели биологических объектов. М., Атомиздат. 1970. 200 с.
- Веселова Т.В., Веселовский В.А., Власенко В.В.,* и др. Вариабельность как тест перехода клетки в состояние стресса в условиях интоксикации. // Физиолог. растений. 1990. Т. 37. Вып. 4. С. 733-738.
- Веселовский В.А., Веселова Т.В.* Люминесценция растений. М., Наука. 1990. 200 с.
- Виленчик М.И.* Эволюционный анализ молекулярно-генетических механизмов, определяющих продолжительность жизни биологических систем // В кн. Надежность клеток и тканей. Киев, Наукова думка. 1980. С. 141-148.

- Волков Е.И., Полежаев А.А. Плазматическая мембрана как мишень действия гипертермии // Успехи совр. биологии 1983. Т. 96. С. 353-365.
- Гельбрун Д. Динамика живой протоплазмы. М., Изд-во иностр. лит. 1957. 348 с.
- Генкель П.А. Физиология жаро- и засухоустойчивости растений. М., Наука. 1982. 278 с.
- Голдовский А.М. Анабиоз. Л. Наука. Ленингр. отд. 1981. 136 с.
- Гольдберг Э.Л., Ризни Д.Р., Уэст Б.Д. Хаос и фракталы в физиологии человека // В мире науки. 1990. N 4. С. 25-32.
- Гродзинский Д.М. Надежность растительных систем. Киев, Наукова думка. 1983. 368 с.
- Гродзинский Д.М., Корогодин В.И., Кутлашметов Ю.А. Принципы анализа надежности биологических систем // В кн. Надежность клеток и тканей. Киев, Наукова думка. 1980. С. 19-26.
- Гудков И.Н. Резервирование в меристемах растений // В кн. Надежность клеток и тканей. Киев, Наукова думка. 1980. С. 93-99.
- Гурвич А.Г. Теория биологического поля. М. 1944. 156 с.
- Джамусова Т.А. Тепловая контрактура и необратимая потеря возбудимости мышц в связи с теплоустойчивостью мышечной ткани // Теплоустойчивость клеток животных. М., Л., Наука. 1965. С. 61-69.
- Дроздов С.Н., Курец В.К., Титов А.Ф. Терморезистентность активно вегетирующих растений. Л., Наука. 1984. 167 с.
- Завадская И.Г., Антропова Т.А. О "парадоксальном" эффекте при действии высоких температур на листья некоторых высших растений // Цитология. 1979. Т. 21. N 1. С.46-56.
- Ивановича В.А., Мернич А.Б., Киселев О.И. Молекулярные шапероны, новые белки - новые функции. // Молекул. биол. 1991. Т. 25. N 4. С. 869-882.
- Инге-Вецломов С.Г. Неоднозначность матричных процессов как фактор адаптации // В кн. Системы надежности клетки. Киев, Наукова думка. 1977. С. 75-85.
- Календо Г.С. О возможности адаптационного синдрома - стресса на клеточном уровне и его роли в реакции клетки на облучение // Успехи совр. биологии. 1972. Т.73. С. 59-80.
- Карафолл Э., Пеннистон Д.Т. Кальциевый сигнал. // В мире науки. 1986. N 1 с. 28-38.
- Кефели В.И., Коф Э.М., Власов П.В., Кислич Е.Н. Природный ингибитор роста - абсцизовая кислота. М., Наука. 1989. 184 с.
- Кисляк И.М., Палеева Т.В. Два типа изменений температурной зависимости фотосинтеза в ответ на повышение температуры среды // Физиолог. растений. 1990. Т. 37. вып. 3 С.555-560.
- Конева С.В., Аксенцев С.Л., Черницкий Е.А. Кооперативные переходы белков в клетке. Минск, Наука и техника. 1970. 204 с.
- Кулаева О.Н., Микулович Т.П., Веселова Т.В. и др. Белки теплового шока и фотосинтетическая активность при длительном температурном воздействии // Докл. АН СССР. 1988. Т. 300, N 5. С. 1277-1279.
- Кутлашметов Ю.А. Методы испытания надежности биологических систем // В кн. Надежность клеток и тканей. Киев, Наукова думка. 1980. С. 26-33.
- Ларсер В. Экология растений. М., Мир. 1978. 384 с.
- Левич А.П. Понятие устойчивости в биологии. Математические аспекты // В кн. Человек и биосфера. Вып. 1. М., Изд-во МГУ. 1976. С. 138-174.

- Лузиков В.Н. О связи между стабильностью клеточных органелл и их функциональным состоянием // Биохимия. 1988. Т. 53. вып. 10. С. 1587-1599.
- Марселис Л. Роль симбиоза в эволюции клетки. М., Мир. 1983. 352 с.
- Мерзляк М.Н., Погосян С.И. Фотодеструкция пигментов и липидов в изолированных хлоропластах // Науч. докл. высш. шк. Биол. науки. 1986. N 3. С. 8-20.
- Папши Г. Физическая основа кодирования и надежность. В кн. На пути к теоретической биологии. Ш. Прологоменог. М., Мир. 1970. С. 71-91.
- Полубова Б.И., Конев В.В., Попов Г.А. Биофизические аспекты радиационного поражения биомембран. М., Энергоатомиздат 1990. 156 с.
- Пташине М. Переключение генов. Регуляция генной активности и факт Л. М., Мир. 1988. 160 с.
- Раслуссен Г. Циркуляция кальция и внутриклеточная передача внешних сигналов // В мире науки. 1989. N 12. С. 36-43.
- Родченко О.Н., Маричева Э.А., Акимова Г.П. Адаптация растущих клеток корня к пониженным температурам. Новосибирск, Наука СО. 1988. 150 с.
- Романовский Ю.М., Степанова Н.В., Чернавский Д.С. Математическая биофизика. М., Наука. 1984. С. 139-157.
- Северин С.Е. Избирательная регуляция клеточного метаболизма. XLV Баховские чтения. М., Наука. 1991. 62 с.
- Селье Г. На уровне целого организма. М., Наука. 1972. 122 с.
- Селыганова О.А. Энергетика дыхания растений в норме и при экологическом стрессе. XLVIII Тимирязевские чтения. Л., Наука. 1990. 73 с.
- Суданова К.М. Температурные адаптации у простейших. Л., Наука. 1968. 267 с.
- Тимофеев-Рессовский Н.В., Воронцов Н.Н., Яблоков А.В. Краткий очерк теории эволюции. М., Наука. 1977. 297 с.
- Удовенко Г.В. Солеустойчивость культурных растений. Л. Колос. 1977. 215 с.
- Уотсон Дж. (Watson J.) Молекулярная биология генов. М., Мир. 1967. 462 с.
- Урванцев Ю.А. Системный подход к проблеме устойчивости растений (адекватность и интерпретация регрессионных уравнений зависимости содержания пигментов в листьях фасоли от одновременного действия на нее засухи и NaCl) // Физиолог. растений. 1979. Т. 26, вып. 6. С. 1233-1244.
- Федоров В.И. Избыточность функционирующих структур - фундаментальный фактор надежности физиологических систем // Успехи совр. биологии. 1988. Т. 105. Вып. 2. С. 231-251
- Фрилан У.Дж. Физиология восприятия // В мире науки. 1991. N 4. С. 26-34.
- Хочочка П., Солепо Дж. Стратегия биохимической адаптации. М., Мир. 1977. 398 с.
- Ябров А.А. Неспецифическая устойчивость клеток к бактериальным токсинам. Понятие о клеточном стрессе // Цитология. 1967. Т. 9. С. 692-706.
- Albert F.G., Bennett L.W., Anderson A.I. Peroxidase associated with the root surface of *Phaseolus vulgaris* // Canad. J. Bot. 1986. Vol. 64. P. 573-578.

- Anderson L.E., Avron M.* Light modulation of enzyme activity in chloroplasts // *Plant Physiol.* 1976. Vol. 57. P. 209-213.
- Asada K., Takahashi M.* Production and scavenging of active oxygen in photosynthesis // In: *Topics in Photosynthesis*. Vol. 9. Photoinhibition. 1987. Kyle D.J., Osmond C.B., Arntzen C.J., eds. Elsevier. Amsterdam. P. 227-287.
- Aspinale D., Paleg L.G.*, Proline accumulation - physiological aspects // In: *Physiology and Biochemistry of Drought Resistance in Plant*. L.G. Paleg, D. Aspinale, eds. Academic Press. Sydney. 1981. 205 p.
- Basu R., Ghosh B.* Poliamines in various rice (*Oryza sativa*) genotypes with respect to sodium chloride salinity // *Physiol. Plant.* 1991. Vol. 82. N 4. P. 575-581.
- Bellomo G., Fulcieri R., Albano E.* et al.  $Ca^{2+}$ -dependent and independent mitochondrial damage in hepatocellular injury. // *Cell calcium*. 1991. Vol. 12. N 5. P. 335-341.
- Bisselle M.J., Hall H.G., Parry G.* How does the extracellular matrix direct gene expression // *J.Theor. Biol.* 1982. Vol. 99. P. 31-68.
- Braconn J., Davits R.W.* Rain, wind and touch-induced expression of calmodulin and calmodulin-related genes in *Arabidopsis* // *Cell*. 1990. Vol. 60. N 3. P. 357-364.
- Briskin D.P.*  $Ca^{2+}$ -Translocating ATPase of the plant plasma membrane // *Plant Physiol.* 1990. Vol. 94. P. 397-400.
- Charney C.P., Runeckles V.C.* The role of superoxide dismutase in the susceptibility of bean leaves to ozone injury // *Canad. J. Bot.* 1984. Vol. 62. P. 236-240.
- Coote P.J., Cole M.B., Jones M.V.* Induction of increased thermo-tolerance in *Saacharomyces cerevisiae* may be triggered by a mechanism involving intracellular pH. // *J. General Microbiology*. 1991. Vol. 137. N 7. P. 1701-1708.
- De Vos C.H.R., Schat H., De Waal M.A.M.* et al. Increased resistance to copper-induced damage of the root cell plasmalemma in copper tolerant *Silene cucubalus*. // *Physiol. plantarum*. 1991. Vol. 82. N 4. P. 523-528.
- Doke N.* Involvement of superoxide anion generation in the hypersensitive response of potato tuber to infection with an incompatible race of *Phytophthora infestans* and to the hyphal wall components // *Physiol. Plant Pathol.* 1983a. Vol. 23. P. 345-357.
- Doke N.* Generation of superoxide anion by potato tuber protoplasts during the hypersensitive response to hyphal wall components of *Phytophthora infestans* and specific inhibition of the reaction by suppressors of hypersensitivity // *Ibid.* 1983b. Vol. 23. P. 339-367.
- Donati Y.R.A., Slosman D.O., Polla B.S.* Oxidative injury and heat shock response // *Biochemical. Pharmacology* 1990. Vol. 40. N 12. P. 2571-2577.
- Elstner E.P., Heupel A.* Formation of hydrogen peroxide by isolated cell walls from horseradish (*Armoracia lapathifolia* Gilib. // *Planta*. 1976. Vol. 130. P. 175-180.
- Flores H.E., Galston A.W.* Osmotic stress-induced polyamine accumulation in cereal leaves. 1. Physiological parameters of the response // *Plant Physiol.* 1984. Vol. 75. N 1. P. 102-109.
- Gething M.J., Sambrook J.* Protein folding in the cell // *Nature*.

1992. Vol. 355. P. 33-45.

*Gillham D.J., Dodge A.D.* Chloroplast protection in greening leaves // *Physiol. plant.* 1985. Vol.65. P.393-396.

*Gillies S.L., Vidaver W.* Resistance to photodamage in evergreen conifers // *Physiol. Plantarum.* 1990. Vol. 80. N 1. P. 148-153.

*Katser W.M.* Effects of water deficit on photosynthetic capacity // *Physiol. plant.* 1987. Vol. 71. P. 142-149.

*Kanchanapoom M., Antognoni F., Pistocchi R., Bagni N.* Effect of auxins on spermidine uptake into carrot protoplasts // *Physiol. Plantarum.* 1991. Vol. 82. N 1. P. 19-23.

*Klosson R.J., Krause G.H.* Freezing injury in cold-acclimated and unhardened spinach leaves: I. Photosynthetic reactions of thylakoids isolated from frost-damaged leaves // *Planta.* 1981a. Vol. 151. P. 339-346.

*Klosson R.J., Krause G.H.* Freezing injury in cold-acclimated and unhardened spinach leaves: II. Effect of freezing on chlorophyll fluorescence and light scattering reaction // *Ibid.* 1981b. Vol. 151. P. 347-352.

*Krause G.H., Behrend U.* pH-dependent chlorophyll fluorescence quenching indicating a mechanism of protecting against photoinhibition of chloroplasts // *FEBS Lett.* 1986. Vol. 200. P. 298-302.

*Levitt J.* Responses of plants to environmental stresses. N.Y.; L.; Acad. press. 1972. 665 p.

*Levitt J.* Responses of plants to environmental stresses. Chilling, freezing and high temperature stresses. N.Y. Acad. Press. 1980. Vol. 1. 497 p.

*Lin C.-Y., Chen Y.-M., Key J.L* Solute leakage in soybean seedlings under various heat shock regimes // *Plant and Cell Physiol.* 1985. Vol. 26. P. 1493-1498.

*Lin C.-Y., Roberts J.K., Key J.L.* Acquisition of thermotolerance in soybean seedlings: Synthesis and accumulation of heat shock proteins and their cellular localization // *Plant Physiol.* 1984. Vol. 74. P. 152-160.

*Marme D.* The role of calcium in the cellular regulation of plant metabolism. // *Physiol. Veg.* 1985. Vol. 23. N 5. P. 945-953.

*Marshall J.S., De Rocher A.E., Keegstra K., Wierling E.* Identification of heat shock protein hsp 70 homologous in chloroplasts. // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1990. Vol. 87. N 1. P. 374-378.

*Marsho T.V., Behrens P.W., Radmer R.J.* Photosynthetic oxygen reduction in isolated intact chloroplasts and cells from spinach // *Plant Physiol.* 1979. Vol. 64. P. 656-659.

*Martin A.* Molecular analysis of the starvation in *Escherichia coli* // *FEMS Microbiology Ecology.* 1990. Vol. 74. N 2-3. P. 185-196.

*Matters G.L., Scandolotto J.G.* Synthesis of isozymes of superoxide dismutase in maize leaves in response to O<sub>3</sub>, SO<sub>2</sub> and elevated O<sub>2</sub> // *J. Experimental Bot.* 1987. Vol. 38. N 190. P. 842-852.

*Moll B.A., Steinback K.E.* Chilling sensitivity in *Oryza sativa*: the role of protein phosphorylation in protection against photoinhibition // *Plant Physiol.* 1986. Vol. 80. P. 420-423.

*Mooney H.A., Bjorkman O., Collatz G.J.* Photosynthetic acclima-

- tion to temperature in the desert shrub, *Larria divaricata*. 1. Carbon dioxide exchange characteristics of intact leaves // *Plant Physiol.* 1978. Vol. 61. P. 406-410.
- Nieto-Sotelo J., Ho T.-H.D. Absence of heat shock protein synthesis in isolated mitochondria and plastids from maize // *J. Biol. Chemistry.* 1987. Vol. 262. N 25. P. 12288-12292.
- Ono T.A., Murata N. Chilling susceptibility of the blue-green alga *Anacystis nidulans*: I Effect of growth temperature // *Plant Physiol.* 1981. Vol. 67. P. 176-181.
- Pallett K.E., Dodge A.D. Studies into the action of some photosynthetic inhibitor herbicides // *J. Exp. Bot.* 1980. Vol. 31. N 123. P. 1051-1066.
- Petolino J.F., Mulcht C.L., Aycock M.K.Jr. Leaf injury and peroxidase activity in ozone-stressed tobacco cultivars and hybrids // *Crop Sci.* 1983. Vol. 23. P. 1102.
- Porter K.R. The cytomatrix: a short history of its study // *J. Cell Biol.* 1984. Vol. 99. Suppl. 2. P. 3s-12s.
- Powles S.B., Osmond C.B., Thorne S.W. Photoinhibition of intact attached leaves of  $C_3$  plants illuminated in the absence of both carbon dioxide and of photorespiration // *Plant Physiol.* 1979. Vol. 64. P. 982-988.
- Ranjeva R., Graziana A., Ranty B. et al. Phosphorylation of proteins in plants: A step in the integration of extra and intercellular stimuli? // *Physiol. veg.* 1984. Vol. 22. N 3. P. 365-376.
- Robtson J.M., Smith M.G., Gibbs M. Influence of hydrogen peroxide upon carbon dioxide photoassimilation in the spinach chloroplast: I. Hydrogen peroxide generated by broken chloroplasts in an "intact" chloroplast preparation is a causal agent of the Warburg effect // *Plant Physiol.* 1980. Vol. 65. P. 755-759.
- Rogers K.M., Albert P., Anderson A.J. Lipid peroxidation is a consequence of elicitor activity // *Ibid.* 1988. Vol. 86. P. 547-553.
- Sakaki T., Kondo N., Sugahara K. Breakdown of photosynthetic pigments and lipids in spinach leaves with ozone fumigation: role of active oxygens // *Physiol. plant.* 1983. Vol. 59. P. 28-34.
- Schmidt A., Kunert K.J. Lipid peroxidation in higher plants. The role of glutathione reductase // *Plant Physiol.* 1986. Vol. 82. N 3. P. 700-702.
- Schobert B. Is there an osmotic regulatory mechanism in algae and higher plants? // *J. Theor. Biol.* 1977. Vol. 68. P. 17-26.
- Scott J.A. The role of cytoskeletal integrity in cellular transformation // *Ibid.* 1984. Vol. 106. N 2. P. 183-188.
- Shahak Y. Differential effect of thiol oxidants on the chloroplast  $H^+$ -ATPase in the light and in the dark // *J. Biol. Chem.* 1985. Vol. 260. P. 1459-1464.
- Sisson W.B., Caldwel M.N. Atmospheric ozone depletion: reduction of photosynthesis and growth of a sensitive higher plant exposed to enhanced UV-B radiation // *J. Exp. Bot.* 1977. Vol. 104. P. 691-705.
- Skowrya D., Georgopoulos C., Zylter M. The E. coli DNK gene product, the hsp 70 homolog, can reactivate heat-inactivated RNA polymerase in a ATP hydrolysis-dependent manner // *Cell.* 1990.

Vol. 62. P. 939-944.

*Sawinski P., Zaglomska B.* Photorespiration as a "Safety Valve" for the light phase of photosynthesis under unfavourable environmental conditions // *Bull. Pol. Acad. Sci. Biol. Sci.* 1984. Vol. 32. P. 43.

*Suss K.-H., Yordanov I.T.* Biosynthetic cause of in vivo acquired thermotolerance of photosynthetic light reaction and metabolic responses of chloroplasts to heat stress // *Plant Physiol.* 1986. Vol. 81. P. 192-199.

*Takahama U., Nishimura M.* Effects of electron donor and acceptors, electron transfer mediators, and superoxide dismutase on lipid peroxidation in illuminated chloroplast fragments // *Plant and Cell Physiol.* 1976. Vol. 17. P. 111-118.

*Tanaka K., Kondo N., Sugahara K.* Accumulation of hydrogen peroxide in chloroplasts of SO<sub>2</sub>-fumigated spinach leaves // *Plant and Cell Physiol.* 1982a. Vol. 23. P. 999-1007.

*Tanaka K., Otsubo T., Kondo N.* Participation of hydrogen peroxide in the inactivation of Calvin-cycle SH enzymes in SO<sub>2</sub> fumigated spinach leaves // *Plant and Cell Physiol.* 1982b. Vol. 23. P. 1009-1018.

*Tseng M.J., Li P.H.* Alteration of gene expression in potato (*Solanum commersonii*) during cold acclimation // *Physiol. Plant.* 1990. Vol. 78. N 4. P. 538-547.

*Valle E.M., Carrillo N., Vallejos R.H.* Functional sulfhydryl groups of ferredoxin-NADP-oxidoreductase // *Biochim. et biophys. acta.* 1982. Vol. 681. P. 412-418

*Wagenbreth D.* Ein paradoxer Hityeffekt bei Laubholzblättern. Tagungsber. Dtsch. Akad. Landwirtschaftswiss. Berlin. 1968. Bd. 100. S. 141-145.

*Wets E.* Reversible heat-inactivation of the Calvin cycle: A possible mechanism of the temperature regulation of photosynthesis // *Planta.* 1981. Vol. 151. P. 33-39.

*Wets E.* Short term acclimation of spinach to high temperatures. Effect on chlorophyll fluorescence at 293 and 77 Kelvin in intact leaves // *Plant Physiol.* 1984. Vol. 74. N 2. P. 402-407.

*Wise R.R., Naylor A.W.* Chilling-enhanced photooxidation: The peroxidative destruction of lipids during chilling injury to photosynthesis and ultrastructure // *Plant Physiol.* 1987a. Vol. 83. P. 272-277.

*Wise R.R., Naylor A.W.* Chilling-enhanced photooxidation: Evidence for the role of singlet oxygen and superoxide in the breakdown of pigment and endogenous antioxidants // *Ibid.* 1987b. Vol. 83. P. 278-282.



## О Г Л А В Л Е Н И Е

Введение . . . . .	3
Глава I. Формализация проблемы устойчивости растительных организмов . . . . .	9
Определение и задачи физиологии устойчивости растений . . . . .	9
Структурно-динамическая организация клетки . . . . .	14
Надежность биологических систем . . . . .	19
Адаптация и стресс . . . . .	25
Глава II. Элементы математического моделирования поведения биологических систем . . . . .	42
Стационарные состояния в биологических системах . . . . .	44
Устойчивость . . . . .	44
Нелинейность биологических систем . . . . .	48
Иерархия времен процессов в биологической системе . . . . .	49
Исследование дифференциальных уравнений с одной переменной, используемых для моделирования поведения биологических систем . . . . .	53
Система двух дифференциальных уравнений. Фазовый портрет системы . . . . .	62
Регулирование переходов системы из одного состояния в другое. Биологические триггеры . . . . .	68
Вариабельность . . . . .	75
Глава III Роль триггерного механизма в реакции клетки на экстремальные воздействия . . . . .	82
Гомеостаз и стресс - устойчивые стационарные состояния клетки . . . . .	82
Настройка, закалка и стресс . . . . .	95
Структурно-динамические характеристики клеточного триггера . . . . .	99
Переключение режимов функционирования клетки. Специфические и неспецифические реакции. Восстановление клетки после стресса. Гистерезис . . . . .	108
Зависимость реакции клетки от дозы. Парадоксальный эффект . . . . .	121
Заключение . . . . .	128
Список литературы . . . . .	138

Научное издание

Веселова Татьяна Владимировна, Веселовский Владимир Александрович, Чернавский Дмитрий Сергеевич

### СТРЕСС У РАСТЕНИЙ (БИОФИЗИЧЕСКИЙ ПОДХОД)

Зав. редакцией И.И.Шехура. Редактор О.В.Апентьева. М/К

Подписано в печать 7.06.93. Формат 60 x 90/16. Бумага тип. №2. Гарнитура литературная. Offsetная печать. Усл.печ.л. 9,0. Уч.-изд.л. 9,31. Тираж 500 экз. Заказ №7. Изд. № 1915.

Ордена "Знак Почета" издательство Московского университета. 103009, Москва, ул. Герцена, 5/7. Типография ордена "Знак Почета" изд-ва МГУ. 119899, Москва, Воробьевы горы.