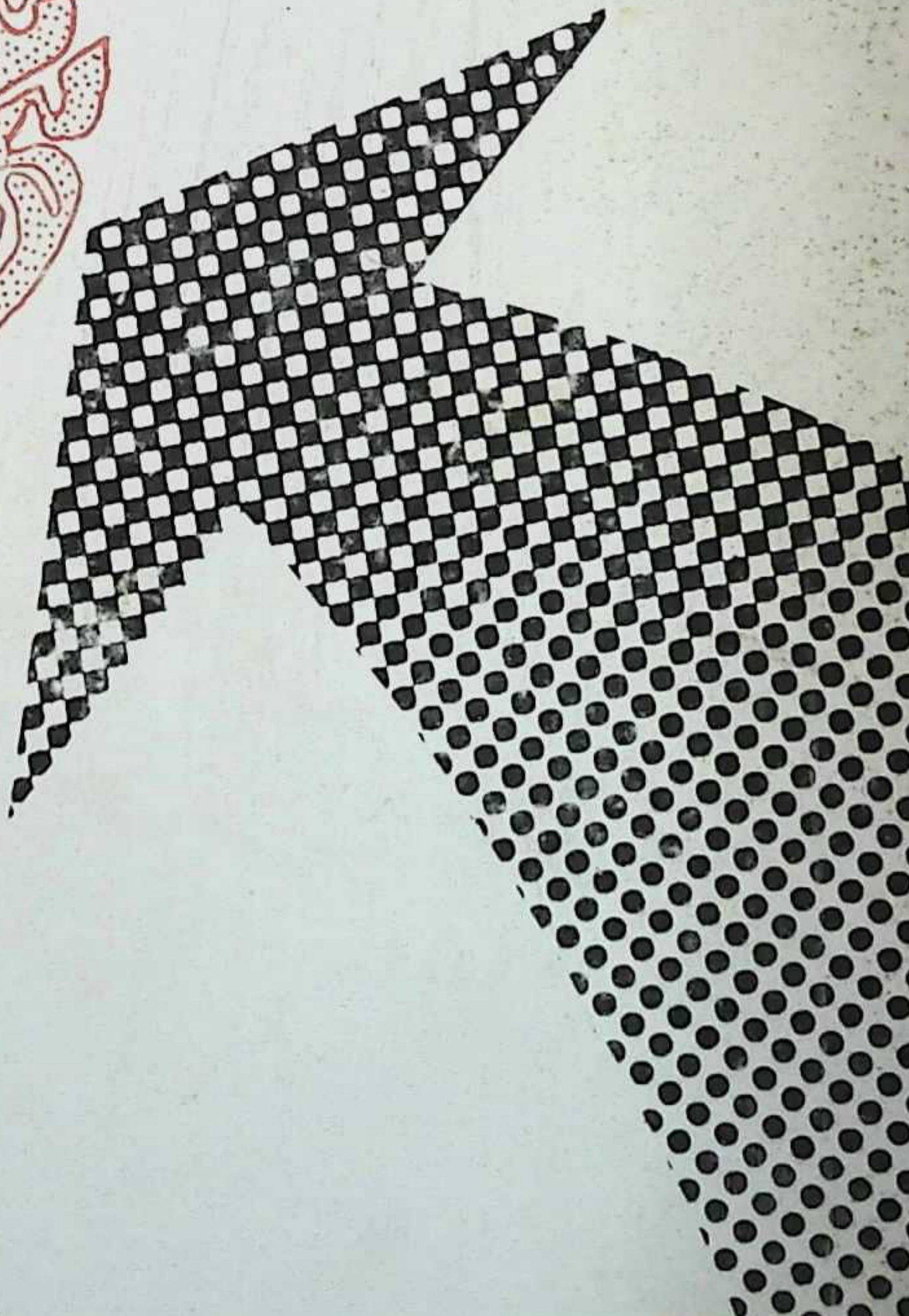
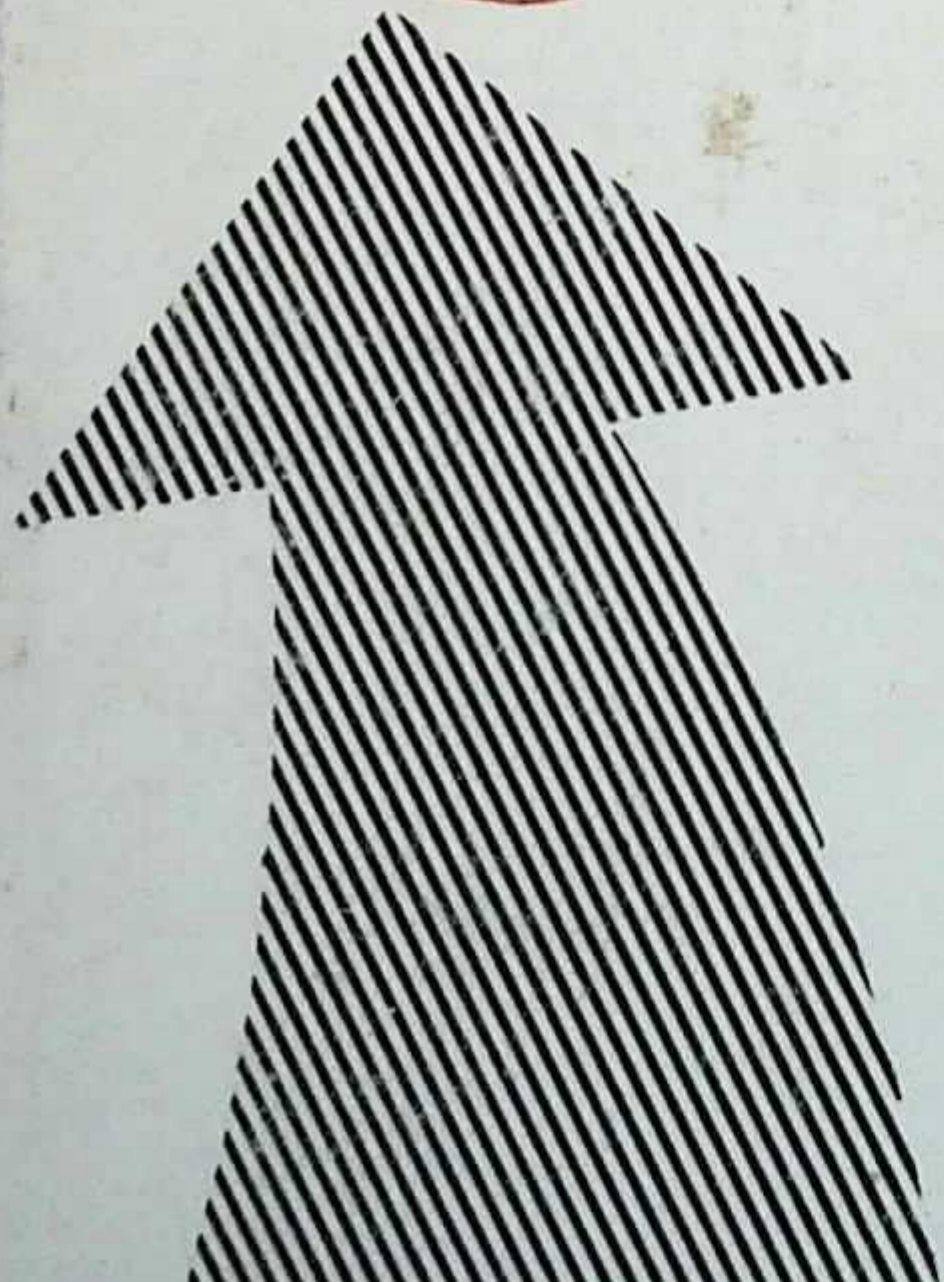


Б11-018

Б 895

А. Д. БРАУН, Т. П. МОЖЕНОК

**НЕСПЕЦИФИЧЕСКИЙ  
АДАПТАЦИОННЫЙ  
СИНДРОМ  
КЛЕТОЧНОЙ  
СИСТЕМЫ**



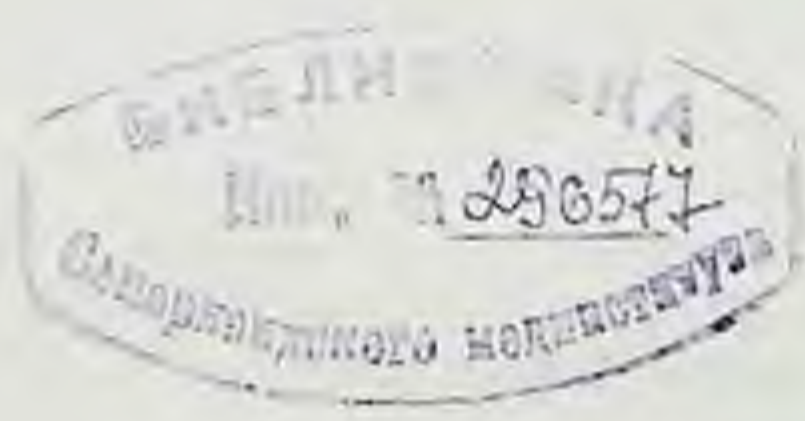
611-018  
Б 875

АКАДЕМИЯ НАУК СССР  
ИНСТИТУТ ЦИТОЛОГИИ

А. Д. БРАУН, Т. П. МОЖЕНОК

# НЕСПЕЦИФИЧЕСКИЙ АДАПТАЦИОННЫЙ СИНДРОМ КЛЕТОЧНОЙ СИСТЕМЫ

Ответственный редактор  
А. Б. КАУЛИН



ЛЕНИНГРАД  
ИЗДАТЕЛЬСТВО «НАУКА»  
ЛЕНИНГРАДСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ

1987

Браун А. Д., Моженок Т. П. Неспецифический адаптационный синдром клеточной системы. — Л.: Наука, 1987. — 232 с.

В книге обобщены результаты исследований морфологических, физико-химических и биохимических изменений клетки при воздействии на нее экстремальных факторов среды. Рассмотрены роль в этих изменениях цитоскелета и особенно его микрофиламентной (актиновой) составляющей, а также условия увеличения сопротивляемости клеток и пути репарации повреждения. Книга рассчитана на биологов широкого профиля, врачей и специалистов сельского хозяйства. Библиогр. 983 назв. Ил. 49. Табл. 16.

Рецензенты:

**В. М. БРЕСЛЕР, В. Ф. МАШАНСКИЙ**

## ОТ АВТОРОВ

В Ленинграде 30 лет назад (1 апреля 1957 г.) было основано новое научное учреждение Академии наук СССР — первый в СССР Институт цитологии.

Цитология (цитос — клетка, логос — учение) — наука о клетке. Клетка («дно жизни» — по выражению И. П. Павлова) — основа строения и функционирования всех животных и растительных организмов. Этим объясняется ключевое положение цитологии, которое она занимает в комплексе биологических наук. В наше время изучение многих вопросов почти каждой биологической дисциплины (гистологии, эмбриологии, физиологии, фармакологии и др.) нуждается в цитологическом анализе. Велико значение цитологии для решения актуальных задач медицины и сельского хозяйства. Такие проблемы, как заживление ран и злокачественный рост, механизмы стресса и иммунитета, наследственности и памяти, жаро- и морозоустойчивости растений и многие другие эффективно исследуются на клеточном уровне.

Институт цитологии был создан по инициативе чл.-кор. АН СССР Д. Н. Насонова, известного мировой науке своими исследованиями аппарата Гольджи, работами по повреждению и возбуждению клетки. Кроме выдающихся научных достижений, Д. Н. Насонову принадлежит заслуга создания самой крупной в СССР цитофизиологической школы. Его учеников и учеников его учеников можно встретить во многих учреждениях страны, в том числе и в Институте цитологии.

Один из авторов этой книги (А. Д. Браун) работает в Институте цитологии со дня его основания. Другой автор (Т. П. Моженок) пришла в Институт пятью годами позже.

А. Д. Браун вспоминает беседу с Д. Н. Насоновым, происходившую в связи с подготовкой плана будущих исследований. Д. Н. Насонов начинает разговор замечанием о важности выбора значительной темы: «Чем крупнее замысел, тем существеннее результат. Замечательным мастером по части выбора тем для исследований был великий И. П. Павлов. Знаете ли Вы зоолога N? Он посвятил годы изучению рисунка крыла бабочки. Работа, нечего сказать, грациозная, ювелирная, но по результатам незначительная». На вопрос

А. Д. Брауна: «Какую же, Дмитрий Николаевич, Вы рекомендовали бы избрать тему будущих исследований биохимической группы Института?» — Д. Н. Насонов ответил: «Центральный вопрос эволюции — адаптация, приспособление живого к среде. Смысл жизни — сохранение жизни. Ни один организм, самый примитивный и самый сложный, не мог бы выжить в условиях вечно меняющейся среды, не сумев приспособиться к ней. Эволюция и отобрала таких „умельцев“. Не поражает ли Вас, в каких суровых условиях способна сохраняться жизнь — при лишении кислорода, при высоких и низких температурах, при действии ядовитых веществ и т. д. Покажите же, как в таких трудных условиях в интересах сохранения жизни вводится жесткий режим жизнедеятельности, как многие протекающие в норме реакции блокируются и остаются самые необходимые, как включаются новые, необычные процессы. Покажите адаптивный характер того состояния, которое мы с В. Я. Александровым назвали паранекрозом. . .»

Идут годы. Давно уже нет Д. Н. Насонова (1895—1957). Ушел из жизни его ученик — чл.-кор. АН СССР А. С. Трошин (1912—1985), назначенный вскоре после смерти Д. Н. Насонова директором Института и проработавший в этой должности более 20 лет. А. С. Трошин был крупным ученым, сочетавшим любовь к науке с высокой гражданственностью, принципиальностью и нравственностью. Под его руководством Институт цитологии из небольшого коллектива, ютившегося в нескольких плохо оборудованных комнатах, превратился в ведущий центр страны по изучению клетки. Институт цитологии размещается ныне в прекрасном специально построенном здании. Лаборатории его оснащены всем необходимым для разработки самых сложных проблем цитологии. Ныне Институт вступает в четвертое десятилетие своего существования. Задачи его велики, возрос и научный его потенциал. Коллектив Института во многом обновился. Но до сих пор в нем бережно поддерживаются традиции, творческая атмосфера, исследовательская культура его создателей — Д. Н. Насонова и А. С. Трошина.

## ПРЕДИСЛОВИЕ

В этой книге обобщены результаты исследований авторов, их сотрудников и данные литературы, посвященные изучению общих механизмов реакций клеток на неблагоприятные воздействия среды.<sup>1</sup> Мы исходим из представления о том, что адаптация к условиям среды является важнейшим и характернейшим свойством живых систем любых уровней организации на всех этапах филогенеза. В процессе эволюции путем отбора клетки приобрели способность в неблагоприятных условиях переводить свой метаболизм на аварийный режим, при котором происходит сужение метаболической и функциональной активности клетки, но обеспечивается поддержание и сохранение жизни. Это достигается путем блокирования ряда процессов, функционирующих в норме, и, напротив, включения процессов, почти не функционирующих в нормальных условиях (аэробный гликолиз, синтез стрессовых белков).

В книге четыре части. В первой рассматривается значение исследований неспецифического адаптационного синдрома клеточной системы. Это словосочетание (заимствованное у Г. Селье) используется нами для обозначения состояния, возникающего у клеток при действии супероптимальных температур и аноксии, при увеличении или уменьшении содержания солей, при действии ядовитых веществ и т. д. Мы полагаем, что это обозначение точнее и полнее подчеркивает биологический смысл реакции клеток на действие неблагоприятных факторов, чем обычно употребляемые термины: «некробиоз», «паранекроз», «обратимая альтерация» и ряд других.

«Проблема повреждения клетки огромна по своему значению как для теории биологии, так и для человеческой практики», — пишет видный цитолог нашей страны В. Я. Александров (1985, с. 39).

У истоков проблемы стоит имя знаменитого немецкого ученого — Рудольфа Вирхова. Современные читатели знают Вирхова как автора «Целлюлярной патологии» — книги, обозначившей начало новой эпохи в медицине, но меньше или совсем не знают, что в этой книге содержатся первые и очень важные наблюдения о патологии самой клетки. Об этом нужно знать для правильной оценки вклада в изучение проблемы в дальнейшем.

Во второй части рассматриваются концепции неспецифического адаптационного синдрома. Однотипный набор его признаков, обнаруживаемых у клеток разного типа при переживании в различных неблагоприятных условиях, давно уже наводил на мысль о лежащем в основе изменений протоплазмы едином молекулярном механизме. Формирование теоретических концепций в этой области началось давно. Осознание того факта, что белок является главной составной частью протоплазмы и ему принадлежит активная роль в жизнедеятельности, произошло очень рано. Основная идея состояла в признании изменения белка как основы субстанциальных реакций протоплазмы при ее повреждении и умирании. Трудами В. В. Лепешкина, Л. В. Гейльбрунна, Э. С. Бауэра, Д. Н. Насонова, В. Я. Александрова внесен существенный вклад в расшифровку механизма адаптационного синдрома.

Следует подчеркнуть, что создание белковых концепций не является историей в том смысле, что они представляют собой памятники вчерашнего дня науки, что они в ходе поступательного развития науки оказались несостоятельными, были отвергнуты и уступили место новым идеям и концепциям. Нет, их жизнь в науке продолжается, они продолжают организовывать громадный практический материал, они стимулируют научный поиск, позволяют предвидеть новые явления и факты.<sup>2</sup>

В третьей части рассматриваются показатели адаптационного синдрома. Признаков этого состояния известно очень много: изменения светорассеяния протоплазмы и ее вязкости, выход веществ, увеличение сорбционной активности, нарушение сегрегационной функции, многообразные изменения метаболизма и т. д. С каждым годом эта симптоматика расширяется и дополняется новыми показателями. Естественно, что в этой книге наибольшее внимание уделено вопросам, в исследовании которых принимали участие мы и наши сотрудники.

Четвертая часть содержит материалы, относящиеся к актину — микрофиламентной части цитоскелета. В последние годы накапливаются данные, указывающие на участие цитоскелетных структур в осуществлении различных функций клетки. Особое внимание привлекают актиновые фибриллярные структуры, которые играют основную роль в двигательных реакциях клетки, в процессах внутриклеточного транспорта, в регуляции внутриклеточного метаболизма и в других процессах.

Среди показателей неспецифического адаптационного синдрома клеточной системы в первом ряду стоят так называемые коллоидные реакции. К ним относятся увеличение светорассеяния цитоплазмы и ядра, увеличение вязкости, желатинизация, коагуляция, что указывает на изменения клеточных коллоидов. Среди коллоидов клетки важнейшими по количеству и значению являются белки. Однако природа изменяющегося белка до сих пор не выяснена. По мнению В. В. Лепешкина, речь идет о неизвестном биохимикам белке «вита-иде», принципиально недоступном для исследования, так как этот гипотетический протеин обладает свойством взрывчатого вещества

и распадается при изолировании. Л. В. Гейльбруни уподобляет коллоидные реакции протоплазмы процессу свертывания крови, но в крови коагулирует фибриноген, составляющий 3—4 % от общего белка плазмы. Вопрос об эквиваленте фибриногена в протоплазме остается открытым. Коллоидные реакции протоплазмы, по представлениям Д. Н. Насонова и В. Я. Александрова, обусловлены денатурацией нативных белков. Но в клетке содержится более 1000 белков, все они нативны. Неопределенность представлений о природе изменяющегося белка является существенным пробелом всех белковых концепций.

Из цитоскелетных структур мы ограничиваемся описанием свойств актиновых филаментов. Как известно, в составе цитоскелета определяются три типа филаментов — микротрубочки, промежуточные филаменты и микрофиламенты. По всей вероятности, все эти три системы не являются независимыми друг от друга, но связь между ними неравноценна. Тесные взаимоотношения между микротрубочками и промежуточными филаментами доказаны рядом наблюдений. Система микрофиламентов в значительной степени автономна. Поэтому рассмотрение свойств и функций актиновых филаментов отдельно от других элементов цитоскелета представляется, на наш взгляд, вполне обоснованным.

Исследования последних лет показали, что экстракты, приготовленные из разрушенных клеток, желатинируют, причем основным субстратом образовавшегося геля являются актиновые филаменты и актинсвязывающие белки. По нашим данным, содержание Г-актина в клетках уменьшается при повреждении, а сохранение пула Г-актина способствует увеличению устойчивости клеток к повреждающим воздействиям. В мышечных клетках актин составляет 10—15 % от общего белка протоплазмы. Есть основания предполагать, что реакции актина (денатурация, полимеризация, реакции с актинсвязывающими белками) и являются недостающим звеном белковых теорий, а к уже известным функциям актиновых филаментов прибавляется еще одна — участие в формировании неспецифического адаптационного синдрома клеточной системы.

Хотелось бы обратить внимание на характер нашего изложения. Мы старались придать ему возможную простоту, так как книга адресована широкому читателю, в первую очередь врачам, интересующимся теоретическими проблемами. Стремительный научный прогресс сопровождается необъятной волной научной литературы. Многие в современных работах еще не проработано, излагается сложным, трудным для понимания языком. К тому же распространено убеждение, что чем суше и сложнее изложение, тем оно учнее. Это тормозит распространение знаний. На конференции Физиологического института им. А. А. Ухтомского академик К. М. Быков (1951), говоря о физиологических школах Н. Е. Введенского и И. П. Павлова, сказал: «Введенского и сейчас большинство не понимают по-настоящему отчасти потому, что Введенский писал труднее, чем Павлов». По-видимому, то же можно сказать и о Д. Н. Насонове: оказывается, и его не понимают по-настоящему, свидетельство



неблагоприятных условий. Тогда парабиоз вместе со всеми предшествующими стадиями стали называть парабиотическим (паранекротическим) процессом. Эта терминология вызывала нередко недоумение и неудовлетворение, так как по смыслу термины «парабиоз», «паранекроз», «некробиоз» характеризуют состояние, близкое к смерти, а предшествующие стадии (т. е. начальные стадии действия раздражителей), напротив, свидетельствуют об интенсификации метаболизма, о подъеме жизненной активности в данный период. Это признавали и авторы терминов. «Сейчас оба эти термина (парабиоз и паранекроз) нам представляются не очень удачными», — говорил Д. Н. Насонов (1951). Наши соображения по этому поводу приводятся ниже.

Метаболизм интактной клетки представляет сложную сеть большого числа ферментативных реакций, связанных и взаимодействующих между собой и внешней средой. Скорость и направленность всех реакций метаболизма точно скоординированы и обеспечивают столь характерное для обмена веществ сочетание устойчивости и подвижности. Скорость реакций увеличивается при повышении температуры окружающей среды и падает при ее понижении. Она резко (иногда в сотни и тысячи раз) увеличивается при осуществлении клеткой какой-либо деятельности и падает при переходе от активного состояния в состояние покоя. Такая согласованность в столь сложной и взаимосвязанной системе, как клетка, очевидно, возможна только благодаря весьма совершенной организации каталитического аппарата, с одной стороны, и не менее совершенного автоматически действующего механизма управления и регуляции — с другой. Естественно было бы предположить, что неблагоприятный фактор, вторгаясь в жестко организованную систему, легко дезорганизует и разрушает ее. Но этого не происходит. В самых суровых условиях (при аноксии, гипертермии, действии ядов и т. д.) живые системы проявляют изумительную способность к направленному приспособлению.

В начальный период действия неблагоприятного фактора, как показали наши исследования, изменения метаболизма в основных чертах сходны с изменениями при физиологическом возбуждении. В дальнейшем, при продолжающемся действии неблагоприятных факторов, изменения обмена направлены в наименее выгодную для данных условий сторону. Часть реакций блокируется, включается ряд процессов, не функционирующих или слабо функционирующих в норме (аэробный гликолиз, синтез стрессовых белков). Весь комплекс происходящих изменений свидетельствует об активном сопротивлении клеточной системы неблагоприятным условиям, о защитном характере реакций, направленных к сохранению жизненно важных центров. Вот почему для обозначения состояния клетки, возникающего при неблагоприятных условиях, мы предпочитаем пользоваться словосочетанием «неспецифический адаптационный синдром клеточной системы». Мы думаем, что это обозначение полнее и точнее отражает биологический смысл реакций клетки на действие неблагоприятных факторов, чем обычно употребляемые термины — «некробиоз», «паранекроз» и др.

Исследования адаптационного синдрома клеточной системы, его причин, симптомов, молекулярных механизмов относятся к фундаментальным проблемам цитологии. Интерес к этим проблемам вызван многими причинами. Его стимулируют прежде всего задачи практики.

В наше время все чаще встают вопросы о возможности жизни людей, животных и растений в условиях, необычных для нормального функционирования — при высоких и низких температурах и давлении, высоких ускорениях, при недостатке воды, кислорода, при высоком содержании солей и т. д. В связи с этим важно изучение реакций живых систем на действие экстремальных по интенсивности и характеру раздражителей, а также исследование условий, способствующих увеличению устойчивости клеток к неблагоприятным воздействиям, изыскание методов, ускоряющих восстановление измененных клеток.

Велико значение этой проблемы для медицины, ветеринарии, сельского хозяйства: после пионерских исследований Р. Вирхова и работ ряда последующих поколений цитологов, анатомов, гистологов, биохимиков, биофизиков выяснилось с определенностью, что адаптационный синдром представляет необходимое звено почти любого патологического процесса. Стало ясно, что для правильного диагноза, для контроля за эффективностью лечения и для профилактики болезней людей, животных и растений необходимо проведение исследований на клеточном и молекулярном уровнях. В этом направлении достигнуты крупные успехи. В наше время микроскоп стал необходимой принадлежностью клинических учреждений, ветеринарных служб и сельскохозяйственных лабораторий, а цитологические разработки приобретают все большее значение в их работе.

Интерес к проблемам адаптационного синдрома обусловлен далее открытием и введением в практику в последние годы большого числа новых физических, химических и биологических факторов, способных оказывать неблагоприятное действие на клетки. Таковы, например, лазерные излучения, вибрации, звуки большой мощности, громадное число новых препаратов, вырабатываемых химической и фармацевтической промышленностью, — ядохимикатов, красителей, моющих средств, лекарственных препаратов и т. д.<sup>4</sup> Изучение действия на клетку указанных агентов важно для установления доз, с которыми можно безопасно работать.

Исследование адаптационного синдрома клеточной системы привлекает внимание и с теоретической стороны. Подчеркнем, в частности, его отношение к проблеме раздражимости. Раздражимость (реактивность, возбудимость), т. е. способность реагировать на изменения среды, представляет одно из коренных свойств живой материи. Адаптационный синдром — это реакция клетки на действие раздражителей. Проявления раздражимости бесконечно разнообразны, как разнообразны сами клетки и действующие на них агенты. Однако в этих реакциях имеются и общие черты, обусловленные единством происхождения клеток, общностью их структуры и молекулярной организации, историей их развития. Вместе с тем анализ элементарных звеньев и принципов, лежащих в основе раздражимости,

представляет закономерный путь к исследованию более специализированных и сложных ее реакций. Таким образом, изучение адаптационного синдрома представляет существенный интерес для теоретической биологии, так как содержит данные для анализа одного из наиболее важных свойств живого состояния материи — раздражимости.

При адаптационном синдроме изменения свойств клетки проявляются в разнообразных изменениях морфологического, физиологического, физико-химического и биохимического характера. Наиболее демонстративны изменения функциональной активности клетки. Из морфологических, физико-химических и биохимических изменений (их принято называть субстанциальными, так как они относятся к материалу — субстанции клетки) наиболее известны увеличение светорассеяния цитоплазмы и ядра, увеличение вязкости, желатинизация, коагуляция, усиление способности связывать красители, нарушение сегрегационной функции, сдвиг активной реакции цитоплазмы в кислую сторону, выход веществ, нарушение сопряженности дыхания и фосфорилирования, усиление аэробного гликолиза, увеличение содержания свободных радикалов, синтез стрессовых белков и ряд других изменений.

В отличие от функциональных изменений, являющихся строго специфичными, субстанциальные изменения адаптационного синдрома не специфичны: они наблюдаются у любых клеток при действии разнообразных неблагоприятных факторов. Правда, единообразие субстанциальных показателей адаптационного синдрома не абсолютно. Здесь скорее всего следует говорить о сходстве явлений, чем о тождестве. Действительно, на фоне однотипных реакций обычно удается подметить черты частные, специфические. По-видимому, именно в этом сочетании общего (неспецифического) с частным (специфическим) заложена возможность специфического реагирования живых систем и развития этой способности в эволюции.

Для многих современных работ по адаптационному синдрому клеточной системы характерно сосредоточение внимания на исследовании частных его форм. Исследователи стремятся выявить особенность действия различных факторов, специфику реагирования различных клеточных типов. Стараются найти в картинах адаптационного синдрома то, что их отличает друг от друга, и не обращают внимания на то, что их объединяет. Между тем для изучения адаптационного синдрома очень важно наряду с изучением специфических его черт исследовать общие, т. е. неспецифические признаки реакции. В сущности наличие объединяющих признаков и дает повод для выделения самой проблемы адаптации клетки, позволяет говорить об адаптационном синдроме как об особом типическом состоянии клеточной системы.

Исследования адаптационного синдрома имеют глубокие корни в отечественной цитофизиологии. В области изучения изменений функциональных реакций при этом состоянии широко известны работы Н. Е. Введенского, А. А. Ухтомского. В разделе субстанциальных реакций наиболее значительны исследования В. В. Лепеш-

кина, Э. С. Бауэра, Д. Н. Насонова, В. Я. Александра, внесших важный вклад в расшифровку молекулярных основ реакций живых объектов на действие факторов среды. Эти работы, осуществленные еще на заре молекулярной биологии, явились прямыми предшественниками исследований, получивших в наше время широкий размах и развитие и утвердивших ведущую роль конформационных изменений биологических макромолекул при выполнении присущих им функций.

## Р. ВИРХОВ

У истоков проблемы неспецифического адаптационного синдрома клеточной системы стоит имя Рудольфа Вирхова.

Среди ученых нового времени трудно найти фигуру, равную Вирхову по разнообразию и размаху деятельности. В его лице соединились вместе врач, гистолог, патологоанатом, эпидемиолог, редактор, администратор, политик, археолог, антрополог. Примечательно, что в энциклопедическом словаре братьев А. и И. Гранат в статье «Вирхов» две трети текста посвящены описанию деятельности Вирхова как политика, и только несколько строк уделено его достижениям в науке. Но «большое видится на расстоянии».<sup>5</sup>

Сейчас, когда со дня рождения Вирхова прошло уже 166 лет, вполне ясно, что своим величием и славой он обязан не огненным речам на трибуне германского рейхстага, не участием в раскопках Трои, не описанием цвета волос германской расы. Человечество чтит Вирхова как великого биолога, как основоположника современной научной медицины.<sup>6</sup>

Рудольф Вирхов родился в 1821 г. После окончания школы он поступил в Медико-хирургический институт в Берлине. Среди профессоров Медико-хирургического института наибольшей популярностью пользовался профессор анатомии Иоганнес Мюллер — личность в высокой степени замечательная.<sup>7</sup> Его лекции привлекали многочисленную аудиторию. Он импонировал слушателям своим возрастом, своей биографией, своими энциклопедическими знаниями и даже своей внешностью.<sup>8</sup> «Всякий, кто был вблизи его, испытывал сознательно или бессознательно и каждый по-своему увлекающее влияние могучей личности. . .»<sup>9</sup>

Неудивительно, что юноша Вирхов восхищался своим учителем Мюллером, а суровый Мюллер, угадав в ученике талант исследователя, живой ум, бьющую ключом энергию и любовь к науке, обласкал его, приблизил к себе и пригласил работать в свою лабораторию. Это обстоятельство во многом определило судьбу Вирхова.

Круг научных интересов Мюллера был необычайно широк. В его лаборатории исследовали самые разнообразные вопросы — изучали состав желудочного сока, структуру опухолевой ткани, изменение роговицы глаза при воспалении и т. д. Соответственно решаемым задачам применяли и различные методы — физиологические, морфологические, химические. Особенное внимание Мюллер уделял микро-

скопическим исследованиям. За год до вступления Вирхова в лабораторию Мюллера в ней закончил работу Теодор Шванн, написавший книгу, прославившую его имя.<sup>10</sup>

Шванн исследовал микроскопическое строение тканей животных организмов и обнаружил, что все они состоят из клеток. За несколько лет до Шванна ботаник Маттиас Шлейден открыл клеточное строение растительных объектов. Результаты трудов Шлейдена и Шванна Фридрих Энгельс оценил как одно из трех великих открытий XIX в.<sup>11</sup>

В лаборатории Мюллера Вирхов научился пользоваться микроскопом и готовить препараты для микроскопирования. Здесь же он из первых рук познакомился с состоянием микроскопической анатомии того времени, с трудами выдающихся микроскопистов — Шлейдена, Шванна, Пуркине, Рейхерта, с волновавшими их проблемами.

В 1842 г. Вирхов окончил Медико-хирургический институт и получил место прозектора в одной из клиник Берлина. Воодушевленный прогрессивными идеями Мюллера и Шванна, он развернул бурную исследовательскую и организаторскую деятельность. Вокруг Вирхова образовался небольшой кружок молодых врачей — таких же, как он, энтузиастов и горячих сторонников научного прогресса.

После открытия клеточного строения всех организмов — животных и растений — естественно встал вопрос о механизме возникновения новых клеток. Шлейден предполагал, что клетки происходят из органического материала, содержащегося в клетках и окружающей их среде. Возникновение дрожжевых клеток Шлейден описывает следующим образом: «В соке из ягод, если его оставить стоять хотя бы сутки в спокойном месте, можно легко обнаружить большое число мелких зернышек. В дальнейшем число их увеличивается, они слипаются между собой и образуются клетки» (цит. по: Вермель, 1970, с. 74). В ткани, по представлениям Шлейдена, новые клетки образуются также из зерен, которые в обилии находятся в содержимом старых клеток. Когда клетка умирает, она распадается и из содержащихся в ней зерен формируются новые клетки. Шванн держался такого же взгляда. Впрочем, он допускал, что клетки могут возникать не только из зерен, но и из бесструктурного вещества, находящегося между клетками. Авторитет Шлейдена и Шванна был высок, к их мнению прислушивался ученый мир.

Вирхов выступил против этих наивных представлений, основанных на поверхностных наблюдениях. В серии тщательных исследований он убедительно показал, что новые клетки возникают из старых только путем их размножения. Этот результат Вирхов сформулировал в виде ставшего крылатым афоризма: «*Omnis cellula a cellulae*», т. е. «*Всякая клетка из клетки*». Это открытие Вирхова явилось крупнейшим вкладом в клеточную биологию. Этого одного открытия было бы достаточно, чтобы обессмертить имя Вирхова. Но это было только началом его пути в науке.

В обязанности прозектора входит вскрытие трупов умерших в больнице, описание состояния их органов, сопоставление результа-

тов вскрытия с клиническими данными и с симптомами болезни, наблюдавшимися при жизни больного. Вскрывая труп умершего от Брайтовой болезни (так в то время называли воспаление почек — нефрит) и рассматривая ткань почки под микроскопом, Вирхов заметил, что многие клетки почечных канальцев заметно отличались от клеток канальцев здоровой почки — они были мутные и увеличенные в объеме (набухшие). Естественно было предположить, что у мутных и набухших клеток нарушена их функция. Отсюда явилась мысль, что Брайтова болезнь возникает в результате патологических изменений клеток почечных канальцев. Теперь, вскрывая трупы, Вирхов каждый раз производил микроскопическое исследование органов и тканей и сопоставлял результаты микроскопирования с историей болезни. В большинстве случаев было обнаружено замечательное подтверждение мысли о связи между поражением клеток и болезненным процессом: при заболевании печени были найдены изменения в печеночных клетках, при заболевании легких — изменения в клетках легочной ткани и т. д.

Для того чтобы уяснить значение нового открытия Вирхова, нужно представить состояние медицины в середине прошлого столетия. Это было время глубокого застоя медицинской мысли. Как 100, 200 и более лет назад в медицинских институтах студентов — будущих врачей — обучали определять состояние сердца и легких по пульсу, учение о болезнях излагали на основе принципов гуморальной патологии, освященных авторитетом великих врачей древности (Гиппократ, Гален) и средневековья (Парацельс, Ван-Гельмонт).<sup>12</sup> Для уровня развития научных разработок того времени показательны работы современника Вирхова, видного ученого, профессора патологической анатомии Венского университета Карла Рокитанского (1804—1878). Труды Рокитанского оценивались как выдающиеся и новаторские. Считалось, что он внес крупнейший вклад в разработку гуморальной патологии. Новаторство Рокитанского состояло в его идее о том, что болезни возникают в результате воздействия на органы патологически измененной крови. Слово «состав, смесь» на греческом языке — краза. Таким образом, болезни, по мнению Рокитанского, являются дискразиями, т. е. последствиями нарушения нормального состава крови.

Результаты своих наблюдений и идею о поражениях клеток как основы болезненного процесса Вирхов изложил в ряде статей, которые разослал для опубликования в медицинские журналы. Но лица, возглавлявшие редакции, воспитанные в духе гуморальной патологии, отвергали его работы или требовали изменения текста. Тогда Вирхов решил организовать свой журнал. В 1847 г. вышел первый номер нового научного журнала, который получил название «Архив патологической анатомии, физиологии и клинической медицины». Одним из редакторов архива был Вирхов (ему тогда было 26 лет). В новом журнале поначалу печатались работы Вирхова и его сотрудников. Но вскоре под знамя Вирхова стали переходить многие молодые ученые — немецкие и зарубежные. «Вирховский Архив» (так теперь называется этот журнал) стал между-

народным научным органом. В настоящее время (1987 г.) вышел 414 том.

В 1858 г. Вирхов прочитал для практических врачей 20 лекций, в которых изложил свои взгляды на природу болезней. Лекции стенографировались, стенограмма сразу же сдавалась в печать, и осенью того же года вышла книга под названием «Целлюлярная патология» (Вирхов, 1866). «Едва ли можно назвать какое-нибудь другое сочинение, которое обозначило бы с такой отчетливостью начало новой эпохи в медицине — переход к новому учению о болезнях», — пишет Г. Герке в предисловии к факсимильному изданию «Целлюлярной патологии», вышедшему в 1971 г. Первое издание книги Вирхова быстро разошлось. Через год потребовалось второе издание. Переводы «Целлюлярной патологии» вышли во всех европейских странах, в том числе в России.<sup>13</sup> Триумф нового учения был полный и повсеместный. Врачи с энтузиазмом восприняли целлюлярную концепцию. Она избавляла их от тягостного, мистического тумана гуморальной патологии (в то время практически бесплодной) и давала им в руки новые эффективные средства диагностики.<sup>14</sup> Больницы, клиники, госпитали стали обзаводиться лабораториями, лаборатории — микроскопами. Микроскопический анализ ткани и органа стал важнейшим методом диагностики. В послевирховское время это направление получило громадное развитие.<sup>15</sup> Современные световые и флюоресцентные микроскопы дают увеличение до 2000—2500 раз, что позволяет открывать самые незначительные изменения клеток. Микроскопический анализ производят не только трупного материала, но и прижизненного, получаемого путем биопсии, т. е. срезов (соскобов) живой ткани.

Вирхов прожил долгую и деятельную жизнь. Им опубликовано около 1000 научных работ, посвященных характеристике и анализу многих патологических процессов. Для многих из них он предложил названия, ввел новые термины, сохраняющиеся до сих пор в современной медицине. Он был сторонником единства теории и практики. По его убеждению, врачебная практика должна представлять собой прикладную деятельность теоретической медицины. Необходимым условием для успешного развития науки он считал свободную мысль и свободную критику. По его словам, ничто так не вредит прогрессу медицинских знаний, как установившиеся взгляды, как влияние авторитетов.

Одно время Вирхова интересовали вопросы антропологии, и в результате появилось сочинение «О цвете волос, кожи, и глаз немцев». Занятия антропологией привели его к археологическим исследованиям. В 1874 г. он принимал участие в раскопках Трои, предпринятых археологом Шлиманом, и описал свои впечатления в работе «Развалины Трои» (есть русский перевод). Вирхов участвовал также в раскопках древних памятников на Кавказе, исследовал древности Боснии, Чехии, Венгрии, Прибалтийского края. Результаты своих исследований он опубликовал в книге «О древних могильниках и постройках на сваях» (есть русский перевод).

За научные заслуги Вирхов удостоился исключительных для

врача и ученого почестей. Его избрали членом Германской и почти всех иностранных Академий наук, в том числе и Российской (1881 г.). Его 60-, 70- и 80-летие отмечались как международные праздники науки. Вирхов посетил Россию в 1897 г. в качестве делегата Международного врачебного съезда, который состоялся в Москве. Умер Рудольф Вирхов в 1902 г.

На русском языке о жизни и трудах Вирхова можно прочитать в следующих работах: 1) «Вирхов», статья в Большой Советской Энциклопедии. М., 1971. Т. 5. С. 100; 2) «Вирхов», статья в Большой Медицинской Энциклопедии. М., 1976. Т. 4. С. 245—246; 3) *Вермель Е. М.* История учения о клетке. М., 1970. С. 86—91; 4) «Вирхов», статья в энциклопедическом словаре Брокгауза и Ефрона. СПб., 1892. Т. 12. С. 525—526; 5) «Вирхов», статья в энциклопедическом словаре «Т-ва бр. А. и И. Гранат и К<sup>о</sup>». М., 1913. Т. 10. С. 295—297; 6) *Малис Ю. Г. Р.* Вирхов. Жизнь замечательных людей. СПб., 1899. 97 с.

### Об альтерации клетки в «Целлюлярной патологии»

В словосочетании «Целлюлярная патология» два смысла: первый — роль клетки в патологии организма, второй — патология самой клетки.

Микроскопы, находившиеся в распоряжении Рудольфа Вирхова, давали увеличение в 300 раз. Вирхов в связи с этим писал: «Необходимо, чтобы наши воззрения двинулись настолько же вперед, насколько расширилась наша зрительная возможность с помощью микроскопа: вся медицина должна в 300 раз ближе подойти к интересующим ее процессам».

Книга Вирхова в основном посвящена исследованию роли клетки в патологии. Но в ней содержатся замечательные наблюдения и по патологии самой клетки. Читая «Целлюлярную патологию» сегодня, испытываешь чувство восхищения от ясности и свежести мысли, точности наблюдений и интуиции великого патолога.

Вирхов начинает с указания на то, что повреждение клетки возникает в результате действия на нее извне повреждающего агента. Такими агентами являются физические, химические и биологические факторы. В человеческой патологии это главным образом болезнетворные микробы, токсические вещества. Реакция клетки на действие повреждающего фактора многостадийна. В первой стадии клетка отвечает присущей ей функциональной реакцией. Мышечная клетка, например, реагирует сокращением. Если действие агента продолжительное или если интенсивность его велика, наступает вторая стадия. Она проявляется в помутнении клетки и увеличении ее объема, т. е. набухании. Вирхов называет эту стадию «нутривной» и предлагает для обозначения этого состояния термин «мутное набухание». Мутное набухание не зависит от типа клеток и рода повреждающего фактора. Оно возникает у любых клеток, под влиянием любого



фактора. Вирхов доказывал это экспериментально, подвергая роговицу только что убитого животного действию высокой температуры, щелочи, сулемы. Во всех случаях наблюдалось мутное набухание. В этой работе не подчеркивается неспецифический характер нутритивной реакции, но это именно то, на что постоянно обращают внимание более поздние исследователи. Далее замечательно соображение Вирхова о том, что нутритивная стадия, т. е. стадия мутного набухания, обратима: при удалении повреждающего агента клетка способна возвратиться в исходное, т. е. в нормальное, состояние, а «это очень важно для врача», — указывает Вирхов (1866, с. 50). При продолжающемся действии повреждающего фактора наступает третья стадия — необратимая. Она заканчивается гибелью клетки.

О химической природе помутнения протоплазмы Вирхов высказывается в соответствии с уровнем знаний своего времени. Он, как и его современники, был убежден в том, что в протоплазме, кроме белка, ничего существенного нет. По представлениям того времени, понятия «протоплазма» и «белок» совпадали. Поэтому помутнение протоплазмы Вирхов объясняет коагуляцией содержащегося в ней белка. Мимоходом он бросает мысль о родстве процессов свертывания протоплазмы и крови: как известно, коагуляция белка происходит при свертывании крови. Помутнение протоплазмы, по-видимому, аналогично этому процессу. Не следует ли отсюда, что свертываться может не только кровь, но и протоплазма?

В работах следующих поколений исследователей многие наблюдения Вирхова были подтверждены, многие мысли его подхвачены, но на автора этих наблюдений и мыслей, на творца «Целлюлярной патологии», не ссылаются. Таков удел классиков науки — их перестают цитировать.

Исследованиями Вирхова заканчивается первый период изучения целлюлярной патологии. Следующий период начинается после значительного интервала, спустя почти столетия. В этот большой промежуток времени уровень знаний в этой области практически не изменился.

Техника микроскопирования вирховского периода была примитивна. Ткань микроскопировали в свежем состоянии либо в самом начале посмертного изменения. Подготовка материала для микроскопирования состояла в расщипывании и раздавливании кусочка ткани. Недостатки такой техники очевидны. Она не позволяла создавать постоянные препараты, что затрудняло исследование и его проверку. О техническом уровне микроскопов того времени говорилось выше.

С 60-х годов XIX в. начинается стремительное совершенствование микроскопов и техники микроскопирования. В этой области были достигнуты крупные успехи. К началу XX в. фирма «Цейсс» выпускала микроскопы, достигшие предела разрешающей способности. В этот же период были открыты и введены в работу химические фиксаторы. Был сконструирован микротом, введена окраска препара-

тов. Описывая и оценивая эти достижения, З. С. Кацнельсон пишет: «На тончайших срезах, расцвеченных разнообразными красками, клетка предстала уже не комочком протоплазмы, а сложнейшей структурой. . . Развитие микроскопической техники способствовало расширению представлений о строении клетки, но увлечение микро-техникой привело к забвению живого объекта» (Кацнельсон, 1965, с. 28). Возврат к изучению живой клетки с использованием усовершенствованного микроскопа и начинается примерно с начала нашего столетия.

КОНЦЕПЦИИ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО АДАПТАЦИОННОГО  
СИНДРОМА КЛЕТОЧНОЙ СИСТЕМЫ

«ГЛАВНЫЙ ИНСТРУМЕНТ ПРОТОПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ ГАРМОНИИ»

Тот факт, что раздражители, различные по физической и химической природе, вызывают в клетках разного типа сходные изменения, естественно породил мысль, что в основе реакции живой протоплазмы лежит какой-то единый механизм.

Трудами нескольких поколений химиков, биологов, физиологов, среди которых знаменитые имена — Г. Мульдер, Ю. Либих, Э. Пфлюгер, К. Бернар, В. Кюне, А. Я. Данилевский, М. Ненцкий и др. — к концу XIX в. утвердилось убеждение, что белки являются главной составной частью протоплазмы не только по количеству, но и по значению, что все свойства живой протоплазмы связаны с содержащимися в ней белками.

В картинной форме эту мысль выразил основоположник отечественной биохимии А. Я. Данилевский: «Как инструменты, исполняющие главную модуляцию, суть главная часть оркестра, так белки ведут главный мотив протоплазматической гармонии» (1894, с. 12).

Непревзойденная по глубине характеристика значения белка в жизненном процессе принадлежит Фридриху Энгельсу, чутко отразившему в своих известных работах «Анти-Дюринг» и «Диалектика природы» достижения наук своего времени.

Наглядной иллюстрацией царившего в то время убеждения о тесной связи белка с жизненными процессами служит реплика Э. Геккеля, обращенная на заседании немецкого общества естествоиспытателей к докладчику, Э. Фишеру: «Wenn ihr, Chemiker, das richtige Eiweiss macht, dann krabbelt's!» («Если вы, химики, изготовите настоящий белок, то он зашевелится!»).

Идея о белке как о ведущей составной части протоплазмы стимулировала экспериментальные исследования. Казалась реальной возможность обнаружить в белковом препарате какие-то свойства, присущие живой протоплазме. В этом направлении предпринимались эксперименты, результаты которых в ряде случаев были обнадеживающими. Так, сотрудник Клода Бернара В. Кюне выделил белки (миозин) из скелетных мышц млекопитающих и птиц и нашел, что белковые препараты коагулируют при той же температуре, при которой окоченевают мышцы этих животных.

При повреждении и умирании живых объектов они утрачивают свои «живые» свойства, в частности раздражимость, т. е. способность специфически реагировать на изменения внешней среды. Если свойства протоплазмы определяются ее белками, то, очевидно, при повреждении и умирании белки протоплазмы изменяются. Следовательно, белки живой и мертвой протоплазмы чем-то отличаются друг от друга. Так возникла идея о «живом» и «мертвом» белке, породившая многочисленные исследования и оказавшая решающее влияние как на формирование последующих представлений о нативных и денатурированных белках, так и на практику их исследования.

Последняя треть XIX в. ознаменована становлением и стремительным развитием новой отрасли химии — химии коллоидов. Белки как типичные коллоиды наряду с гуммиарабиком, мылами, металлическими гидрозолями сразу же стали объектами исследования нового направления. Из белков чаще других изучали желатин как объект, более других доступный и относительно стандартный. Реакции осаждения белков были признаны образцовыми коллоидными феноменами и трактовались в духе и терминах коллоидной химии. На первых порах казалось, что природа этих реакций ничем не отличается от аналогичных реакций гуммиарабика или мыла и вполне исчерпывается изменением гидратации частиц, утратой заряда и другими фактами устойчивости золя. Новизна подхода, простота и наглядность коллоидных экспериментов обладали неотразимым очарованием. Неудивительно, что чисто коллоидная трактовка процессов коагуляции белков длительное время исключала любую возможность иного подхода к этому вопросу.

Коллоидная трактовка процесса коагуляции белка с доверием и подъемом была воспринята цитологами. В начале нашего века было опубликовано большое число микроскопических наблюдений живых клеток и их изменений под влиянием различных агентов — повышенной температуры, кислот, электролитов, солей тяжелых металлов, наркотиков и т. д. В большинстве случаев наблюдали и описывали появление в цитоплазме и ядре помутнения, осадков, видимых структур. Эти изменения объясняли реакциями клеточных коллоидов, а для обозначения их использовали термины коллоидной химии: желатинирование (*gelation*), дисперсная фаза (*dispersen Phase*), отмешивание (*Entmischung*), лиофильные системы (*lyophiles system*) и т. д. Увлечение коллоидной химией иллюстрируют названия многих сочинений того времени: *Kolloidchemie des Protoplasmas* (Lepeschkin, 1924), *The colloid chemistry of Protoplasm* (Heilbrunn, 1928), *The behavior of protoplasm as a colloidal complex* (Lloid, 1915), *Der Erythrocyt als kolloidchemisches System* (Konikoff, 1926), *Die Pflanze als colloides System* (Boas, 1928) и др.

## «ВЗРЫВЧАТОЕ ВЕЩЕСТВО» ПРОТОПЛАЗМЫ

В начале нашего века в научной литературе появилось новое имя — В. В. Лепешкин, преподаватель кафедры физиологии растений Казанского университета. С первых же шагов русский исследователь привлек к себе внимание отчетливостью мысли, глубоким знанием предмета и новаторским подходом к изучению труднейшей проблемы биологии — строения протоплазмы. Уже первым исследователям было известно, что живая протоплазма не смешивается ни с водой, ни с водными растворами. Если клетку, находящуюся в воде или в водном растворе, разрезать на части, то последние сразу же округляются и остаются в форме шариков. Протоплазма не только не растворяется в воде, но в состоянии и поглотить воду в ограниченном количестве. Отсюда, по соображению Лепешкина (Lepeschkin, 1937), следует, что нельзя рассматривать протоплазму как раствор коллоидов в воде, напротив, коллоиды протоплазмы являются растворителями воды.

Лепешкин был хорошо знаком с историей исследований протоплазмы. Он помнил идею Э. Пфлюгера о взрывчатом характере «живого белка», был осведомлен о дальнейшей судьбе этой идеи, обраставшей несущественными деталями в работах В. Детмера, О. Лева и М. Ферворна. Последний отказался от казавшегося ему бессодержательным словосочетания «живой белок» и предложил «взрывчатую» субстанцию протоплазмы именовать «биоеном». Как любое взрывчатое вещество (например, нитроглицерин) при приложении к нему разнородных химических и физических воздействий разлетается на одни и те же составные части, так и «взрывчатка» протоплазмы, «биоен», распадается на одни и те же компоненты под влиянием разнородных раздражителей. Этим и объясняется, по мнению М. Ферворна (Vergworn, 1903), неспецифический, стереотипный ответ на разнохарактерные внешние воздействия.

Какова же химическая природа «биоена»? Лепешкин (Lepeschkin, 1937) внимательно изучил данные биохимии о составе животных и растительных тканей. Бросается в глаза преобладание в составе живого субстрата двух компонентов — белков и липидов. Исполняя завет М. В. Ломоносова о необходимости для ученого соединять «далековатые идеи», Лепешкин обращается к работам по биохимии, физической и коллоидной химии. Его не мог не поразить тот факт, что реактивы, легко открывающие присутствие следов белка и липидов *in vitro*, отказывают при исследовании живой клетки. Клетки, извлеченные из только что убитого животного, не дают реакции на белок и липиды. Не указывает ли это на то, что в живой протоплазме нет ни свободных белков, ни свободных липидов. Скорее всего они находятся в соединении друг с другом. Лепешкин не проходит и мимо результатов исследований физикохимиков. Он подробно излагает содержание работы известного в то время физикохимика Х. Беххольда (Bechhold, 1907). По данным Беххольда, краситель

(метиленовый синий) легко проходит через мембрану из коллодия. Если же к раствору красителя прибавить белок, то фильтрат оказывается бесцветным. Ясно, что белок соединяется с красителем и удерживает его. Липиды также хорошо связывают красители. Они извлекают их из водных и неводных растворов. Таким образом, белок и липиды в свободном состоянии соединяются с красителями и окрашиваются ими. Протоплазма же (в которой содержатся и белки и липиды) красителей не связывает. Не указывает ли это, что в живом субстрате нет ни свободных белков, ни свободных липидов. Далее выясняется, что при повреждении клетки и особенно после смерти клетка активно связывает краситель. Отсюда следует, что при повреждении и смерти клетки комплекс белок-липид распадается. Далее Лепешкин указывает, что повреждение протоплазмы (если судить об этом по увеличению способности ее связывать краситель) может быть вызвано действием раздражителей, нередко весьма незначительных по интенсивности. Следовательно, внутриклеточный комплекс белок-липид представляет на редкость неустойчивое соединение и вполне правомерно его сравнение с взрывчатым веществом. Одна из статей В. В. Лепешкина так и называется: «Механическая коагуляция живой материи и аналогия между основным состоянием ее и взрывчатыми веществами» (Lepeschkin, 1927).

Освобождением в результате распада взрывчатого липопротеинового комплекса его компонентов — белка и липида — объясняются все известные свойства поврежденной протоплазмы:

1) способность цитоплазмы и ядра связывать краситель является следствием увеличения химической активности свободных липидов и белка, у которых обнажаются ранее скрытые реакционные центры;

2) увеличение светорассеяния цитоплазмы и ядра поврежденной клетки происходит в результате, с одной стороны, нерастворимости липидов в воде, а с другой — образования нерастворимых надмолекулярных комплексов в результате белок-белок взаимодействий;

3) те же причины лежат в основе явления липофанероза (образование липидных капелек при повреждении некоторых видов клеток), увеличения вязкости протоплазмы, желатинизации, коагуляции;

4) легко объясняется и сдвиг рН поврежденной протоплазмы в кислую сторону; изоточка лецитина — около 2—3, в комплексе с белком кислотность лецитина резко снижается, при освобождении увеличивается.

По принятой в биохимии классификации комплекс белок-липид относится к протеидам. Этот протеид существует, однако, только в живой клетке (при повреждении и смерти клетки он распадается). Поэтому Лепешкин (Lepeschkin, 1937) предлагает называть его «витапротеидом» или сокращенно «витаидом».

Одним из дополнительных доказательств существования в клетке лабильного, сходного с взрывчатым веществом витаида, является освобождение при его распаде тепла. Лепешкин приводит данные измерения термического эффекта при отравлении дрожжевых клеток сулемой и хлороформом. В одном из опытов было использовано 80 г

прессованных дрожжей. Процент поврежденных клеток определялся путем окраски клеток метиленовым синим. При действии сулемы подъем температуры составил  $0.073^{\circ}\text{C}$ , при действии хлороформа —  $0.035^{\circ}\text{C}$ . На основании этих данных был произведен расчет «теплоты умирания». При отравлении сулемой эта величина оказалась равной приблизительно 2 кал (8.36 Дж) на 1 г сухого вещества клеток, при отравлении хлороформом 1.6 кал (6.69 Дж) на 1 г. В другом опыте использовались эритроциты быка. Отравление клеток производилось сулемой. «Теплота умирания» оказалась в этом случае равной 2 кал на 1 г сухого вещества клеток. По мнению Лепешкина, эти данные указывают на существование в эритроцитах комплекса гемоглобина с липидами.

Параллельно с освобождением тепла при повреждении и умирании клеток Лепешкин (Lepeschkin, 1937) открыл сопутствующее этим состояниям слабое ультрафиолетовое излучение. Новый вид лучей он предложил назвать «некробиотическими лучами». Для регистрации некробиотических лучей были использованы разные приемы. Один из них состоял в следующем. В клеточную суспензию дрожжей или эритроцитов вводилась кварцевая трубка, содержащая бромистое серебро; затем клетки убивались введением яда (спирта, эфира). Было показано, что при этом количество восстановленного серебра значительно увеличилось. Некробиотические лучи проходят через кварц. Длина их волн лежит в области 180—230 нм.<sup>16</sup>

Научная деятельность Лепешкина продолжалась не менее полувека. Это был инициативный, высокоэрудированный и продуктивный исследователь. Он автор двух содержательных монографий и не менее полусотни статей, опубликованных в ведущих европейских журналах.

Ни один результат экспериментов Лепешкина не был признан недостоверным, ни один из его теоретических выводов не был опровергнут. Вместе с тем научное его творчество не было ни оценено, ни охарактеризовано. Книги его не были переведены на русский язык. До сих пор у нас нет биографии этого даровитого исследователя.

### Л. В. ГЕЙЛЬБРУНН

Видный американский ученый-физиолог Льюис Виктор Гейльбрунн родился 24 января 1892 г. в Бруклине (Нью-Йорк). Он учился в Корнеллском университете, который закончил в 1914 г. В том же году под руководством Ф. Р. Лилли он получил звание доктора философии.

С началом первой мировой войны Гейльбрунна призвали в армию, он был военным летчиком, имел боевые награды. После демобилизации его назначили ассистентом профессора зоологии Мичиганского университета. В 1927 г. Гейльбрунн выехал в Европу в годичную командировку, работал в Институте физической химии в Берлине, в Институте физиологии растений в Граце и на биологической

станции в Неаполе. Вернувшись на родину, Гейльбрунн был назначен в Отдел зоологии университета Пенсильвании, где проработал 30 лет, т. е. до конца жизни. В университете Гейльбрунн читал курс лекций по общей физиологии для биологов и медиков. Под руководством Гейльбрунна свыше 50 молодых ученых получили докторские степени, многие из них стали известными учеными.

Исследовательские интересы Гейльбрунна были обширны, но главной темой его работ являлось изучение свойств и функций протоплазмы. Он начал свою научную деятельность в период, когда было распространено убеждение, что протоплазма представляет собой коллоидный раствор и что свойства протоплазмы целесообразно изучать, исследуя свойства простых коллоидных растворов, в частности, растворов желатина. Гейльбрунн выступил с резкой критикой подобного моделирования. Он показал, что свойства любых моделей весьма далеки от свойств живой протоплазмы: «Если быть коллоидной химии протоплазмы, то она должна изучаться на самой живой протоплазме» (Heilbrunn, 1928, с. 8). Реализуя эту мысль, он выполнил большое число работ, в которых изучал вязкость протоплазмы при различных физиологических процессах и при воздействии на клетку различных физических и химических агентов. Полученные данные позволили ему утверждать, что содержимое интактной, находящейся в покое клетки, за исключением поверхностного более плотного слоя, находится в жидком состоянии. При действии на клетку раздражителей вязкость протоплазмы обратимо увеличивается, что свидетельствует об обратимой коагуляции ее белков.

Важнейшим достижением Гейльбрунна было открытие им роли  $Ca^{2+}$  в инициации ответных реакций клетки на внешние воздействия. Это открытие представляет собой одно из наиболее выдающихся достижений цитофизиологии последних лет. К открытию триггерной роли  $Ca^{2+}$  в процессах возбуждения и повреждения Гейльбрунн пришел, воодушевленный догадкой о сходстве процессов коагуляции протоплазмы и свертывания крови. При местном повреждении клетки капелька протоплазмы выходит из клетки и свертывается так же, как свертывается кровь при выходе ее из поврежденного кровеносного сосуда. Защитное значение обоих процессов представляется несомненным. Их связь в эволюционном плане весьма вероятна. Отсюда и возникла мысль о сходстве молекулярных механизмов обоих процессов. Роль  $Ca^{2+}$  в свертывании крови была установлена А. А. Шмидтом еще в 90-х годах прошлого века. Отсюда и родилась мысль о возможной роли  $Ca^{2+}$  в коагуляции протоплазмы. Свои идеи и экспериментальные данные Гейльбрунн опубликовал во многих статьях и нескольких монографиях. Итоги своих исследований он подвел в книге «Динамика живой протоплазмы», опубликованной в 1956 г. (есть русский перевод — Гейльбрунн, 1957), явившейся, по словам автора, самой значительной его работой. В этой замечательной книге, помимо обширного экспериментального материала, читатель находит размышления автора, продиктованные его богатым научным и жизненным опытом.



Вот, например, замечание по поводу роли в науке идей и экспериментальных данных: «Простое собирание данных, как бы точно они ни были получены, далеко не всегда представляет большую ценность. Существенное значение имеет ясная оценка и понимание стоящих перед нами проблем». Или еще: «Одна аппаратура, как бы она ни была дорога и сложна, не заменит мысли и воображения» (Гейльбрунн, 1957, с. 305). Гейльбрунн сходится с Д. Н. Насоновым в отрицательной оценке нарастающей специализации современной науки и в представлении о все более важной роли теории и обобщения: «В нашу эпоху специализации наук, эпоху существования такого множества различных областей и подразделений науки, нет человека, который мог бы понимать факты и точки зрения далеко друг от друга отстоящих дисциплин. . . Именно в силу этого существует потребность в широких обобщениях, в теории или теориях, которые могли бы истолковать различные виды деятельности живого вещества. . .» (Гейльбрунн, 1957, с. 304).

Как многие творчески сильные личности, Гейльбрунн мало интересовался данными, прямо не относящимися к кругу его научных интересов. Поэтому он позволял себе иронизировать по поводу АТФ и ДНК, считая, что эти аббревиатуры заменяют собой заклинания, которыми пользовались средневековые маги (Гейльбрунн, 1957, с. 116). В статье, посвященной памяти Д. Н. Насонова, он высказывает убеждение, что данные электронной микроскопии, указывающие на наличие в протоплазме фибриллярных структур, не могут изменить его убеждения в том, что содержимое клетки по своей консистенции представляет настоящую жидкость. «Если такая сеть и присутствует, она должна быть в действительности очень слабой структурой, не оказывающей влияния на физическую природу протоплазмы» (Гейльбрунн, 1960, с. 76).

Гейльбрунн как ученый пользовался большим уважением и широкой известностью. Он неоднократно выезжал за границу для чтения лекций, для участия в съездах и симпозиумах, хорошо и много писал, охотно выступал с чтением популярных лекций для широкой аудитории.

Л. В. Гейльбрунн погиб в автомобильной катастрофе 24 октября 1959 г. Его памяти были посвящены многочисленные некрологи, авторы которых подчеркивали замечательные свойства Гейльбрунна как человека, ученого, руководителя.

Его взгляды как педагога хорошо выражены его же словами из предисловия к учебнику физиологии: «Некоторые авторы учебника, описывая научные идеи, пытаются упростить предмет, чтобы сделать его более понятным. Мне известны авторы, которые верили в силу простых фактов, правильных или неправильных, не боясь риска запутать учеников. Такой путь может иметь успех, но я думаю, что любые манипуляции с истиной весьма рискованны. На мой взгляд, полезнее знакомить учеников со всем неизвестным в такой области науки, как общая физиология, и подсказывать им направление новых экспериментов. Если будут обучать именно таким образом, то наши начинающие ученые или врачи не будут принимать на веру

сомнительные открытия. . . Настоящий педагог — оптимист, всегда радующийся достижениям своей науки» (Heilbrunn, 1952, с. 4). Гейльбрунн любил науку, любил и растил молодых ученых, видел в них будущее науки. В предисловии к «Основам общей физиологии» он писал: «Посвящая эту книгу моим студентам, я постоянно думал о людях, проводивших исследования вместе со мной. Активные открыватели истины, они всегда были честны со мной, когда считали, что я неправ. Я гордился их молодой энергией и смелостью, в их поддержке я черпал вдохновение» (Heilbrunn, 1958).

«Трудно писать о человеке, который так активно и радостно участвовал в жизни», — заканчивает свое прочувствованное слово памяти Гейльбрунна его друг и сотрудник Г. Б. Стейнбах (Steinbach, 1960).

### **« Повреждение клетки подобно повреждению кровеносного сосуда »**

Многие ученые пишут легко и охотно, но предмет их литературных занятий редко выходит за пределы узко профессиональных интересов. Поэтому из первоисточников мало известно о том, как возникают научные идеи, каковы основы присущего одаренным исследователям таинственного свойства — интуиции, толкающей человека на правильный путь решения головоломных задач.

Л. В. Гейльбрунн писал много и легко, но из его статей и книг невозможно представить себе, как возникла у него идея о том, что свертывание крови и свертывание протоплазмы близки, может быть, тождественны по своему механизму. Поразили ли его и запомнились несколько строчек из «Целлюлярной патологии» Р. Вирхова, где после описания вида патологически измененной клетки (мутная, набухшая) великий патолог пишет: «. . . не присуща ли протоплазме, как и крови, способность свертываться» (1866, с. 149). Или догадка возникла у него при виде механически поврежденной клетки, из которой выступила капелька протоплазмы, которая вскоре свернулась и, закрыв рану, прекратила дальнейшую потерю протоплазмы. Не так ли происходит и при травме кровеносного сосуда: излившаяся кровь свертывается, закрывает рану и кровотечение останавливается.

Явление свертывания крови известно с незапамятных времен, но о причинах его задумывались мало. Считали, например, что кровь в кровеносных сосудах не свертывается, потому что находится в движении, а выпущенная из сосуда становится неподвижной и поэтому свертывается. Относительно еще недавно врачи «отворяли кровь», т. е. надрезали скальпелем вену, собирали кровь в рюмку и следили за свертыванием. При лихорадочных состояниях и воспалительных процессах сгусток получается не темно-красный, как в норме, а розовый и даже желтый. Цвет сгустка служил подспорьем диагноза.

С успехами экспериментальной физиологии и биохимии, с открытиями энзимологии изучение свертывания крови стало на твердую

почву. В этой области прославился своими фундаментальными исследованиями А. А. Шмидт — профессор университета в Юрьеве (ныне Тарту). В 1892—1895 гг. Шмидт опубликовал две монографии, в которых подвел итог 30-летнего опыта изучения крови. Шмидта по праву считают пионером и основоположником науки о крови. Гейльбрунн был знаком с его работами — книги Шмидта приводятся в списках литературы, приложенных к монографиям Гейльбрунна.

Шмидт указывает на сложность проблемы свертывания крови, на неясность многих ее сторон, но некоторые факты установлены твердо:

1) свертывание крови состоит в переходе содержащегося в плазме крови растворимого белка фибриногена в нерастворимый — фибрин;

2) свертывание крови — процесс энзиматический; фермент свертывания (Шмидт предложил назвать его тромбином) возникает при повреждении сосуда;

3) процесс свертывания крови — процесс  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимый, в отсутствии кальция свертывание не происходит.

Гейльбрунн описывает явления, которые наблюдаются, если клетку повредить (надрезать, надорвать, уколоть): «...выступающая из ранки протоплазма, как правило, перестает вытекать. Вместо этого выступившая из клетки капля мутится, в ней коагулирует белок и течение протоплазмы из клетки прекращается» (Гейльбрунн, 1957, с. 234). Между этой реакцией и свертыванием крови разительное сходство. Оно прежде всего определяется биологическим смыслом обеих реакций. Как сгусток свернувшейся крови предохраняет организм от потери крови, так свернувшееся содержимое клетки защищает ее от потери протоплазмы. Гейльбрунн указывает, что в этой реакции наглядно проявляется основное свойство жизни: «Все живые системы стремятся сохранить состояние равновесия и способны оказывать сопротивление неблагоприятному фактору» (Гейльбрунн, 1957, с. 76). «Разрежьте или разорвите клетку, и она сама затянет рану» (там же, с. 289). Ясно, что реакция свертывания имеет для клетки чрезвычайное значение, так как если бы каждое ничтожное повреждение клеточной поверхности вызывало потерю вещества, то клетки не могли бы сохраниться. Реакция свертывания протоплазмы в процессе эволюции развивалась, совершенствовалась и породила свертывание крови. «Мы можем с полной уверенностью принять, что свертывание протоплазмы по существу подобно свертыванию крови» (там же, с. 107). В пользу этой концепции свидетельствует ряд полученных в экспериментах фактов.

Самым достоверным, убедительным и без преувеличения можно сказать блистательным из них является предвиденное Гейльбрунном открытие значения для свертывания протоплазмы ионов  $\text{Ca}^{2+}$ . Так же как кровь не свертывается в присутствии оксалата (калиевой или натриевой соли щавелевой кислоты) или цитрата (соли лимонной кислоты), так и в поврежденной клетке в присутствии оксалата или цитрата не происходит свертывания протоплазмы. У поврежден-

ных яиц морского ежа в морской воде, лишенной  $\text{Ca}^{2+}$ , капелька протоплазмы, выступившая на поверхности клетки, не свертывается и протоплазма из клетки вытекает беспрепятственно. Вторая группа фактов относится к вопросу об энзиматическом характере свертывания протоплазмы. Известно, что после того как кровь свернулась, в ней можно обнаружить присутствие тромбина — высокоспецифической протенназы, способной вызвать свертывание свежей порции крови. Подобное же свойство, по свидетельству Гейльбрунна, обнаруживается и в поврежденной протоплазме. Яйца морского ежа после их разрушения (встряхивания с осколками стекла) вызывают свертывание протоплазмы неповрежденных яиц морского ежа. Отсюда следует, что в протоплазме, как и в крови, возникает тромбиноподобный фактор. Гейльбрунн называет его «овотромбином».

Оглядываясь назад следует сказать, что гипотеза Гейльбрунна оригинальна и глубока. Это подлинно биологическая концепция. Ее платформой служит основной принцип биологии: на всех этапах филогенеза главной проблемой живых систем на всех уровнях организации является приспособление к условиям среды. Эволюционная идея пронизывает эту концепцию красной нитью. Следует прибавить к этому, что идеи Гейльбрунна спровоцировали выдающееся открытие — значение ионов кальция в механизме повреждения протоплазмы. Вместе с тем вполне очевидны и слабые, уязвимые стороны гипотезы. Уровень знаний в смежных областях (биохимии и молекулярной биологии) того периода, когда творил Гейльбрунн, не позволял решить вопрос о том, что является субстратом свертывания протоплазмы. В крови это фибриноген, составляющий около 4 % всех белков плазмы, а в протоплазме? Гейльбрунн отвечал неопределенно — белки протоплазмы. Но в протоплазме эукариотов более тысячи индивидуальных белков. Какие из них свертываются? В своей монографии Гейльбрунн (Heilbrunn, 1958) указывает на сходство фибриногена с миозином мышц. Основанием для этого служат данные Кюне (Kühne, 1864), который еще в 1864 г. описал свойства «мышечной плазмы» — сока, полученного из свежих мышц, отжатых под прессом высокого давления. «Мышечная плазма» свертывается при стоянии в условиях комнатной температуры. До открытия актина еще оставалось почти сто лет, и данные Кюне трактовались как доказательство исключительной неустойчивости внутриклеточных белков.

Другим слабым местом гипотезы Гейльбрунна является отсутствие строгих доказательств существования овотромбина и достаточно полноценных данных об энзиматическом характере свертывания протоплазмы. Гейльбрунн признавал эти пробелы своей концепции и с горечью писал: «...число исследователей в этой области весьма невелико — на одного исследователя, изучающего свертывание протоплазмы, приходится сотни, изучающих свертывание крови. Более того, для изучения свертывания крови можно располагать целыми ведрами крови, тогда как для изучения свертывания протоплазмы живой клетки приходится довольствоваться материалом, который заключен в крошечные сосудики и который приходится

оберегать от всяких неосторожных манипуляций, чтобы сохранить его живые свойства» (Гейльбрунн, 1957, с. 100—101).

С трагической гибелью Л. В. Гейльбрунна оборвались его замечательные исследования, но идеи его не утратили своего значения и продолжают стимулировать экспериментальные исследования.

### Тормозящее действие эpsilon-аминокапроновой кислоты на распространение деструкции в мышечном волокне

Л. В. Гейльбрунн указывает, что при локальном повреждении яиц морского ежа дело большей частью не ограничивается образованием на месте травмы сгустка свернувшейся протоплазмы. Почти всегда повреждение со значительной скоростью (за 3—4 с) распространяется по всей клетке. Подобные же явления наблюдаются и на других объектах — на нерве ракообразных, на нитчатой водоросли, на мышечных волокнах. Во всех случаях происходит самопроизвольное движение фронта коагуляции протоплазмы от места нанесения травмы в разные стороны от него. Описывая самопроизвольное распространение повреждения в разных объектах, Гейльбрунн не выделяет ни одно из них как особенно интересное или практически важное. Не так относятся к этому вопросу врачи, патологоанатомы, физиологи. Их внимание редко привлекает распространение повреждения в яйцах морского ежа или в нитчатой водоросли. В то же время распространение повреждения в мышечном волокне представляет интерес чрезвычайный. Эта форма повреждения играет важную роль в мышечной патологии. Распространение повреждения в мышечных волокнах является частым и тяжелым осложнением механических травм, интоксикаций, инфекционных заболеваний и т. д. Этот процесс имеет специальное название — «ценкеровский некроз», по фамилии врача Пауля Ценкера, впервые описавшего эту форму патологии. Изучение ценкеровского некроза продолжается более 100 лет. Этому вопросу посвящается громадное число экспериментальных и теоретических исследований.

Как мы уже знаем, Гейльбрунн рассматривает механизм повреждения клетки под углом зрения формулы: «...разрыв клетки напоминает разрыв кровеносного сосуда» (Гейльбрунн, 1957, с. 97). Следовательно, в первую очередь следует выяснить, какую роль играют в реакции ионы кальция и каково значение в ней энзиматического звена.

Исследование ценкеровского некроза началось задолго до Гейльбрунна. Оно прошло длинный путь открытий и неудач. Последнее достижение в этой области — создание концепции, согласно которой причиной распространения повреждения в мышечном волокне является электрический ток — ток повреждения (Александров, Розенталь, 1965). Между тем исследования последних лет доставляют материал, демонстрирующий существенную роль в дезорганизации сократительного аппарата мышц повреждающих факторов, на значение которого указывал Гейльбрунн. Роль  $Ca^{2+}$  в распростра-

нении ценкеровского некроза была открыта М. А. Раевской (1941) и подтверждена В. П. Кириллиной с соавторами (1981). Был получен ряд указаний на значение в деструкции мышечного волокна энзиматического фактора: замедление ценкеровского некроза на холоду, блокирование процесса при отравлении мышцы моноиодацетатом и др. Новый материал этого рода был получен в нашей лаборатории В. П. Кириллиной (1979), которая показала, что ингибиторы протениаз — контрикал и пепстатин — заметно тормозят распространение деструкции в локально поврежденном мышечном волокне.

Нами (Браун и др., 1987) эти исследования были продолжены. Мы изучали влияние на распространение деструкции в локально поврежденном мышечном волокне лягушки эпислон-аминокапроновой кислоты (Э-АКК). Э-АКК по структуре близка к аминокислоте лизину. Она хорошо растворима в воде, малотоксична. Антипротениазные свойства Э-АКК были исследованы в отношении к трипсину, плазмину, некоторым лизосомным протеиназам (McNicol, Douglas, 1964; Ambigus et al., 1968). Широкую известность получило применение Э-АКК в качестве эффективного кровоостанавливающего средства при кровотечениях, обусловленных повышенным фибринолизом. Кровоостанавливающее действие Э-АКК основано на ее способности вызывать обратимые конформационные изменения плазминогена, в результате чего последний утрачивает способность взаимодействия с активаторами. Таким образом, в результате воздействия Э-АКК переход плазминогена в плазмин оказывается заблокированным (Alkjersig et al., 1959; Ambigus et al., 1968). Наши данные показали, что Э-АКК вызывает отчетливое замедление распространения деструкции мышечного волокна. В слабой концентрации (0.05 моль/л) распространение деструкции замедляется на 54 %, при большей концентрации (0.15 моль/л) — на 177 %. Действие Э-АКК не может быть связано с увеличением тоничности раствора или с изменением его буферных свойств. Об этом свидетельствуют опыты с аланином, который в тех же концентрациях не оказывает влияния на скорость распространения повреждения в мышечном волокне.

Способность Э-АКК и других ингибиторов протениаз тормозить распространение деструкции локально травмированного мышечного волокна указывает на существование связи между альтерацией протоплазмы и активностью внутриклеточных протениаз.

Развивая мысль о сходстве процессов свертывания крови и коагуляции протоплазмы, Л. В. Гейльбрунн пишет: «... вполне логично допустить, что подобно тому, как свертывание крови приводит к образованию свертывающего (протеолитического) фермента, при свертывании протоплазмы также образуется фермент, вызывающий свертывание протоплазмы в интактных клетках» (Гейльбрунн, 1957, с. 181). Таким образом, постулируется возможность генерации и функционирования в протоплазме специализированной протениазы — аналога тромбина крови. До сих пор, однако, вопрос о существовании «цитотромбина» с достоверностью не решен. Еще недавно основная роль в процессе внутри- и внеклеточной деграда-

ции протеиназ приписывалась протеиназам, секвестированным в лизосомных структурах (De Duve, Wattiaux, 1966). В результате исследований последних лет выяснилось, что кроме лизосомных протеиназ, активных при низких значениях рН, в клетке содержится ряд протеиназ, оптимум активности которых проявляется в нейтральной и слабощелочной среде (Yasagawa et al., 1978; Afting, 1983). Внелизосомные протеиназы не сегрегированы в специализированных органеллах. Возможность их повреждающего действия на белки intactной клетки предотвращается либо благодаря устойчивости к протеолизу нативных протеинов, либо тем, что протеиназы находятся в клетке в виде проферментов, которые превращаются в активные формы, подобно плазминогену крови, под влиянием активаторов.

Как будет показано далее, при альтерации клетки в результате полимеризации актина и ассоциации Ф-актина с другими внутриклеточными белками образуется сетчатая структура, в петлях которой оказываются захваченными вода, электролиты, ферменты, субстраты. При генерализации подобного процесса клетка, как правило, погибает. При локальной травме образование коагулята происходит в ограниченном объеме и оказывает защитное действие, так как захваченные в преципитате компоненты ограничены в подвижности и их диффузия в соседние пространства затруднена. Таким образом, фактор, способствующий образованию локального коагулята (в результате ингибирования внутриклеточных протеиназ), тормозит распространение деструкции. Напротив, фактор, способствующий распаду коагулята (активные протеиназы его растворяют) или предотвращающий его образование, ускоряет альтерацию клетки. Это предположение подтверждается рядом наблюдений. В частности, по данным И. П. Суздальской и И. С. Ивахнюка (1983), в мышечном волокне, обработанном мочевиной, хлоралгидратом, уретаном, т. е. в условиях, когда образование коагулята заторможено, распространение повреждения ускоряется. Антипротеиназная активность Э-АКК, как уже указывалось, исследована по отношению к пепсину, плазмину и некоторым лизосомным (кислым) протеиназам. Относительно ингибиторного эффекта Э-АКК на внелизосомные протеиназы (нейтральные и щелочные) ничего не известно. Точно так же нет данных о том, действует ли Э-АКК на активные формы протеиназ или процесс осуществляется по механизму, сходному с действием Э-АКК на плазминоген. Последнее представляется тем более вероятным, что в разных типах клеток (в том числе в мышечных) обнаружено присутствие активатора фибринолитической системы (Pollack, Rifkin, 1975).

#### Э. С. БАУЭР

В развитии представлений о механизме реакции протоплазмы на повреждающие воздействия существенный вклад внесли идеи и исследования Э. С. Бауэра. Творчество Бауэра с достаточной полнотой освещено в небольшой привлекательной по сердечности тона

книге профессора Ленинградского университета Б. П. Токина. «Пусть отнесутся к моему очерку, как к желанию высказать свое восхищение великим жизненным подвигом большого ученого», — пишет Токин (1963, с. 24).

Книга Токина о Бауэре, по-видимому, пока единственный памятник трудам безвременно ушедшего из жизни замечательного человека, мыслителя и исследователя, каким был Бауэр.<sup>17</sup>

Эрвин Симонович Бауэр родился 19 октября 1890 г. в городе Лече (Венгрия). В 1914 г. окончил медицинский факультет университета в Будапеште. С началом первой мировой войны был призван в армию. Участвовал в борьбе венгерского народа за установление в Венгрии советской власти. В 1919 г. после разгрома Венгерской советской республики вместе с женой (Стефанией Бауэр)<sup>18</sup> эмигрировал вначале в Вену, а затем в Геттинген, где работал в лаборатории В. Ру — знаменитого основателя теории «механики развития организмов». В Геттингене у Бауэра возникли мысли о природе живого состояния материи. В 1920 г. вышла его монография «Основные принципы естественно-научной биологии» (*Grundprinzipien der rein naturwissenschaften Biologie*, 1920). В 1921 г. семья Бауэра переехала в Прагу, где он получил место ассистента в Биологическом институте в лаборатории, возглавляемой профессором Ружичкой. Круг научных интересов Ружички (различия между живой и мертвой протоплазмой, природа старения, реакции протоплазмы на действие повреждающих агентов) был близок Бауэру. Ружичка поручил ему исследовать действие на клетку гипотонических и гипертонических растворов, а также поверхностно-активных веществ. Результаты этих исследований, к сожалению, неизвестны, так как пока не удалось установить, где они опубликованы.<sup>19</sup>

В 1925 г. Бауэр с семьей переехал в Москву. Сначала он работал в Институте гигиены труда и профессиональных заболеваний им. В. А. Обуха, затем, по предложению Б. П. Токина, перешел на работу в Биологический институт им. К. А. Тимирязева, где организовал лабораторию общей биологии. Московский период деятельности Бауэра был напряженным и плодотворным. В организованной им лаборатории он руководил работой своих многочисленных сотрудников, установил и поддерживал контакты с рядом московских физиков и биологов, выступал с докладами на конференциях и диспутах, завершил работу над своей второй монографией «Физико-химические основы биологии» (1930). Последний этап жизни и творчества Бауэра связан с Ленинградом. Бауэр в 1934 г. принял приглашение руководства Всесоюзного института экспериментальной медицины (ВИЭМ) организовать и возглавить в институте Отдел общей биологии, в который входили четыре лаборатории — электрофизиологическая, биофизическая, обмена веществ и раковая. Лаборатории Отдела в короткий срок были укомплектованы научными кадрами и оснащены необходимым оборудованием. В Ленинграде ярко развернулось замечательное дарование Бауэра — организатора, руководителя, ученого. Одновременно с работой в ВИЭМ Бауэр читал курс теоретической биологии в университете,



установил научные контакты с учеными Ленинграда — физиками А. Ф. Иоффе, Н. Н. Семеновым, Я. И. Френкелем; физиологами — А. А. Ухтомским, Л. А. Орбели, К. М. Быковым; биологами — А. А. Заварзиным, Д. Н. Насоновым; биохимиками — В. А. Энгельгардтом, П. А. Ашмариним и завершил работу над монографией «Теоретическая биология» (1935). Кипучая деятельность Э. С. Бауэра оборвалась в августе 1937 г. Он умер в 1942 г., через два года скончалась его жена.

### Принцип Э. С. Бауэра

Обобщая обширный эмпирический материал, Э. С. Бауэр попытался сформулировать основной принцип биологии, позволяющий охарактеризовать жизнь в отличие от явлений неживой природы. Этот принцип Бауэр обозначает как «принцип устойчивого неравновесия» живых систем. Б. П. Токин предлагает его называть «принципом Бауэра». Всякий принцип отражает общий закон и ставится во главу всякого исследования. Принцип Бауэра отражает всеобщий закон биологии, который гласит: «Все и только живые системы никогда не бывают в равновесии и исполняют за счет своей свободной энергии постоянно работу против равновесия, требуемого законами физики и химии при существующих внешних условиях» (Бауэр, 1935, с. 43). Принцип устойчивого неравновесия имеет ясный термодинамический смысл: так же как устойчивое равновесие характеризуется тем, что будучи нарушено, всегда наступает вновь, так и в организмах, в живой материи, неравновесное состояние сохраняется постоянно и обладает всеми признаками устойчивости (Бауэр, 1935, с. 8). Из принципа устойчивого неравновесия вытекает, что одним из основных свойств живого вещества является деформированное, термодинамически неравновесное, состояние его молекул, поддерживаемое метаболизмом. При раздражении достаточной силы или после смерти молекулярные деформации уменьшаются или вовсе исчезают. Частицы живого вещества принимают форму, соответствующую устойчивому равновесному состоянию. Эти соображения поясняются Бауэром многочисленными примерами, в частности реакциями поперечнополосатых мышц, амёб и других раздражаемых объектов на действие внешних агентов.

«Если поставляющие энергию процессы выключены или больше не могут происходить, то мышцы должны стать короче и внешняя работа уже может производиться лишь за счет свободной энергии системы, т. е. за счет спонтанно протекающего процесса выравнивания. Таким образом, без затруднений объясняется то, что мускул сокращается, когда он умирает, и что, например, мускул, отравленный моноiodуксусной кислотой, всегда находится в состоянии длительного сокращения, когда исчерпан непосредственный источник энергии — фосфаген» (Бауэр, 1935, с. 174).

Сильные механические или химические раздражения вызывают полное округление амёб, а, как известно, когда амёбы умирают, они

тоже округляются, принимают форму с минимальной поверхностью, соответствующую равновесию, — форму шара.

В неравновесном состоянии существуют не все виды молекул живого вещества, но именно белковая его часть. Живой белок находится в неравновесном состоянии и поэтому обладает ненасыщенными валентностями и соответственно большей химической активностью. Деформированное состояние белка обеспечивает его ферментативные свойства. Таким образом, неравновесное состояние молекул белка поддерживается энергией метаболизма и оно в свою очередь является источником инициации метаболических процессов.

Токин (1963) пишет о том, что взгляды Бауэра были современникам известны, но сочинения его поняты не были: никто из видных деятелей биологической науки не отозвался публично ни похвалой, ни критикой на его основные идеи, те же очень немногие биологи, которые в свое время заинтересовались работами Бауэра, впоследствии не воскресили его творчество. Эти утверждения Токина справедливы только отчасти. Да, несомненно, представления Бауэра нередко вызывали недоумение и даже неприязненное к себе отношение, так как они казались беспочвенными и даже фантастическими. Такова, например, идея Бауэра о том, что явление автолиза, наступающего после смерти, вызывается не действием освобождающихся после смерти протеолитических ферментов, существующих отдельно от молекул живой материи, но спонтанным распадом живых молекул в результате прекращения доставки энергии, поддерживающей их существование. С этим утверждением не мог согласиться ни один биохимик, так как экспериментальные данные однозначно указывали на наступающее после смерти освобождение внутриклеточных протеаз, на возможность их изолирования и характеристики. Последующее открытие внутрилизосомной локализации протеаз подтвердило эти наблюдения.

Было трудно себе представить (в рамках известных в то время механизмов биохимии клетки), каким образом энергия, освободившаяся в результате расщепления пищевых веществ, способна обеспечить существование живой материи в неравновесном состоянии.

Токин прав, говоря, что концепция Бауэра многим казалась сродни натурфилософским построениям прошлых веков. Казались туманными утверждения о том, что деформированное состояние белка объясняет его ферментативные свойства.

Другой возможной причиной известной холодности биологов к теоретическим конструкциям Бауэра является необычный язык его сочинений, некоторая выпренность и затрудненность изложения, обилие математики. Встретив, например, дифференциальное уравнение типа

$$\int_{-\infty}^{\infty} \frac{N_1 d}{d\mu} \mu d\mu = \int_{-\infty}^{\infty} \frac{dN_2}{d\mu} \mu d\mu,$$

читатели пропускали это место, так как математические знания биологов были поверхностными. Вместе с тем несомненно и то, что

творчество Бауэра оказало на биологов того времени значительное и благотворное влияние. В своей монографии В. Я. Александров (1985), вспоминая обстановку, в которой им совместно с Д. Н. Насоновым создавалась денатурационная теория повреждения и возбуждения, пишет: «В то время мы находились под впечатлением идей Э. С. Бауэра о неравновесном состоянии белковых молекул» (Александров, 1985, с. 92).

Описанию денатурационной теории мы посвящаем в этой книге отдельную главу. Здесь же укажем только, что представление Бауэра о неравновесном и равновесном состояниях белковых молекул соответствует нативной и денатурированной формам белка. Нативная (неравновесная) структура вне клетки неустойчива. В соответствии с взглядами Бауэра Насонов и Александров считали, что нативное состояние белка в клетке энергозависимо и поддерживается энергией, освобождаемой в процессе обмена веществ. По представлениям Бауэра, ферментативная активность белка определяется его структурой. Отсюда следовало, что между нативным состоянием белка и метаболизмом связь двухсторонняя: нативная структура поддерживается метаболизмом, процесс метаболизма обеспечивается существованием и деятельностью нативных белков. В соответствии с взглядами Бауэра находились соображения Насонова и Александрова о провокации повреждения клетки в результате искажения или блокирования энергетического обмена: если поддержание нативного, т. е. неравновесного, состояния обеспечивается метаболизмом, то, очевидно, при блокировании обмена неизбежен переход белков в денатурированное, т. е. равновесное, состояние. Из сказанного видно, что многие мысли Бауэра были активно восприняты Насоновым и Александровым и получили в их трудах многостороннее развитие.

### **Увеличение устойчивости мышц к повреждающим воздействиям при их растяжении**

Идеи Э. С. Бауэра оказали влияние на работы ряда биологов. Укажем, в частности, на серию исследований, замысел которых возник в результате знакомства с представлениями Бауэра об условиях существования растянутых мышц. По мнению Бауэра, дополнительное растяжение должно стимулировать обменные процессы, поддерживающие неравновесное состояние, и, следовательно, привести к ускоренному истощению энергетических ресурсов, к более ранней альтерации и гибели мышц. Основываясь на этих рассуждениях, В. А. Мужеев (1949) исследовал изолированные растянутые и нерастянутые мышцы при их переживании в растворе Рингера. Свидетельством альтерации служило исчезновение поперечной исчерченности. В соответствии с этой теорией Мужеев обнаружил, что в растянутых мышцах поперечная исчерченность исчезает быстрее.

Нам казались эти теоретические представления недостаточно

обоснованными. Если энергия обменных процессов тратится на поддержание растянутого состояния, то казалось бы более логичным допустить, что, растягивая мышцу механическим путем, мы заменяем функцию поставляющих энергию процессов, и это должно привести не к истощению энергетических ресурсов, а, напротив, к их сбережению и, следовательно, не к усилению альтерации, а к ее ослаблению и в конечном итоге к сохранению живого состояния.

Для проверки этих соображений А. Д. Брауном (1949) в лаборатории В. Я. Александрова были поставлены опыты, в которых исследовалось время переживания растянутых и нерастянутых мышц, а также их устойчивость к действию повреждающих агентов. Полученные данные были однозначными: продолжительность жизни растянутых небольшим грузом мышц при их переживании в растворе Рингера и их устойчивость к повреждающим воздействиям оказались заметно большими, чем нерастянутых. По разным обстоятельствам результаты этих опытов не были в то время опубликованы, и работа осталась незавершенной. Она была продолжена Брауном спустя несколько лет в Институте цитологии АН СССР в сотрудничестве с Л. Ш. Ганелиной. Сообщения о полученных результатах были сделаны на 5-м Международном биохимическом конгрессе и в серии статей Ганелиной (1962а, 1962б, 1962в, 1963).

В табл. I представлены данные, демонстрирующие влияние растяжения мышц на сроки сохранения ими возбудимости. Видно, что во всех опытах при переживании изолированных мышц в растворе Рингера возбудимость растянутых мышц в среднем на 16 % больше, чем нерастянутых. При действии на мышцы гипертонического раствора NaCl (1.25 %) различия в сроках сохранения возбудимости растянутых и нерастянутых мышц выступают особенно отчетливо и достигают в среднем 129 %.

Весьма демонстративны данные выхода веществ из растянутых и нерастянутых мышц при их переживании в 1.25 %-ном NaCl (рис. 1). Креатин и продукты распада карнозина выходят из нерастянутых мышц значительно раньше и в большем количестве, чем из растянутых. Полученные данные А. Д. Браун и Л. Ш. Ганелина (1962) интерпретировали в соответствии с представлениями Д. Н. Насонова и В. Я. Александрова о природе возбуждения. На основании этой гипотезы авторы предположили, что при растяжении мышц создаются условия, предотвращающие денатурацию или постденатурационные процессы, имеющие место в поврежденной мышце. В свободно подвешенной контрактурирующей мышце эти процессы облегчены. Так как груз устраняет контрактуру, то структурно-химические изменения мышечных белков в растянутой мышце заторможены.

Представляют интерес данные Ганелиной (1962а, 1962б, 1962в, 1963) о содержании в нерастянутых и растянутых мышцах энергетических веществ — креатинфосфата (КФ), АТФ и гликогена. При переживании в растворе Рингера в доконтрактурный период в растянутых мышцах наблюдается заметное уменьшение КФ и гликогена (25 и 22 % соответственно) по сравнению с контрольными нерастянутыми мышцами. Статистически достоверной разницы для АТФ

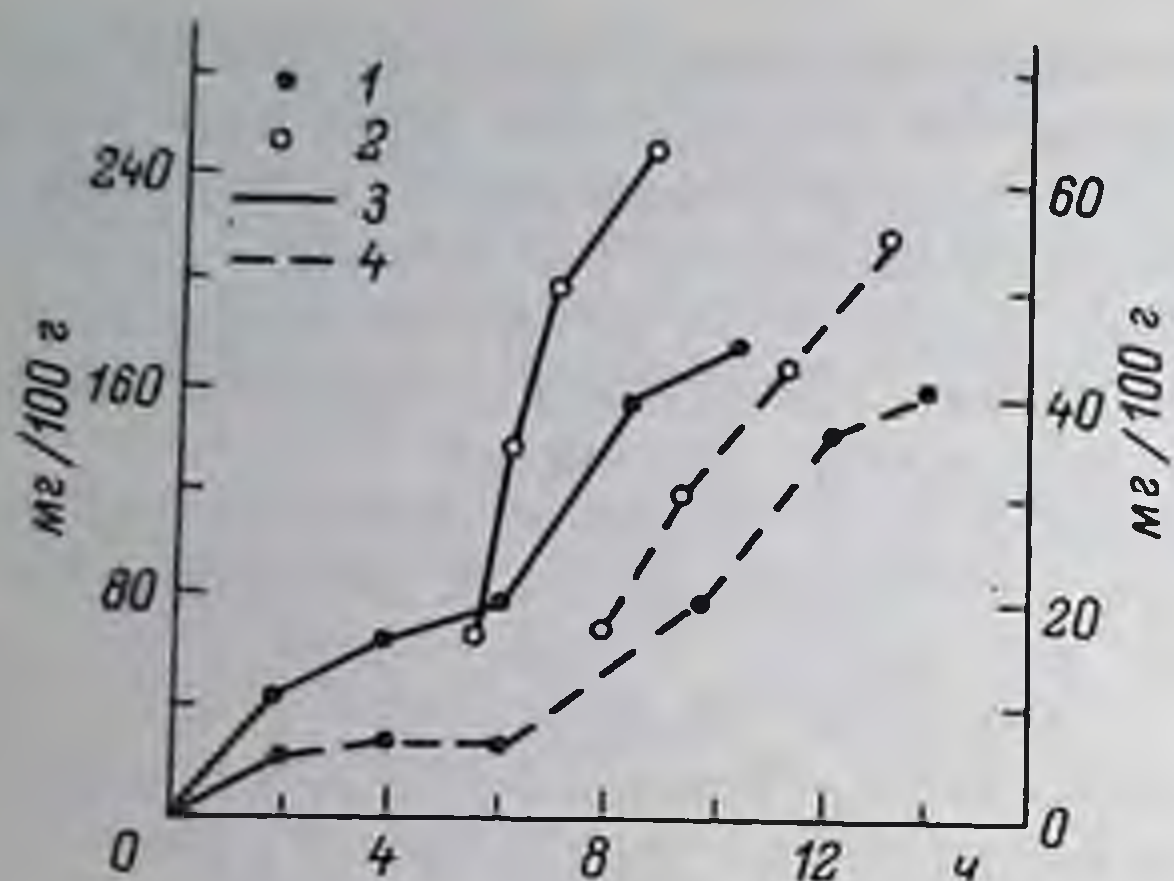


Рис. 1. Выход креатина и карнозина из мышцы лягушки при действии 1.25 %-ного хлористого натрия (по: Браун, Ганелина, 1962).

1 — креатин; 2 — карнозин; 3 — мышца нерастянутая; 4 — мышца растянутая. По оси абсцисс — время; по оси ординат: слева — выход креатина, справа — карнозина (на 100 г сырой массы мышц).

обнаружено не было. Однако в период развития контрактуры в растянутых мышцах (не обнаруживающих контрактуры вследствие растяжения) содержание КФ и гликогена повышается по сравнению с нерастянутыми мышцами. Незначительно также повышается количество АТФ.

При переживании мышц в 1.25 %-ном NaCl уже через полчаса в растянутых мышцах содержится больше КФ, АТФ и гликогена. В некоторых случаях эта разница для КФ достигает 90 %, для гликогена — 50—80 %, содержание АТФ увеличивается в среднем на 10 %.

Пытаясь разобраться в возможном механизме защитного влияния растяжения, Ганелина (1962а, 1962б, 1962в, 1963) исследовала влияние растяжения на мышечных моделях (на глицеринизированных

Таблица 1

Влияние растяжения мышц на сроки сохранения ими возбудимости (по: Ганелина, 1963)

Раствор Рингера		разность, в % к нерастянутой мышце	1.25 %-ный раствор NaCl		разность, в % к нерастянутой мышце	6 %-ный раствор мочевины		разность, в % к нерастянутой мышце
длительность сохранения возбудимости, ч	нерастянутая		растянутая	длительность сохранения возбудимости, ч		нерастянутая	растянутая	
25	31	+24	2.0	6.2	+210	1.25	1.75	+40
28	35	+25	3.3	5.5	+70	1.5	1.75	+17
36	43	+19	2.3	4.5	+91	1.25	1.3	+4
43	50	+16	1.2	2.4	+100	1.0	1.8	+80
39	45	+15	2.1	5.3	+152	1.25	1.6	+28
29	32	+10	1.8	4.2	+133	1.5	1.75	+17
52	59	+13	2.2	5.6	+154	1.1	1.25	+14
48	57	+10	1.9	4.6	+142	1.3	1.5	+15
37	44	+16	1.2	2.6	+117	1.0	1.3	+30
29	32	+10	1.8	3.9	+117	0.9	1.25	+39
Средняя разности:		+16 ± 1.6, P < 0.01			± 129 ± 10.7, P < 0.01			+28 ± 6.8, P < 0.02

мышцах). Определялась АТФазная активность гомогенатов нерастянутых и растянутых мышечных моделей после тепловой и спонтанной денатурации. Было найдено, что АТФазная активность гомогенатов растянутых мышечных моделей выше, чем нерастянутых, что свидетельствует о том, что в растянутом состоянии актомиозиновая система денатурируется в меньшей степени, чем в нерастянутом.

Ознакомившись с полученными нами материалами, В. И. Воробьев (устн. сообщ.) высказал предположение, что увеличение устойчивости мышц в результате их растяжения может быть связано с изменением конформации фибриллярных белков. Известно, что конформационные изменения макромолекул синтетических полипептидов могут быть вызваны механическим растяжением системы. В работе Т. М. Бирштейн с сотрудниками (1961) были подвергнуты теоретическому рассмотрению механохимические явления, разыгрывающиеся в синтетических полипептидах в результате приложения к ним внешней силы и показано, что небольшая сила должна стабилизировать  $\alpha$ -спиральную конформацию, а более значительное растяжение, напротив, будет способствовать переходу  $\alpha$ -спирали в форму вытянутого клубка и в  $\beta$ -форму.

Таким образом, по предположению Воробьева, антиденатурационный эффект растяжения мышцы может обеспечиваться стабилизацией упорядоченной  $\alpha$ -спиральной конформации фибриллярных мышечных белков. Для проверки этой гипотезы Воробьев и Ганелина (1963) исследовали влияние большого (35 г) и малого (5 г) грузов на устойчивость глицеринизированных мышц к действию высокой температуры. Степень денатурации определялась по изменению АТФазной активности гомогенатов. Снижение АТФазной активности служило показателем степени денатурации мышечных белков. Полученные данные сравнили с результатами прежних опытов Ганелиной (1962а, 1962б, 1962в), которая изучала устойчивость к действию нагрева глицеринизированных мышц, растянутых небольшим грузом (5 г) и нерастянутых. Полученные данные представлены на графиках (рис. 2), из которых видно, что АТФазная активность гомогенатов мышц, находившихся под нагрузкой 35 г и прогретых до 40 и 50 °С, несколько (на 9—10 %) ниже АТФазной активности гомогенатов мышц, находившихся под нагрузкой 5 г. Практически такие же цифры были получены Ганелиной при исследовании АТФазной активности гомогенатов мышц после малой нагрузки (5 г) и ненагруженных. Воробьев и Ганелина считают, что полученные ими данные свидетельствуют в пользу высказанного Воробьевым предположения о механизме увеличения устойчивости мышц к повреждающим воздействиям при растяжении, т. е. о том, что повышение устойчивости мышц связано со стабилизацией малыми грузами упорядоченной конформации фибриллярных белков мышц.

Данные Воробьева и Ганелиной заслуживают внимания. Однако мы думаем, что для трактовки эффектов растяжения они недостаточны. По данным Ганелиной (1962а, 1962б, 1962в, 1963), растянутая мышца в 1.25 %-ном растворе NaCl живет в 2—3 раза дольше, чем нерастянутая. Контрактурное сокращение явственно ускоряет

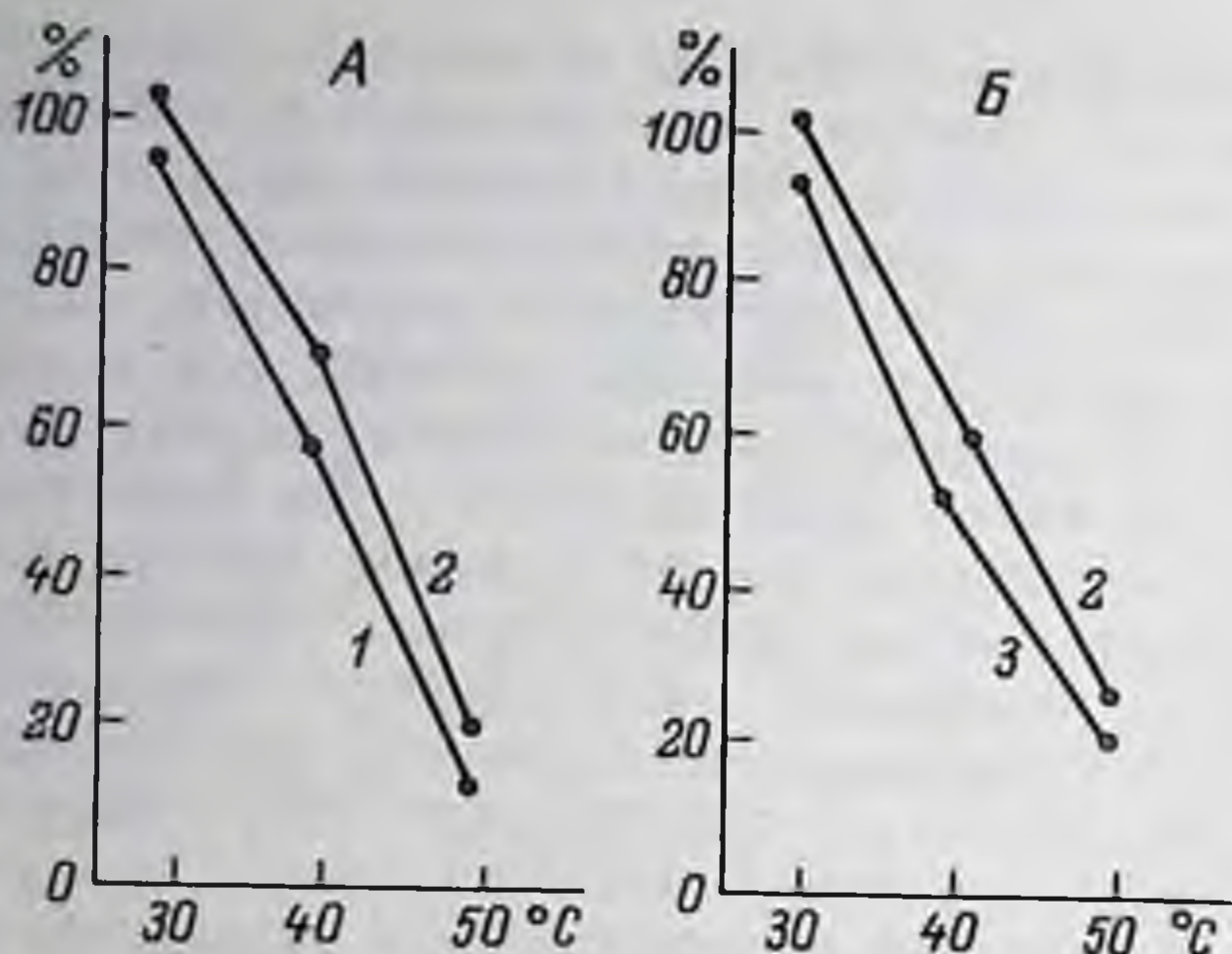


Рис. 2. АТФазная активность гомогенатов глицеринизированных мышц в зависимости от температуры, при которой мышцы нагревались (по: Воробьев, Ганелина, 1963).

А — под нагрузкой 35 г (1) и 5 г (2); Б — под нагрузкой 5 г (2) и без нагрузки (3).

повреждение мышцы. В связи с этими данными должно быть обращено внимание на значение контакта миозиновых и актиновых филаментов, сближенных при контрактуре и удаляемых при растяжении. По данным ряда авторов (см., например: Ogiol-Audit, 1978), АТФазная активность миозина возрастает в 20—30 (!) раз при взаимодействии с Ф-актином. Эти и другие факты с очевидностью указывают на взаимное влияние актина и миозина на конформацию и свойства друг друга. Нельзя не учитывать указаний В. Б. Ушакова (1963) о том, что водорастворимые белки более чувствительны к альтерации, чем водонерастворимые.

В последние годы растяжение мышц и вызываемые этим влиянием эффекты привлекают многочисленных исследователей. В нашей лаборатории В. П. Кириллина (1979) исследовала влияние растяжения на скорость самопроизвольного распространения деструкции в поперечнополосатых мышечных волокнах. По полученным данным растяжение волокна приводит к торможению распространения в нем ценкеровского некроза. В ряде работ было обнаружено влияние растяжения на активность натриевого насоса (Harris, 1954; Rapoport, Bidinger, 1974). Предполагается, что нарушение ионного равновесия, вызванное растяжением, может оказать влияние на устойчивость мышечных белков. Для анализа этой интересной проблемы необходимы дальнейшие исследования.

#### Д. Н. НАСОНОВ

Дмитрий Николаевич Насонов, крупнейший советский ученый-цитолог, родился 10 июля 1895 г. в Варшаве. Отец его, Николай Викторович Насонов, был профессором зоологии Варшавского уни-

верситета. Мать, Екатерина Александровна, учительница.<sup>20</sup> В 1906 г. Н. В. Насонов был избран действительным членом Академии наук и назначен директором Зоологического музея (впоследствии Зоологического института АН СССР). В связи с этим семья Насонова переехала из Варшавы в Петербург.<sup>21</sup> После окончания реального училища (1912 г.) Дмитрий Николаевич поступил в университет и параллельно со слушанием лекций стал работать на кафедре анатомии и гистологии, которую в то время возглавлял известный ученый-гистолог А. С. Догель. Здесь Дмитрий Николаевич получил основательную подготовку по гистологии и научился микроскопической технике. В 1914 г. с началом первой мировой войны Дмитрий Николаевич добровольно вступил санитаром в медицинский отряд, приданный стрелковой дивизии, действовавшей в Галиции. За проявленную храбрость и мужество был дважды награжден Георгиевскими медалями.

После расформирования медицинского отряда Дмитрий Николаевич вернулся в университет и продолжал занятия на кафедре. Его студенческая работа «Цитологические исследования над растительными клетками» была удостоена золотой медали и напечатана. После окончания университета Насонов был оставлен ассистентом при кафедре анатомии и гистологии и начал исследования аппарата Гольджи. В то время представления о роли аппарата Гольджи в жизни клетки были самые неопределенные. Рядом экспериментов Дмитрий Николаевич убедительно доказал связь аппарата Гольджи с секреторной функцией клетки. В аппарате Гольджи, по мнению Д. Н. Насонова, происходит сегрегация (отмешивание) и концентрирование веществ, как синтезированных в клетке, так и поступивших в нее извне. Аппарат Гольджи — это своего рода орган внутренней секреции, род клеточной железы. Данные Д. Н. Насонова о структуре и функции аппарата Гольджи были многократно подтверждены и доставили ему международную известность.

В период исследований аппарата Гольджи начала формироваться Насоновская цитологическая школа. Дмитрию Николаевичу было тогда 25—27 лет. Его увлечение научной работой, общительность и личное обаяние привлекали к нему молодежь. В 1922 г. с ним начали работать В. Я. Александров, З. И. Крюкова, П. В. Макаров, несколько позже И. Е. Камнев, С. Н. Михайлова и другие. В 1926 г. за исследования аппарата Гольджи Дмитрий Николаевич получил Рокфеллеровскую стипендию, дающую право в течение года работать в одной из лабораторий США. Дмитрий Николаевич избрал лабораторию известного цитолога Ф. Вильсона в Колумбийском университете (Нью-Йорк), где выполнил исследование аппарата Гольджи клеток придатков семенника.

Биографы Д. Н. Насонова не раз отмечали строгую логическую последовательность его творческого пути. Все его исследования тесно связаны между собой. Каждая последующая работа естественно вытекает из предыдущей.

Вернувшись из США, Дмитрий Николаевич продолжал изучение характера поступления веществ из внешней среды в клетку и их



распределение в ней. Для этих исследований особенно подходящими оказались витальные красители (нейтральный красный, метиленовый синий и др.). Эти вещества окрашены и малотоксичны. За их поступлением и дальнейшей судьбой в клетке легко наблюдать. Если поместить живую неповрежденную клетку в разбавленный раствор одного из таких витальных красителей, хорошо видно, что краситель быстро проникает в клетку, диффузно ее окрашивает, а затем через несколько минут собирается и концентрируется в сферических структурах (вакуолях, гранулах). Цитоплазма и ядро при этом остаются неокрашенными. Концентрирование веществ, по соображению Д. Н. Насонова, представляет энергозависимый процесс. Поэтому можно предполагать, что при нарушении энергетического метаболизма процессы сегрегации и концентрирования красителя должны быть нарушены. Опыт подтвердил это предположение: при аноксии отложение и концентрирование красителя в гранулах не происходит. Клетка в условиях недостатка кислорода остается окрашенной диффузно. Вместе с тем видно, что диффузная окраска клетки, особенно ядра, значительно более интенсивная, чем окраска интактных клеток в условиях нормального снабжения кислородом (в первые минуты инкубации клеток в растворе красителя). Очевидно, в условиях аноксии способность цитоплазмы и ядра связывать краситель увеличивается. Эти наблюдения привели к обширной серии исследований, проведенных в лаборатории цитологии, организованной Дмитрием Николаевичем по предложению академика А. А. Заварзина, в Отделе морфологии Всесоюзного института экспериментальной медицины (1933 г.) и в лаборатории физиологии клетки Ленинградского университета, куда Дмитрий Николаевич был приглашен академиком А. А. Ухтомским (1935 г.). В этих работах было установлено, что нарушение гранулообразования и увеличение окраски цитоплазмы и ядра происходят не только при аноксии, но и под влиянием широкого круга повреждающих клетку физических и химических агентов: гипертонии, гипотонии, высокой температуры, высокого гидростатического давления, действия кислот, спирта, наркотиков и т. д. Таким образом, нарушение присущей интактной клетке способности сегрегировать и концентрировать краситель в гранулах является неспецифическим, постоянным и наглядным показателем повреждения клетки. Кроме нарушения тинкториальных свойств клетки при ее повреждении наблюдается ряд других неспецифических признаков (увеличение светорассеяния цитоплазмы и ядра, увеличение вязкости, увеличение проницаемости и др.). Все эти изменения обратимы, если действие повреждающего агента было не слишком продолжительным или интенсивным.

Эти наблюдения привели Дмитрия Николаевича к сближению с физиологами школы Н. Е. Введенского, который еще в 1901 г. открыл и описал неспецифический характер изменений возбудимости и проводимости нерва в ответ на действие раздражителей. Для обозначения состояния раздраженного нерва Н. Е. Введенский предложил термин «парабиоз». Данные Н. Е. Введенского относились к функциональной стороне реакции живого объекта. Материалы

Д. Н. Насонова характеризовали изменения самого живого субстрата, т. е. физико-химические изменения. Связь научного дела обеих школ была очевидной и необходимой. Д. Н. Насонов пожелал закрепить ее терминологически. Так возник (по совету академика А. А. Ухтомского) по созвучию с термином «парабиоз» термин «паранекроз», который был введен для обозначения совокупности обратимых субстанциальных реакций протоплазмы на действие раздражителей. О связи парабиоза с паранекрозом академик А. А. Ухтомский писал: «Что касается классического парабиоза под действием разнообразных физических и химических факторов и тех исключительно монотонных реакций в субстрате, которые приходится за ними предполагать, то здесь мы имеем драгоценную новинку в фактах и зависимостях паранекроза» (Ухтомский, 1939, с. 12).

Тот факт, что сходные изменения в клетке вызываются различными по своей природе физическими и химическими агентами, навел Дмитрия Николаевича на мысль, что в основе реакций протоплазмы лежит какой-то единый молекулярный механизм. Таким механизмом, по мнению Д. Н. Насонова, являются денатурационные изменения лабильных протеинов протоплазмы. В монографии Д. Н. Насонова и В. Я. Александрова «Реакция живого вещества на внешние воздействия», опубликованной в 1940 г., приводится обзор предшествующих работ Д. Н. Насонова и его учеников. Там же рассматриваются данные по денатурации белка, по ее обратимости. В то время это была первая сводка работ по рассматриваемой проблеме не только в отечественной, но и в мировой литературе. Книга оказала значительное влияние на советских цитологов. Одновременно с ее выходом в свет известный биохимик А. Кизель писал: «Только постройкой моста между морфологическим пониманием и познанием материи, а также знанием законов ее распределения, скрытых в химии и физической химии, морфологическая наука может быть приведена к последним границам познания» (Кизель, 1940, с. 4). Работа Насонова и Александрова создавала этот мост между морфологией, химией и физической химией, она будила мысль, она стимулировала научные исследования. «Мы учились по Насонову и Александрову...», — вспоминает биолог А. А. Нейфах (1986). В 1943 г. монография Д. Н. Насонова и В. Я. Александрова была удостоена Государственной премии.

Вначале паранекротические изменения в клетке были установлены при повреждающих воздействиях. В дальнейшем было обнаружено, что аналогичные сдвиги лежат и в основе процессов возбуждения. С присущей Дмитрию Николаевичу творческой энергией и смелостью мысли он вторгся в сферу общей физиологии. Его исследования, посвященные действию на протоплазму различных раздражителей, привели к пересмотру традиционных и созданию новых теорий и представлений, объясняющих закономерности возникновения биоэлектрических явлений, возникновения и проведения возбуждения в нервной и мышечной тканях. По словам А. С. Трошина, вершиной творчества Д. Н. Насонова было создание градуальной теории возбуждения, устанавливающей единство местного и распро-

страняющегося возбуждения, обосновывающей существование механизма саморегуляции величин распространяющегося возбуждения в нервном проводнике и устанавливающей, что закон «все или ничего» является лишь частным случаем более общих закономерностей. Эти работы изложены в монографии «Местная реакция протоплазмы и распространяющееся возбуждение», изданной посмертно в 1959 г.

Интенсивная, плодотворная деятельность Насонова получила высокую оценку. В 1935 г. он был утвержден в ученой степени доктора биологических наук (без защиты), в звании профессора. В 1943 г. он был избран членом-корреспондентом АН СССР, в 1945 г. — действительным членом АМН СССР.

Д. Н. Насонов был не только крупным ученым, но и выдающимся педагогом и лектором. С 1935 г. он читал в Ленинградском университете курс физиологии клетки. Этот замечательный курс привлекал не только молодежь, но и многих сторонних специалистов. В дальнейшем большинство учеников Насонова вышло из среды слушателей этого курса (Д. Л. Розенталь, И. П. Суздальская, А. С. Трошин, В. П. Буткевич, Б. П. Ушаков и др.). Под его руководством было защищено несколько десятков кандидатских и докторских диссертаций.

Д. Н. Насонов был великим патриотом и гражданином. С началом Великой Отечественной войны он вступил добровольцем в ряды Советской Армии (2-го июля 1941 г.). Он был назначен командиром санитарного взвода медсанбата 13-й стрелковой дивизии, действующей на Ленинградском фронте. За проявленное мужество его наградили медалью «За боевые заслуги». В конце 1942 г. Насонов был ранен и после выздоровления демобилизовался и вернулся к научной работе.

Всех, общавшихся с Д. Н. Насоновым, поражало в нем соединение мощной творческой личности и смелости мысли с искренностью и простотой; невольно приходили на ум известные слова А. С. Пушкина о чертах, которые «соединяются с гением, обыкновенно простодушным, и с великим характером, всегда откровенным».\*

Революция в биологии в середине 50-х годов нашего столетия (открытие кода ДНК, установление структуры белков, успехи электронной микроскопии и др.) настоятельно потребовала перевооружения цитологии, новых подходов, новых методов для изучения клетки. В 1955 г. Д. Н. Насонов вошел в Президиум АН СССР с ходатайством, в котором обосновал необходимость создания специализированного учреждения, в котором мог быть обеспечен подъем цитологических исследований на новый уровень. Президиум АН СССР согласился с доводами Д. Н. Насонова и поручил ему организовать в Ленинграде Институт цитологии АН СССР. Дмитрием Николаевичем была проделана большая организационная работа: разработана структура института, подобраны высококвалифицированные кадры,

\* Пушкин А. С. Полн. собр. соч.: В 10-ти т. Л., 1978. Т. 7. С. 43.

разработан перспективный план научной работы, выдвигавший задачу создания «синтетической цитологии», требовавший комплексного подхода для решения принципиальных проблем науки о клетке.

1 апреля 1957 г. Институт цитологии под руководством Д. Н. Насонова вступил в строй действующих учреждений АН СССР.

21 декабря 1957 г. Дмитрий Николаевич скончался от паралича сердца.

В 1958 г. Институтом цитологии были учреждены в память Д. Н. Насонова ежегодные научные собрания, которые происходят в конце декабря.<sup>22</sup> На собраниях выступают ученые, освещающие в своих докладах развитие различных проблем науки о клетке. Если докладчик является учеником и соратником Дмитрия Николаевича, то обычно вводная часть доклада посвящается воспоминаниям о Насонове, дополняющим его образ новыми штрихами, помогающим воссоздать облик замечательного ученого, учителя и гражданина.

В 1985 г. издательством «Наука» была опубликована биография Д. Н. Насонова, написанная его учениками А. С. Трошиным и В. П. Трошиной, в которой с большой теплотой описаны жизнь Д. Н. Насонова и его творческий путь.

### Денатурационная теория Д. Н. Насонова и В. Я. Александрова

Задолго до современных представлений о роли конфигурационных переходов белка в механизме ряда биологических реакций Насонов и Александров выдвинули этот принцип как основу субстанциальных изменений протоплазмы при повреждении и возбуждении.

В основе денатурационной теории лежат многочисленные экспериментальные данные и теоретические представления.

1. Многочисленные наблюдения, утверждающие неспецифический, т. е. однотипный, характер ответной реакции клетки на воздействия разнородных физических и химических факторов. Агенты, иногда противоположные по своей природе (гипертония—гипотония, кислота—щелочь, гипертермия, гипоксия, электролиты, неэлектролиты, УФ-облучение и др.) вызывают в клетке комплекс обратимых, однотипных изменений: увеличение светорассеяния, увеличение вязкости, нарушение сегрегационной функции, увеличение сорбционных свойств цитоплазмы и ядра, сдвиг рН в кислую сторону, выход из клетки в среду ряда веществ и т. д. Тот факт, что различные по своей природе агенты вызывают в клетке сходные изменения, давно уже породил убеждение в том, что в основе реакции живой протоплазмы на неблагоприятные воздействия лежит единый молекулярный механизм.

2. Твердо установившиеся представления о белке как о главной составной части клетки и о его активной роли в жизненном процессе. Это представление, выдвинутое еще в период, когда существовала уверенность, что в протоплазме, кроме белка, нет других компонентов,

в дальнейшем с успехами аналитической биохимии и открытиями в составе клетки липидов, нуклеиновых кислот, углеводов и минеральных солей не было поколеблено.

3. Работы В. В. Лепешкина (Lepeschkin, 1924, 1937), посвященные изучению белков как коллоидов и реакциям их денатурации. Лепешкин одним из первых установил характерный для реакции денатурации высокий температурный коэффициент и использовал этот показатель для распознавания природы процесса, протекающего в клетках при действии на них повреждающих агентов. Он пришел к выводу, что денатурация представляет собой реакцию, протекающую с участием воды, и этим объяснил значительную устойчивость к действию высокой температуры обезвоженного белка и высушенных живых объектов. Лепешкин считал бесспорным, что в протоплазме денатурация белка происходит при тепловом повреждении: «никто не сомневается, что денатурация белка в живой материи происходит при действии высоких температур» (Lepeschkin, 1937, с. 93). При некоторых других видах повреждения (например, при действии механического фактора) возможность денатурации казалась ему малореальной, так как данный фактор не способен вызвать денатурацию белка *in vitro*. Однако, если учесть, что механический агент способен вызвать повреждение клетки со всеми его атрибутами, то это, по мнению Лепешкина, может быть одним из доводов в пользу существования в протоплазме высоколабильного органического субстрата (липопротеида), разлагающегося на составные части при воздействиях, ничтожных по интенсивности.

4. Работы М. Ансона и А. Мирского (Anson, Mirsky, 1931). Эти авторы в период 1925—1935 гг. опубликовали серию исследований денатурации белков. Убедившись в обратимости белковой денатурации, они высказали следующее соображение: «Трудно поверить, что Природа не использовала способность белков к коагуляции. В настоящее время кажется соблазнительной гипотеза о том, что денатурация и ее обратимость являются биологическими реакциями, важными в обычных клеточных процессах» (Anson, Mirsky, 1931, с. 193).

5. Работы Э. С. Бауэра, автора монографии «Теоретическая биология» (1935). Бауэр выдвинул и обосновал концепцию, согласно которой живые системы в отличие от тел мертвой природы никогда не находятся в состоянии равновесия. В них постоянно совершается работа против равновесия, требуемого законами физики и химии. Живая протоплазма, таким образом, может быть охарактеризована как система, находящаяся в состоянии «устойчивого неравновесия». Деформированное (неравновесное, нативное) состояние белков в живой системе поддерживается энергией обмена веществ. Деформированное состояние белков определяет их энзиматическую активность. При повреждении и смерти молекулярные деформации уменьшаются и исчезают, и белки принимают форму, соответствующую равновесному (денатурированному) состоянию.

6. Экспериментальные исследования коллектива сотрудников под руководством Д. Н. Насонова. Успеху дела способствовали продук-

тивность и целеустремленность исследователей, их полемическое и литературное дарования. В 1930—1939 гг. Д. Н. Насоновым, В. Я. Александровым, И. Е. Камневым, П. В. Макаровым, Б. Н. Сутуловым, А. С. Трошиным и другими сотрудниками опубликовано около 40 работ. Полный их список приводится в монографиях Д. Н. Насонова и В. Я. Александрова (1940; Насонов, 1959).

К периоду создания денатурационной теории, т. е. к 1934—1940 гг., было известно, что для различных нативных белков (сывороточных, яичных альбуминов и глобулинов, миозина, гемоглобина, многих ферментов) характерна способность отвечать на воздействие разнообразных физических и химических агентов (высокой температуры, давления, действия кислот, щелочей, солей, спирта, эфира, УФ-облучения и т. д.) однотипной реакцией денатурации.

Денатурационная реакция проявляется совокупностью неспецифических изменений: уменьшением растворимости (в связи с чем происходят увеличение светорассеяния, желатинизация и коагуляция), увеличением вязкости и способности к перевариванию протеолитическими ферментами, утратой способности к кристаллизации, нарушением специфической активности ферментов, появлением в белке различных химических групп и рядом других признаков. Механизм денатурации не был известен. Однако то обстоятельство, что речь идет о реакции, осуществляемой без разрыва пептидных связей и сводящейся к некоторому структурному преобразованию молекул, осознавалось вполне отчетливо. Понятие «денатурационный» считалось синонимом химического, т. е. молекулярного, изменения белка и противопоставлялось понятию «коллоидный», которое относилось к изменениям, связанным с утратой заряда, уменьшением гидратации и с другими факторами устойчивости белкового золя. Таким образом, коагуляция белка (например, при нагреве) трактовалась как преципитация предварительно денатурированного белка.

Д. Н. Насонов и В. Я. Александров (1940) отмечают сходство между изменениями протоплазмы при повреждении и изменениями белков при денатурации.

1. Основные признаки повреждения протоплазмы (уменьшение степени дисперсности, увеличение вязкости и др.) совпадают с такими же показателями денатурации белка, обнаруживаемыми *in vitro*.

2. Все агенты, повреждающие клетку (высокая температура, высокое давление, электролиты, неэлектролиты, лучистая энергия и др.), являются денатураторами белка, а факторы, не повреждающие клетку (например, радиоволны), в любых дозах не действуют и на белки.

3. Из органических веществ, входящих в состав протоплазмы, девять десятых приходится на белки, и именно белкам присущ однотипный характер реакции на действие физических и химических факторов среды — любые белки на действия разнообразных, иногда противоположных по своему характеру агентов реагируют неспецифической, однотипной, реакцией денатурации.

4. Условия, индуцирующие или тормозящие денатурацию белков, в том же направлении оказывают влияние и на действие агентов, повреждающих клетку. Так, например, вещества, предохраняющие белки от денатурации (сахара, многоатомные спирты и др.), защищают и клетку от повреждения. Обезвоживание повышает стабильность нативных белков и также увеличивает устойчивость живой протоплазмы к повреждению.

5. Процесс денатурации, помимо общих неспецифических признаков, как правило, обнаруживает частные специфические черты, характерные для данного денатурирующего агента. Так, тепловая денатурация белка характеризуется высоким температурным коэффициентом; для спиртовой денатурации типична высокая обратимость; денатурациям, вызванным проникающей радиацией, свойственны явления последствия, и т. д. Необходимо подчеркнуть, что специфика повреждения клетки совпадает со спецификой денатурации белков: тепловое повреждение клеток характеризуется высоким температурным коэффициентом, спиртовое повреждение — высокой обратимостью, лучевое повреждение — явлениями последствия и т. д. Таким образом, кроме совпадения общих неспецифических признаков денатурации и повреждения, они сходны и по частным, специфическим показателям.

На вопрос о том, происходит ли денатурация белков при повреждении клетки факторами, которые сами по себе не способны вызвать денатурацию белков *in vitro* (асфиксия, механическое повреждение), Д. Н. Насонов и В. Я. Александров отвечали утвердительно, так как в соответствии с учением Э. С. Бауэра допускали, что для поддержания нативного состояния белков требуется непрерывная трата энергии. При нарушении же энергетического метаболизма (что происходит при асфиксии и при механическом повреждении) белки, лишенные энергоснабжения, переходят в денатурированное состояние. На основании всех этих данных и соображений и было выдвинуто предположение, что субстратом, ответственным за физико-химические изменения протоплазмы при повреждении, являются ее нативные белки, способные благодаря неустойчивости своей молекулярной структуры реагировать однотипным, неспецифическим, комплексом изменений на воздействия агентов различной природы. По своему характеру и по характеру своих физико-химических последствий эти молекулярные нарушения весьма близки к обнаруживаемым при денатурации нативных белков *in vitro*. Из этого тезиса (представляющего ядро денатурационной теории) следовал вывод: если физико-химические изменения протоплазмы определяются нарушениями молекулярной структуры ее нативных белков, то ряд сторон клеточного повреждения может быть моделирован *in vitro* на более простых и доступных для исследования нативных белках. Этот вывод представлял и широкие возможности для экспериментирования и на его основе были получены многочисленные новые факты.

Как уже указывалось, одним из постоянных признаков поврежденного состояния протоплазмы является увеличение ее сорбционной

активности, что проявляется, в частности, в увеличении связывания ею красителей. Считая, что физико-химические изменения протоплазмы при ее повреждении определяются денатурацией ее нативных белков, следовало ожидать, что этот показатель может быть воспроизведен на нативных белках *in vitro*. В период создания денатурационной теории существовало несколько исследований, результаты которых свидетельствовали об увеличении сорбционной активности белков после денатурации. Так, Паули и Матула (Pauli, Matula, 1917) обнаружили более сильное сродство ионов серебра к денатурированному белку. В работе Фишера (Fischer, 1935) указано на усиление связывания гепарина плазмой крови и яичным альбумином после тепловой денатурации. Были известны наблюдения об увеличении сродства к белкам после их денатурации и красителей. Так, Холло и Лакс (Hollo, Lax, 1923) обнаружили увеличение сродства к сыворотке крови после ее прогрева конго-рубина. Было также показано увеличение связывания яичным белком при его тепловой обработке или денатурации метилового фиолетового (Schoenmüller, 1937) и нейтрального красного (Ries, 1937).

В. Я. Александровым и Д. Н. Насоновым (1937) приводятся результаты опытов, в которых исследовано влияние разных видов денатурации на сродство красителей к лошадиной сыворотке и цельному яичному белку. Авторами обнаружено увеличение сродства ряда основных красителей к денатурированной сыворотке и некоторых кислотных красителей к денатурированному яичному белку: гретый при 50 °С яичный белок связывает в 12 раз больше цианола и в 16 раз больше трипанового синего, чем нативный. Обнаружив увеличение сорбционной активности белков при денатурации, Насонов и Александров уверенно трактовали изменение тинкториальных свойств протоплазмы при повреждении и возбуждении как проявление белковых закономерностей.

А. А. Брауном и М. Ф. Ивановым (1933) была разработана простая методика определения сродства протоплазмы к красителям, давшая возможность оценивать степень альтерации протоплазмы количественно. В лаборатории Д. Н. Насонова был собран обширный экспериментальный материал, демонстрирующий увеличение сорбционной активности различных клеток при воздействии разнородных агентов и трактуемый авторами в духе денатурационной теории, т. е. как изменение нативных белков в результате денатурации.

К началу нашего столетия относятся выдающиеся исследования физиолога Н. Е. Введенского, изучавшего изменения свойств нерва под влиянием различных физических и химических агентов. Было обнаружено, что в нерве в месте приложения агента по мере усиления интенсивности воздействия наблюдаются закономерные, последовательно сменяющие друг друга изменения возбудимости и проводимости. Процесс начинается продромической фазой, проходит ряд стадий возбуждения (уравнительную, парадоксальную) и завершается фазой полной потери возбудимости, т. е. наркозом. Н. Е. Введенский обнаружил, что при действии разнообразных физических и химических агентов в нерве возникают изменения, очень близкие,



практически неотличимые от тех, которые возникают при действии типичных наркотиков. Таким образом, способность вызывать наркотическое состояние нельзя считать прерогативой какой-то одной узкой группы химических агентов-наркотиков. Принципиально так же действуют и другие химические и физические агенты при приложении их к нерву в известной дозе. Желая подчеркнуть неспецифический характер реакции нерва на действие разнообразных физических и химических факторов (в том числе и специально наркотических), Введенский и ввел обозначение «парабиоз». Парабиотический процесс хорошо обратим: при снятии действующего агента первоначальные свойства нерва восстанавливаются.

Разумеется, не могло пройти незамеченным значительное сходство между условиями возникновения и свойствами парабиоза, с одной стороны, и состоянием клетки, вызываемым действием неблагоприятных факторов, — с другой: оба состояния вызываются действием широкого круга раздражителей, их проявления носят неспецифический характер и оба они после устранения раздражителя обратимы. Отсюда и возникла мысль о родстве обоих состояний и желание закрепить эту близость терминологически. В результате обсуждения этого вопроса совместно с академиком А. А. Ухтомским и возник термин «паранекроз» для обозначения состояния клетки, возникающего в результате воздействия на нее различных физических и химических факторов и характеризующееся комплексом неспецифических показателей. Парабиоз и паранекроз, по мнению Насонова и Александра, представляют различные стороны одного и того же процесса. Парабиоз рассматривает физиологические, т. е. функциональные, изменения, к паранекрозу относятся субстанциальные, т. е. физико-химические и биохимические, стороны процесса. Но парабиоз, как указывалось выше, представляет развивающийся во времени процесс, включающий ряд следующих друг за другом фаз. Если паранекроз — субстанциальная основа парабиоза, то его, как и парабиоз, необходимо рассматривать как многоступенчатый развивающийся процесс, проходящий ряд последовательных стадий. По всем данным, классическая картина паранекроза, характеризующаяся уменьшением дисперсности клеточных коллоидов и изменением тинкториальных свойств клетки, соответствует состоянию повреждения, развивающемуся лишь в одной — последней, наркотической, фазе процесса.

Следует, очевидно, предположить, что паранекротические, т. е. субстанциальные, эквиваленты парабиотического процесса должны существовать и для других его фаз и, в частности, для фаз, проявляющихся функциональными показателями возбуждения. Этими соображениями устанавливается прямая генетическая связь между состоянием обратимого повреждения и возбуждения. С другой стороны, рассматривая парабиоз и паранекроз как две взаимосвязанные стороны реакции клетки на действие раздражителей, необходимо предполагать, что в том случае, когда цитофизиологические и биохимические методы исследования устанавливают наличие пара-

некроза, там должны существовать и парабиотические, т. е. функциональные, изменения. Таким образом, парабиотический комплекс должен быть присущ не только нервной и мышечной, т. е. проводящим, тканям, но и другим видам клеточных элементов (клеткам почек, печени, эпителиальным клеткам, соединительнотканым и т. д.), для которых в отличие от нерва и мышцы не существует внешних проявлений функциональной активности.

Признание общности между парабиозом и паранекрозом обогащает содержание обоих понятий и оказывается плодотворным практически, так как позволяет применять для исследования обоих состояний как цитофизиологические, так и физиологические и биохимические методы. Представление о родстве парабиоза и паранекроза оказывается ценным и в теоретическом отношении: оба эти состояния могут развиваться во всех видах клеток. Этим утверждается общебиологическое значение парабиотической и паранекротической реакции.

Широкие горизонты, открытые денатурационной теорией, в 40-е годы не находились в соответствии с уровнем знаний в смежных областях, в частности, в химии белков и энзимологии. Поэтому, хотя значение многих вопросов осознавалось, решение одних откладывалось, других оказывалось недостаточно убедительным. Один из таких вопросов являлся первоочередным: какие белки при повреждении клетки подвергаются денатурации? В статьях и книге Д. Н. Насонова и В. Я. Александрова неопределенно указывается на денатурацию «нативных» белков или «белковых компонентов», или «лабильных» белков, например: «... наиболее уязвимым субстратом клетки являются нативные белки» (Насонов, Александров, 1940, с. 182), «... физико-химические явления, разыгрывающиеся в поврежденной клетке, отображают изменение нативных белков протоплазмы» (там же, с. 185).

О каких белках идет речь? В эукариотической клетке содержится более тысячи различных индивидуальных белков. Происходят ли денатурационные сдвиги у всех белков или у какой-то избранной их части? Этот вопрос возник у авторов денатурационной теории в самом начале. В одной из статей Насонов (1937) указывает, что среди белков существуют значительные вариации по чувствительности к повреждающим воздействиям. Так, например, помутнение сыворотки крови лошади наступает при 67—70 °С, в то время как помутнение яичного белка происходит при 60—63 °С, а миозин, выделенный из мышц амфибий, свертывается при еще более низкой температуре. «Можно допустить, что в живой клетке имеются протеины, значительно более чувствительные к повреждению...» (Насонов, 1937, с. 234). Ту же мысль находим и в книге Насонова и Александрова: «... клетка несомненно является системой белков, различающихся как по своему функциональному значению, так и по своей чувствительности к денатурирующим воздействиям» (1940, с. 193). Таким образом, при действии на клетку повреждающих агентов денатурации подвергается наиболее чувствительная, наиболее лабильная группа белков. О природе этих белков ничего определенного в то время ска-

зять было нельзя. Однако необходимость разобраться в этом вопросе представлялась очевидной. В связи с этим А. С. Трошин (1939) предпринял исследование повреждающего действия гипотонии на скелетные мышцы и показал, что при разбавлении рингеровского раствора в 4—5 раз мышца мутнеет, твердеет, укорачивается, и если ее вовремя не перенести в Рингер нормального состава, погибает. Некоторые вещества, добавленные к разбавленному Рингеру, защищают мышцу от повреждения. Они располагаются в ряд: декстрин > сахароза > галактоза > глюкоза > мочеви́на > маннит > глицерин > гликоль. Другая группа веществ, добавленная к разбавленному Рингеру, напротив, усугубляет повреждение: ацетон > спирт > > эфир.

Во второй серии опытов А. С. Трошиным (1939) вместо мышцы была взята сыворотка крови. Результаты этих опытов показали, что при тех же степенях разведения рингеровского раствора, которые повреждают мышцу, наблюдается и помутнение сыворотки, т. е. коагуляция глобулинов. Вещества, защищающие мышцу от повреждения, предупреждают выпадение глобулинов сыворотки, а вещества, усугубляющие действие гипотонии на мышцу, усиливают и коагуляцию глобулинов в сыворотке. Автор рассматривал полученные данные как доказательство того, что в основе повреждающего действия гипотонии лежит коагуляция глобулинов. В этой работе Трошин не обсуждает, следует ли отсюда, что глобулины являются наиболее лабильными белками клетки и подвергаются денатурации в первую очередь при действии не только гипотонии, но и любых повреждающих факторов.

Против представлений о решающей роли денатурации белка в механизме повреждения клетки выдвигались соображения о том, что для провоцирования паранекроза требуются дозы повреждающего агента, обычно менее интенсивные, чем для денатурации белков *in vitro*. В. В. Лепешкин (Lepeschkin, 1937) парирует это возражение, указывая, что даже небольшая доза повреждающего агента способна вызвать распад уникального по лабильности гипотетического протеида — «витаида». Д. Н. Насонов и В. Я. Александров, обсуждая тот же вопрос, отмечают, что исследования, в которых обнаружена относительно высокая устойчивость белков, проводились, главным образом, на альбуминах сыворотки и молока, т. е. белках, обладающих из ряда вон выходящей устойчивостью. Подобная высокая устойчивость, однако, характерна для внеклеточных белков, тогда как белки протоплазмы обладают крайней неустойчивостью, что было показано еще Кюне (Kühne, 1864) и позднее подтверждено Фюртом (Fürth, 1919). Они денатурируют, желатинируют и коагулируют уже при физиологической температуре (не забудем, что в 1940 г. еще не был открыт актин и механизм желатинизации и коагуляции клеточных экстрактов не был известен). Представление о легкой денатурируемости цитоплазматических белков позволило выдвинуть вопрос и о том, каким образом внутриклеточные белки, несмотря на свою исключительную неустойчивость, способны сохранять нативные свойства, находясь в клетке при температурах 37—40 °С, т. е.

в условиях существования гомотермных организмов. Этот вопрос был решен в рамках учения Э. С. Бауэра о неравновесном состоянии белковых молекул в живой материи. Бауэр утверждал, что нативное состояние белков с точки зрения термодинамики может быть охарактеризовано как устойчиво-неравновесное и, следовательно, энергозависимое, а энергия, требуемая для поддержания неравновесной структуры, обеспечивается обменом веществ. В соответствии с представлениями Бауэра Насонов и Александров предположили, что денатурация протоплазматических белков осуществляется непрерывно в течение всей жизни клетки, но одновременно, в условиях структурной целостности клетки и непрерывно текущего ненарушенного обмена веществ, непрерывно же происходит и обратный процесс ренативации.

Книга Д. Н. Насонова и В. Я. Александрова была удостоена Государственной премии (1943 г.), и эта высокая оценка не в малой степени способствовала упрочению авторитета и распространению в СССР денатурационной теории. Оглядываясь назад, можно с уверенностью сказать, что денатурационная теория оказала большое положительное влияние на советских биологов, на их мышление, на организацию экспериментальных исследований. На основе денатурационной теории было выполнено большое число исследований, относящихся к проблемам повреждения и возбуждения клетки. Ее предвидения нашли подтверждения в цитозологии. Под ее влиянием был осуществлен ряд исследований в области химии белка.

Из дальнейших разработок, относящихся к денатурационной теории, укажем на серию исследований А. Д. Брауна (1948а, 1948б, 1949, 1953), изучавшего в лаборатории В. Я. Александрова взаимодействие нативных и денатурированных белков с красителями. Вопрос о причине увеличения сорбционных свойств протоплазмы при повреждении оставался актуальным. Насонов и Александров считали, что для доказательства того, что субстанциальной основой этих эффектов является денатурация белков, данные, полученные на сыворотке и цельном яичном белке, т. е. на многокомпонентных системах, недостаточно убедительны, и необходимо получение данных на изолированных индивидуальных белках. Браун исследовал сорбционные свойства ряда белков (фибрилярных и глобулярных, нативных и денатурированных различными агентами) по отношению к обширной группе основных и кислотных красителей. При этом были подтверждены прежние наблюдения об увеличении сорбционной активности белков при денатурации. Однако увеличение сорбции красителей в результате денатурации изолированных белков не достигает тех значений, которые наблюдались при повреждении протоплазмы или при денатурации таких многокомпонентных систем, какими являются сыворотка крови и цельный яичный белок. При измерении сродства белков к красителям и параллельном определении освобождающихся при денатурации SH-групп было установлено, что увеличение связывания красителей можно было обнаружить значительно раньше, чем происходит увеличение содержания SH-групп. Этот результат свидетельствовал против утверждения об обязательном проявлении всех

признаков денатурации одновременно, т. е. против принципа «все или ничего», считающегося законом для реакции денатурации. Более правдоподобным оказалось признание постепенного, градуального характера денатурационного процесса. Данные Брауна были подтверждены много лет спустя в ряде работ (Bradbury, Norton, 1974; Привалов, 1979; Williams, Swenson, 1981).

В работах А. Д. Брауна и В. Л. Немчинской (Браун, 1960; Браун, Немчинская, 1960) был исследован выход веществ из мышц при их повреждении. Результаты этих работ приводятся ниже. Здесь скажем только, что выход макромолекулярных (ферментов) и низкомолекулярных (креатина, аминокислот, ионов  $K^+$ ,  $PO_4$  и др.) веществ из мышц при их повреждении рассматривается авторами как свидетельство разрушения надмолекулярных комплексов и освобождения белковых и небелковых компонентов. Выход веществ является ранним и чувствительным показателем альтерации внутриклеточных структур. При повреждении изолированных ядер обнаруживается выход из них ферментов гликолиза. Способность изолированных ядер удерживать всю систему ферментов гликолиза подтверждает связь последних со структурами ядра. Выход из поврежденных ядер белков, дающих реакцию Сакагуши, указывает на их гистоноподобную природу. При повреждении ядер происходит увеличение их тинкториальной активности, т. е. распад нуклеопротеидов.

Таким образом, накапливался материал, показывающий, что в субстанциальные изменения протоплазмы при повреждении, вызванном действием разнородных факторов, определенный (может быть, решающий) вклад вносят изменения структур высших порядков. При механическом повреждении клеток, при обработке их гипотоническими растворами нейтральных солей возникает паранекроз с присущими этому состоянию изменениями протоплазмы. Между тем именно эти процедуры применяются для изолирования нативных белков.

Был осуществлен ряд исследований биохимического характера, результаты которых позволили рассматривать паранекротическое состояние как защитную, т. е. приспособительную, реакцию, направленную к сохранению клеточной системы и ее жизненно важных центров. На это указывают различия в характере обмена в начальный период паранекроза и в последующих его фазах. В первый период дыхание клетки увеличивается в среднем на 300 %, образование молочной кислоты — на 600—2000 %. Содержание креатинфосфата падает до крайне низкого уровня. В этой фазе обмен поврежденной клетки не отличается от обмена при напряженной функциональной деятельности. Но в дальнейшем характер метаболических реакций меняется. Дыхание нормализуется. Образование молочной кислоты снижается, уровень креатинфосфата повышается, содержание АТФ увеличивается на 150—200 %. Таким образом, защитный приспособительный характер происходящих изменений представляется весьма вероятным.

В 1985 г. издательством «Наука» опубликована монография одного из творцов денатурационной теории В. Я. Александрова «Реак-

тивность клеток и белки». В этой книге, замечательной по богатству и разнообразию материалов, кратко изложена сущность денатурационной теории, история ее создания, возникшая вокруг нее полемика. Кратко описано и состояние денатурационной теории в свете современных данных. Один из разделов (с. 127) начинается словами: «Сопоставление функциональных и денатурационных изменений белков делается отнюдь не из простого желания добиться р е а н и м а ц и и денатурационной теории раздражения 1940 г.» (разрядка наша, А. Б., Т. М.). Эти слова удивляют. Под «реанимацией» понимают восстановление угасших или угасающих жизненных функций. Разве денатурационная теория напоминает больного с исчезнувшим или исчезающим пульсом? Конечно, платформы денатурационной теории 1940 и 1985 гг. заметно различаются между собой. Время внесло значительные коррективы в ее первоначальные постулаты. Эволюция денатурационной теории подтверждает справедливость мысли Ж. А. Пуанкаре (1923, с. 193) о движении наук: «Движение наук следует сравнивать не с перестройкой города, где старые здания немилосердно разрушаются, чтобы дать место новым постройкам, но с непрерывной эволюцией зоологических видов, которые беспрерывно развиваются и в конечном итоге становятся неузнаваемыми для простого глаза, но в которых опытный глаз всегда откроет следы предшествующей работы прошлых веков. Итак, не следует думать, что вышедшие из моды теории бесплодны и не нужны».

По данным Кюне (Kühne, 1863) и Фюрта (Fürth, 1919), сок, отжатый из мышц, печени, почек и других органов и тканей, в течение нескольких минут свертывается. Эти данные до открытия актина и актинсвязывающих белков трактовались как свидетельство высокой неустойчивости внутриклеточных белков и их быстрой денатурации вне клетки. Для того чтобы объяснить возможность длительного существования белков в нативном состоянии внутри клетки, постулировали наличие в ней специализированной энзиматической системы, катализирующей ренативацию денатурированных белков. Процесс ренативации считали энергозависимым. Таким образом, клеточные белки могли быть переведены в денатурированное состояние путем прямого воздействия повреждающих агентов на клетки и опосредованно — в результате блока энергетического обмена. Эта гипотеза не получила экспериментального подтверждения и была оставлена.

Вместе с тем существование тесной взаимосвязи между конфигурационными изменениями белков и метаболизмом не вызывает сомнений. О характере этой связи были выдвинуты следующие соображения. Положение равновесия в реакции: нативный белок  $\rightleftharpoons$  денатурированный белок зависит от условий среды — рН, концентрации электролитов и метаболитов и т. д. В одних условиях более устойчива нативная форма, в других — денатурированная. В интактной клетке, очевидно, господствуют условия, поддерживающие нативную конформацию, при повреждении условия благоприятствуют сохранению денатурированной формы. Для обеспечения нормального гомеостаза (рН, концентрации ионов и т. д.) необходим

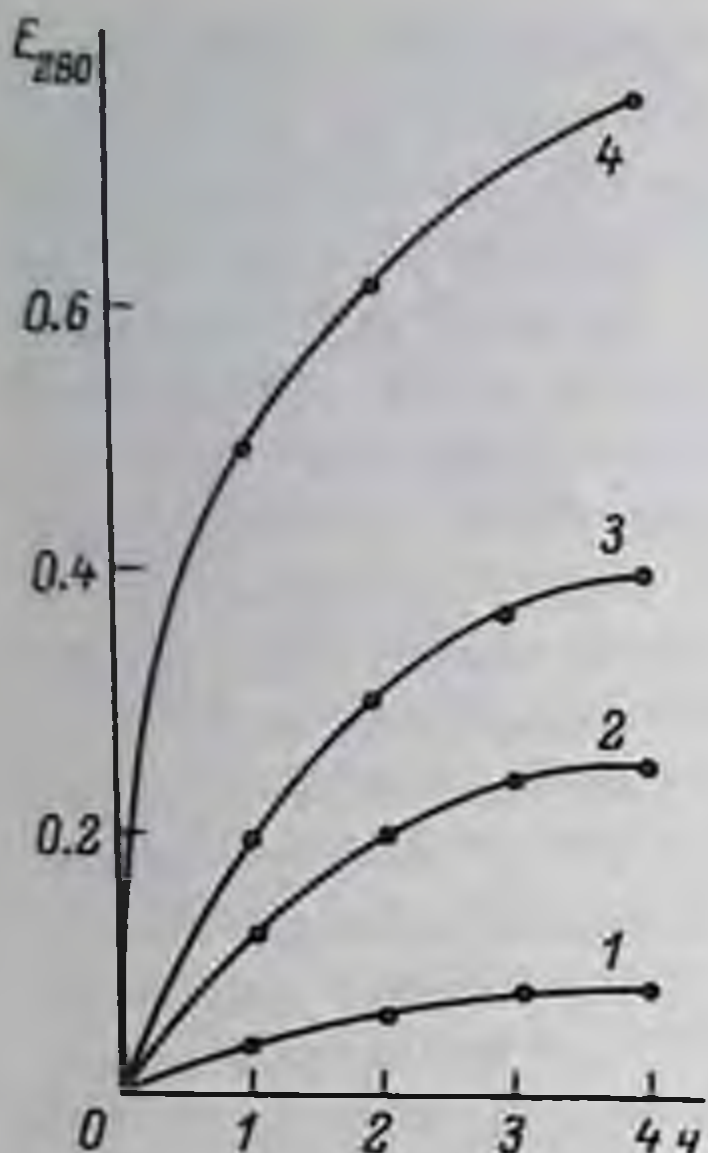


Рис. 3. Уровень протеолиза «неработающей» и «работающей» уреазы после обработки субтилизинном I и лизосомальными катепсинами (по: Браун и др., 1973).

Индукцированный субтилизинном I протеолиз: 1 — «неработающей» уреазы, 2 — «работающей» уреазы. Индуцированный лизосомальными катепсинами протеолиз: 3 — «неработающей» уреазы, 4 — «работающей» уреазы. По оси абсцисс — время протеолиза; по оси ординат — поглощение раствора при 280 нм после депротенизации 2.5 %-ной трихлоруксусной кислотой.

расход энергии, так как должна совершаться работа по транспорту ионов, синтезу белков, субстратов и т. д. Таким образом, между нативным состоянием белков, клеточным гомеостазом и энергетическим обменом связь самая непосредственная и необходимая.

Известно, что продолжительность жизни нативных белков в клетке ограничена и у разных белков различна. Следовательно, поддержание нативного состояния становится невозможным, несмотря на обеспечение нормального гомеостаза. Было предположено, что продолжительное существование белков находится в связи с их функциональной деятельностью и с возникновением и накоплением деформаций в глобуле («молекулярных травм»). Опыты с уреазой показали, что фермент, работавший в течение ряда часов, атакуется протеиназами заметно более активно, чем тот же фермент, находившийся в этот же период в недействительном состоянии (рис. 3). Данные электрофореза также демонстрируют меньшую подвижность работавшей уреазы по сравнению с недействительной. Таким образом, есть основания предполагать, что денатурационные изменения в ходе функциональной активности белков выступают в качестве механизма, ограничивающего продолжительность жизни клеточных белков и определяющего регуляцию специфических белковых синтезов (Браун и др., 1973).

В 1940 г. предполагали, что в результате действия на клетку повреждающих факторов денатурации подвергаются внутриклеточные белки — «химические индивиды». Позже было осознано, что суммарная энергия связей, стабилизирующих нативные конформации белковых глобул, значительно выше энергии связей, поддерживающих межмолекулярные белковые комплексы — белки протоплазматических структур. На этом основании был сделан вывод о том, что наиболее распространенным типом денатурационных реакций, происходящих в клетке при ее повреждении, является «депротенизация», т. е. распад лабильных межмолекулярных соединений белок-белок, белок-липид, белок-низкомолекулярное вещество и т. д. Устойчивость этих комплексов невелика. В результате их распада освобождается большое число реакционных центров, что приводит к увеличению сорбционной активности альтерированной

протоплазмы, а освободившиеся от связей способные к диффузии белки и небелковые вещества выходят из клетки в окружающую среду (Браун, 1960). Позднее этот вывод был сформулирован следующим образом: «Чем выше уровень организации белка, тем слабее стабилизирующие его связи и, по-видимому, действие повреждающих агентов нарушает в первую очередь эти слабые связи высших порядков. . .» (Браун и др., 1965а, с. 498).

Степень деструкции зависит от характера повреждающего агента и его дозы, от свойств клетки. При действии высокоагрессивных раздражителей (чрезмерных по интенсивности, длительности и т. д.), вызывающих гибель клетки, разрушенными оказываются и меж- и внутримолекулярные связи. Л. В. Гейльбрунн в связи с этим пишет: «По некоторым чертам поведения протоплазма, бесспорно, напоминает обычный белок. Если подвергнуть клетку действию сулемы, то наступающая при этом коагуляция белков протоплазмы ничем не будет отличаться от коагуляции обычных белков» (Гейльбрунн, 1957, с. 74). В этом же смысле высказывался В. В. Лепешкин (Lepeschkin, 1937), обсуждая результат действия на клетку гипертермии.

Действие раздражителей менее агрессивных, вызывающих обратимую альтерацию, приводит к более ограниченным нарушениям. Об этом свидетельствует опыт препаративной биохимии. Нативные препараты белков издавна получают путем механического разрушения клетки и обработки гомогенатов гипер- и гипотоническими растворами солей — манипуляций, каждая из которых способна вызвать паранекроз со всеми его атрибутами. В этом случае, по всей вероятности, нарушаются главным образом межмолекулярные связи. Разрывы связей, стабилизирующих белковую глобулу и изменяющих ее структуру, с легкостью самопроизвольно восстанавливаются.

В. Я. Александров (1985, с. 127) указывает, что при действии на клетки повреждающих факторов происходят изменения белков протоплазмы, сходные с теми, которые имеют место при их переходе в денатурированное или частично денатурированное состояние. Это утверждение основывается на известных данных энзимологии, согласно которым колебания каталитической активности ферментов связаны с изменением конформации их трехмерной структурной организации. Подобные изменения, вероятно, происходят в начальную стадию повреждения, характеризующуюся резкой стимуляцией активности энзиматических систем клетки. В фазе развитого адапционного синдрома многие внутриклеточные ферменты (в частности, тиоферменты) оказываются заблокированными. Представляет ли подобная инактивация следствие денатурации, т. е. разворачивания белковых глобул, или инактивация происходит без изменения структуры белка, в результате, например, утраты кофакторов или окисления тиогрупп в активном центре? Следует учесть, что при обратимой альтерации стимулируются реакции, не протекающие или слабо протекающие в нормальных условиях, например активация гидролаз, синтез стрессовых белков. Нужно также иметь в виду, что наряду с реакциями, сопровождающимися разрывом слабых меж- и внутри-



молекулярных связей, при обратимом повреждении стимулируются реакции других типов, например, индуцируются реакции полимеризации актина, реакции взаимодействия актина с актинсвязывающими белками. Конформационные изменения Г-актина, которые инициируются действием электролитов или полиаминов, скорее всего ограничиваются изменением электростатических свойств белка и, вероятно, не относятся к реакциям денатурационного типа. Таким образом, функциональные и структурные изменения белков клетки при адаптационном синдроме весьма многообразны и по типу своему неоднородны.

В современных работах, посвященных повреждению клетки, денатурационные реакции белков признаются постоянным звеном в цепи наблюдаемых изменений. Так, Боулер (Bowler, 1981), описывая молекулярные события при термическом повреждении клетки, придает особое значение денатурации водорастворимых белков. По представлениям Трампа с сотрудниками (Trump, Bergezesky, 1984), на одном из этапов процесса повреждения клетки отмечается денатурация белков, вначале обратимая, а позднее — необратимая. Правда, ни в одной из указанных работ не упоминается денатурационная теория и ее авторы. В связи с этим уместно вспомнить эпизод из речи академика В. А. Энгельгардта, которую он произнес по случаю получения им золотой медали им. М. В. Ломоносова (1969 г.). Энгельгардт рассказал, как биохимик Ленинджер, описывая явления набухания-сокращения митохондрий, отнес эти изменения за счет механохимических превращений ферментов, аналогично механохимической активности актомиозинового комплекса (впервые установленной Энгельгардтом) и не счел нужным указать, откуда идут эти термины и представления. «Шутливый ответ на вопрос, — продолжал В. А. Энгельгардт, — о том, кто является классиком, гласит: классик — это тот, кого уже не считают нужным цитировать...» Эта шутка должна удовлетворить В. Я. Александрова. Мы думаем, что совершенно прав М. В. Волькенштейн, который в своей рецензии на книгу В. Я. Александрова пишет: «Если речь идет о настоящей науке, то созданное ею неистребимо. Научные идеи могут получить измененное толкование, стать частью новой, более широкой и глубокой концепции, но исчезнуть они не могут. Это подтверждается, в частности, работами В. Я. Александрова. Денатурационная теория повреждения клетки получила через 45 лет новое обоснование, благодаря развитию молекулярной биологии» (Волькенштейн, 1985, с. 1437).

#### ПЯТЬДЕСЯТ ЛЕТ СПУСТЯ

После трудов В. В. Лепешкина, Л. В. Гейльбрунна, Э. С. Бауэра, Д. Н. Насонова, В. Я. Александрова прошло почти 50 лет — срок немалый, а в наше время стремительного увеличения знаний более чем достаточный для суждения об истинной значимости созданных ими белковых теорий для науки о клетке.

В связи с этим вспоминаются известные слова В. И. Ленина: «Исторические заслуги судятся не по тому, что *не дали* исторические деятели сравнительно с современными требованиями, а по тому, что они *дали нового* сравнительно с своими предшественниками». (Ленин В. И. Полн. собр. соч. Т. 2. С. 178). Оценивая по этому критерию вклад в науку создателей теорий клеточной реактивности, следует признать значение его капитальным, влияние длительным и далеко еще не исчерпанным.

Белковые теории способствовали организации экспериментальной работы, обобщили громадный фактический материал, стимулировали научный поиск, обогатили науку новыми фактами и открытиями.

«Витаид» Лепешкина — легко распадающееся и восстанавливающееся соединение белка с липидом — является моделью современных представлений о композиции протоплазмы, устойчивой и одновременно подвижной. Ее устойчивость обеспечивается слабыми связями: большое их число дает в сумме значительную энергию взаимодействия. В результате их разрыва происходит обнажение реактивных центров, увеличение сорбционной активности протоплазмы, освобождение и выход из клетки в окружающую среду ряда компонентов.

Гейльбрунн выдвинул и подчеркнул защитный адаптивный характер реакций клетки на повреждающие воздействия. Его идея о существенной роли в жизнедеятельности обратимых переходов жидкого состояния протоплазмы в гелеобразное совпадает с современным представлением о протоплазме как «живом геле» (Porter, 1984). Идея о генетической связи коагуляции протоплазмы со свертыванием крови привела Гейльбрунна к открытию триггерной роли  $Ca^{2+}$  в клеточных процессах. Это открытие — одно из наиболее значительных в молекулярной цитологии последних десятилетий.

Д. Н. Насонов и В. Я. Александров проницательно оценили существенную роль в клеточных процессах реакций денатурационного типа — реакций, протекающих без разрыва химических связей, т. е. конформационных изменений. На базе денатурационной теории Александровым создана новая научная дисциплина — цитоэкология.

Белковые теории клеточной реактивности не конкурировали между собой, но дополняли друг друга. Каждая из них рассматривала, хотя и важную, но лишь одну часть многогранной реакции протоплазмы, и в этом отношении творцов белковых теорий можно в шутку сравнить с учеными из пародии Скарса (цит. по: Porter, 1984), задумавшими разобраться в природе протопласта.<sup>23</sup>

Мы думаем, что современным и будущим исследователям реактивности клетки следует с вниманием и уважением отнестись к витаидной модели Лепешкина, к выдвинутой Гейльбрунном идее об адаптивном характере реакции клетки на повреждающие воздействия, к его представлению о существенной роли в клеточных процессах золь-гель переходов, к обоснованному Насоновым и Александровым ключевому значению в реакциях клетки конформационных изменений белков и их комплексов.

Создание синтетической теории клеточной реактивности — дело ближайшего будущего.

Время, прошедшее после работ В. В. Лепешкина, Л. В. Гейльбрунна, Д. Н. Насонова и В. Я. Александрова, ознаменовано бурным прогрессом комплекса биологических наук, в том числе цитологии. Стремительно развивались исследования и неспецифического адаптационного синдрома клеточной системы. В работах по этой тематике различаются три основных направления. К первому (самому многочисленному) относятся работы, осуществленные в рамках классических белковых теорий клеточной реактивности. На этом пути был получен обширный объем экспериментальных данных, позволивших обогатить, уточнить и расширить исходные концепции. Полученные данные оказали существенное влияние на ряд смежных дисциплин — цитоморфологию, цитофизиологию, биохимическую цитологию — и индуцировали создание новых наук — цитоэкологии, коагулологии.

Ко второму направлению относятся исследования, авторы которых стремились выйти за пределы традиционных представлений. Труды Л. Х. Эйдуса, К. Боулера, М. А. Панова, В. А. Монастырского и некоторых других были выдвинуты новые концепции неспецифического адаптационного синдрома клеточной системы.

Для третьей группы характерен крен в сторону от теорий, увлечение аппаратно-инструментальной стороной исследования, фактографией.

Работы первого направления рассматриваются в третьей части этой книги (в главах «Нарушение гранулообразования», «Выход веществ», «Изменения метаболизма. . .» и др.). Остановимся вкратце на работах второго и третьего направлений.

Л. Х. Эйдус (1977) указывает, что низкомолекулярные соединения, содержащиеся в клетках, распределены в них неравномерно. Их компартментализация поддерживается энергозависимой деятельностью ферментов активного транспорта, обеспечивающих трансмембранный перенос веществ против градиента концентрации. Под влиянием неблагоприятных воздействий происходят изменения конформации ферментов активного транспорта, приводящие к нарушению их активности. В результате равновесие между активным транспортом и диффузией смещается и концентрации низкомолекулярных соединений в клеточных компартментах выравниваются. В результате декомпартментализации низкомолекулярных соединений они диффундируют внутри клетки, проникают в соседние компартменты, адсорбируются на макромолекулах внутриклеточных белков, что приводит к снижению конформационной подвижности ферментов и соответственно к падению их функциональной активности. В итоге уровень метаболизма снижается и возникает паранекроз. Таким образом, клеточное повреждение представляет многочленный саморазвивающийся процесс, пусковой механизм которого белковый: первичным его звеном является инактивация мембранных ферментов. Соображения Эйдуса о декомпартментализации низкомолекулярных веществ при действии на клетку повреждающих

агентов, на наш взгляд, вполне обоснованы. Освобождение и выход веществ из клетки при их повреждении — факт, удостоверенный многократно. Обнажение реакционных центров у белков альтерированной клетки в результате их депротеидизации и увеличение их сорбционной активности также не вызывают сомнений.

Менее убедительным представляется предположение о том, что низкомолекулярные соединения, освободившиеся в одном компартменте, диффундируя в клетке, присоединяются к белкам и удерживаются ими в другом компартменте. О каких низкомолекулярных внутриклеточных соединениях может идти речь? Есть ли какие-нибудь данные в пользу этой гипотезы? Известно, что активность многих внутриклеточных ферментов зависит от присутствия ионов  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$  и других ионов и кофакторов. По существующему представлению, снижение активности части внутриклеточных ферментов при адаптационном синдроме является следствием уменьшения концентрации ионов и кофакторов в результате их выхода из клетки. Известны также указания, что в инактивации внутриклеточных тиоферментов определенную роль играет окисление тио групп, осуществляемое образующимися в ходе адаптационного синдрома свободными радикалами. Таким образом, концепция Эйдуса о механизме инактивации ферментов при адаптационном синдроме должна считаться с устоявшимися представлениями в этой области. Ясно, что только экспериментальные исследования смогут выяснить значимость предлагаемого механизма.

Другой вопрос: основательно ли утверждение, что изменение конформации ферментов активного транспорта и как следствие ингибирование их активности представляет ключевое, пусковое, т. е. первичное, звено процесса клеточного повреждения? Клетка соприкасается с внешней средой своей поверхностью. Общеизвестна роль энзиматических систем, вмонтированных в плазматическую мембрану, в рецепции и переработке сигналов внешней среды. Известно также, что повреждение, если интенсивность вызвавшего его фактора не чрезмерна, индуцирует подъем метаболической активности. Следовательно, факторы различной физической и химической природы способны имитировать свойства адекватного раздражителя. В результате активации анаэробного гликолиза в клетке происходит увеличение концентрации ионов  $H^+$ , а содержание АТФ уменьшается. Эти изменения оказывают существенное влияние на реакционную способность ферментов активного транспорта. Таким образом, нарушение функционирования мембранных ферментов представляет собой скорее всего одну из достаточно далеко продвинутых стадий процесса клеточного повреждения.

В работе Боулера (Bowler, 1981) рассматривается механизм термического повреждения. По соображениям автора, основой процесса является расплавление липидов плазматической мембраны. Нарушение липидов провоцирует увеличение проницаемости мембраны и выход из клетки ионов и низкомолекулярных метаболитов ( $K^+$ , лактата, фосфата, полиаминов и др.). Затем происходит денатурация водорастворимых белков клетки и ее гибель. В связи

с этой гипотезой мы хотели бы указать, что исследователь, изучающий влияние температуры на клетки, должен быть осведомлен о том, что гипертермия, как и любой другой раздражитель (высокое гидростатическое давление, винный спирт, УФ-облучение и т. д.), вызывает вначале резкую активацию метаболической активности клетки. Обмен веществ в эту фазу практически не отличается от обмена при напряженной работе. Но отсюда следует, что местом первичного приложения раздражителя являются не липиды плазматической мембраны, а ее белковые рецепторы типа аденилатциклазной системы, т. е. рецепторы, специализированные к приему сигналов, подаваемых адекватными химическими раздражителями — гормонами, метаболитами, простагландинами и т. д. (подробнее см. ниже). Тот факт, что высокая температура, гидростатическое давление или этанол, т. е. неспецифические агенты, способны заменить действие адекватных раздражителей, свидетельствует только о том, что белковый компонент мембранного рецептора сохранил способность отвечать конформационным сдвигом на действие неспецифического раздражителя, впрочем, во много раз превосходящего адекватный по интенсивности. Дальнейшее воздействие температуры, как и других неблагоприятных факторов, вызывает переход клетки на аварийный режим, сопровождающийся блокированием ряда реакций, без которых в интересах сохранения жизни клетка может обойтись, и включением ряда реакций, обеспечивающих увеличение устойчивости клеточной системы. Конечно, этот процесс может сопровождаться и расплавлением липидных слоев, и выходом полиаминов, и денатурацией водорастворимых белков.

М. А. Панов (1984) расширяет симптоматику адаптационного синдрома: как по данным литературы, так и по его собственным наблюдениям, нарушение синтеза рибосомальных РНК (рРНК) является постоянным, ранним и чувствительным показателем альтерации клетки. Синтез рРНК в клетке обнаруживает чувствительность к широкому кругу неблагоприятных воздействий — к изменению температуры, рН, ионного состава среды и т. д. Синтез рРНК оказывается более чувствительным к внешним воздействиям, чем сегрегационная функция. Нарушение синтеза рРНК, по мнению Панова, может рассматриваться как новый постоянный компонент адаптационного синдрома клеточной системы. Каков же механизм нарушения синтеза рРНК при альтерации клетки? Ссылаясь на литературные данные, автор указывает, что при воздействии на клетку широкого круга неблагоприятных факторов (гипертермии, изменения рН, облучения и т. д.) происходят изменения физических свойств клеточных мембран и в первую очередь изменяется их микровязкость. Происходят также нарушения фосфолипидного состава мембран. В последние годы получены указания на то, что активность мембранных ферментов зависит от их фосфолипидного окружения. Таким образом, по мнению Панова (1984, с. 14), «достаточно предположить, что в клеточной мембране синтезируется медиатор, контролирующий уровень синтеза рРНК, и изменение свойств мембран приводит к изменению синтеза медиатора, а следовательно,

и к изменению уровня рРНК в клетке». При этом роль медиатора мог бы играть, например, цГМФ. Впрочем, как справедливо указывает Панов, вопрос о роли цГМФ в регуляции синтеза рРНК в клетках остается открытым. На наш взгляд, соображения Панова, так же как Эйдуса и Боулера, о роли альтерации мембран в развитии клеточного повреждения заслуживают внимания. Однако вопрос о том, основательно ли предположение, что изменения свойств мембран (их микровязкости, фосфолипидного состава и т. д.) представляют первичное, пусковое или ключевое звено процесса, или эти изменения наступают вторично, в результате происходящих в клетке других нарушений, остается открытым.

В. А. Монастырский (1985) выступает с концепцией, представляющей развитие взглядов Гейльбрунна о важной роли в жизнедеятельности клеток процессов растворения и коагуляции коллоидов (золь-гель переходов) и о сходстве этих процессов с реакцией свертывания крови.

В плазме крови, в лимфе и межтканевой жидкости золь-гель переходы основаны на превращении растворенного фибриногена в нерастворимый фибрин. Эта реакция необратима. Растворение фибрина осуществляется в результате протеолиза, т. е. глубокой деградации белка. В содержимом клеток фибриногена нет. Здесь золь-гель переходы обеспечиваются двумя обратимыми реакциями: 1) превращением мономерного актина (Г-актина) в полимерный (Ф-актин); 2) денатурацией белков, т. е. разрушением связей, стабилизирующих белковые глобулы, с последующим их развертыванием. Таким образом, субстратные основы и молекулярные механизмы реакций, ответственных за золь-гель переходы в крови и в клетках, различны, а индуцирующие их факторы едины: это энзиматическая тромбин-плазминовая система. Тромбин катализирует в крови процесс превращения фибриногена (золь) в фибрин (гель). Плазмин, разрушая фибрин, переводит его в раствор, т. е. в золь. Тромбин же индуцирует в клетках превращение Г-актина (золь) в Ф-форму (гель). Обратная реакция, т. е. деполимеризация Ф-актина, по-видимому, контролируется плазмином. При активации тромбиногенеза происходит денатурация внутриклеточных белков. Обратная реакция, т. е. ренативация белков, отмечается при стимуляции плазминогенеза. Монастырский, правда, считает, что, поскольку тромбин и плазмин являются протеолитическими ферментами, они не могут сами денатурировать или ренативировать белки. Эти реакции, по предположению Монастырского, осуществляются при участии каких-то других, еще не открытых ферментов.

К статье Монастырского приложен список цитированной литературы. К удивлению, в нем нет ссылок на работы Гейльбрунна, хотя именно этот автор является основоположником идеи о значении для жизнедеятельности клеток золь-гель переходов и о родстве этих реакций с процессом свертывания крови. В списке литературы нет ссылки и на нашу статью (Браун и др., 1984), хотя она могла быть известна Монастырскому и, возможно, навела его на мысль о происходящей при повреждении клетки полимеризации Г-актина.

Указывая на индукцию полимеризации актина под влиянием тромбина, следовало отметить принципиальное различие в механизмах действия тромбина на фибриноген и на актин: в первом случае имеет место процесс энзиматический, осуществляемый путем непосредственного контакта фермента с субстратом; стимуляция полимеризации Г-актина под влиянием тромбина осуществляется другим механизмом. Есть основания считать, что в этом процессе роль тромбина не энзиматическая, а сигнальная (см. ниже). Тромбин действует внеклеточно, стимулируя активность встроенных в плазматическую мембрану специфических рецепторов. В результате провоцируется запуск каскада внутриклеточных реакций, завершающим звеном которого является полимеризация Г-актина. Таким образом, роль тромбина в этом процессе можно сравнить с действием эффекторов (гормонов, метаболитов) аденилатциклазной системы.

Отрицать значение тромбина как стимулятора реакции полимеризации Г-актина нет оснований. Однако мы думаем, что определенный (может быть решающий) вклад в инициацию реакций полимеризации актина при повреждении клетки вносят увеличение концентрации катионов ( $K^+$ ,  $H^+$ ,  $Ca^{2+}$ ), полиамины и некоторые другие факторы. Следовало бы также обсудить вопрос о возможности денатурации внутриклеточных белков под влиянием тромбина или других тромбиноподобных протеиназ. Убеждение Монастырского в том, что протеиназы не в состоянии индуцировать конформационные изменения белков, неосновательно. Есть работы, в которых показано, что многие протеиназы (трипсин, папаин и др.) способны денатурировать белки. Существуют данные и о том, что при повреждении клетки в ней активируются протеиназы — лизосомные и внелизосомные. М. М. Виленчик (1985) предложил называть их «летальными» белками. Другое дело, происходит ли при альтерации клетки, вызванной действием умеренных доз раздражителя, денатурация белков (т. е. развертывание белковой глобулы), причем денатурация белков, осложняющаяся белок-белок взаимодействиями и проявляющаяся в коагуляции белка. Известно, что препараты нативных белков получают при механическом разрушении клеток, при обработке гомогенатов солевыми растворами и т. д. Следовательно, если денатурация и происходит, то, вероятно, самые начальные ее стадии. Вопрос об энзиматическом характере денатурации представляется нам мало обоснованным. Скорее всего реставрация белка, в котором произошли незначительные конформационные изменения, происходит самопроизвольно в соответствии с требованиями термодинамики, а белки, более глубоко измененные, становятся мишенью протеиназ и разрушаются.

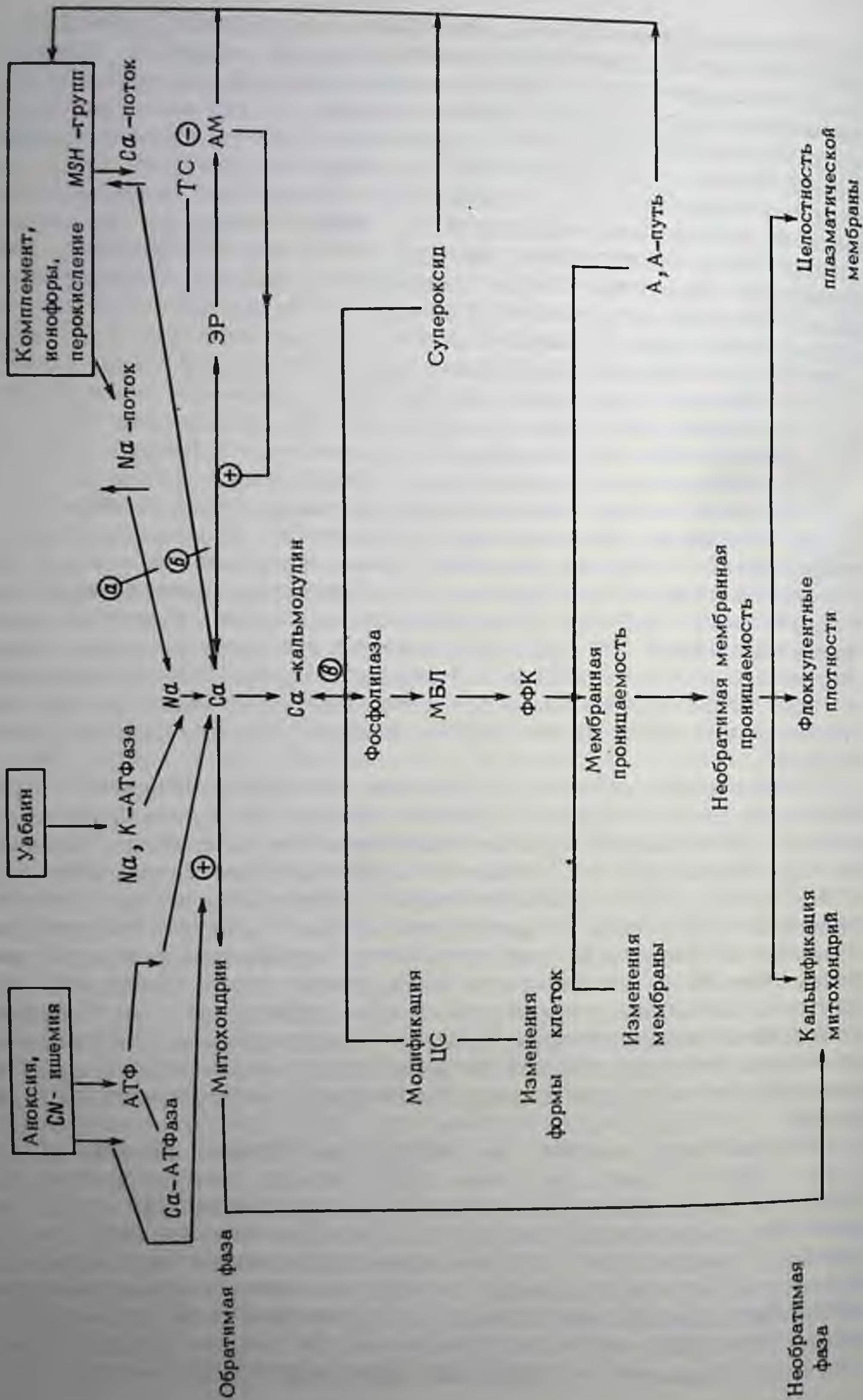
Статьи Монастырского публикуются в медицинской печати. Они адресованы широким кругам врачей. Их публикация, несмотря на известные недостатки (неполнота анализа описываемых явлений, недостаточная обоснованность некоторых утверждений), на наш взгляд, полезна, так как они перебрасывают мост между эмпиризмом, фактографией и молекулярно-биологическими представлениями, будят мысль, стимулируют научный поиск.

Мы уже упоминали о том, что в большинстве работ, посвященных изучению неспецифического адаптационного синдрома клеточной системы, теоретическая сторона играет перворазрядную роль в планировании и организации экспериментов, в обсуждении полученных результатов. Наряду с этим существуют работы, авторы которых ограничиваются представлением экспериментального материала, уклоняясь от обсуждения теоретических вопросов.<sup>21</sup> Укажем, например, на работу Кинга (King et al., 1965). Используя световую и электронную микроскопию, методы цитохимии и биохимии, Кинг описывает изменения клетки в процессе развития повреждения и выделяет в нем следующие 13 стадий: 1) остановка деления, прекращение митозов; 2) выход белка из ядер и цитоплазмы; 3) выход ДНК из ядер, продолжающийся выход белка из ядер и цитоплазмы; 4) образование в протоплазме пузырьков, гранул, незначительное изменение размеров ядра и цитоплазмы; 5) прекращение дыхания; 6) продолжающееся еще некоторое время после остановки дыхания образование молочной кислоты; 7) прекращение дегидрогеназной активности в связи с разобщением дыхания и фосфорилирования; 8) уменьшение числа митохондрий, увеличение размеров оставшихся митохондрий; 9) выход из клетки калия, вход натрия и воды; эти изменения начались еще раньше, но после прекращения выработки энергетических веществ в ходе гликолиза данные изменения становятся основными; 10) диффузия в клетку трипанового синего, окрашивание ядра и цитоплазмы; 11) образование вздутий, выход натрия и воды, уменьшение размеров клетки; 12) денатурация белка, прогрессирующее связывание натрия и воды; 13) коагуляция протоплазмы.

Повреждение клетки, по данным Кинга, представляет собой сложный, развивающийся во времени процесс. Обращает на себя внимание такой ранний признак повреждения, как выход веществ из ядра и цитоплазмы. Из клетки диффундируют белки, ионы  $K^+$ , и  $Na^+$ , вода. Представляют также интерес отмеченные автором процессы коагуляции и денатурации. Кинг относит эти реакции к самым последним и уже несомненно необратимым этапам процесса. Вместе с тем из текста цитируемой статьи видно, что уже на самых начальных стадиях альтерации происходят изменения белков, обозначаемые автором термином «дегенерация». Эти белковые изменения представляют собой самый начальный этап денатурации, которая, таким образом, является ведущей характеристикой процесса.

В серии исследований из лаборатории Трампа (Trump et al., 1981a, 1981b; Trump, Berzesky, 1984) авторы регистрируют, как и Кинг, развитие процесса клеточного повреждения, шаг за шагом отмечая изменения морфологии (по данным электронной микроскопии), связывая их с современными данными по биохимической цитологии. Из повреждающих агентов ими была избрана аноксия, объектом исследования являются изолированные гепатоциты крысы, клетки почечных канальцев и миокарда. По данным авторов, перевод в среду, лишенную кислорода, клеток-аэробов инициирует в них





серию реакций, условно разделяемых авторами на семь основных и несколько побочных стадий. Начальные этапы альтерации обратимы до «пункта необратимости» (point of no return). По достижении этого пункта клетки обречены на гибель, несмотря на перевод их в нормальные условия. С началом аноксии блокируется процесс окислительного фосфорилирования, содержание АТФ снижается. Это ведет к активации фосфофруктокиназы и стимуляции анаэробного гликолиза. Высокий уровень гликолиза приводит к накоплению лактата. В результате распада фосфорных соединений увеличивается концентрация неорганического фосфата, внутриклеточный рН снижается. Увеличение концентрации ионов  $H^+$ , по данным Пенттила (Penttila et al., 1976), представляет собой защитную реакцию, так как кислая среда оказывает стабилизирующее влияние на клеточную мембрану. Изменение внутриклеточного рН в кислую сторону приводит сильное и разностороннее действие на многие внутриклеточные процессы — способствует, в частности, освобождению  $K^+$  из соединений его с белками, ведет к снижению активности ионных помп, провоцирует процесс конденсации хроматина.

Вторая фаза повреждения характеризуется набуханием клетки в результате увеличения содержания внутриклеточной воды. При этом методом сканирующей электронной микроскопии удастся регистрировать изменения структуры клеточной поверхности, связанные с системой микротрубочек и микрофиламентов и находящиеся в корреляции с нарушением регуляции содержания внутриклеточного  $Ca^{2+}$ . Продолжающееся увеличение внутриклеточной концентрации ионов  $H^+$  приводит к торможению активности фосфофруктокиназы и снижению скорости гликолиза. Вторая стадия повреждения, по представлениям Трампа, вполне обратима.

Третья стадия характеризуется уплотнением митохондрий, расширением эндоплазматического ретикулума, продолжающимся увеличением содержания воды в клетке, нарастанием концентрации ионов  $Na^+$ , уменьшением количества  $K^+$  и  $Mg^{2+}$ . Увеличение содержания воды находит отражение в появлении вздутий на поверхности клетки, что, вероятно, связано с изменением элементов цитоскелета. Если на данной стадии клетка переводится в нормальные условия, структура и функции ее восстанавливаются.

Во время четвертой стадии начинается формирование «пункта необратимости». Наблюдается значительное набухание митохондрий. Происходит увеличение содержания  $Ca^{2+}$ , что вызывает активацию фосфолипаз. Начинается деструкция фосфолипидов и образование свободных жирных кислот. Пятая—седьмая стадии относятся к эта-

Рис. 4. Роль ионов в регуляции структуры и функции цитоскелета при повреждении клетки (по: Trump, Bergezesky, 1984).

*В рамках* — агенты или условия, которые изменяют внутриклеточные уровни  $Na^+$  и  $Ca^{2+}$ . ЭР — эндоплазматический ретикулум; ЛФ — лизофосфаты; АА — метаболический путь арахидоновой кислоты, который ведет к активации токсических соединений; ФФК — свободные жирные кислоты; а — вещества, блокирующие вход  $Na^+$ ; б — вещества, блокирующие вход  $Ca^{2+}$ ; в — антагонисты кальмодулина; ТС — токсические соединения; МБЛ — модифицированные мембранные липиды; ЦС — цитоскелет; МSH — модификация SH-групп.

пам после «пункта необратимости» и заканчиваются распадом клеточной системы.

Не может быть сомнения в том, что Трампом и его сотрудниками проделана (и проделывается) большая и очень полезная работа, выяснен ряд важных деталей сложного многоступенчатого процесса клеточного повреждения. Высокой оценки заслуживает открытие стабилизирующего влияния на клеточные мембраны кислой реакции в экстрацеллюлярной области. Большой интерес представляют данные об увеличении концентрации внутриклеточного  $\text{Ca}^{2+}$  и соображения о его стимулирующем влиянии на активность фосфолипаз (рис. 4). Вместе с тем вполне очевидны и слабые стороны исследовательского метода этих авторов. Прежде всего в работах не подчеркнут биологический смысл изучаемого процесса в том плане, в котором его понимал Л. В. Гейльбрунн, — нет представлений о приспособительном, адаптивном его значении. Указание на защитную роль повышения концентрации ионов  $\text{H}^+$  в отношении клеточных мембран не спасает дело. Между тем вполне ясно, что ишемическое состояние — весьма частая ситуация в жизни клетки и в этих условиях она проявляет поразительную адаптивную способность. По данным Трампа, клетка сохраняет жизнь в условиях полной аноксии в течение длительного времени, утратив большую часть  $\text{K}^+$ , фосфата, гликогена, обнаружив значительные морфологические изменения. Автор не обращает внимания на многие важные стороны процесса альтерации. Подчеркивая роль в повреждении клетки увеличения концентрации  $\text{Ca}^{2+}$ , он не придает значения нарушению сорбционных свойств кальмодулина, в результате чего и возникает нарушение регуляции содержания внутриклеточного кальция. Трамп не указывает на стимуляцию метаболизма на начальных этапах аноксии, не интересуется состоянием аденилатциклазной системы при ишемии клетки и изменением в ней глобулярного актина, ни одним словом не упоминает о клеточных конструкциях, стабилизируемых слабыми связями, и т. д. Вопрос о роли  $\text{Ca}^{2+}$  как триггера процесса альтерации заслуживает внимания, но в связи с этим стоит вспомнить, что предположения о существовании в протоплазме субстанций, находящихся в норме в связанном состоянии и освобождающихся при повреждении, не раз фигурировали в литературе. Субстанции эти пытались выделить из поврежденных клеток. Их называли «веществом повреждения», «антипастеровским фактором», «метаболическим регулятором» и т. д.

Простое перечисление явлений (при том далеко не полное), происходящих в клетке при повреждении, отсутствие руководящей характеристики процесса, непонимание биологического смысла описываемых реакций и, по-видимому, слабая осведомленность о работах предшествующих авторов характерны для описания неспецифического адаптационного синдрома в монографиях А. Поликара, М. Бесси (1970), Я. Мусила (1985) и П. Константинидеса (Constantinides, 1984).

## ЧАСТЬ ТРЕТЬЯ

# СИМПТОМЫ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО АДАПТАЦИОННОГО СИНДРОМА КЛЕТОЧНОЙ СИСТЕМЫ

---

### КОЛЛОИДНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ

К ранним и постоянным показателям адаптационного синдрома относятся изменения светорассеяния протоплазмы и ее вязкости. Эти показатели принято называть коллоидными реакциями, так как предполагается, что они отражают степень дисперсности входящих в состав клетки коллоидов.

Для наблюдения светорассеяния используют микроскоп с темнопольным конденсором. Интактная клетка в темном поле представляется глазу оптически пустой. Ядро в ней угадывается по окаймляющему его светящемуся контуру. При воздействии на клетку раздражителей вся клетка начинает светиться голубоватым светом и в ней появляются светящиеся белые структуры. В книге Д. Н. Насонова и В. Я. Александрова (1940) приводится несколько микрофотографий из работы П. В. Макарова, представляющих ультрамикроскопические картины клеток интактных и подвергшихся действию наркотиков.

В. Л. Немчинская и А. Д. Браун (1962) исследовали свойства изолированных ядер зобной железы крыс интактных и после действия на них раздражителей. Характеристика интактности выделенных ядер представляет определенные трудности. По совету В. Я. Александрова, для этой цели были применены наблюдения в темном поле. Этот прием оказался одним из наиболее удачных. Неповрежденные ядра имели тонкий светящийся край, в то время как у поврежденных выявлялось свечение всей поверхности. В работе А. Д. Брауна с соавторами (1966) наблюдения в темном поле привлекались для оценки альтерации клеток (макрофагов, лимфоцитов) в результате асфиксии и гипертермии.

При исследовании клеток с помощью обычного светового микроскопа изменения степени дисперсности коллоидов протоплазмы обнаруживают и оценивают по изменению мутности. Для количественного измерения степени мутности используют специально сконструированные микронейфелометры.

А. А. Кусакина (1957, 1959а, 1959б) и С. В. Левин (1960, 1961, 1962а, 1962б) измеряли светорассеяние мышц и нервных клеток, интактных и «раздраженных» действием ряда химических агентов

(хлоралгидрата, кофенна, хинина, уретана). Авторы обнаружили двухфазное изменение светорассеяния — сначала уменьшение, а затем увеличение. При действии тех же агентов в высокой концентрации фаза понижения светорассеяния отсутствует.

Данные об изменении светорассеяния протоплазмы при неспецифическом адаптационном синдроме свидетельствуют, по словам Левина, «о каких-то структурных перестройках субмикроскопических светорассеивающих частиц, следствием чего является усиление их взаимодействия, ведущее к агрегации и уменьшению степени дисперсности» (Левин, 1966, с. 142).

О причинах изменения светорассеяния протоплазмы при воздействии на клетку раздражителей был высказан ряд предположений. В. В. Лепешкин (Lepeschkin, 1937) считал, что помутнение протоплазмы может явиться следствием пересыщения ее водой. Несмешиваемость протоплазмы с водой указывает на то, что вода в живой протоплазме не является растворителем. Это следует, во-первых, из того факта, что живая протоплазма не растворяется в воде, а во-вторых, из того, что вода воспринимается ею в ограниченном количестве. Клетка при действии на нее раздражителей поглощает воду. Когда количество поглощенной воды доходит до предела ее растворимости в протоплазме, она образует субмикроскопические капельки, что и создает помутнение. Подобные же явления можно наблюдать, если каплю анилина, кедрового масла или какой-нибудь другой органической жидкости, способной растворить ограниченное количество воды, ввести в воду — она мутнеет.

Другой возможной причиной помутнения, по мнению Лепешкина, может явиться распад липопротеидов протоплазмы. Липидный компонент, освобождающийся в результате расщепления липопротеида, нерастворим в протоплазме и распределяется в ней в виде сначала субмикроскопических, а затем и более крупных частиц, образуя эмульсию.

Причиной помутнения протоплазмы при действии раздражителей, Л. В. Гейльбрунн (1957) считает переход белка из растворимого состояния в нерастворимое, т. е. процесс, аналогичный переходу растворимого фибриногена в нерастворимый фибрин крови. Гейльбрунн не придавал большого значения химической природе этих явлений. Обсуждая причину мышечного сокращения, которое также связано с переходом золя в гель, Гейльбрунн пишет: «Если мышца в основном обладает жидкой консистенцией и если во время сокращения в ней происходит свертывание или коагуляция, то можно ожидать изменения прозрачности, аналогичные тем, которые происходят при нагревании яичного белка или при свертывании кровяной плазмы» (Гейльбрунн, 1957, с. 139).

Д. Н. Насонов и В. Я. Александров (1940) исходят из того, что при действии раздражителей на клетку в ней происходят изменения белков, сходные с их денатурацией *in vitro*. Отсюда следует, что увеличение светорассеяния в «раздраженной» протоплазме объясняется денатурацией нативных белков и последующей их коагуляцией.

Мы полагаем, что существующие до сих пор точки зрения о причинах увеличения светорассеяния протоплазмы при действии на нее раздражителей должны быть пересмотрены. По нашему мнению, имеется уже достаточный материал для утверждения, что основной вклад в явления увеличения светорассеяния протоплазмы при действии на нее раздражителей вносят изменения Г-актина и его вторичные реакции с актинсвязывающими белками. Полимеризация Г-актина сопровождается увеличением светорассеяния, и этот показатель широко используется для идентификации и исследований кинетики реакций ассоциаций актина (Ogiol-Audit, 1978; Magiano et al., 1986).

Вязкость жидкости обусловлена взаимным трением ее молекул. Вязкость раствора зависит не только от трения между молекулами растворителя, но и от трения между молекулами растворителя и растворенного вещества. Вязкость раствора зависит от объема растворенного вещества — с увеличением последнего увеличивается и вязкость.

Для измерения вязкости протоплазмы было предложено много различных методов. Наиболее известные и широко применяемые из них основаны на измерении скорости перемещения присутствующих в протоплазме в норме или введенных в нее извне чужеродных частиц — железных опилок, частиц кармина и др.

В начальной фазе адаптационного синдрома протоплазма интенсивно поглощает воду, поэтому в этот период следует ожидать уменьшения вязкости, так как объем дисперсионной среды увеличивается и соответственно уменьшается объем дисперсной фазы. Для экспериментального определения вязкости в этот период не подходят опыты с действием на клетку химических веществ, так как они поглощаются клеткой и могут влиять на величину вязкости. Точно так же недостаточно точными являются и данные, полученные при действии гипертермии. Наиболее убедительные результаты дают эксперименты с воздействием на клетку разного вида облучений (УФ, радием, рентгеновскими лучами), в которых было обнаружено снижение вязкости в начальный период адаптационного синдрома. При дальнейшем развитии адаптационного синдрома следует ожидать увеличение вязкости, так как в этот период увеличивается объем дисперсной фазы в результате белок-белок взаимодействий и реакций полимеризации. Генерализация этих процессов приводит к застудневанию протоплазмы и коагуляции. Застудневание является безошибочным признаком смерти клетки. Увеличение вязкости протоплазмы после фазы уменьшения наблюдали при разнообразных воздействиях — гипертермии, действии хлороформа, электрического тока, облучения УФ, рентгеном и радием.

Увеличение вязкости при адаптационном синдроме, по всей вероятности, обусловлено реакциями с участием актина. В этом нас убеждают, во-первых, данные исследований Кейна (Kane, 1975, 1976, 1983), который показал, что экстракты, полученные из гомогенатов яиц морского ежа, при инкубации желатинируют и основным компонентом образовавшегося геля является актин

в комплексе с актинсвязывающими белками; во-вторых, данные наших исследований (Браун, Моженок, 1986; Браун и др., 1986а), которые показали, что при действии раздражителей содержание Г-актина в клетках резко уменьшается. Ранее мы (Браун и др., 1984) уже указывали, что в ходе развития адаптационного синдрома создаются условия, способствующие изменению конформации Г-актина и переходу его в Ф-форму. Таким условием является увеличение концентрации катионов  $K^+$  и  $H^+$ . Не исключена также возможность, что в ходе альтерации в протоплазме происходит активация синтеза полиаминов, а также освобождение их из комплексов с РНК и белками (см. ниже).

Еще Дюжарден (Dujardin, 1835) отметил, что при повреждении клетки в ней наблюдается образование сферических структур — вакуолей. Явление вакуолизации при альтерации клетки было подтверждено впоследствии в многочисленных исследованиях. В. В. Лепешкин связывает вакуолизацию с поглощением воды поврежденной клеткой и предполагает, что вакуоли образуются в результате округления нитевидных структур (Lepeschkin, 1937).

П. В. Макаров (1953) описал повреждение клетки, вызванное воздействием, получившим впоследствии название «осмотического шока». Осмотический шок вызывается переводом клеток, предварительно инкубированных в гипертонических растворах неэлектролитов, в гипотоническую среду. Вакуолизация мышечных волокон в результате осмотического шока подробно изучена С. А. Кроленко (1974) методами световой и электронной микроскопии. Он считает, что вакуоли происходят из Т-системы в результате набухания отдельных участков поперечных трубочек. Однако, по данным этого же автора, вакуолизация тормозится при понижении температуры, легко устраняется под влиянием солюбилизаторов и труднее всего обращается при шоке, вызванном мочевиной. Эти данные наводят на мысль, что в образовании вакуолей могут принимать участие и образующиеся при повреждении клетки фибриллярные протеины, в частности Ф-актин и комплексы его с актинсвязывающими белками. Этот вопрос нуждается в дальнейших исследованиях.

### УВЕЛИЧЕНИЕ СОРБЦИИ КРАСИТЕЛЕЙ

Одним из ранних, постоянных и наглядных показателей неспецифического адаптационного синдрома клеточной системы является увеличение связывания протоплазмой красителей. При инкубации живых интактных клеток в разбавленном (0.01—0.1 ммоль/л) растворе нетоксичных катионных красителей (нейтрального красного, метиленового синего, акридинового оранжевого и др.), приготовленных на рингеровской жидкости, краситель проникает в клетку и окрашивает ее диффузно. Вскоре, однако, он в области аппарата Гольджи сегрегируется в гранулах и протоплазма освобождается от красителя. Таким образом, в интактных клетках на практически бесцветном фоне видны несколько (5—15) ярко окрашенных сфери-

ческих образований (гранул), концентрация красителя в которых весьма велика. Этот тип окраски называется гранулярным. В клетках, подвергнутых воздействию раздражителя, сегрегационная функция нарушена, гранулы красителя в ней не обнаруживаются и раздраженная клетка после инкубации в растворе красителя прокрашивается диффузно. Диффузный тип окраски обратим: после устранения раздражителя и перевода клеток в нормальную среду краситель из ядра диффундирует в цитоплазму, в цитоплазме восстанавливается сегрегационная функция, и краситель конденсируется в гранулах.

В лаборатории Д. Н. Насонова его сотрудники А. А. Браун и М. Ф. Иванов (1933) разработали методику для определения количества красителя, сорбированного клетками, интактными и раздраженными. Схема методики следующая. Контрольные (интактные) и опытные (раздраженные) клетки помещают в раствор красителя на один и тот же срок. После инкубации клетки отделяют от красителя и заливают одним и тем же объемом подкисленного 70 %-ного спирта. Через сутки весь краситель из клеток переходит в спирт, после чего окрашенные вытяжки колориметрируют. Интенсивность окраски вытяжки из раздраженных клеток выражают в процентах по отношению к контролю. В случае применения этой методики следует учитывать, что при обработке интактных клеток спиртом экстрагируется не только краситель, распределенный в клетках диффузно, но и сегрегированный в гранулах. Поэтому при сравнении интенсивности окраски интактных клеток и раздраженных визуально кажется, что диффузная окраска раздраженных клеток по интенсивности во много раз превосходит окраску интактных клеток. Между тем, по данным колориметрии вытяжек, это различие оказывается не столь значительным. Окраска вытяжек из раздраженных клеток, как правило, не более чем в 1.5—2 раза превосходит окраску контроля. Это несоответствие между визуальной оценкой и данными колориметрии объясняется ошибкой, вносимой извлечением красителя из гранул. Для получения более точных данных рекомендуется по возможности сократить срок окрашивания, чтобы закончить окраску до начала сегрегации красителя. При таком проведении опытов различие между диффузной окраской интактных и раздраженных клеток достигает 500—1000 %.

В лаборатории Д. Н. Насонова и в других лабораториях эта методика нашла широкое применение. Она позволила установить, что реакция живой протоплазмы на действие раздражителей градуальна, т. е. с увеличением силы раздражителя увеличивается и количество сорбированного протоплазмой красителя. Таким образом, количество поглощенного клеткой красителя может служить мерой глубины альтерации.

С помощью методики А. А. Брауна и М. Ф. Иванова выполнено большое число исследований. Были изучены разные типы клеток, подвергшихся действию самых разнообразных раздражителей. Полученные данные излагаются в монографиях Д. Н. Насонова, В. Я. Александрова (1940; Насонов, 1959) и А. С. Трошина (1985).



В. В. Лепешкин (Lepeschkin, 1937) объяснял неспособность живой интактной протоплазмы связывать краситель тем, что содержащиеся в ней белки и липиды (в свободном состоянии сильно связывающие красители) находятся в комплексах. Во время повреждения липопротеин распадается, компоненты его освобождаются и связывают краситель.

Насонов и Александров (1940) считали, что увеличение связывания красителей при повреждении является следствием денатурации белков протоплазмы, т. е. разворачиванием их нативной конфигурации, что приводит к освобождению ряда реактивных центров. Денатурация белка действительно приводит к увеличению химической активности белка и его сорбционных свойств (Браун, 1949). Однако увеличение сорбционной активности белка при денатурации не достигает цифр, наблюдаемых при повреждении протоплазмы. Денатурированный белок связывает, как правило, на 30—40 % красителя больше, нежели нативный, в то время как поврежденная протоплазма связывает краситель в 5—12 раз больше, чем интактная. Этот результат — один из доводов в пользу того, что причину увеличения сорбции красителя клетками при их раздражении следует искать в разрушении надмолекулярной организации протоплазмы и разрыве слабых связей, крепящих ее конструкции.

Необходимо еще указать, что увеличение окраски клеток при повреждении ряд исследователей объясняют нарушением целостности плазматической мембраны и связанным с этим увеличением ее проницаемости (Baig et al., 1975; Seglen, 1976; Smith et al., 1981).

### НАРУШЕНИЕ ГРАНУЛООБРАЗОВАНИЯ

Постоянным, легко выявляемым признаком неспецифического адаптационного синдрома является нарушение способности клеток к гранулообразованию. Эту активность наблюдают при инкубации клеток в растворах некоторых слабых оснований и катион-кислот.<sup>25</sup> В качестве гранулообразователей чаще всего используют основные витальные красители (нейтральный красный, метиленовый синий, акридиновый оранжевый и др.), реже — аммонийные соли, алкалоиды (новокаин, хинин), некоторые лекарственные вещества, антибиотики. Испытание производят следующим образом. Взвесь клеток помещают в приготовленный на физиологическом растворе или на рингеровской жидкости разбавленный (0.01—0.1 ммоль/л) раствор одного из гранулообразователей. Вскоре в цитоплазме клеток наблюдают образование сначала мелких, затем все более крупных сферических структур (их называют гранулами или зонами сегрегации), достигающих через несколько часов значительных размеров (4—15 мкм). В растворах бесцветных гранулообразователей гранулы бесцветны, в растворах красителей окрашены в соответствующий цвет (Александров, 1949; Румянцев, 1959).

Исследователи, работавшие с гранулообразователями-красителями, отмечают интенсивную окраску гранул. Д. Н. Насонов по

этому поводу пишет: «Слой насыщенного раствора нейтрального красного толщиной всего в несколько микронов кажется нам почти бесцветным, в то время как гранула такой же толщины имеет глубокий и почти черно-красный тон. Следовательно, в последнем случае концентрация красителя выше, чем в насыщенном водном растворе» (Насонов, 1930, с. 201). Это наблюдение Насонова оказалось совершенно точным. Определения концентрации нейтрального красного и новокаина в гранулах ядерных эритроцитов лягушки было произведено в нашей лаборатории М. Н. Веселкиной с сотрудниками (1976) микроспектрофотометрическим методом. Полученные результаты представлены в табл. 2. Видно, что концентрация нейтрального красного в гранулах достигает 260 ммоль/л, т. е. 6.5 %.

Таблица 2

Концентрация гранулообразователя в гранулах эритроцитов лягушки и в окружающей среде (по: Веселкина и др., 1976)

Гранулообразователь	В среде, ммоль/л	В гранулах, ммоль/л	Гранулообразователь	В среде, ммоль/л	В гранулах, ммоль/л
Нейтральный красный	0.35	274 ± 10	Новокаин	9.2	128 ± 7
	0.17	260 ± 10		4.6	125 ± 7
	0.085	260 ± 10		2.3	136 ± 7

что действительно несколько превосходит концентрацию насыщенного водного раствора красителя.<sup>26</sup> Концентрация новокаина в гранулах 120—140 ммоль/л, т. е. 3.5—4 %. Из приведенных данных следует, что концентрация гранулообразователя в гранулах не зависит от его концентрации в среде: при инкубации клеток в растворах при разной концентрации нейтрального красного и новокаина в гранулах их концентрации оказались практически одними и теми же, причем в сотни и даже в тысячу раз большими, чем в среде.

За 100 лет, прошедших после открытия явления гранулообразования, не раз подымались вопросы о происхождении гранул, о механизме их образования, об их значении и т. д. Этим вопросам посвящена огромная литература. Вначале предполагали, что гранулы в клетке предсуществуют, но в норме невидимы. При обработке клетки красителями вещество гранул сорбирует краситель, окрашивается, и гранулы становятся видимыми. Эта точка зрения, однако, не могла объяснить, почему гранулы вначале мелкие, а затем увеличиваются в размерах, она не могла объяснить и того, почему гранулы выявляются в интактных клетках и не образуются в поврежденных и мертвых. Поэтому теория предсуществующих гранул была оставлена,<sup>27</sup> и на смену ей пришла гипотеза новообразования гранул. Пионером гипотезы новообразования гранул был видный немецкий гистолог Л. В. Гейденгайн (Heidenhain, 1907), который считал, что процесс гранулообразования основан на внутриклеточной секреции какого-то субстрата, связывающего красители и другие гранулообразователи. Концепция новообразования гранул нашла активных сторонников среди советских цитологов — Н. Г. Хлопина, Д. Н. Насонова, В. Я. Александрова, их учеников и последо-

вателей. К 1926 г. относится открытие Хлопиным явления «кринома», которое описывают следующим образом. После того как в цитоплазме клеток образовались гранулы, препарат фиксируют. Прижизненные гранулы исчезают, но после окраски фиксированного препарата основным красителем на месте прижизненных гранул находят того же размера сферические структуры — криномные гранулы. Понятно, что при окраске контроля, т. е. клеток без гранул, никаких структур после фиксации и окраски не выявляется. Образование «кринома», по мнению Н. Г. Хлопина, свидетельствует об образовании и отложении в гранулах какого-то базофильного субстрата.<sup>28</sup> Эти данные были многократно подтверждены и считались существенным доводом в пользу концепции новообразования гранул. Д. Н. Насонов доказал, что прижизненные гранулы образуются первоначально в петлях аппарата Гольджи и что гранулообразование является энергозависимым процессом. Все это указывало на то, что гранулообразование является активным процессом.

В 30-х годах известный голландский физикохимик Бунгенберг-де-Йонг открыл явление коацервации. Явление это состоит в том, что при некоторых условиях коллоид выделяется из раствора не в форме осадка, а в виде раствора, но более концентрированного. Таким образом, коллоидный раствор расслаивается на две не смешивающиеся друг с другом жидкие фазы — более концентрированную и менее концентрированную. Более концентрированный раствор и называется коацерватом. Познакомившись с явлением сегрегации веществ в клетках, Бунгенберг-де-Йонг (Bungenberg de Jong, Westercamp, 1936; Bungenberg de Jong, Bank, 1939) высказал предположение, что гранулы представляют собой капельки комплексного коацервата. В модельных опытах при смешивании на предметном стекле коллоидов (белков, нуклеиновых кислот, гуммиарабика) с красителем получают окрашенные капельки коацервата, очень похожие на образующиеся в клетках гранулы. В лаборатории В. Я. Александрова коацерватная теория гранулообразования нашла поддержку и дальнейшее развитие в серии работ Н. Л. Фельдман (1948, 1950, 1953).

Решительный поворот в трактовке механизма гранулообразования связан с открытием в клетке лизосом. В работах Кенига (Koenig, 1963) и Робинса с сотрудниками (Robbins et al., 1964) было показано, что гранулы, образующиеся в процессе инкубации клеток с витальными красителями, содержат ферменты, характерные для лизосом. На этом основании был сделан вывод о том, что гранулы являются лизосомами. Из советских исследователей эту точку зрения поддержали Ю. К. Кярнер (1966), А. В. Зеленин (1965, 1971; Зеленин и др., 1965), А. Г. Булычев с сотрудниками (1980) и др. По данным Кярнера, гранулы, возникающие при витальном окрашивании фибробластов, содержат кислую фосфатазу, фосфолипиды и локализуются в области аппарата Гольджи. Этот автор указывает, что витальные красители откладываются в предсуществующих лизосомах и стимулируют образование новых лизосом. По его мнению, поскольку новообразующиеся лизосомы активно сегрегируют виталь-

ные красители, то это доказывает, что сегрегация красителей в клетке не является пассивным процессом.

В опытах Зеленина с сотрудниками (1965) животным вводили акридиновый оранжевый и через 1—1.5 ч в цитоплазме клеток печени выявлялись красные гранулы. После гомогенизации печени производили дифференциальное центрифугирование гомогенатов и получали ряд фракций. Фракция, осаждающаяся при 1600 g, содержала большую часть цитоплазматических красных гранул. Гранулы, по данным этих авторов, отличаются от классических лизосом большими размерами и большей удельной массой. Это объясняется тем, что гранулы аккумулируют акридиновый оранжевый в столь больших количествах, что это ведет к увеличению их плотности и размеров.

Еще первооткрыватель гранул Гейнц (Heinz, 1890) наблюдал выход гранул из ядерных эритроцитов, поврежденных механически покровным стеклом. Это наблюдение подтвердила М. Н. Веселкина (1979): гранулы выходят из эритроцитов в окружающую среду при повреждении клеток в результате их УФ-облучения.

Таким образом, гранулы, если после их формирования прошло несколько часов, представляют достаточно устойчивые образования — они могут быть изолированы и изучаться вне клетки. Булычев с сотрудниками (1980) в изолированных гранулах обнаружил высокую активность маркерного фермента лизосом — N-ацетил-β, D-глюкозоаминидазы. Это новое подтверждение лизосомной природы прижизненных гранул.

Приведенные выше данные получили авторитетную поддержку в работе Де Дюва (De Duve et al., 1974). Он полагал, что гранулы представляют гипертрофированные лизосомы, а основой процесса концентрирования веществ в лизосомах являются протолитические реакции (см. прим.<sup>25</sup>). Лизосомные мембраны, по мнению Де Дюва, проницаемы для незаряженных молекул, но задерживают ионы. Гранулообразователи относятся к классу слабых оснований или катион-кислот. В водном растворе кислотная форма находится в равновесии с корреспондирующим основанием, лишенным заряда. Незаряженная форма способна к диффузии в лизосому. В лизосомном матриксе осуществляется протонирование щелочной формы и переход ее в катион-кислоту, которая задерживается в лизосомном мешке как в ловушке. Таким образом, происходит переход гранулообразователя из цитозоля в лизосомы. Благодаря увеличению концентрации вещества в лизосомах в них увеличивается осмотическое давление, поглощается вода и размеры гранул увеличиваются.

Д. Н. Насонов первый выдвинул вопрос об энергозависимости сегрегационного процесса. Указав, что концентрация гранулообразователя в гранулах может в сотни раз превышать его концентрацию в среде, Насонов пишет: «Ясно, что в этом случае проделывается большая концентрационная работа. Откуда же берется энергия для этой работы?» (Насонов, 1930, с. 184). В ряде исследований было показано, что гранулоотложение красителей подавляется при угнетении клеточного дыхания (Насонов, 1930; Александров, 1932),

что позволяет предположить зависимость процесса гранулообразования от энергии, вырабатываемой в ходе окислительного фосфорилирования. В других работах ведущую роль в энергетике сегрегационного процесса отводят гликолизу (Weissmann, Gilgen, 1956; Зеленин, 1971). М. А. Панов и И. А. Розовская (1977) исследовали влияние ингибиторов гликолиза — монойдацетата, а также разобщителей окислительного фосфорилирования (2,4-динитрофенола и п-трифторметоксикарбонилцианидфенилгидразона — ФКФ), ингибиторов дыхания (цианида калия и амитала) и детергентов (твина-80 и дезоксихолата натрия) на гранулоотложение нейтрального красного в клетках асцитной карциномы Эрлиха. По данным этих авторов, у клеток с полностью выключенным дыханием гранулообразование не нарушается. Ингибиторы дыхательного фосфорилирования (2,4-динитрофенол и ФКФ) блокируют гранулообразование. Введение в среду глюкозы восстанавливает сегрегационную функцию у клеток, обработанных 2,4-динитрофенолом, но не ФКФ. Клетки с заблокированным гранулообразованием содержат АТФ в значительном количестве — 50—70 % нормы. «Создается впечатление, — пишут авторы, — что влияние ингибиторов энергетического метаболизма на гранулоотложение красителя не связано с влиянием этих агентов на клеточную энергетику» (Панов, Розовская, 1977, с. 73).

К другим выводам пришли А. Г. Булычев и М. Н. Веселкина (1983), исследовавшие влияние обширной группы метаболитических ядов на сегрегацию нейтрального красного ядерными эритроцитами лягушки. Были изучены ингибиторы гликолиза и дыхания, разобщители дыхания и фосфорилирования, а также один из ингибиторов синтеза белка. Клетки в течение 60 мин инкубировали в растворе яда, а затем еще 60 мин в смеси того же яда с красителями. Сегрегационную активность эритроцитов оценивали по числу сформировавшихся к концу опыта гранул. Из ингибиторов гликолиза исследовали монойдацетат (ингибирует SH-ферменты гликолиза — гексокиназу, альдолазу, глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназу), фторид натрия (ингибирует енолазу) и дезокси-Д-глюкозу (ингибирует фосфогексоизомеразу). Торможение сегрегационного процесса на 50 % монойдацетат вызывает при концентрации 0.5 мкмоль/л. Полное подавление гранулообразования происходит при 50 мкмоль/л (рис. 5, А). Фторид натрия и дезокси-Д-глюкоза вызывают торможение процесса гранулообразования на 50 % при концентрациях в 10 000 раз больших: NaF — 5 ммоль/л, дезокси-Д-глюкоза — 10 ммоль/л.

Из ингибиторов дыхания исследовали KCN (тормозит терминальную стадию переноса электронов на уровне цитохрома  $a+A_2$ ), антибиотик актиномицин (блокирует перенос электронов на участке дыхательной цепи от цитохрома b к цитохрому c) и ротенон (блокирует переход электронов от НАД<sup>+</sup> к цитохрому). Актимицин и ротенон обнаружили чрезвычайно высокую ингибиторную активность: торможение сегрегационной функции на 50 % эти агенты вызывают при концентрации 0.5—5 нмоль/л, а полное угнетение процесса сегрегации достигается при концентрации акtimiцина 1 нмоль/л

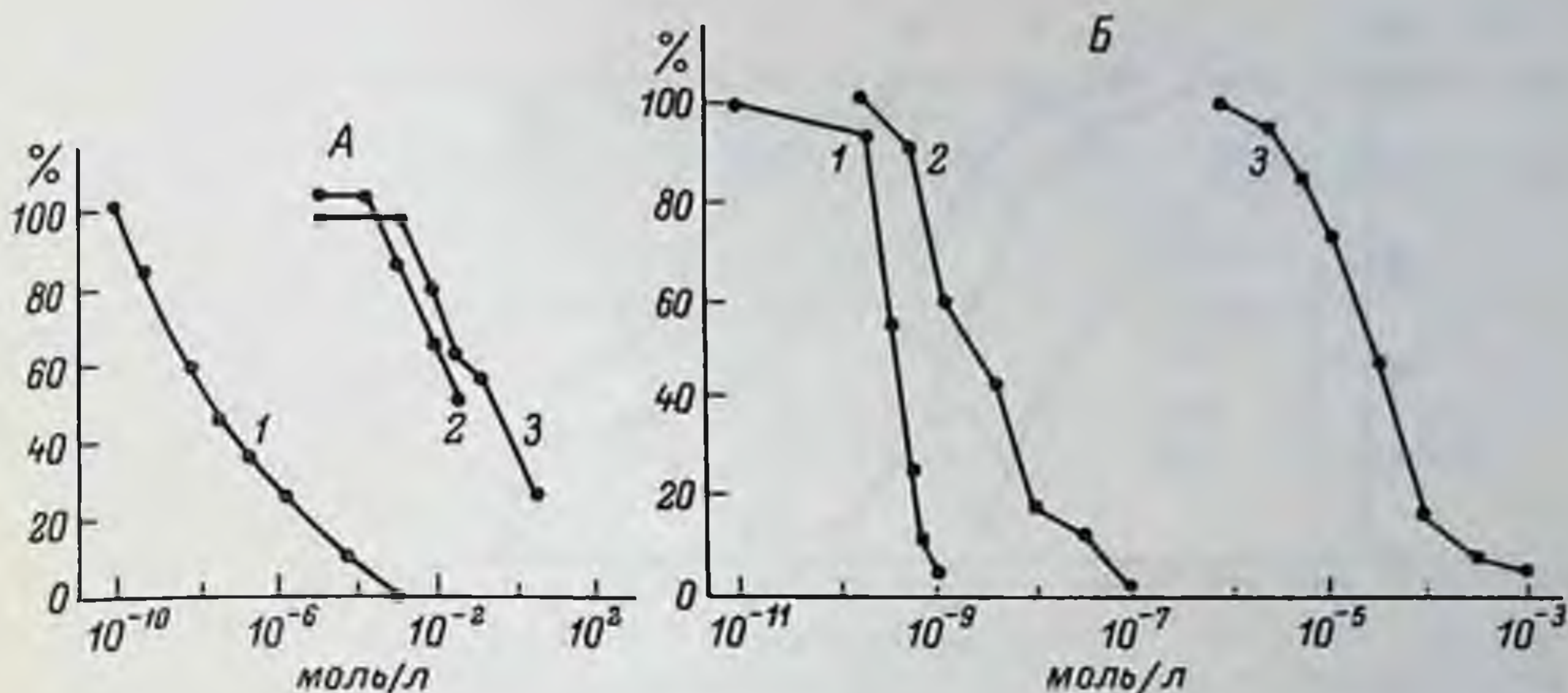


Рис. 5. Влияние ингибиторов гликолиза (А) и ингибиторов дыхательной цепи (Б) на сегрегацию новокаина в эритроцитах (по: Булычев, Веселкина, 1983).

А: 1 — моноацетат, 2 — дезокси-Д-глюкоза, 3 — фтористый натрий; Б: 1 — антимицин А, 2 — ротенон, 3 — KCN. По оси абсцисс — концентрация; по оси ординат — количество гранул в одном эритроците, % от контроля.

(рис. 5, Б). KCN оказался менее эффективным: инактивация сегрегационного процесса на 50 % была достигнута при концентрации 50 мкмоль/л (рис. 5, Б). Высокоэффективными ингибиторами сегрегационного процесса оказались также разобщители дыхания и фосфорилирования. Протонофор ФКФ — один из наиболее мощных разобщителей дыхания и фосфорилирования — тормозит сегрегационный процесс на 50 % при концентрации 4 нмоль/л, 2,4-динитрофенол тот же эффект вызывает при 25 нмоль/л. Арсенат натрия, ингибирующий фосфорилирование АДФ и не оказывающий заметного влияния на процесс переноса электронов, также оказался активным ингибитором сегрегационного процесса: при его концентрации порядка 10 мкмоль/л торможение достигает 6.5 %. Высокоактивным ингибитором сегрегации оказался и азид натрия, блокирующий сопряженное с окислением образование АТФ: при концентрации 50 мкмоль/л  $\text{NaN}_3$  тормозит сегрегационную функцию на 50 % (рис. 6, А). Данные об ингибиторной активности антибиотиков олигомицина (тормозящего трансформацию энергии в сопрягающих мембранах) и циклогексимида (ингибитора синтеза белка на 80S-рибосомах) представлены на рис. 6, Б и В. Результаты, полученные в этой работе, рассматриваются Булычевым и Веселкиной (1983) как свидетельство в пользу энергозависимости процесса сегрегации. Авторов не смущает то обстоятельство, что после полного торможения гранулообразования в клетках могут быть обнаружены высокие концентрации АТФ — 30—70 % от нормы (табл. 3). Некоторые соображения по поводу этого противоречия мы приводим в конце настоящего раздела.

Ранее указывалось, что щелочные формы гранулообразователей, проникшие в лизосомные компартменты, протонируются там и

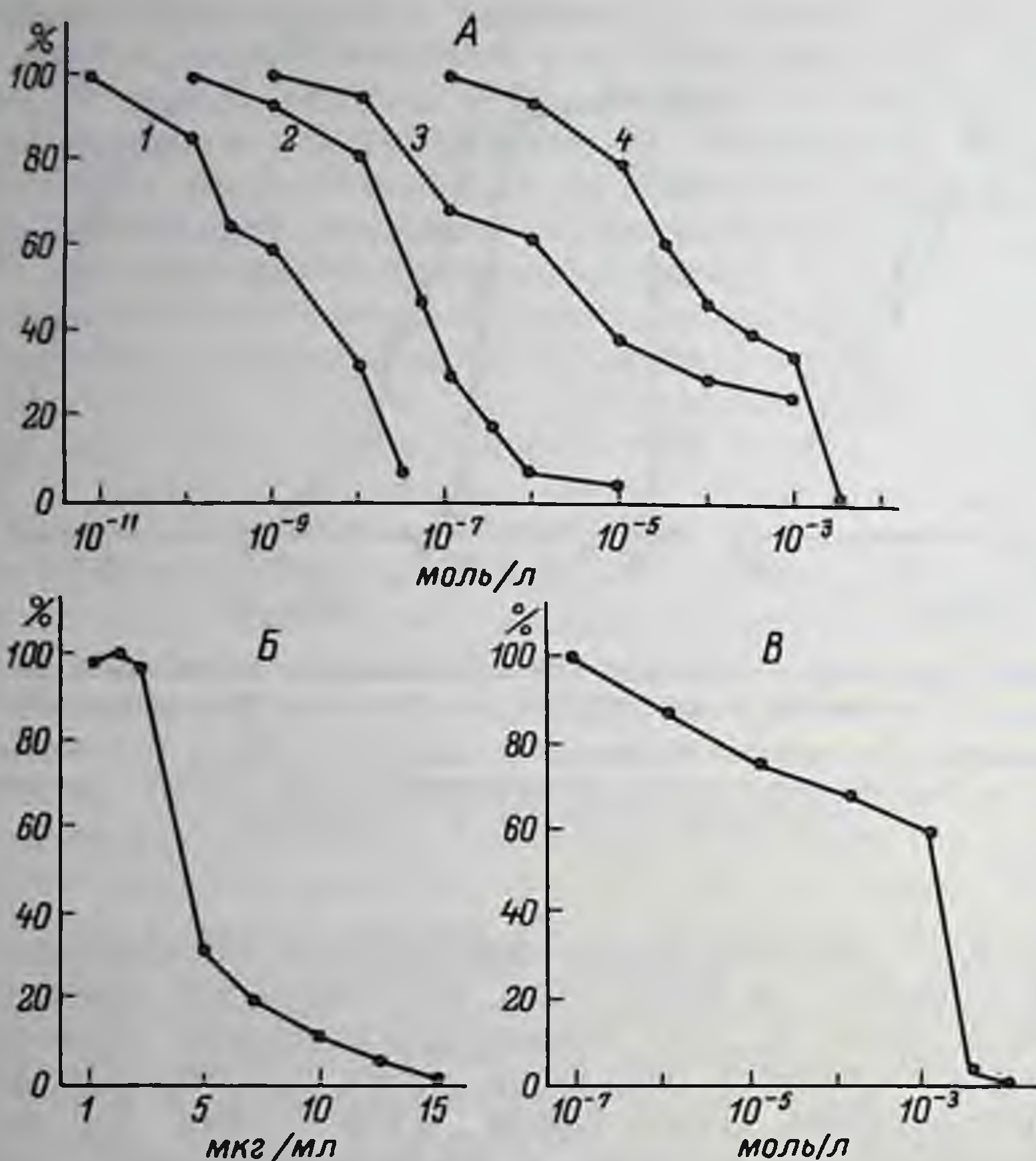


Рис. 6. Сегрегация нейтрального красного в эритроцитах (по: Булычев, Веселкина, 1983).

А — влияние разобщающих агентов и ингибиторов окислительного фосфорилирования: 1 — ФКФ, 2 — ДНФ, 3 — арсенит натрия, 4 — азид натрия. Б — влияние олигомицина. В — влияние циклогексимида. На осях — то же, что на рис. 5.

превращаются в катион-кислоты. По поводу механизма протонирования существует несколько гипотез. По представлениям Хеннинга с сотрудниками (Henning et al., 1973), этот процесс обеспечивается наличием в мембране лизосом N-ацетилнейраминовой кислоты в высокой концентрации. По мнению Кенига (Koenig et al., 1963), донором протонов являются входящие в состав лизосом липидные компоненты, содержащие в своем составе свободные карбоксильные и фосфатные группы. М. Н. Веселкина (1979) обращает внимание на то, что в эритроцитах возможно наличие источников протонов другой природы. В ходе метаболизма в клетках постоянно образуются соединения с кислотными и щелочными функциями — слабые кислоты, анионы слабых кислот. Их протолитической активности не придается значения, так как в обычных условиях (в водных растворах) кислотные и щелочные функции принято считать прерогативой  $\text{H}_3\text{O}^+$  и  $\text{OH}^-$  ионов. Между тем известно, что в среде с низким

Таблица 3

Действие ингибиторов энергетического обмена на уровень АТФ в ядерных эритроцитах (по: Булычев, Веселкина, 1983)

Условия инкубации	Содержание АТФ в эритроцитах, % от содержания в контроле (в разных опытах)			
	1	2	3	4
NaF, 5 ммоль/л	61.2	73.0	57.6	65.2
Моноацетат, 1 мкмоль/л	53.4	58.2	59.7	43.8
ФКФ, 10 нмоль/л	43.4	34.5	38.0	30.3

содержанием  $\text{H}_3\text{O}^+$ , т. е. в щелочной среде, возрастает роль слабых доноров протонов, а в среде с малым содержанием  $\text{OH}^-$ , т. е. в кислой среде, существенна роль слабых оснований. В связи с этими соображениями обращает на себя внимание возможная роль угольной кислоты в протолитическом механизме сегрегации веществ в эритроцитах. Двуокись углерода ( $\text{CO}_2$ ), хорошо растворимая в воде и медленно с ней реагирующая с образованием угольной кислоты ( $\text{H}_2\text{CO}_3$ ), непрерывно возникает в эритроцитах, поступает в них и переносится ими. Эта реакция катализируется ферментом карбоангидразой:



Молекула угольной кислоты невелика, лишена заряда, легко проникает в различные компартменты клетки, в том числе и в лизосомы. В условиях физиологических значений рН ее роль как донора протонов, в частности в реакции превращения щелочных форм гранулообразователей, может быть существенной. Таким образом, при снижении образования  $\text{H}_2\text{CO}_3$  в клетке процесс сегрегации веществ может оказаться заторможенным. Это представление получило подтверждение в опытах с эритроцитами лягушки, для которых было показано, что процесс сегрегации в них ингибируется препаратами сульфонамидов, специфическими ингибиторами карбоангидразы (табл. 4). Из исследованных сульфонамидов диакарб, норсульфазол и уросульфам являются активными ингибиторами

Таблица 4

Ингибирование сульфонамидами сегрегации нейтрального красного и новокаина в ядерных эритроцитах лягушки (по: Браун, Веселкина, 1978)

Сульфонамиды	Нейтральный красный, ммоль/л		Новокаин, ммоль/л	
	1	2	1	2
Диакарб	0.76	0.32	2.0	0.88
Норсульфазол	2.18	1.15	2.69	0.97
Уросульфам	3.56	—	6.31	4.02
Стрептоцид	7.94	—	8.27	—
Сульгин	8.79	—	8.53	—
Контроль	10.21		10.01	

Примечание. Каждая цифра получена в результате подсчета гранул в 600 эритроцитах (среднее число гранул в одном эритроците).



процесса сегрегации нейтрального красного и новокаина; стрептоцид и сульгин ингибируют его слабее. По ингибиторной активности исследованные сульфонамиды образуют ряд: диакарб > норсульфазол > уросульфам > стрептоцид > сульгин. Этот ряд не вполне совпадает с рядом сульфонамидов по их ингибиторному действию на карбоангидразу *in vitro*. По данным Кребса (Krebs, 1948), наибольшей ингибиторной активностью обладают сульфонамиды типа  $R-SO_2-NH_2$ , т. е. производные со свободной  $NH_2$ -группой. Производные типа  $R-SO_2-NH-R$  оказываются менее активными. Известно, однако, что перенесение на клетки данных, полученных в опытах *in vitro*, осложняется влиянием ряда факторов: разной проницаемостью агентов, возможностью их связывания, вовлечением в метаболические реакции и т. д. В опытах *in vitro* сульфонамиды ингибируют карбоангидразу в концентрациях 1—10 мкмоль/л. При добавлении к раствору фермента небольших количеств тканевого гомогената для получения ингибирующего эффекта дозу сульфонамида приходится значительно увеличить, в ряде случаев на два порядка.

Де Дюв с сотрудниками (De Duve et al., 1974) и Мего (Mego, 1979) постулируют наличие в лизосомной мембране протонного насоса, работа которого обеспечивается энергией, освобождаемой в результате расщепления АТФ. Эта идея получила подтверждение в опытах, проведенных в нашей лаборатории А. Г. Булычевым с сотрудниками (1985), которым удалось выявить наличие в гранулах протонной АТФазы. В нашей работе была изучена АТФазная активность изолированных гранул, полученных после инкубации эритроцитов лягушки в растворе новокаина. Клетки гомогенизировали и гомогенат подвергали дифференциальному центрифугированию. Полученная фракция гранул была свободна от загрязнения фрагментами митохондрий и плазматических мембран, о чем свидетельствовали отрицательные пробы на присутствие следов цитохром С-оксидазы (маркерный фермент митохондрий) и 5'-нуклеотидазы (маркерный фермент цитоплазматической мембраны). Исследование АТФазной активности гранул производили при инкубации гранул в среде, содержащей буфер следующего состава: Трис-НСI — 20 ммоль/л, рН 7.5,  $MgCl_2$  — 3 ммоль/л и АТФ — 1.5 ммоль/л. Активность АТФазы гранул определяли по нарастанию в среде неорганического фосфата ( $\Phi_{II}$ ). Количество  $\Phi_{II}$ , освобождающееся в ходе реакции, увеличивается линейно в течение 90 мин инкубации (рис. 7, А), а концентрация гидролизуемого АТФ пропорциональна содержанию белка (рис. 7, Б). АТФаза гранул гидролизует АТФ в широком интервале рН — от 6.5 до 9.5 с оптимумом при рН 7.5 (рис. 8, А). АТФаза гранул термолабильна: снижение ее активности наблюдается уже при 30 °С, а полное инактивирование происходит при 50 °С (рис. 8, Б). Булычев с сотрудниками (1985) приходит к выводу, что по ряду свойств АТФаза гранул сходна с  $H^+$ -АТФазой лизосомных мембран (Schneider, 1977, 1981, 1983), аппарата Гольджи (Zhang, Schneider, 1983) и эндоцитозных пузырьков (Yamashiro et al., 1983). Таким образом, есть основания предполагать, что  $H^+$ -АТФаза

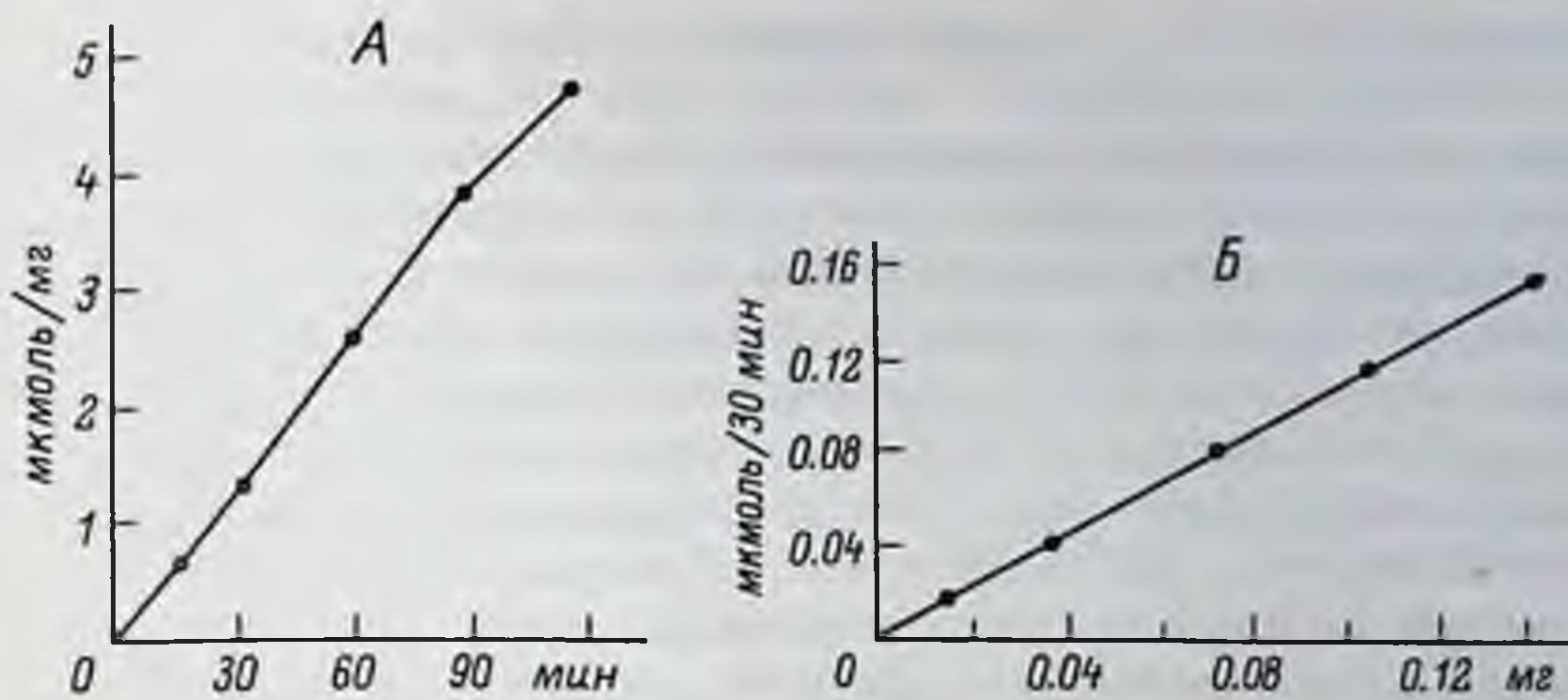


Рис. 7. Зависимость АТФазной активности гранул новокаина, изолированных из эритроцитов травяной лягушки, от продолжительности инкубации (А) и от концентрации белка в среде (Б) (по: Булычев и др., 1985).

По оси ординат — концентрация фосфора: А — в 1 мг белка, Б — освободившегося за 30 мин.

гранул принимает участие в обеспечении низкого уровня рН в лизосомах и в процессе протонирования слабых оснований.

При неспецифическом адаптационном синдроме, при повреждении и смерти клетки ее гранулообразовательная активность нарушается и полностью парализуется. В работах Д. Н. Насонова, В. Я. Александрова и их сотрудников этот показатель используется для характеристики физиологического состояния клетки. Этот метод нашел применение в медицинской практике.<sup>29</sup>

Каковы же причины нарушения сегрегационной функции клеточной системы? На этот вопрос В. Я. Александров отвечает: «Почему

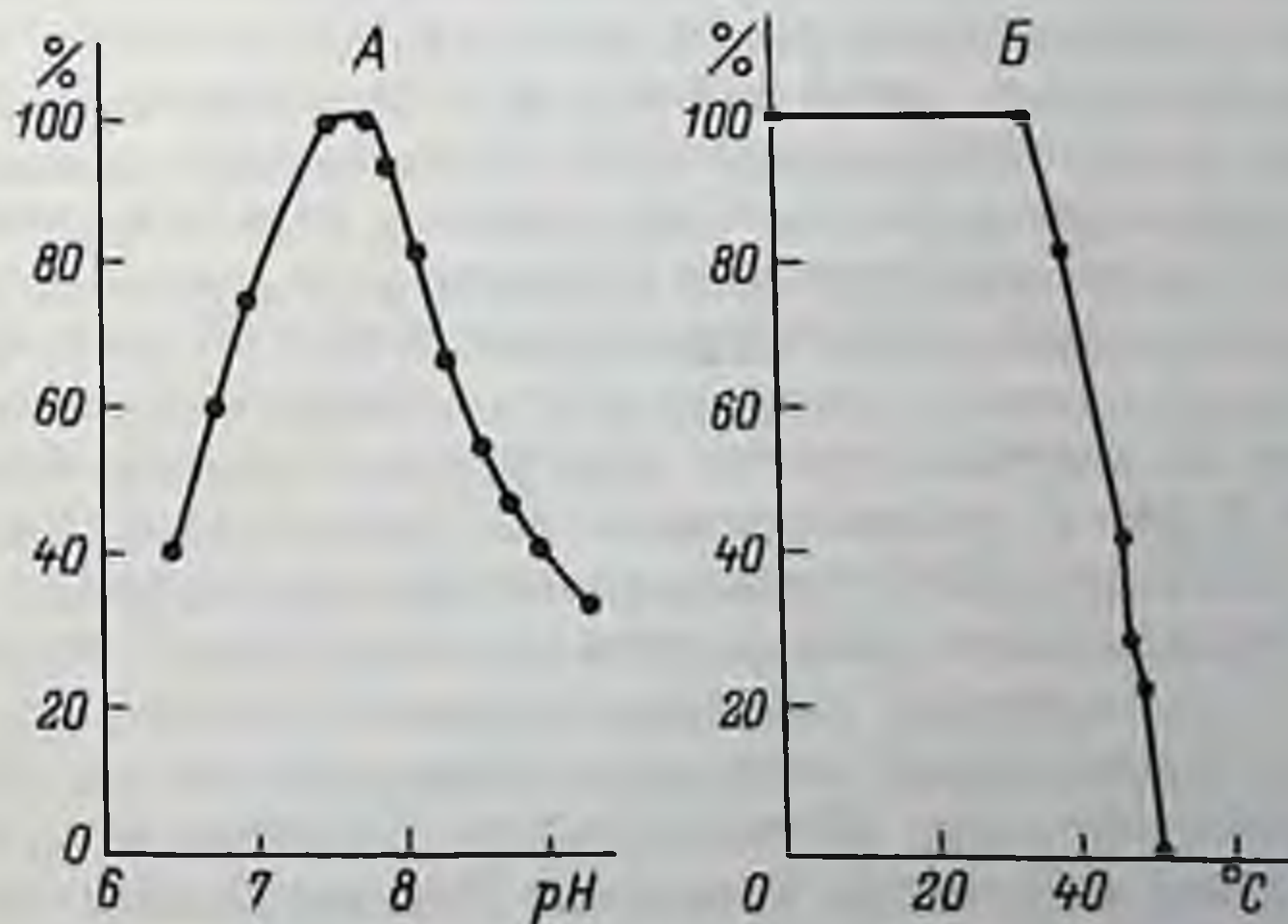


Рис. 8. Влияние рН среды (А) и температуры (Б) на активность АТФазы зон сегрегации (по: Булычев и др., 1985)

Среда — буфер Трис-НСI, 0.02 моль/л. По оси ординат — активность АТФазы.

лизосомные пузырьки в поврежденной клетке не могут концентрировать витальные красители — неизвестно» (Александров, 1985, с. 50). Однако из дальнейшего изложения выясняется, что положение дел не столь плачевно. Выдвинут ряд гипотез, позволяющих организовать накопившийся экспериментальный материал и предвидеть новые явления. В одной из гипотез приводятся соображения, что при воздействии на клетку повреждающих факторов происходит обратное нарушение целостности лизосомных мембран. Это еще не грубые механические травмы, ведущие к выводу из лизосом макромолекулярных компонентов, но альтерации, в результате которых мембраны становятся проницаемыми для молекул малых и средних размеров. Следует также учесть, что в результате воздействия неблагоприятных факторов разрывается известное число стабилизирующих цитоплазму слабых связей, в результате чего увеличивается число реакционных центров, повышается сорбционная активность протоплазмы. Содержащиеся в лизосомных пузырьках краситель и другие агенты, обладающие высокой адгезивной активностью, оттягиваются из лизосом.

В ряде гипотез придается значение сдвигу активной реакции протоплазмы: при неспецифическом синдроме в результате активации аэробного гликолиза рН протоплазмы смещается в кислую сторону. Это оказывает тормозящее влияние на активность протонной АТФазы. В кислой среде происходит сдвиг равновесия в реакции



в левую сторону, т. е. к уменьшению концентрации нейтральной формы, что тормозит поступление гранулообразователя в лизосомы.

Наконец, существует точка зрения, согласно которой причиной нарушения гранулообразования является недостаток энергетических ресурсов (выше указывалось, что сегрегационный механизм блокируется, когда содержание АТФ в клетке еще далеко не исчерпано). Однако при этом не учитывается, что определение АТФ производят в хлорно-кислых или трихлоруксуснокислых экстрактах, т. е. определяют суммарное содержание АТФ. Между тем имеются многочисленные данные окомпартиментализации в клетке важнейших метаболитов. В клетках печени обнаружена компартиментализация пулов АТФ, АДФ и других адениновых нуклеотидов. Значительная часть пула АТФ и АДФ в мышечных клетках связана с цитоскелетными структурами и расходуется в их реакциях. Между энергозависимыми процессами, протекающими в клетке в условиях нарушенного гомеостаза, возникает конкуренция за АТФ, исход которой решает сродство АТФаз к АТФ. Необходимо также учесть, что в результате активации процессов полимеризации актина и его вторичных реакций вязкость клеточного содержимого резко увеличивается, в связи с чем диффузия веществ затормаживается и доставка АТФ к местам ее трат затрудняется. Таким образом, по ряду причин доступ АТФ к лизосомным структурам может быть ограничен и даже полностью блокирован.

## ВЫХОД ВЕЩЕСТВ

Ранним и постоянным показателем неспецифического адаптационного синдрома является выход из клеток в окружающую среду различных субстанций. При этом имеется в виду не выделение конечных продуктов обмена, или секреция каких-либо специализированных продуктов синтеза — речь идет о веществах, представляющих в норме постоянную составную часть протоплазмы. Наблюдения этого рода давно известны. На освобождении ряда составляющих протоплазмы при ее повреждении основаны многие методы аналитической и препаративной биохимии, открытые эмпирически и применяющиеся еще со времени Шевреля и Либиха. Многократно описан выход гемоглобина из эритроцитов при их хранении, выход пигментов из растительных клеток при их повреждении, выход калия, фосфатов, молочной кислоты из мышц при их утомлении. Опубликованы работы, в которых описан выход ферментов из клеток в процессе их изолирования, хранения, повреждения. Установлен выход из гепатоцитов ферментов гликолиза (альдолазы, лактатдегидрогеназы), ферментов трикарбонового цикла (Exton, 1964; Takeda et al., 1964; Castagna, Chauveau, 1968; Hommes et al., 1970; Fry et al., 1976).

Выход веществ из клеточных структур представляет собой, таким образом, феномен, многократно удостоверенный, но систематических исследований его не предпринималось, причина и значение его изучены недостаточно.

В нашей лаборатории исследовали выход веществ из скелетных мышц — интактных и подвергшихся воздействиюм разнохарактерных неблагоприятных факторов различной интенсивности (Браун, 1960). Опыты ставились на портняжных мышцах лягушки. Мышцы вырезались, взвешивались и погружались в сосудики, содержащие известное количество рингеровского раствора. Одна из парных мышц служила контролем, другая подвергалась воздействию. Через известные интервалы времени (от 15 до 120 мин) растворы, в которых инкубировались мышцы, сливались и заменялись свежими порциями того же раствора. Эта процедура повторялась многократно. Слитые растворы анализировались.

Анализ показал, что растворы, в которых инкубировались интактные мышцы, содержат сложную смесь веществ. В них было обнаружено присутствие белков, креатина, калия, фосфорной кислоты. Скорость выхода веществ из интактных мышц заметно выше в первые часы после начала инкубации, затем она уменьшается и достигает минимума через 14—15 ч после изолирования мышц. В этот период скорость выхода веществ из мышц очень мала. Концентрация их в растворах после очередной 2-часовой инкубации очень невелика. Практически речь идет о наличии следов анализируемых веществ (рис. 9, А). Картина существенно меняется, если в рингеровском растворе инкубируются мышцы после воздействия на них какими-либо повреждающими факторами или если агент действует во время инкубации. В этих условиях в растворах обнаруживаются те же вещества, что и в интактных, но в несравнимо более высоких кон-

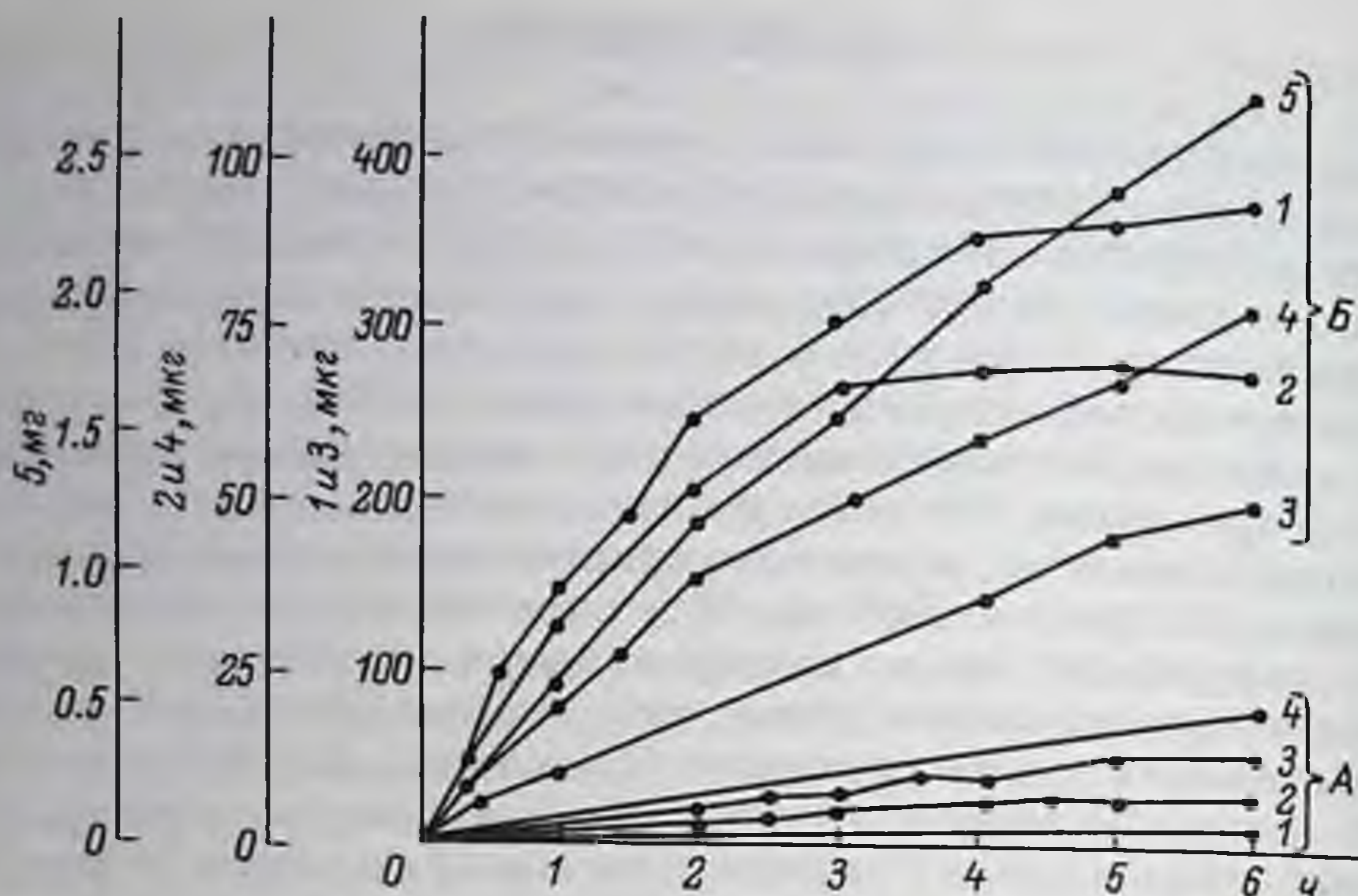


Рис. 9. Выход веществ из мышц, находящихся в покое (А) и после воздействия на них гидростатического давления 1000 атм в течение 30 мин (Б) (по: Браун, 1960).

1 — креатин; 2 — фосфорная кислота; 3 — калий; 4 — вещества, дающие диазореакцию; 5 — белок. По оси абсцисс — время переживания мышц; по оси ординат — концентрации веществ. Все величины отнесены к 100 мг сырой массы мышц.

центрациях (табл. 5). Нами получены данные о выходе белков из мышц после воздействия на них гидростатического давления (400—500 атм. в течение 15—30 мин). Такое давление вызывает сокращение мышц типа контрактуры. После снятия давления мышцы оставляли на 60 мин в свежем рингеровском растворе. Парные контрольные мышцы выдерживали те же сроки в растворе Рингера. Оказалось, что выход белков из мышц, находившихся под давлением, в 3—10 раз больше, чем из контрольных (рис. 9, Б); чем выше давление, тем выход веществ был соответственно более значительным.

Мы наблюдали выход веществ (белков, аминокислот, креатина, веществ, дающих диазореакцию, калия, фосфорной кислоты и др.) из мышц, подвергнутых воздействию и ряда других повреждающих факторов — гипертермии, аноксии, гипо- и гипертонических растворов NaCl, этанола, мочевины (рис. 10—12). Полученные данные позволяют заключить, что при адапционном синдроме количество диффундирующих из мышц компонентов, способных растворяться в окружающей среде, в 2—10 раз выше, чем из мышц, не подвергавшихся воздействию. На рис. 13 представлены кривые выхода веществ из мышц, интактных и инкубированных в растворе 1.25 %-ного NaCl. В этих условиях мышца дает контрактуру и утрачивает возбудимость, но она жива, так как после перенесения в нормальный раствор Рингера контрактура проходит, возбудимость восстанавливается. Обратимость, однако, сохраняется в среднем в течение 5—6 ч. После этого мышца погибает, но, как видно на рис. 13, через 5—6 ч инкубации кривая выхода веществ дает крутой перелом — она круто под-

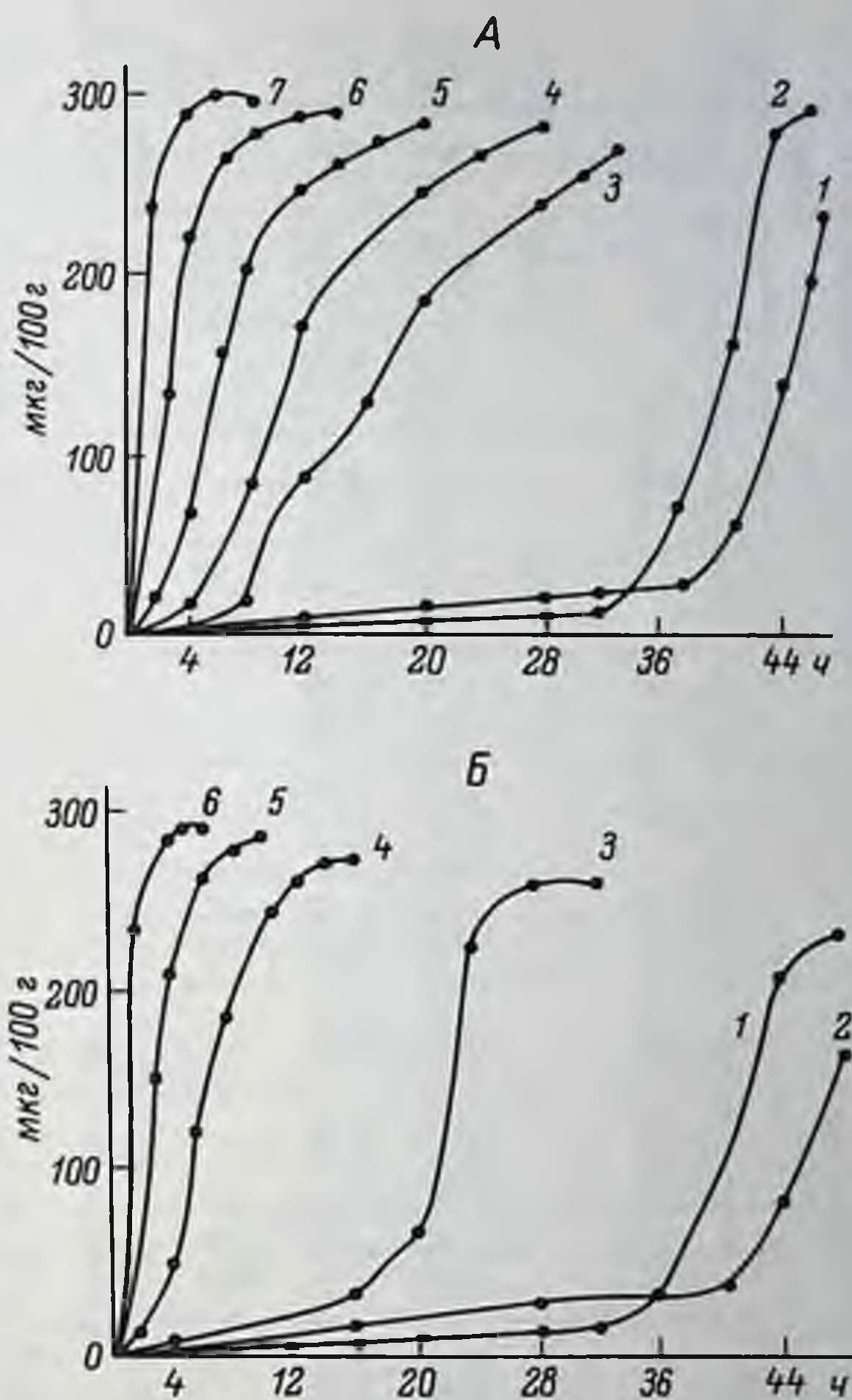


Рис. 10. Выход креатина из мышц при переживании их в рингеровском растворе при разной концентрации  $MgCl_2$  (А) и при добавлении мочевины (Б) (по: Браун, 1960).

А — концентрация  $MgCl_2$ : 1 — 0 %, 2 — 1 %, 3 — 2 %, 4 — 4 %, 5 — 8 %, 6 — 16 %, 7 — 32 %  
 Б — концентрация мочевины: 1 — 0 %, 2 — 3 %, 3 — 6 %, 4 — 12 %, 5 — 24 %, 6 — 48 %.

По оси абсцисс — время переживания мышц; по оси ординат — выход веществ (на 100 г сырой массы мышц).

нимается кверху, так как скорость выхода веществ из погибших мышц резко увеличивается.

При изучении выхода веществ из мышц, подвергающихся действию повреждающих факторов, удалось выявить качественные отличия в характере диффундирующих продуктов в обратимую и необратимую фазы повреждения (Браун, Немчинская, 1960). Карнозин, находящийся в мышцах в относительно больших количествах и легко диффундирующий из мембраны, выходит из мышцы только в необратимую фазу повреждения. Во время обратимой фазы адаптационного синдрома из мышцы выходят только продукты гидролитического расщепления карнозина — гистидин и  $\beta$ -аланин (табл. 5).

Таблица 5

Содержание аминокислот и карнозина (мг на 100 г сырой массы) во внешних растворах и в мышцах при обратимой альтерации (по: Браун, Немчинская, 1960)

Воздействие	Гистидин			Аспарагиновая кислота			Глутамин			Глицин			Лейцин		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
400 атм 15 мин	5.4 (2.9)	8.9 (6.5)	14.3 (9.4)	2.1 (2.0)	7.8 (8.5)	9.9 (10.5)	1.7 (1.7)	10.4 (15.7)	12.1 (17.4)	—	6.8 (4.6)	—	—	2.7 (2.5)	—
400 атм 20 мин	11.6 (5.0)	—	—	—	—	—	1.8 (1.6)	—	—	1 (0.4)	—	—	1.4 (1.6)	—	—
400 атм 20 мин	13.3 (5.3)	6.3 (5.5)	19.6 (10.8)	2.4 (2.2)	10.4 (10.7)	12.8 (12.9)	3.3 (2.8)	12.6 (15.1)	15.9 (17.9)	0.6 (0.5)	5.2 (6.0)	5.8 (6.5)	4.9 (2.5)	1.5 (1.1)	6.4 (3.6)
400 атм 30 мин	29.1 (2.3)	6.2 (7.2)	35.3 (9.5)	2.5 (1.8)	6.8 (5.8)	9.3 (7.6)	9.0 (4.8)	18.6 (11.2)	18.6 (16.0)	2.0 (1.1)	1.6 (3.2)	3.6 (4.3)	1.8 (2.9)	3.0 (1.9)	4.8 (4.8)
400 атм 30 мин	9.6 (1.9)	—	—	4.1 (3.8)	—	—	3.0 (2.7)	—	—	2.5 (2.0)	—	—	1.4 (1.6)	—	—
500 атм 15 мин	5.9 (2.7)	10.9 (8.3)	16.8 (11.0)	1.8 (1.7)	7.6 (6.6)	9.4 (8.3)	1.9 (2.6)	11.4 (13.9)	13.3 (16.5)	—	4.7 (4.4)	—	1.2 (2.1)	2.9 (2.4)	4.1 (4.5)
500 атм 20 мин	19.6 (4.6)	11.9 (11.0)	31.5 (15.0)	1.9 (1.8)	7.7 (7.0)	9.6 (8.8)	2.7 (1.9)	9.1 (9.2)	11.8 (11.1)	1.9 (1.5)	1.9 (2.8)	3.8 (4.3)	1.1 (1.2)	2.6 (2.8)	3.7 (4.0)

Таблица 5 (продолжение)

Воздействие	Глутаминовая кислота			α-аланин			β-аланин			Карнозин	
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2
400 атм 15 мин	4.1 (2.9)	29.0 (35.6)	33.1 (38.4)	—	16.4 (17.7)	—	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	237 (233)
400 атм 20 мин	3.4 (2.4)	—	—	2.6 (2.9)	—	—	0 (0)	—	—	0 (0)	—
400 атм 20 мин	3.1 (2.6)	12.8 (18.9)	15.9 (21.5)	2.7 (3.1)	5.8 (4.8)	8.5 (7.9)	0.34 (0.4)	1.3 (1.4)	1.6 (1.8)	0 (0)	273.4 (283)
400 атм 30 мин	6.7 (2.3)	9.2 (17.0)	15.9 (20.0)	3.9 (2.0)	—	—	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	251.8 (278.0)
400 атм 30 мин	2.6 (1.8)	—	—	1.7 (1.5)	—	—	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	—
500 атм 15 мин	3.4 (4.0)	14.7 (21.7)	18.1 (25.7)	2.0 (1.7)	7.8 (7.6)	9.8 (9.3)	0.3 (0.7)	0.5 (2.4)	0.8 (3.1)	0 (0)	238.0 (243.2)
500 атм 20 мин	4.6 (2.6)	11.7 (18.1)	16.3 (20.7)	3.5 (2.0)	5.2 (6.7)	8.7 (8.7)	2.0 (0.7)	5.0 (4.9)	7.0 (5.6)	0 (0)	248.7 (263.1)

Примечание. В скобках — контроль к данному опыту. 1 — внешний раствор, 2 — мышцы, 3 — всего.

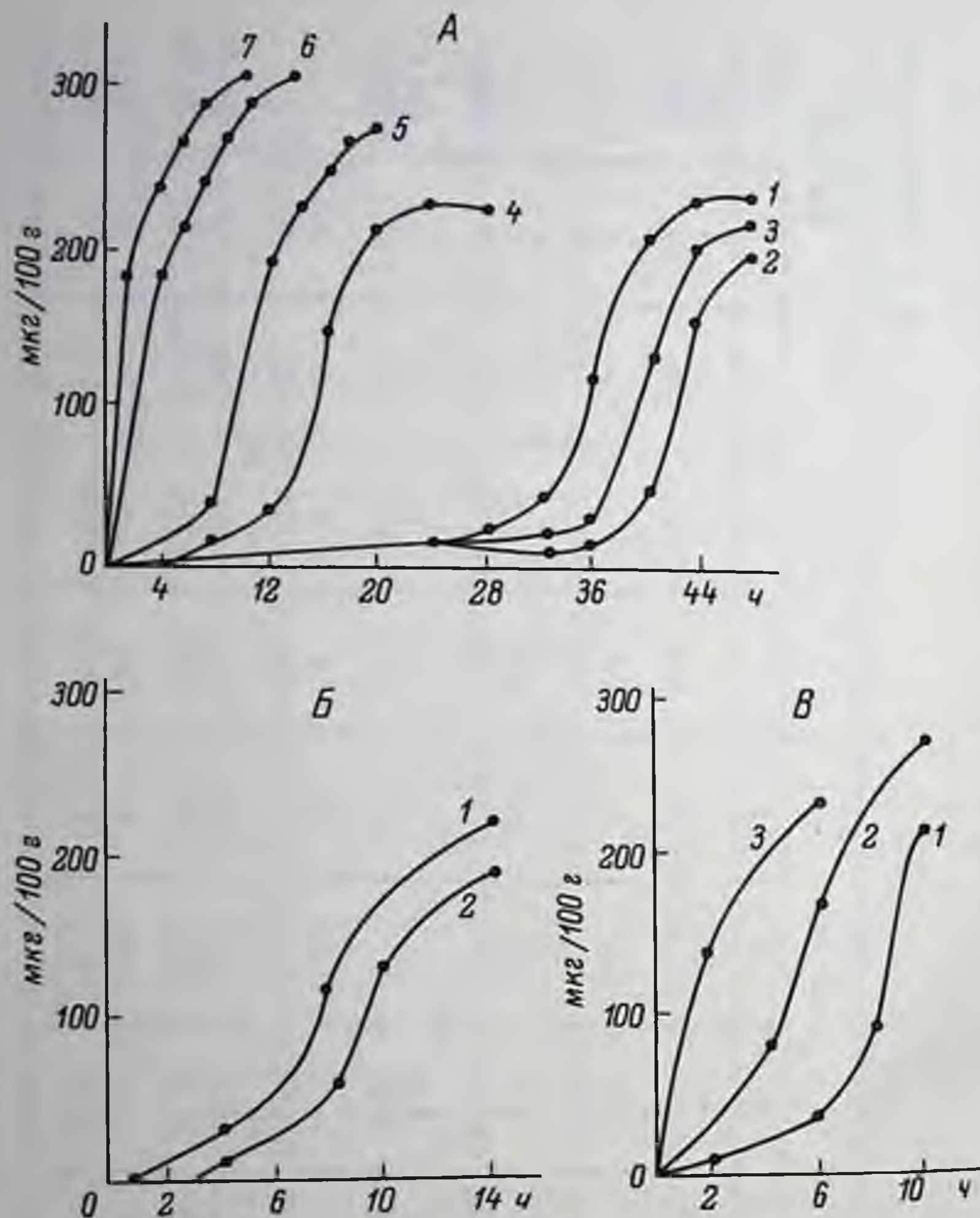


Рис. 11. Выход креатина из мышц при переживании их в рингеровском растворе, содержащем этанол (А), моноацетат натрия (Б) и при разных температурных условиях (В) (по: Браун, 1960).

А — концентрация спирта: 1 — 0 %, 2 — 1.5 %, 3 — 3 %, 4 — 6 %, 5 — 12 %, 6 — 24 %, 7 — 48 %. Б — концентрация моноацетата натрия: 1 — 0.02 %, 2 — 0.1 %. В — температура: 3 — 30 °С, 4 — 34 °С, 5 — 38 °С. На осях — то же, что на рис. 10.

Выход веществ из тканей и клеток используется для контроля за альтерацией клеток. Применение этого показателя оказалось особенно полезным для диагностики инфаркта миокарда. В этом случае в сыворотке крови производится измерение активности и изозимного состава ферментов (креатинкиназы, лактатдегидрогеназы и др.), вышедших в кровь из поврежденного участка миокарда (Покровский, 1962; Amelung, 1964; Иванов и др., 1965; Коровкин, 1965). Было установлено также значение веществ, диффундирующих из клетки при ее альтерации и гибели, в возникновении воспалительной реакции (Мајпо, 1964).



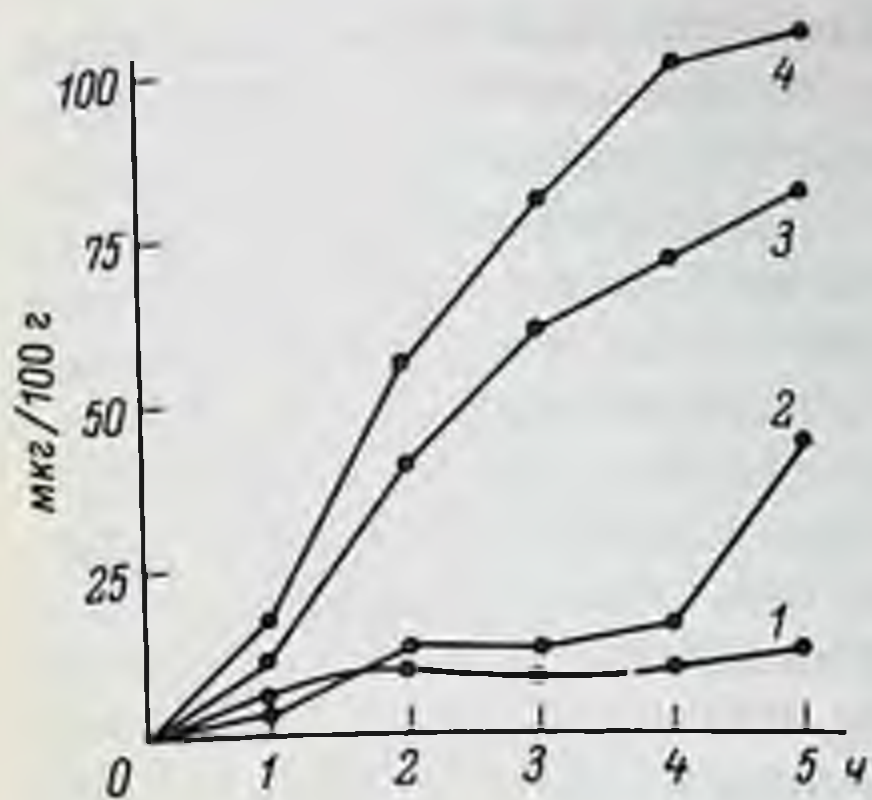


Рис. 12. Выход веществ, дающих диазо-реакцию, из мышц при воздействии на них гидростатического давления (по: Браун, 1960).

Давление: 1 — 400 атм, 2 — 600 атм, 3 — 800 атм, 4 — 1000 атм. На осях — то же, что на рис. 10.

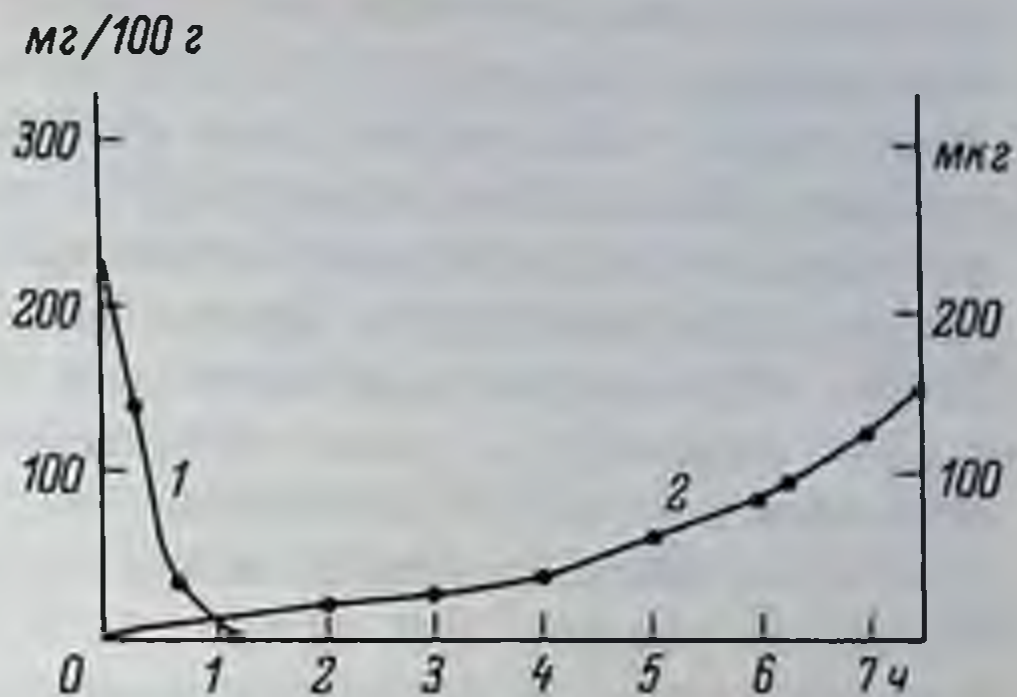


Рис. 13. Выход креатина из мышц (1) и содержание в них креатин-фосфата (2) при переживании их в 1.25 %-ном растворе NaCl (по: Браун, 1960).

По оси абсцисс — время переживания мышц; по оси ординат: слева — содержание креатинфосфата, справа — выход креатина.

На причины, механизм и значение выхода веществ при адапционном синдроме существуют различные точки зрения. Многие авторы склоняются к мнению о решающей роли в обеспечении интактности клетки ее неповрежденной поверхности, т. е. целостности плазматической мембраны. Предполагается, что вещества из интактной клетки не выходят, так как мембрана для них непроницаема. Выход веществ, таким образом, рассматривается как показатель повреждения плазматической мембраны (Bergy, 1962; Berg et al., 1972; Krebs et al., 1974; Baur et al., 1975; Labrecque, Howard, 1975; Seglen, 1976).

Другая точка зрения выдвинута и обоснована А. С. Трошиным (1985). Признавая и поддерживая представление о выдающейся роли поверхности клетки в обеспечении ее гомеостаза, в регуляции ее функциональной активности, Трошин указывает на существенное значение для удержания веществ в клетке протоплазмы в целом. «Протоплазма, — писал основатель русской биохимии А. Я. Данилевский, — настоящее химическое соединение, но слабое, так как образовано уже готовыми молекулами» (Данилевский, 1894, с. 13).

Протоплазма, по современным представлениям, — надмолекулярная структура, все части которой точно пригнаны друг к другу и удерживаются между собой слабыми связями. Структура эта достаточно устойчивая, так как слабые связи, повторенные многократно, в сумме дают значительную энергию взаимодействия. Многие компоненты клетки, считавшиеся до недавнего времени растворенными в гиалоплазме (например, ферменты гликолиза), находятся в непрочном соединении с мембранными структурами (Ахмедов, 1979). Существуют указания, что в субстанциальные изменения про-

топлазмы, вызванные действием неблагоприятных факторов, определенной, может быть решающей, вклад вносят изменения структур высших порядков. На это, в частности, указывает отмеченный нами факт, что увеличение сорбции красителей при денатурации изолированных белков никогда не достигает такой величины, которая наблюдается для протоплазмы или для таких многокомпонентных систем, как сыворотка крови или цельный яичный белок (Браун, 1949). «Основными компонентами протоплазмы являются белки. Они играют важнейшую роль в отпращивании всех функций живой материи. Эти их свойства обусловлены тем, что они обладают колоссальной способностью взаимодействовать с другими веществами самой разнообразной химической природы, и тем, что они необычайно легко изменяют свои свойства при изменении окружающих условий» (Трошин, 1985, с. 147).

Изменения свойств белка обусловлены способностью его макромолекул к конформационному сдвигу, следствием которого являются маскировка одних реакционных центров и обнаружение других. В результате нарушаются или утрачиваются связи белка с окружающими молекулами и, напротив, приобретает способность к сорбции других молекул (например, красителей).

Клетка контактирует с внешней средой через свою поверхность. Прием внешних сигналов осуществляется специализированными белками — рецепторами, локализованными в плазматической мембране (Браун, Стабровская, 1974). Передача сигналов происходит в результате изменения конформации рецепторных белков, связанных функционально с внутриклеточными структурами, в частности с цитоскелетными системами. В норме эффекторами являются гормоны, метаболиты, кофакторы. Эти адекватные раздражители проявляют активность при очень низких концентрациях. Природа адекватных эффекторов указывает на то, что в эволюции клеточная рецепция специализировалась к химическим раздражителям. Однако способность клетки отвечать увеличением функциональной активности на действие громадного числа разнохарактерных по своей природе раздражителей (высокой температуры, давления, увеличения концентрации электролитов и т. д.) указывает на то, что белковые анализаторы клетки не утратили способности к конформационным сдвигам при различных воздействиях.

В норме клетка реагирует на строго ограниченное число сигналов, в результате чего активизируется ограниченное число энзиматических реакций. При действии экстремальных по интенсивности раздражителей активизируются многие рецепторы и ответная реакция клетки генерализуется. Конформационные сдвиги захватывают теперь широкий круг белковых компонентов клетки. Разрывы межмолекулярных связей принимают всеобщий характер. Понятно, что освободившиеся растворимые компоненты в таких условиях приобретают способность к диффузии, а сорбционная активность клетки по отношению к красителям увеличивается.

Вопрос об адаптивном значении выхода веществ при адаптивном синдроме разработан еще слабо. Имеющиеся данные ограничи-

ваются указанием на роль диффузии молочной кислоты и связанного с ней возникновения кислой реакции в окружающей клетку среде. Считается, что кислая среда способствует поддержанию нативности плазматической мембраны (Penttila et al., 1976). В недавно опубликованной статье Е. Н. Мелехова (1985) поднят вопрос об адаптивном значении выхода из поврежденных клеток иона калия. В клетке, указывает Е. Н. Мелехов, существует до 60 ферментов, активность которых зависит от присутствия иона калия: выход иона калия приводит к блокированию их активности.

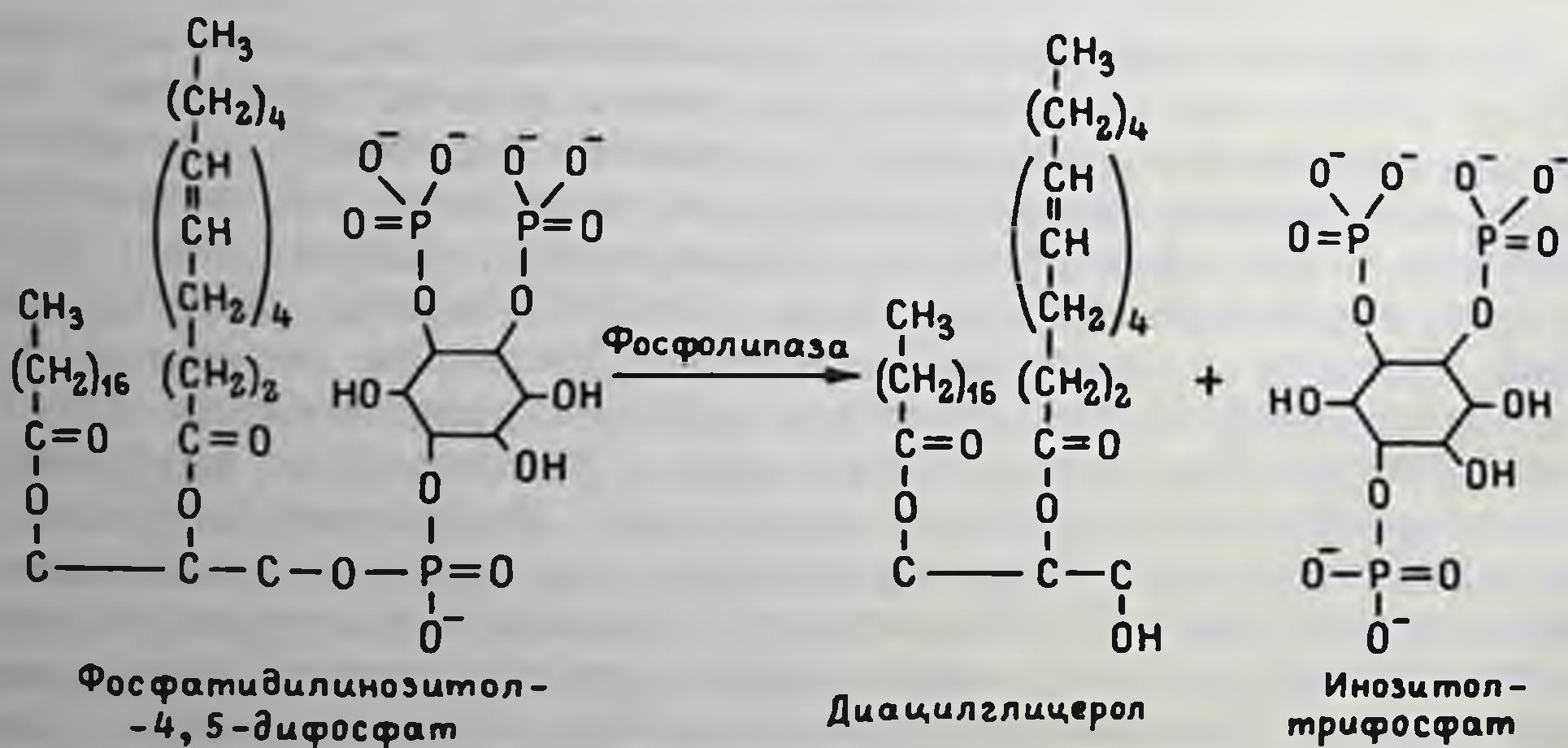
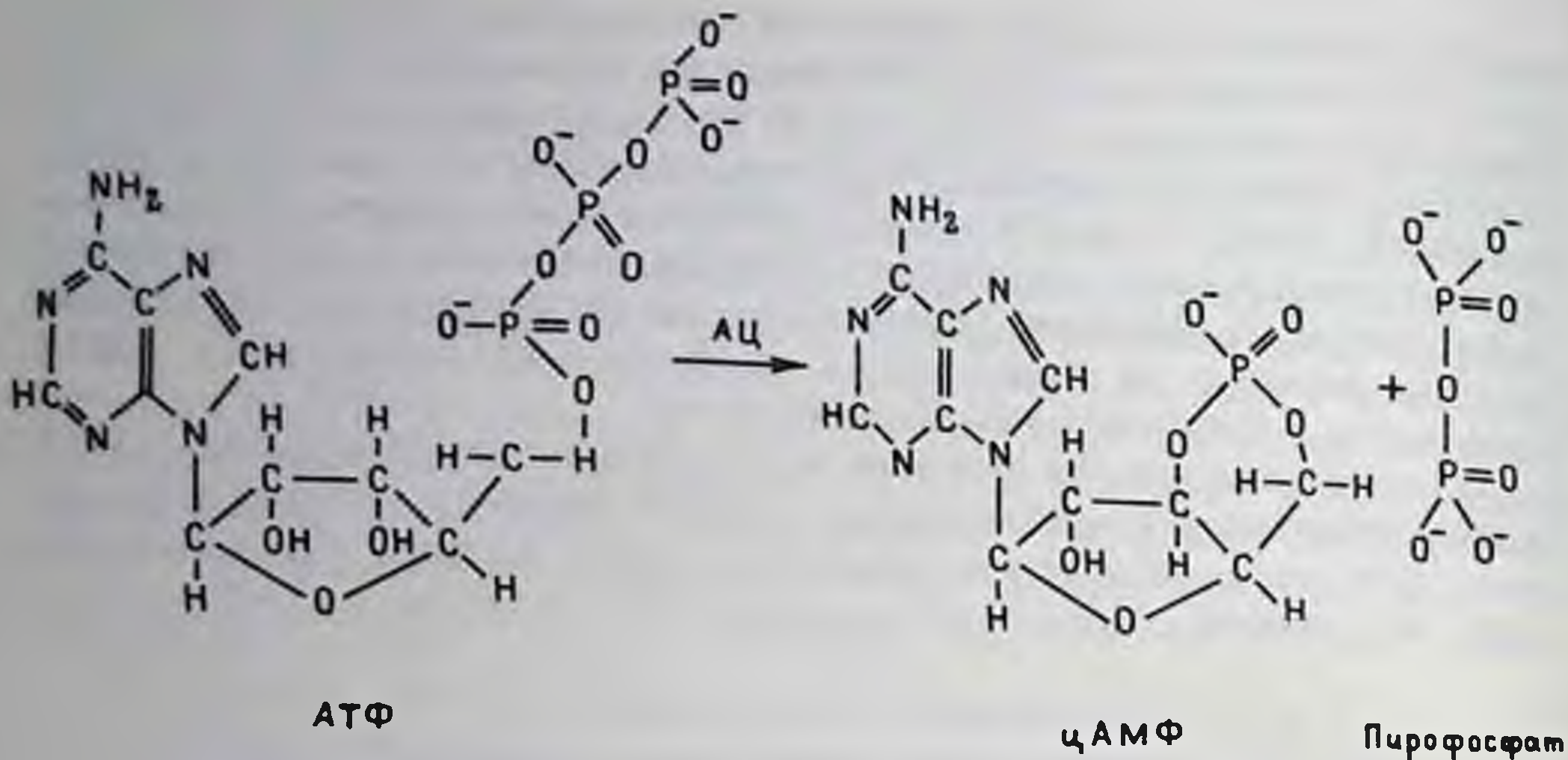
Инактивация многих ферментов, выход ионов калия, белков, ряда низкомолекулярных компонентов характеризуют аварийную ситуацию, при которой клетка лишается ряда важных функций, но сохраняет жизнь.

### ИЗМЕНЕНИЯ МЕТАБОЛИЗМА ПРИ АДАПТАЦИОННОМ СИНДРОМЕ КЛЕТОЧНОЙ СИСТЕМЫ

Изменения метаболизма при адаптационном синдроме, подобно физико-химическим изменениям, однотипны, т. е. неспецифичны. Это находит объяснение в механизме регуляции клеточной активности.

По современным представлениям, в ряде мест плазматической мембраны в нее вмонтированы «блоки коммуникации», состоящие из трех взаимодействующих между собой белков: рецепторного белка, G-белка и фермента-усилителя. Молекулы рецептора находятся на поверхности плазматической мембраны, G-белок встроен в толщу мембраны, фермент-усилитель локализован на внутренней стороне мембраны и обращен к цитоплазме. Раздражитель (сигнал) взаимодействует с молекулой рецептора и индуцирует изменения ее конформации (рис. 14). Это служит сигналом, инициирующим конформационный переход, стыкованный с рецепторным белком молекулы G-белка. В результате активации G-белка он приобретает способность к взаимодействию с гуанозинтрифосфатом (ГТФ). Взаимодействие с ГТФ вызывает в G-белке дополнительное изменение структуры, что является сигналом, провоцирующим изменение конформации фермента-усилителя и приводящим к формированию в нем активного центра. Сейчас известны два фермента-усилителя: аденилатциклаза и фосфолипаза С. Аденилатциклаза катализирует превращение внутриклеточного АТФ в циклический АМФ (цАМФ), причем образуется также неорганический пирофосфат (Браун, Стабровская, 1974; Северин, Кочеткова, 1985).

Фосфолипаза С катализирует расщепление мембранного липида фосфатидилинозитола-4,5-дифосфата на диацилглицерол и инозитолтрифосфат; цАМФ, диацилглицерол и инозитолтрифосфат — относительно низкомолекулярные вещества. Они легко диффундируют и обеспечивают распространение сигнала в клетку. Их принято называть «вторичными мессенджерами». Они стимулируют деятельность многих внутриклеточных ферментов, что приводит к провоцированию разных видов клеточной активности.



Молекулярный механизм стимуляции активности ферментов под влиянием «вторичных мессенджеров» состоит в способности их присоединяться к аллостерическому центру фермента, что индуцирует их конформационные переходы. Чаще же действие «вторичных мессенджеров» опосредовано стимуляцией активности протеинкиназ. Протеинкиназы катализируют реакции фосфорилирования белков, в результате чего последние приобретают энзиматическую активность. В последние годы было обнаружено, что образование в клетках «вторичных мессенджеров» — цАМФ, диацилглицерола и инозитолтрифосфата — сопровождается увеличением концентрации внутриклеточного  $\text{Ca}^{2+}$ . На этом основании было высказано предположение, что «вторичные мессенджеры» (цАМФ и др.) используются в клетке главным образом для активации ионов кальция. Считают даже, что  $\text{Ca}^{2+}$  является основным внутриклеточным «вторичным мессенджером».

В нормальных условиях клетка отвечает на строго ограниченное

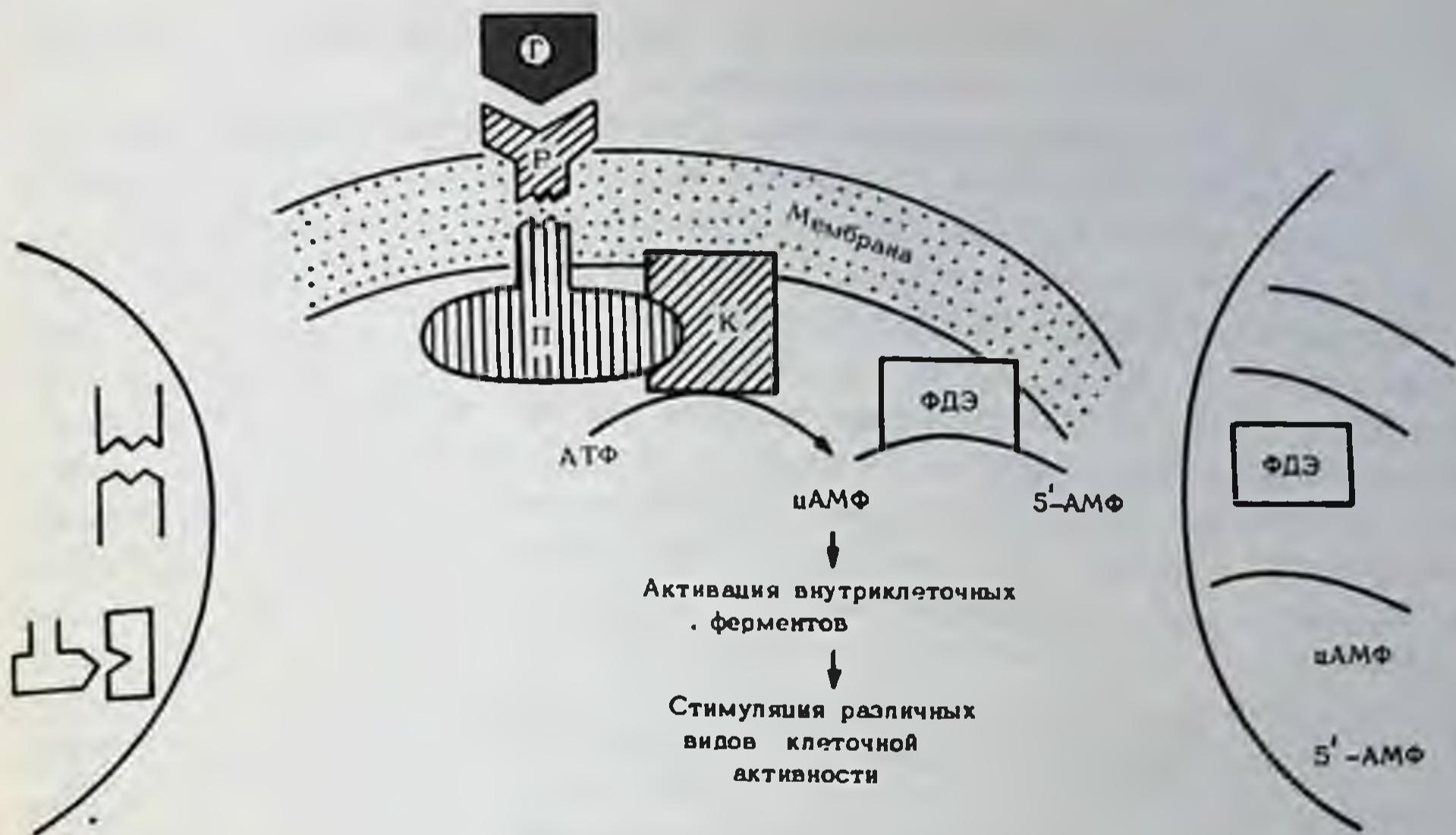


Рис. 14. Схема расположения компонентов, организации и действия аденилатциклазной системы клетки (по: Rodbell, 1980).

Г — гормон; Р — рецепторный белок; П — промежуточный белок; К — каталитический белок; ФДЭ — фосфодиэстераза, цАМФ и 5'-АМФ — циклический и 5'-аденозинмонофосфат.

число сигналов. Взаимодействие сигнал—рецептор высоко специфично. Это дает основание считать плазматическую мембрану клетки с встроенными в нее рецепторами ограничителем многочисленных сигналов окружающей среды и генератором строго определенного сигнала. Изменение уровня «вторичных мессенджеров» вызывает различные конечные эффекты в зависимости от энзиматического профиля клетки: действие адреналина в клетках печени индуцирует распад в них гликогена и увеличение образования глюкозы, а в мышечных клетках — активацию гликолиза. Эффекторами для рецепторного аппарата клетки в нормальных условиях служат химические агенты — гормоны, коэнзимы, метаболиты, простагландины. Адекватный характер этих раздражителей проявляется в исключительно низких порогах их действия. Очевидно, в эволюции рецепторная система клетки развивалась и специализировалась к химическим раздражителям. Известно, однако, что клетка способна отвечать присущей ей функциональной активностью на действие громадного числа различных по своей физико-химической природе раздражителей. Следовательно, белковый анализатор клетки не утратил способности отвечать конформационной перестройкой на различные другие воздействия, хотя и более интенсивные. Это доказывает, что общий план ответной реакции белка на специфические и неспецифические воздействия если не тождествен, то однотипен и отражает уникальную способность белка к обратимым конформационным переходам в ответ на разнообразные по своей природе воздействия. Становится, таким образом, понятным, что ответные реакции клетки на разно-

образные воздействия также могут быть если не тождественными, то однотипными, т. е. неспецифичными.

**Распад фосфорных соединений.** Содержание фосфорных соединений при адаптационном синдроме клеточной системы, вызванном действием раздражителей различной природы, исследовалось в нашей лаборатории (Несветаева, 1960, 1962; Булычев, 1964, 1966, 1967; Стабровская, 1967а, 1967б; Стабровская, Браун, 1969, 1972; Островская, 1969, и др.). Более подробно изучали изменения креатинфосфата (КФ) и аденозинтрифосфата (АТФ) в скелетных мышцах. Контрактуры, возникающие в результате действия на мышцы различных раздражителей, подробно охарактеризованы со стороны физиологической как местное стойкое возбуждение и со стороны субстанциальной — как паранекротическое состояние. Полученные данные позволяют достаточно точно соотносить изменения биохимических показателей с определенными стадиями адаптационного синдрома. Были исследованы изменения содержания КФ и АТФ под влиянием нагрева при разных температурах и продолжительности воздействия, высокого гидростатического давления разной интенсивности и ряда химических агентов (NaCl, HCl, этанола, мочевины, хлоралгидрата и др.) разной концентрации. Полученные результаты (рис. 15—23) свидетельствуют о том, что изменения содержания фосфорных соединений при действии на мышцу различных раздражителей в основных чертах сходны, однотипны, т. е. неспецифичны. Динамика этих изменений зависит от интенсивности и времени воздействия. Во всех случаях особенно резкие изменения в содержании фосфорных соединений приходятся на начальный период действия раздражителя, т. е. на контрактурный период. В период сформировавшейся контрактуры наблюдается сдвиг уровней КФ и АТФ в сторону нормализации, что отражает состояние адаптации к действующему раздражителю. Длительность обеих фаз зависит от интенсивности раздражителя. Следует указать, что при воздействии различных в основном однотипных раздражителей можно отметить и некоторые специфические особенности. В этом отношении особенно выразительны данные, полученные при исследовании адаптационного синдрома, вызванного инкубацией мышц в присутствии мочевины (Стабровская, 1967а, 1967б). Действие на мышцы этого агента при концентрации 0.75 и 1 моль/л приводит к увеличению содержания АТФ в мышцах. Наибольший подъем содержания АТФ наблюдается в фазе формирования контрактуры, т. е. в первые 5—15 мин воздействия. Уровень АТФ в этот период составляет 175—230 % от контроля. При последующей инкубации мышц в растворе мочевины, когда наступает расслабление мышцы и восстановление возбудимости, содержание АТФ несколько снижается — до 150 % от контроля и на этом уровне поддерживается в течение ряда часов. В связи с этими данными представляет интерес отметить, что мочевина при концентрации 1 моль/л, во-первых, ингибирует превращение Г-актина в Ф-форму и белок-белок взаимодействия Ф-актина, а во-вторых, при инкубации в этих условиях мышца сохраняет жизнеспособность в течение более длительного срока, чем в контроле. Вопрос о связи полимеризации

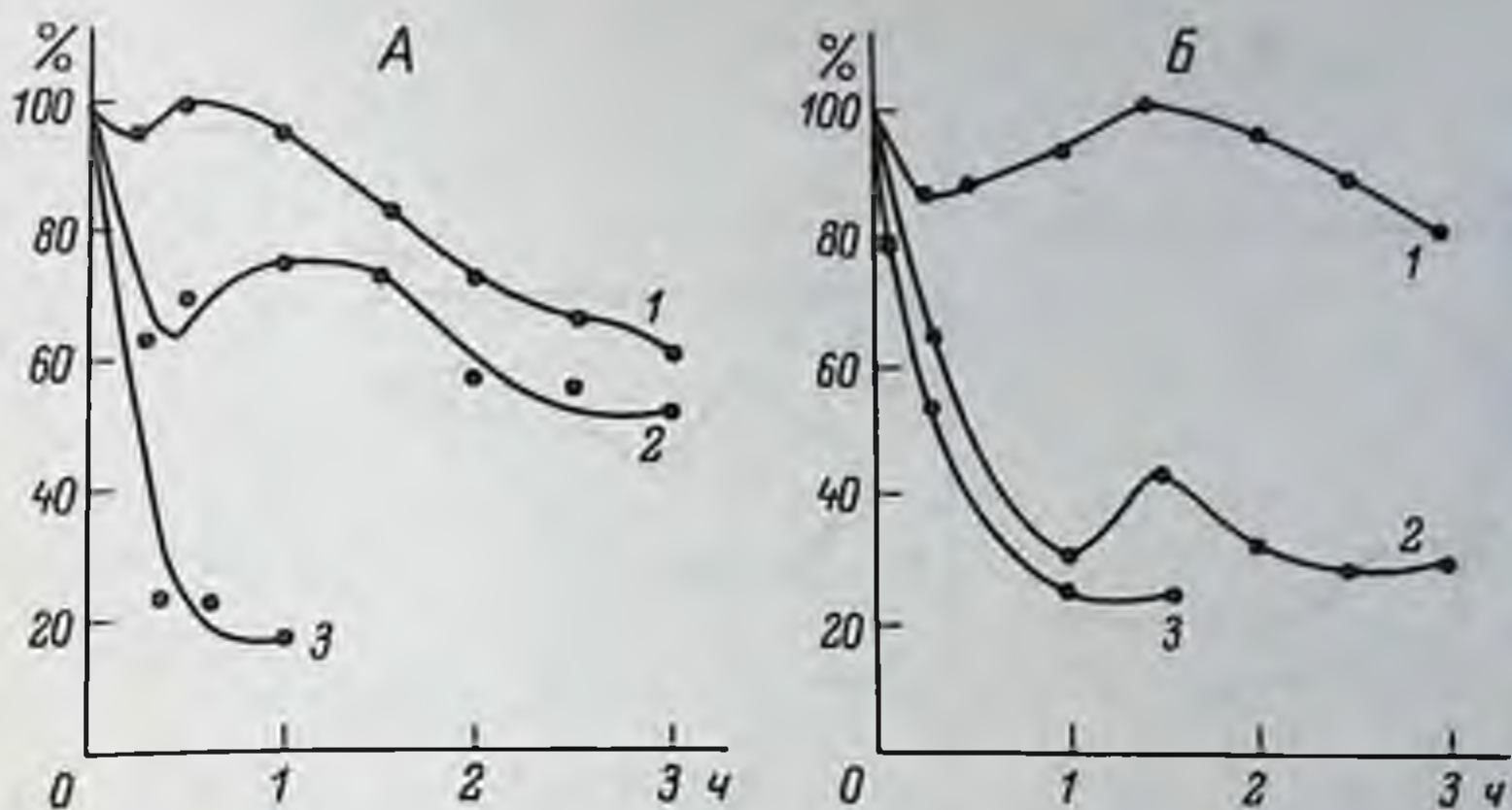


Рис. 15. Изменение содержания креатинфосфата в портняжных мышцах лягушки при действии NaCl (А) и HCl (Б) разной концентрации (по: Несветаева, 1962). А — концентрация NaCl: 1 — 1 %, 2 — 1.25 %, 3 — 2.6 %. Б — концентрация HCl (моль/л): 1 — 0.0025, 2 — 0.005, 3 — 0.01. По оси абсцисс — время действия раздражителя; по оси ординат — содержание вещества, % от контроля.

актина и устойчивости клеток обсуждается в четвертой части. Стабилизация метаболизма при продолжающемся действии повреждающего фактора и связанное с этим реактивное повышение устойчивости (адаптация) клеточной системы выражены при воздействии мочевины весьма отчетливо.

В результате распада фосфорных соединений происходит значительное увеличение содержания в цитоплазме и ядре неорганического фосфата ( $\Phi_{н}$ ), последний не индифферентен. Он является стимулято-

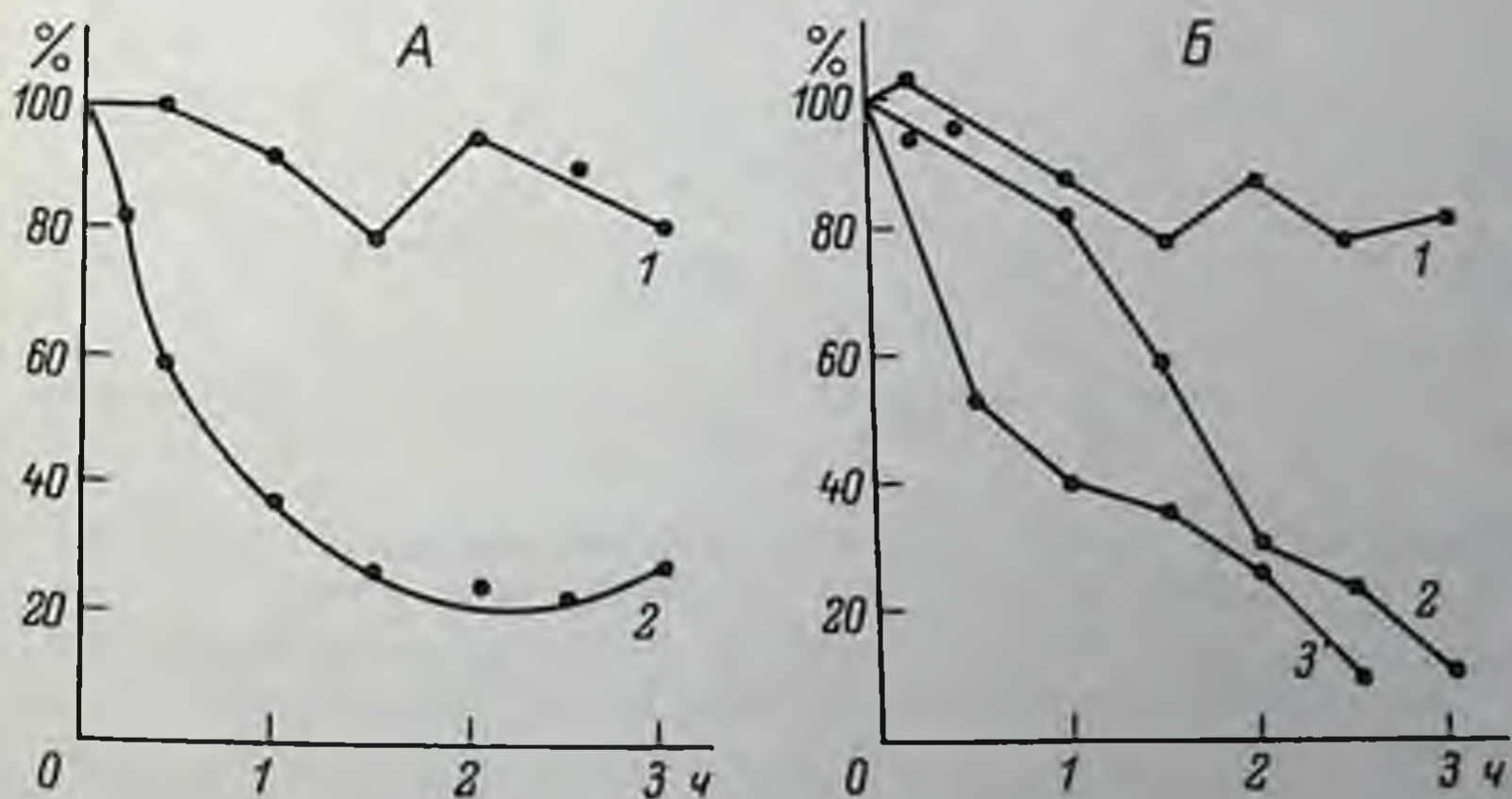


Рис. 16. Изменение содержания креатинфосфата в портняжных мышцах лягушки при действии этанола (А) и хлоралгидрата (Б) (по: Несветаева, 1962). А — концентрация этанола: 1 — 4.5 %, 2 — 9 %. Б — концентрация хлоралгидрата: 1 — 0.05 %, 2 — 0.50 %, 3 — 1 %. На осях — то же, что на рис. 15.

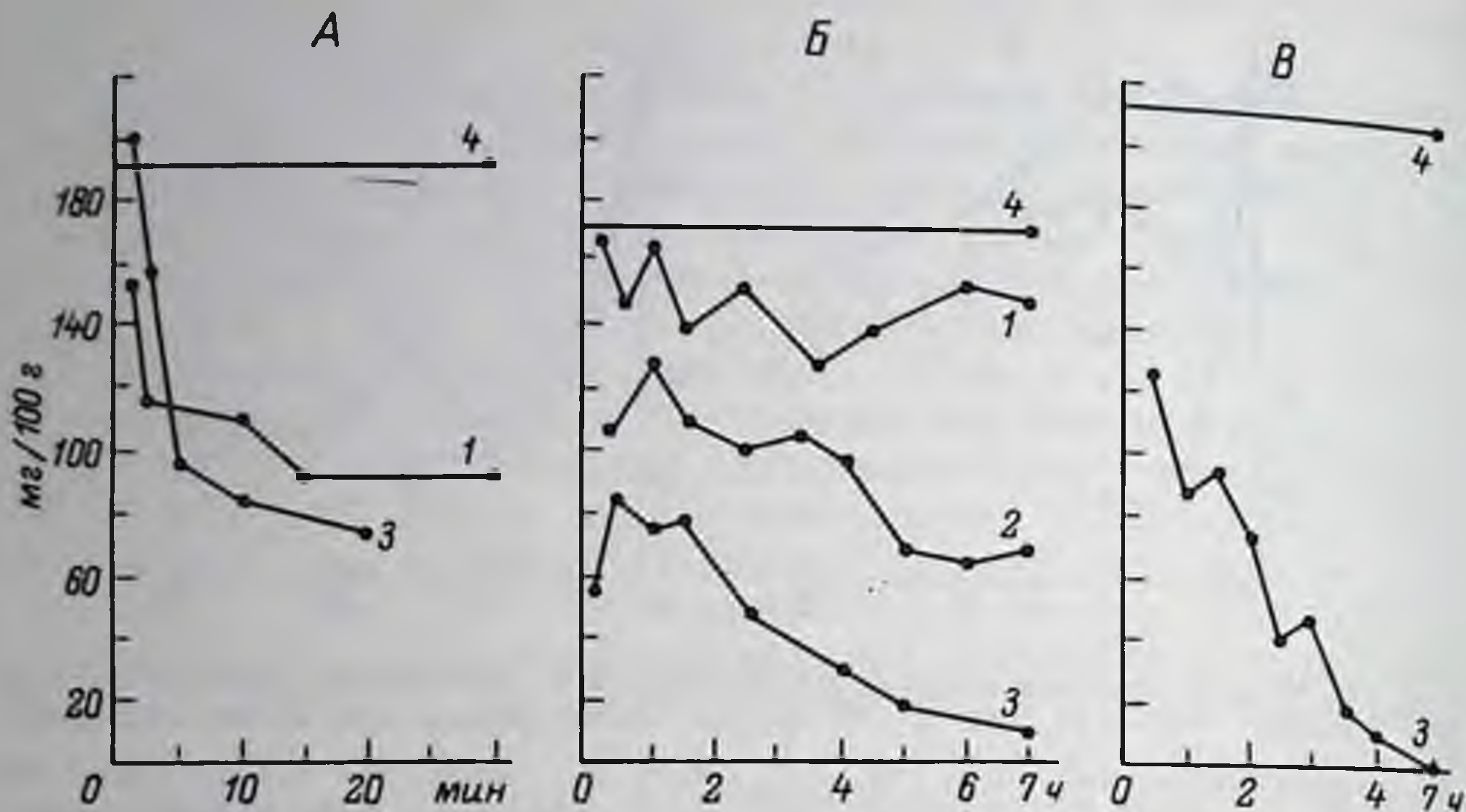


Рис. 17. Содержание креатинфосфата в портняжных мышцах лягушки в покое и при контрактуре, вызванной мочевиной (по: Стабровская, 19676).

А и Б — осенне-зимний период; В — весенне-летний период. 1—3 — концентрация мочевины (моль/л): 1 — 0.5, 2 — 0.75, 3 — 1.0; 4 — раствор Рингера. По оси абсцисс — время переживания мышц, по оси ординат — количество креатинфосфата (на 100 г сырой массы мышц).

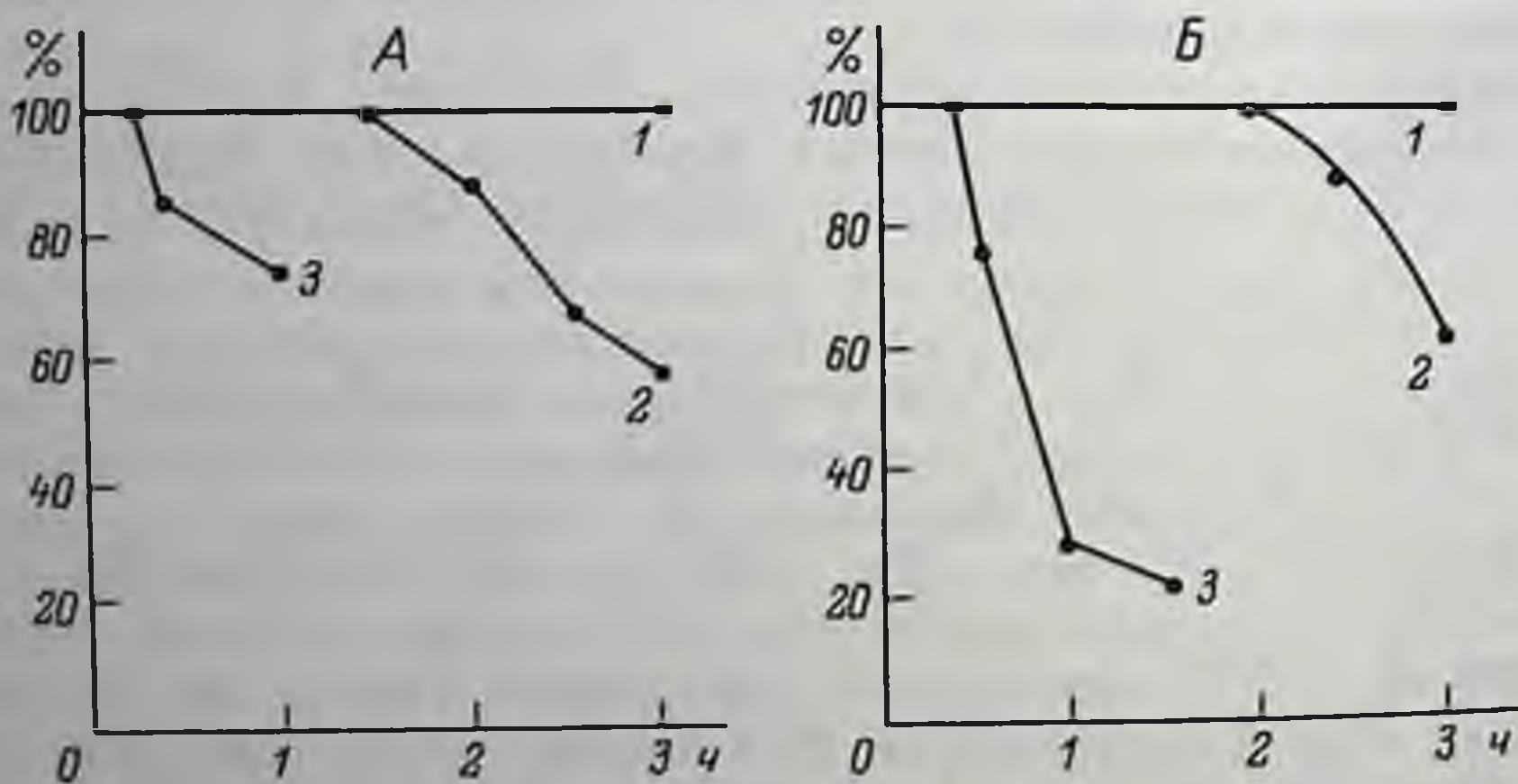


Рис. 18. Изменение содержания АТФ в портняжных мышцах лягушки при действии NaCl (А) и HCl (Б) (по: Несветаева, 1962).

А — концентрация NaCl: 1 — 1 %, 2 — 1.25 %, 3 — 2.6 %. Б — концентрация HCl (моль/л): 1 — 0.0025, 2 — 0.005, 3 — 0.01. На осях — то же, что на рис. 15.



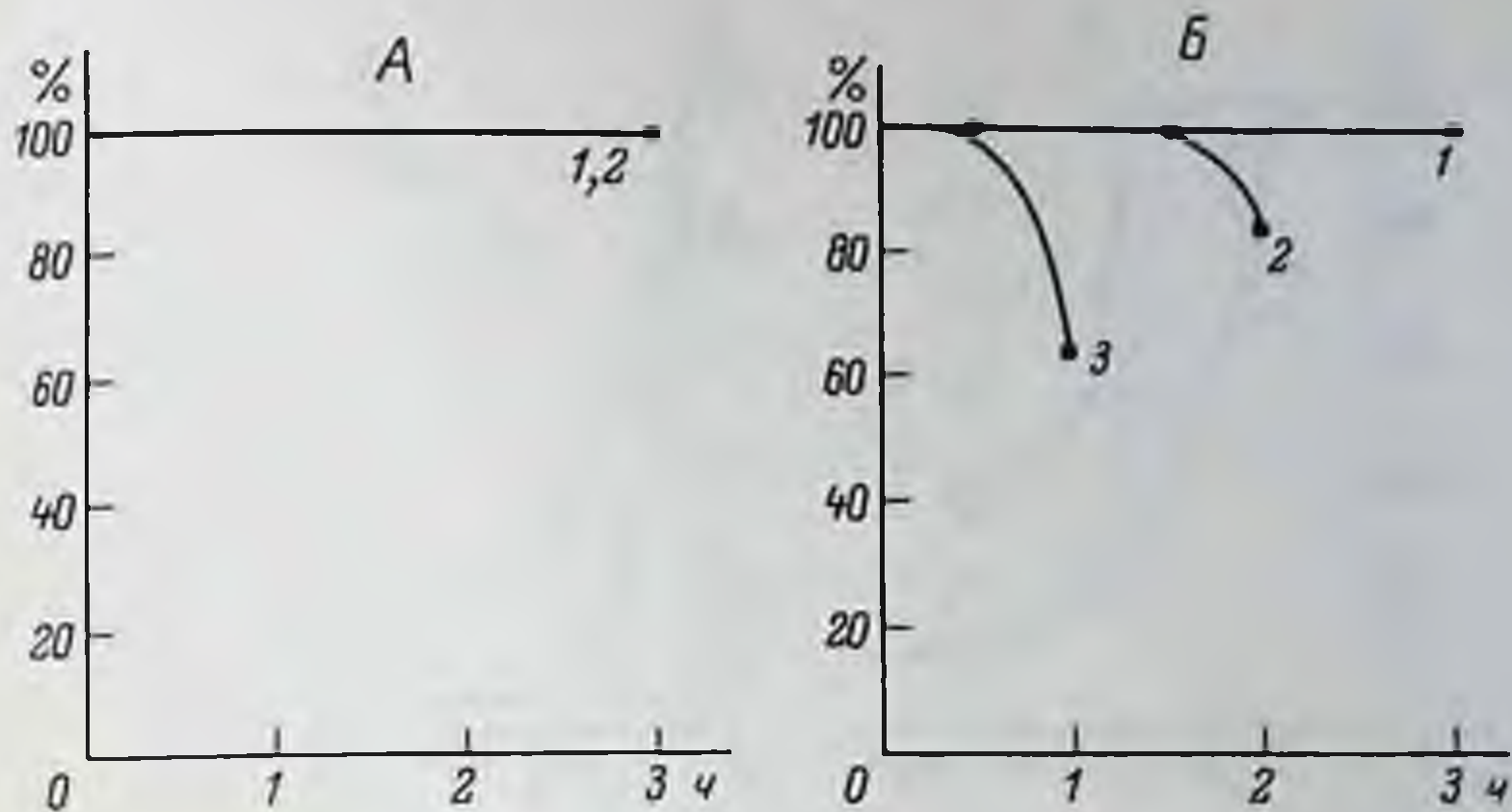


Рис. 19. Изменение содержания АТФ в портняжных мышцах лягушки при действии этанола (А) и хлоралгидрата (Б) (по: Несветаева, 1962).

А — концентрация этанола: 1 — 4.5 %, 2 — 9 %. Б — концентрация хлоралгидрата: 1 — 0.05 %, 2 — 0.5 %, 3 — 1 %. На осях — то же, что на рис. 15.

ром многих внутриклеточных реакций. Существует взгляд, что  $\Phi_n$  принадлежит ключевая роль в регуляции энергетического обмена клетки в целом (Wu, Racker, 1959). В норме клетка прочно удерживает свой  $\Phi_n$ . При адаптационном синдроме выход веществ из клетки в окружающую среду является одним из ранних и постоянных показателей. Среди диффундирующих из клетки веществ на одном из первых мест стоит  $\Phi_n$ . В результате потери  $\Phi_n$  содержание его в цитоплазме и ядре снижается. Уменьшение пула  $\Phi_n$  оказывает глубокое влияние на активность ряда звеньев обмена веществ. В первую очередь это сказывается на метаболической активности митохондрий.

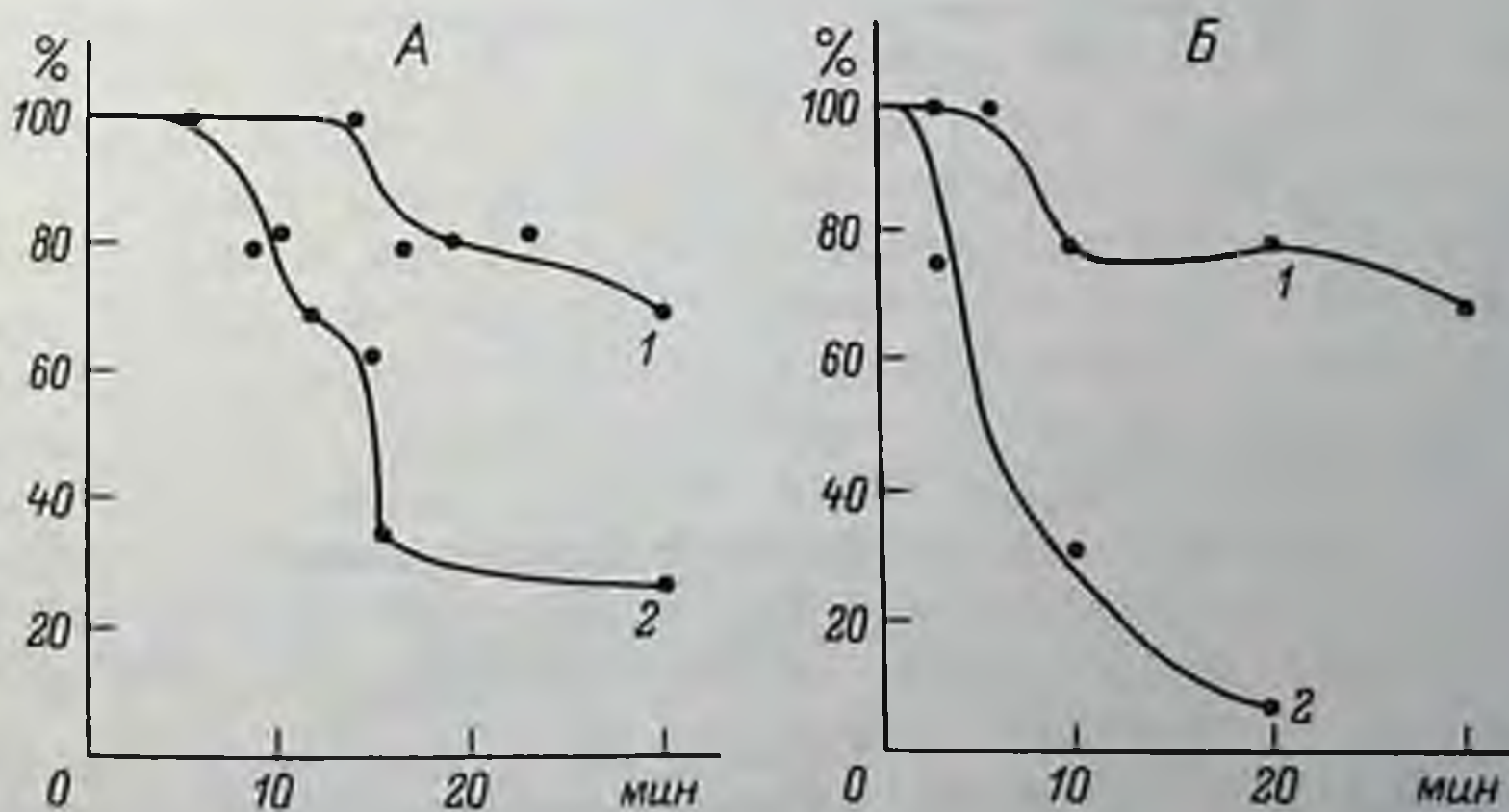


Рис. 20. Влияние температуры на содержание АТФ (1) и КФ (2) в портняжных мышцах лягушки (по: Несветаева, 1960).

А — 36 °С; Б — 38 °С. По оси абсцисс — время действия температуры; по оси ординат — содержание АТФ и КФ, % от контроля.

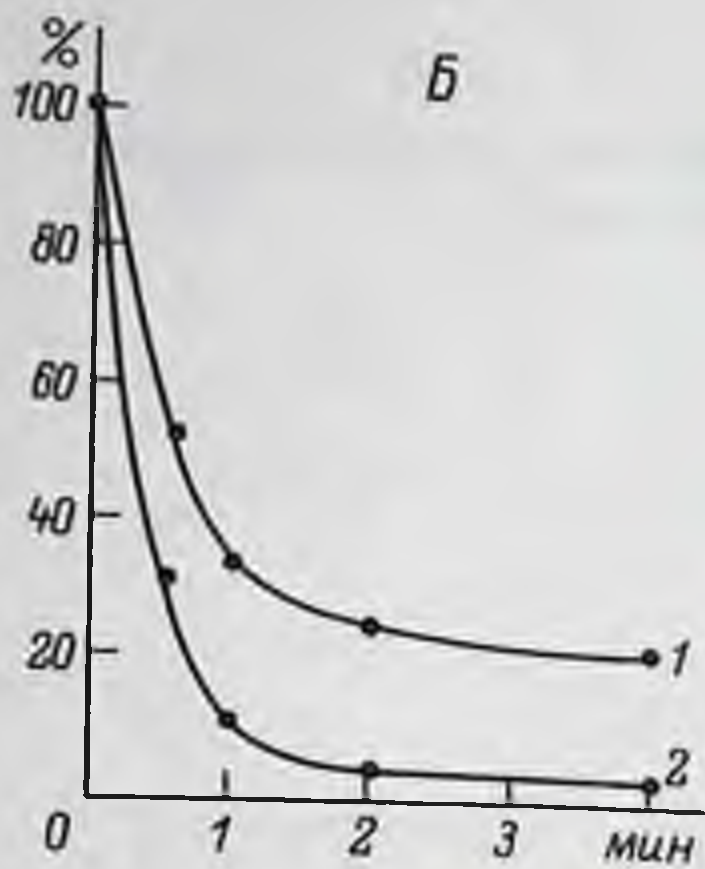
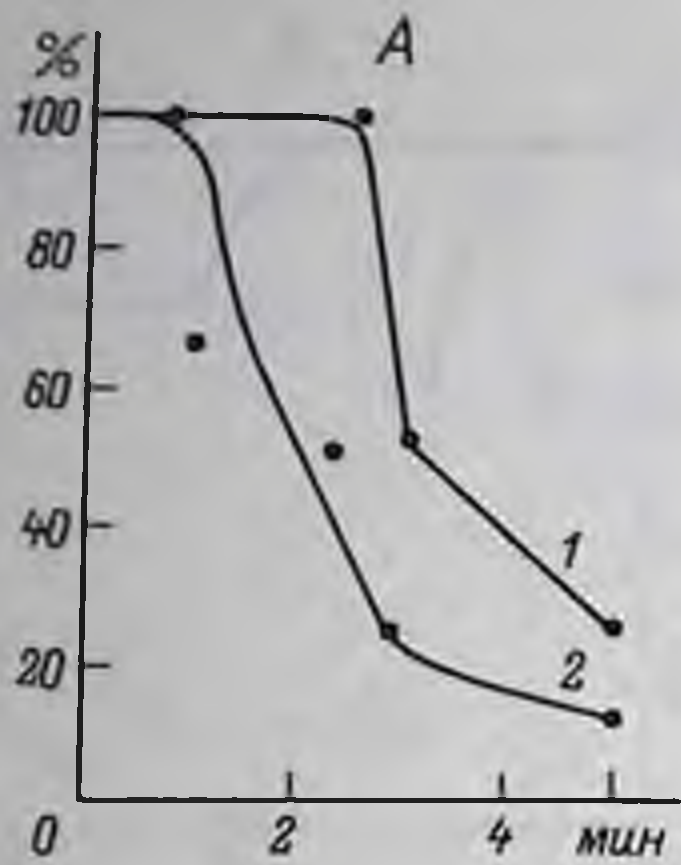


Рис. 21. Влияние температуры на содержание АТФ (1) и КФ (2) в портняжных мышцах лягушки (по: Несветаева, 1960).

А — 40 °С; Б — 42 °С. На осях — то же, что на рис. 20.

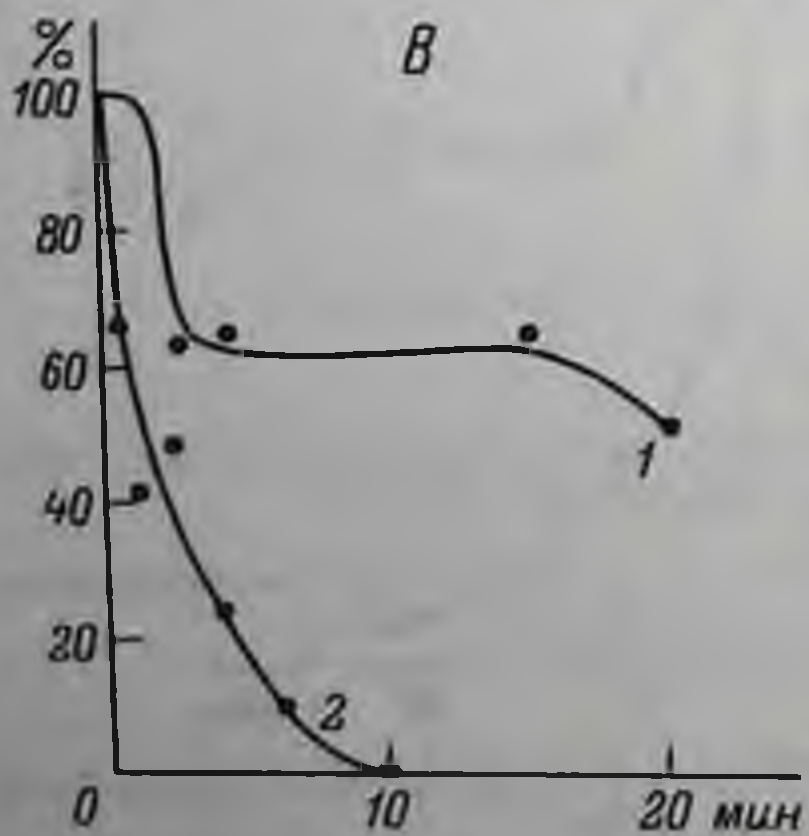
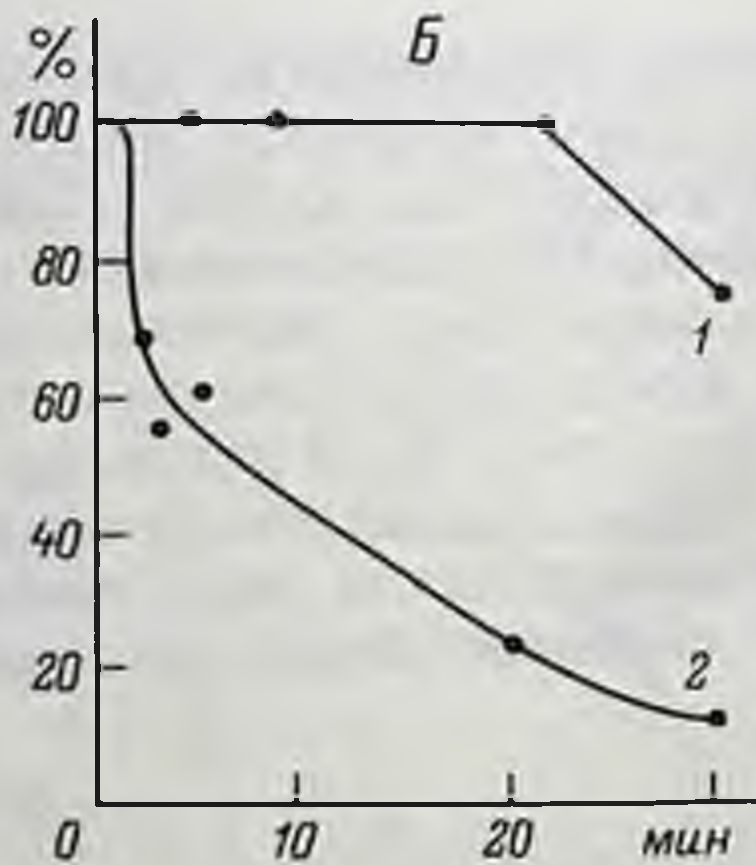
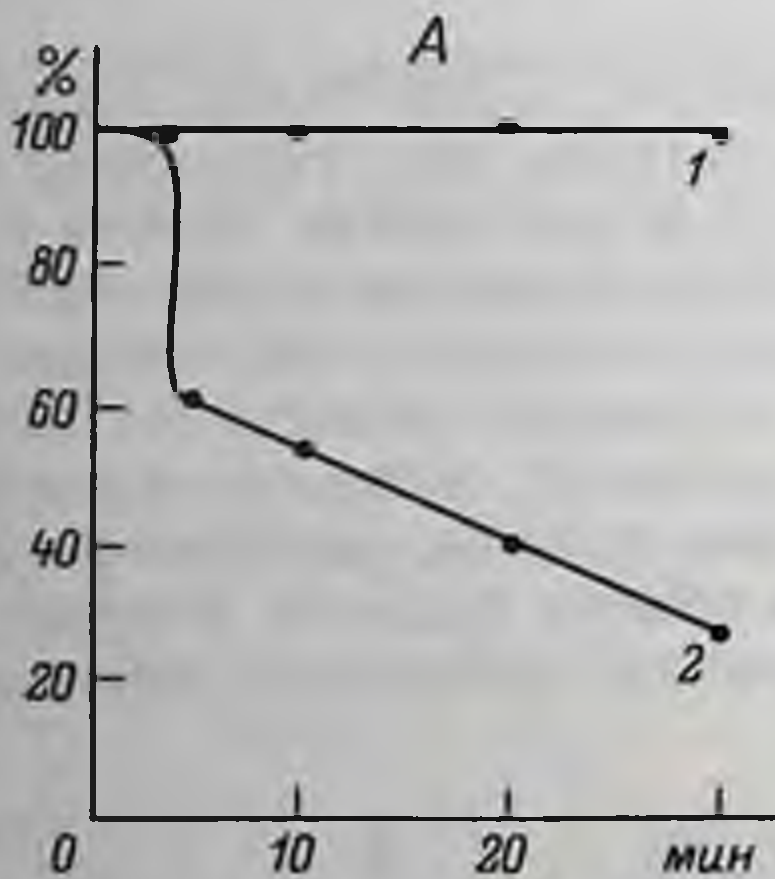


Рис. 22. Влияние давления на содержание АТФ (1) и КФ (2) в портняжных мышцах лягушки (по: Несветаева, 1960).

А — 200 атм; Б — 400 атм; В — 600 атм. По оси абсцисс — время действия давления; по оси ординат — содержание АТФ и КФ, % от контроля.

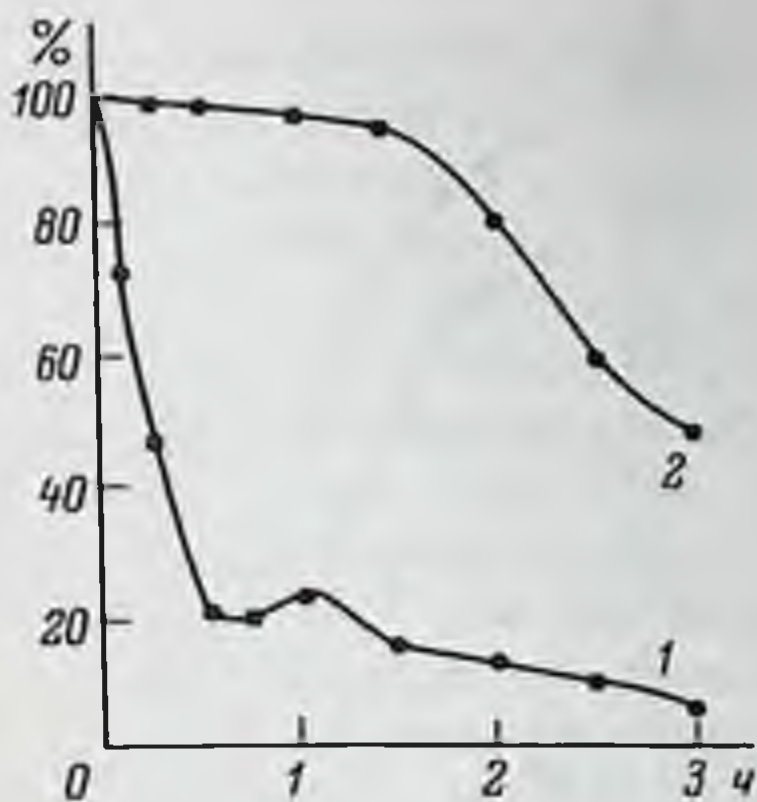


Рис. 23. Влияние 1.25 %-ного хлористого натрия на содержание АТФ (1) и КФ (2) (по: Несветаева, 1960).

По оси абсцисс — время; по оси ординат — выход вещества, % от контроля.

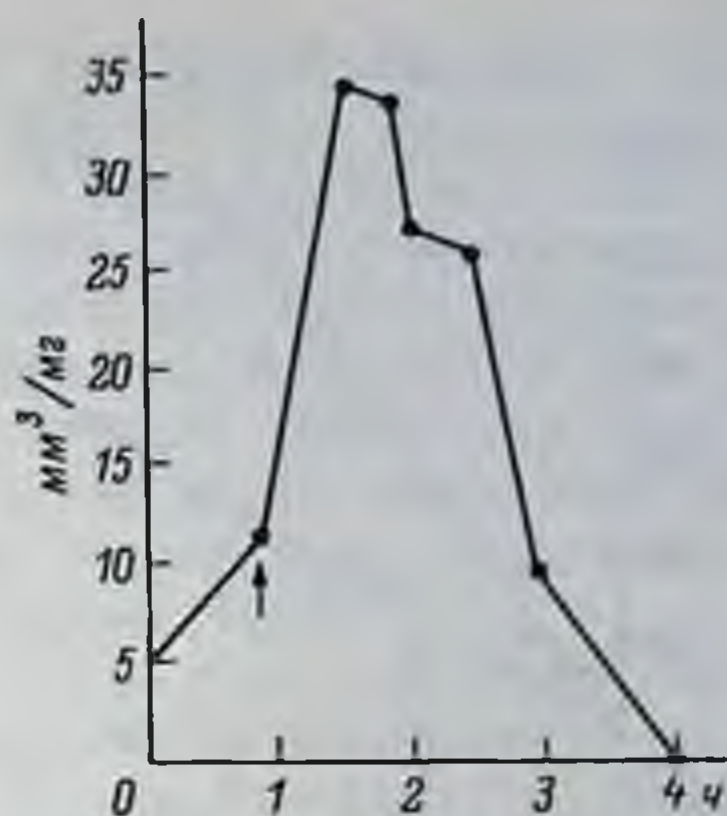


Рис. 24. Изменение дыхания печени под влиянием хинина (по: Браун и др., 1967).

По оси абсцисс — время; по оси ординат — потребление кислорода (на 1 мг сухой ткани). Стрелкой отмечено начало действия хинина (0.6 ммоль/л).

В свое время Чанс и Вильямс (Chance, Williams, 1955) указали на зависимость метаболических и структурных состояний митохондрий от обеспечения их необходимыми субстратами.

Дыхание, т. е. потребление кислорода и выделение углекислоты, со времен Лавуазье считается основным физиологическим показателем полноценности живой системы. Увеличение уровня дыхания является признаком стимуляции обмена веществ, всегда сопровождает процесс возбуждения и идет параллельно с увеличением жизненной активности. Усиленное потребление кислорода клетками и тканями при стимуляции функциональной деятельности было обнаружено у яиц морского ежа при оплодотворении, в мышцах при их сокращении, в срезах головного мозга при электрической стимуляции, в нервах при прохождении импульса. Повреждение клеток и тканей также ведет к активированию дыхания. При измельчении мышц их дыхание возрастает примерно в 10 раз. На рис. 24 представлено поглощение кислорода и выделение углекислоты срезами печени при их переживании. Почти сразу же после действия раздражителя (хинина) дыхание резко увеличивается. Подобный результат получен и на других объектах при действии разнообразных раздражителей. Увеличение дыхания наблюдается при парабриозе и паранекрозе мышечной ткани (Кондрашова, 1954; Несветаева, 1960, 1962). Поглощение мышцами кислорода при контрактуре превосходит нормальный уровень дыхания более чем в 3 раза (рис. 25). В ряде работ исследователи стремились выработать критерии для оценки качества изолированных клеток. При повреждении поверхностной мембраны дыхательная активность клеток снижается. Существенную информацию для характеристики состояния

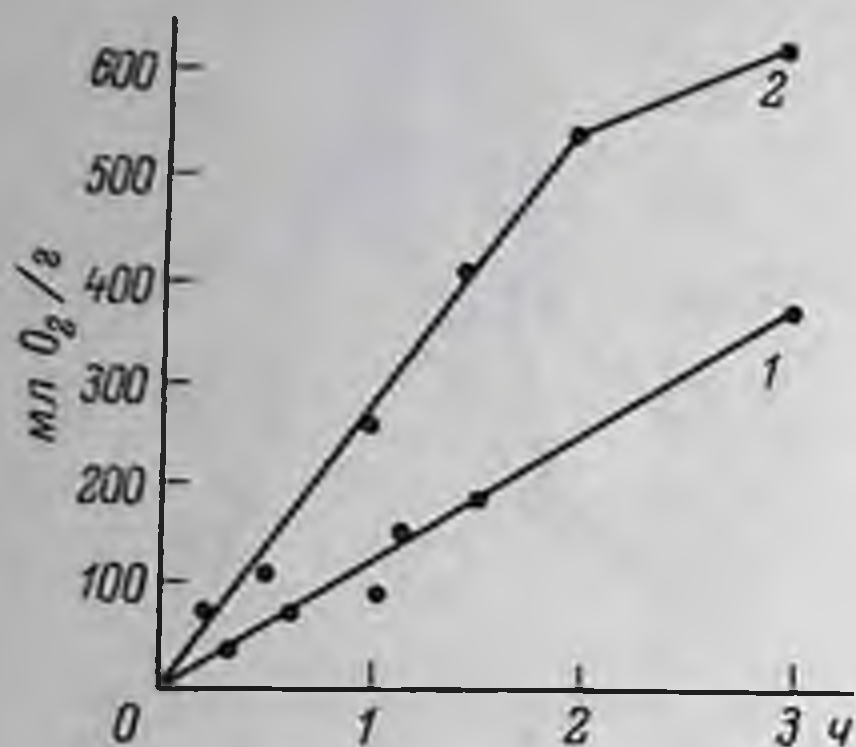


Рис. 25. Влияние 1.25 %-ного хлористого натрия на потребление кислорода мышцами (по: Несветаева, 1960).

1 — контроль; 2 — опыт. По оси абсцисс — время; по оси ординат — потребление кислорода (на 1 г влажной ткани).

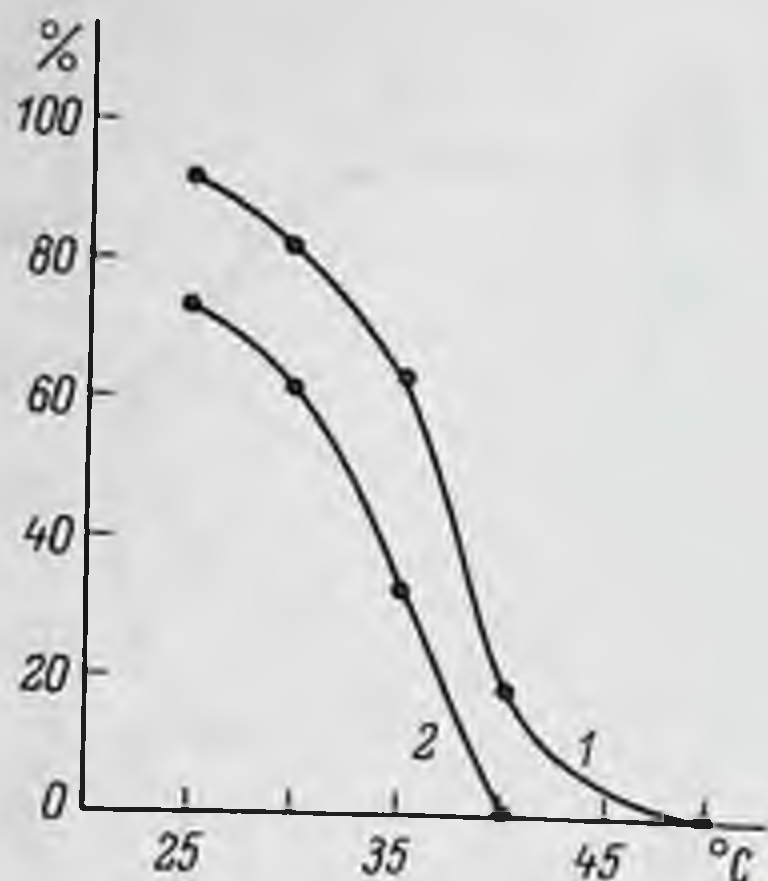


Рис. 26. Влияние 15-минутного воздействия повышенной температуры на дыхание и фосфорилирование изолированных митохондрий печени крысы (по: Булычев, Машанский, 1964).

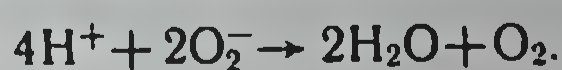
1 — потребление кислорода, 2 — эс-терификация неорганического фосфата (% от контроля).

клеток представляют данные об изменении дыхания при добавлении к клеточной суспензии сукцината. Сукцинат практически не проникает через неповрежденную плазматическую мембрану и, напротив, легко диффундирует через поврежденные мембраны. Поэтому при добавлении сукцината дыхание интактной взвеси не изменяется (или изменяется незначительно), тогда как взвесь с большим процентом поврежденных клеток обнаруживает увеличение дыхания вдвое и втрое (Науек, Tipton, 1966; Hems et al., 1968; Jezyk, Liberti, 1969). Пробу с сукцинатом для характеристики состояния клеток при адаптационном синдроме до сих пор не применяли.

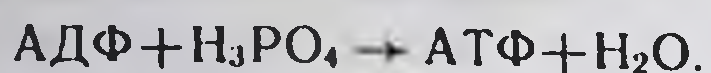
После того как было установлено, что клеточное дыхание сосредоточено в митохондриях, исследования его стимуляции при повреждении и возбуждении стали проводить на субклеточном уровне. Большинство авторов рассматривают явление стимуляции дыхания как результат увеличения концентрации субстратов окисления. Однако ряд наблюдений показывает, что причина этого явления, вероятно, более сложная. Помимо увеличения концентрации метаболитов, может играть определенную роль усиление каталитической функции дыхательных ферментов в результате их конфигурационных изменений. Ряд данных свидетельствует о том, что кратковременное воздействие на митохондрии различных факторов, в частности мочевины, солей, этанола, приводит к стимуляции дыхательной активности (Slater, Cleland, 1953; Браун, Несветаева, 1967). Известна работа, в которой пропускание электрического тока через взвесь митохондрий мозга вызывало стимуляцию дыхания на 300 % (Abood, 1954).

Устойчивость функции дыхания митохондрий невелика. При действии различных агентов (нагрева, повышенного гидростатического давления, этанола и др.) в условиях полной системы, т. е. в присутствии избытка субстратов и кофакторов, дыхание митохондрий снижается. В опытах по изучению влияния нагрева на изолированные митохондрии печени установлено (рис. 26), что начиная с 25 °С наблюдается заметное снижение дыхательной активности, при 35 °С она снижается вдвое, при 40 °С дыхание почти полностью отсутствует, причем параллельно происходит нарушение внутренней структуры митохондрий (Булычев, Машанский, 1963).

**Окислительное фосфорилирование.** Как известно, одной количественной стороны дыхания недостаточно для заключения о его функциональной полноценности. В ряде случаев неизменное или стимулированное дыхание может сопровождаться глубокими качественными его нарушениями. Дыхание полноценно, поскольку оно сопряжено с фосфорилированием АДФ, т. е. с синтезом АТФ. Фосфорилирование, связанное с дыханием, протекает в митохондриях. Синтез АТФ и его потребление в клетке территориально разделены. Первый в норме сосредоточен главным образом в митохондриях, второй — в немитохондриальных компартментах. Дыхательное фосфорилирование оказывается высоко лабильной, легко повреждаемой системой. Дыхание более устойчиво к повреждающим воздействиям, чем фосфорилирование: оно продолжается, может даже усиливаться, а процесс фосфорилирования ослабляется или полностью парализуется. По современным представлениям, субстраты окисления — конечные продукты гликолиза — переносятся в митохондрии, где они разрушаются. Образующийся  $\text{CO}_2$  удаляется в окружающую среду. Переносчик транспортирует атомы водорода в митохондриальную мембрану, где они окисляются. Электроны и протоны переправляются переносчиками в противоположные стороны: электроны — на внутреннюю сторону мембраны, где они соединяются с кислородом ( $e^- + \text{O}_2 \rightarrow \text{O}_2^-$ ); протоны транспортируются на наружную сторону мембраны. В результате внутри митохондрий увеличивается концентрация анионов, а на мембране снаружи накапливаются протоны, так как мембрана для них плохо проницаема. Таким образом, мембрана снаружи заряжается положительно, а изнутри отрицательно. По мере увеличения концентрации противоположно заряженных частиц по обеим сторонам мембраны между ними растет разность потенциалов. По предположению Митчела, в некоторых участках мембраны в нее вмонтированы молекулы АТФ-синтетазы, в одном из спиральных участков полипептидной цепи которой имеется канал, через который могут пройти протоны. Это происходит, однако, в том случае, когда разность потенциалов на мембране достигнет некоторого критического уровня (около 200 мВ). По достижении этой величины силой электрического поля протоны проталкиваются через каналы АТФ-синтетазы, переходят на внутреннюю сторону мембраны, где взаимодействуют с кислородом:



АТФ-синтетаза катализирует превращение АДФ в АТФ:



Полноценная функциональная активность митохондрий зависит от многих условий. Для ее обеспечения в первую очередь необходимо наличие неповрежденных внутримитохондриальных мембран. Нарушение сопряжения дыхания с фосфорилированием характерно для адаптационного синдрома. Оно было установлено при исследовании действия на клетку большого числа факторов (химических агентов, гипотонии, механических раздражителей, лучистой энергии, высокого гидростатического давления и др.). Некоторые относящиеся сюда данные сведены в табл. 6, из которой видно, что в числе активных ингибиторов окислительного фосфорилирования фигурирует ряд лекарственных веществ, некоторые витальные красители, гормоны и антибиотики. Многочисленные исследования были посвящены изучению разобщающего действия химических соединений, среди которых обнаружены вещества, вызывающие разобщающий эффект в ничтожных концентрациях (2,4-динитрофенол, азид натрия, тироксин, флоридзин, пчелиный и змеиный яды и т. д.). Все эти вещества являются слабыми кислотами (донорами протонов). Все они способны растворяться в липидах. Такие вещества действуют как переносчики протонов: по одну сторону мембраны они отдают протон, по другую присоединяют. Как переносчики протонов они уравнивают концентрации протонов по обеим сторонам мембраны и, таким образом, мешают созданию между обеими сторонами мембраны разности потенциалов, необходимой для проталкивания протонов через канал АТФ-синтетазы. В результате синтез АТФ осуществляться не может. До сих пор не выяснено, связано ли нарушение сопряжения дыхания с фосфорилированием при адаптационном синдроме с нарушением целостности митохондриальной мембраны или с недостаточным обеспечением митохондрий необходимыми компонентами, в первую очередь фосфатом.

**Аэробный гликолиз**, т. е. неполный эффект Пастера, является следующим постоянным признаком неспецифического адаптационного синдрома. Уровень гликолиза при этом состоянии достигает значительной величины. Содержание молочной кислоты при напряженной мышечной работе составляет 140—250 мг на 100 г сырой массы мышц, что превосходит нормальное содержание этого метаболита более чем на 2000 %. На рис. 27—29 приводятся данные об интенсивности гликолиза при адаптационном синдроме. Видно, что количество молочной кислоты нарастает на первом этапе действия повреждающего агента. В последующие фазы оно уменьшается и снова резко возрастает в предсмертный период. Наличие аэробного гликолиза установлено при адаптационном синдроме, вызванном различного типа агентами у различного типа клеток. Образование и накопление молочной кислоты приводят к сдвигу рН, иногда значительному (до 1—2 единиц).

Кислая реакция является характерным признаком адаптационного синдрома и обуславливает ряд свойств протоплазмы. С нею,

## Окислительное фосфорилирование при неспецифическом адаптационном синдроме клеточной системы

Агент	Вызываемый эффект	Литературный источник
$Tl^{3+}$	Разобщение окислительного фосфорилирования	Hollunger, 1960
Соли ванадиевой кислоты	То же	Hatchcock et al., 1966
Кремневая кислота	»	Дьяковска, 1964
Азид натрия	»	Loomis, Lipman, 1949
Четыреххлористый углерод	»	Rechnagel, Lombardy, 1961
Аминазин	»	Димитров, Колотилова, 1967
Салициловая кислота	»	Jeffrey, Smith, 1959
Дикумарол	»	Van Dam, 1967
Диэтил-красный, бриллиант-крезил-голубой	»	Judaha, Williams-Ashman, 1949
Вазопрессин	»	Kuriaki, Baba, 1959
Билирубин	»	Zetterström, Ernster, 1956
Дифтерийный токсин	»	Ниселовская, 1960
Стафилококковый токсин	»	Ниселовская, Падерина, 1963
$Ca^{2+}$	Разобщение окислительного фосфорилирования; усиление дыхания	Slater, Cleland, 1953
2,4-динитрофенол	То же	Chappel, Greville, 1959
Этиловый спирт	»	Christopherson, 1964
Тироксин	»	Tapley, Cooper, 1956
Витамин А	»	Этингоф, Щуколюков, 1963
Яд кобры	»	Aravindakshan, Braganca, 1959
$Cd^{2+}$	Разобщение окислительного фосфорилирования; угнетение дыхания	Jacobs et al., 1957
Тиобарбитурат	То же	Aldridge, Parker, 1960
Прогестерон	»	Wade, Jones, 1956
Гормон роста	»	Melhuish, Greenbaum, 1961
Стильбэстрол	»	Salmony, 1956
Хлоралгидрат	Угнетение фосфорилирования	Цейтлин, 1955
Грамицидин	То же	Borgstrom et al., 1955
Метиленовый синий	»	Siekevitz et al., 1957
Строфантин К	I фаза — усиление фосфорилирования; II фаза — угнетение фосфорилирования	Кондрашева, 1963

в частности, связана активация внутриклеточных гидролитических ферментов, оптимум действия которых расположен в кислой зоне (катепсины, кислая фосфатаза, амилаза и др.). Молочная кислота диффундирует из клетки в наружную среду, и в пространстве, окружающем клетку, поддерживается кислая реакция. Есть указания, что эти условия оказывают благоприятное влияние на структуру и функ-

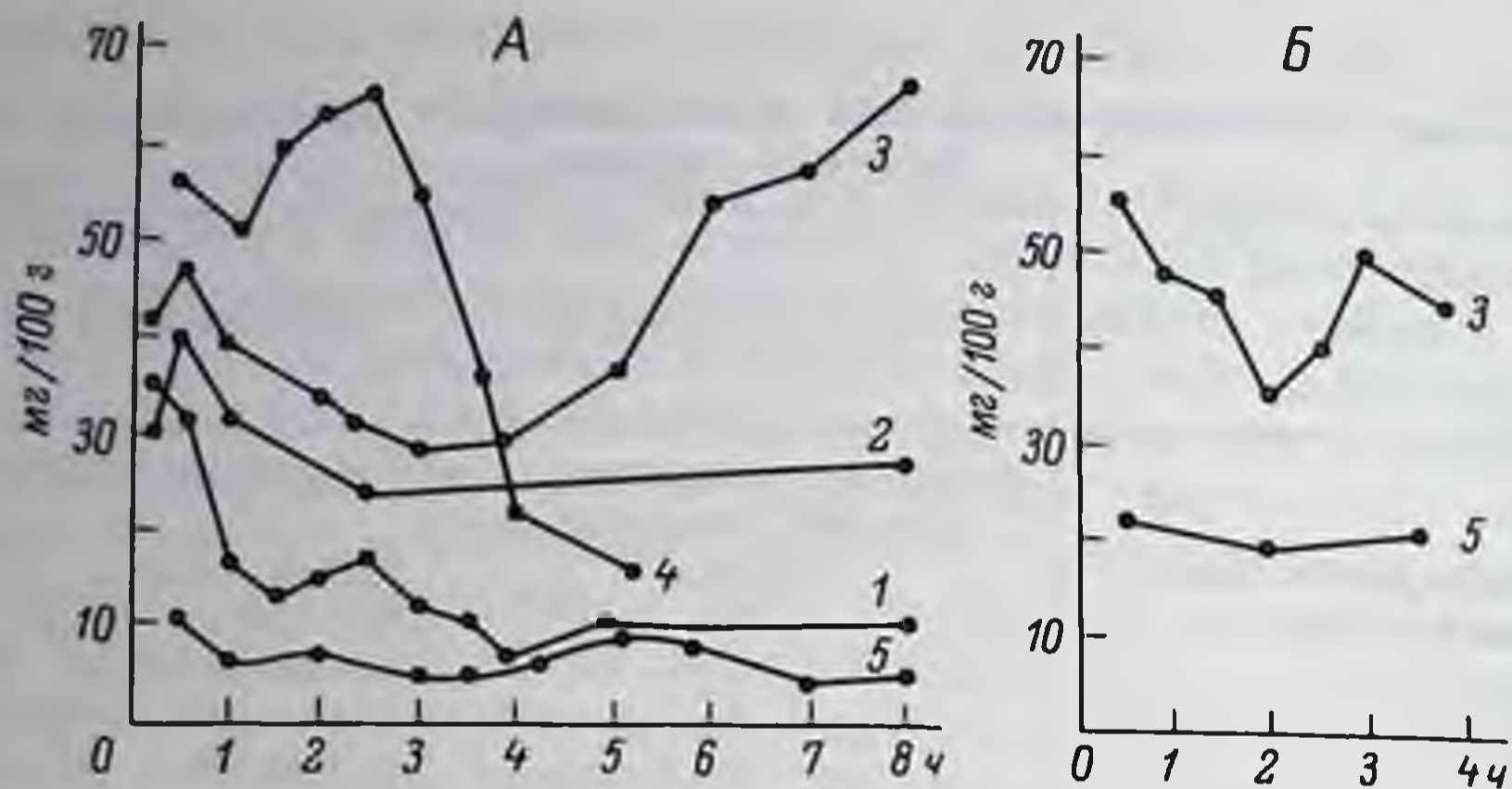


Рис. 27. Выход молочной кислоты из портняжных мышц лягушки в покое и при контрактуре, вызванной мочевиной (по: Стабровская, 19676).

А — в осенне-зимний период; Б — в весенне-летний период. 1—4 — концентрация мочевины (моль/л): 1 — 0.5, 2 — 0.75, 3 — 1.0, 4 — 1.5; 5 — раствор Рингера. По оси абсцисс — время переживания мышц; по оси ординат — количество молочной кислоты (на 100 г сырой массы мышц).

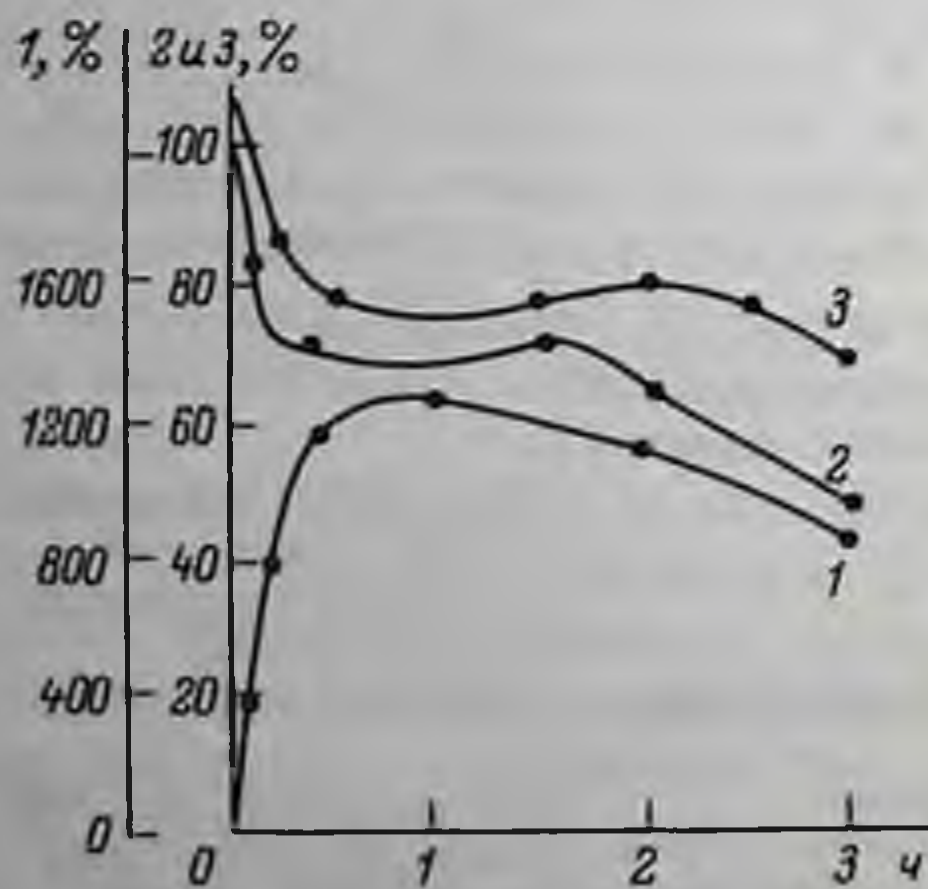


Рис. 28. Влияние 1.25 %-ного хлористого натрия на содержание молочной кислоты (1), гликогена (2), восстанавливающих веществ (3) в мышцах (по: Несветаева, 1960).

На осях — то же, что на рис. 23.

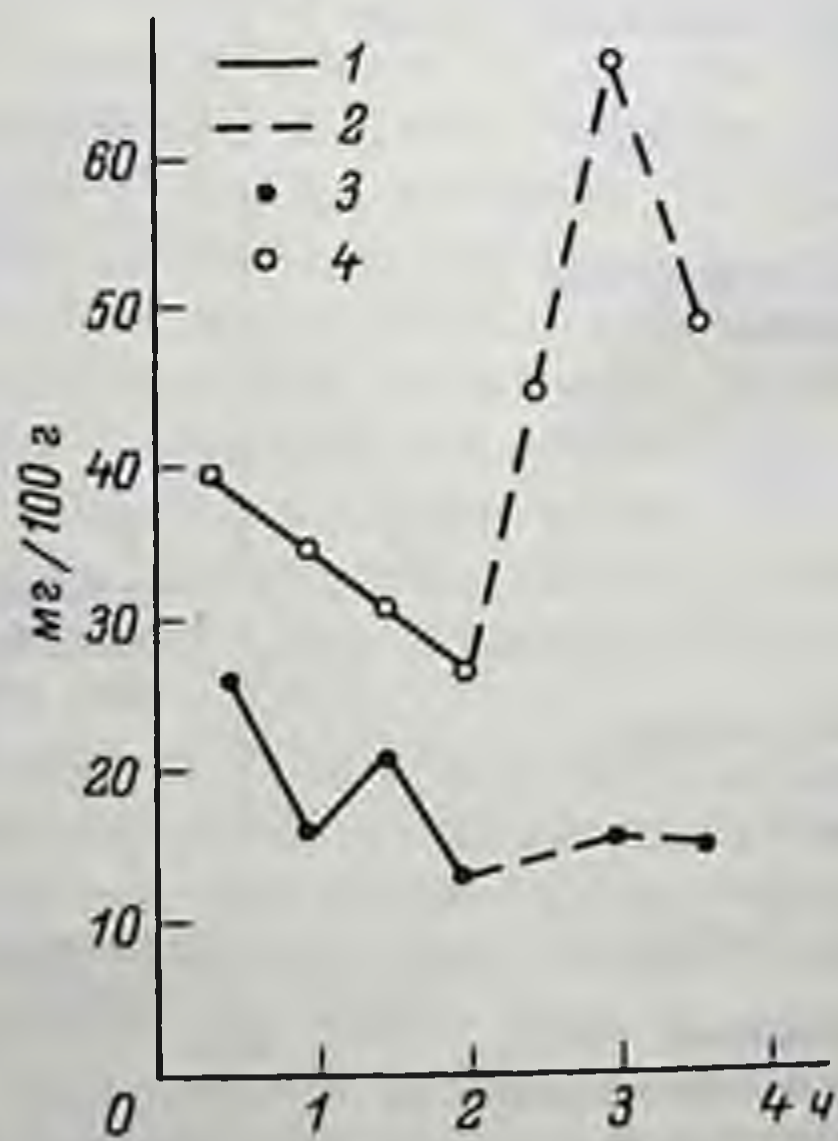


Рис. 29. Выход молочной кислоты из портняжных мышц лягушки после действия мочевины (по: Стабровская, 1967).

1 — в мочеине; 2 — в растворе Рингера; 3—4 — концентрация мочевины (моль/л): 3 — 0.5, 4 — 1.0. На осях — то же, что на рис. 27.



ции протоплазматической мембраны (Penttila et al., 1976). По-видимому, даже незначительные изменения концентрации  $H^+$ , являющейся одной из существенных составляющих гомеостаза, вызывают изменения конформации внутриклеточных белков и их функциональной активности, в связи с чем наблюдаются резкие изменения уровня метаболизма и функций клетки. Большинство клеток в норме обнаруживает полный или почти полный эффект Пастера. Существует ряд исключений из этого правила. На первом месте стоят клетки опухолей (злокачественных и доброкачественных), а также ряд нормальных клеток и тканей (сетчатка, плацента, лейкоциты, сперматозоиды, тромбоциты). Интенсивный аэробный гликолиз обнаружен при функциональной нагрузке. Аэробный гликолиз перечисленных объектов некоторыми авторами рассматривается как результат их повреждения в процессе изоляции из организма или в связи с их инкубацией в неподходящей среде или благодаря временно возникающему анаэробнозису.

Вопрос о биологическом значении аэробного гликолиза является дискуссионным. Как известно, гликолитический процесс в энергетическом отношении почти в 20 раз менее эффективен, чем дыхательный. Вместе с тем интенсивность гликолиза в ряде случаев может быть настолько увеличенной, что доля АТФ, продуцированного за счет гликолиза, становится приблизительно такой же, как и за счет дыхания (Нейфах, 1967). Таким образом, интенсификация гликолиза в этих условиях является существенным источником энергии. С другой стороны, использование гликолиза позволяет клетке существовать в условиях ограничения или полного отсутствия кислорода. С подобными ситуациями клетка нередко встречается в процессе жизнедеятельности и в таких условиях способна выжить благодаря возможности мобилизации гликолитического механизма синтеза АТФ, значительно более устойчивого, чем окислительное фосфорилирование. По-видимому, таково же происхождение аэробного гликолиза при адаптационном синдроме. Нарушение окислительного фосфорилирования — обычный спутник альтераций; при этом его функция переходит к гликолизу. Дыхание в этих условиях, даже стимулированное, не справляется с потоком пирувата, возникающего в ходе расточительного анаэробного процесса. Если учесть, что при переживании клетки в неблагоприятных условиях нарушается система дыхания в целом, то возникновение аэробного гликолиза в этих условиях представляется закономерным явлением и есть все основания рассматривать его как адаптивную реакцию.

Вопросу о причинах аэробного гликолиза и механизму эффекта Пастера посвящена обширная литература. Издавна установлено стимулирующее влияние  $\Phi_{II}$  на гликолиз и брожение. Точками приложения  $\Phi_{II}$  являются три ключевых фермента гликолитической системы: гексокиназа, фосфофруктокиназа и дегидрогеназа глицеринальдегид-3-фосфата (Wu, Racker, 1959). В связи с этим  $\Phi_{II}$  выступает как фактор, лимитирующий гликолиз. Поэтому понятно, что любое влияние, направленное в сторону увеличения концентрации  $\Phi_{II}$  (например, активация АТФазы при нарушении окислительного фосфорилирова-

ния или при осуществлении разных форм клеточной активности), должно приводить к активации гликолиза. В этот период была выдвинута идея о конкуренции за  $\Phi_{II}$  между окислительными и гликолитическими энзимными системами (Lynen, 1961). Эта идея с учетом данных о внутриклеточной локализации дыхательной и гликолитической систем получила дальнейшее развитие в работах Чанса (Chance, Williams, 1955), Рэкера (1979) и др. В последние годы открываются все новые стороны сложного механизма регуляции эффекта Пастера. Существенным было открытие прямого взаимодействия АТФ с ферментом гликолитической системы — фосфофруктокиназой. В норме благодаря аллостерическому взаимодействию АТФ с фосфофруктокиназой гликолиз заторможен. При снижении концентрации АТФ аллостерическое торможение снимается и гликолиз активируется (Passonneau, Lowry, 1962a, 1962b).

В нашей лаборатории были получены данные о стимулирующем влиянии на гликолиз веществ, диффундирующих из ядра. Ядерным стимулятором гликолиза оказались гистоны (Ганелина и др., 1966). В связи с этим были изучены признаки альтерации ядра при адаптационном синдроме. Обнаружено уменьшение электронной плотности нуклеоплазмы, которое удается отметить раньше других признаков альтерации ядра (Булычев, 1966). Изменения тинкториальных свойств ядер при повреждении и связь этих изменений с альтерацией ядерных нуклеопротеидов были описаны В. Л. Немчинской (1960). В соответствии с этим наблюдаемый выход гистонов из ядер и вмешательство их в энергетику клетки представляются весьма существенными. Сравнительная значимость всех известных инициаторов и стимуляторов гликолиза еще не определена. Возможно, что для регуляции столь важного процесса, каким является гликолиз, в клетке мобилизуется не один, а несколько дублирующих механизмов.

**Активация АТФазы митохондрий** всегда сопровождает процессы структурной и функциональной альтерации (Hagman, Katiyaka, 1955; Pressman, Lardy, 1956; Smith, De Luca, 1964). При 50 °С, когда дыхание полностью исчезает и митохондрии под электронным микроскопом имеют вид полых пузырьков, ограниченных только наружной мембраной, их АТФазная активность возрастает примерно в 10 раз по сравнению с активностью нативных митохондрий (Булычев, 1964).

Сведения о причинах активации АТФазы митохондрий при повреждении противоречивы. Одни авторы отрицают само существование АТФазы как индивидуального фермента, считая, что АТФазный эффект обусловлен суммарным действием ряда ферментов, участвующих в процессе окислительного фосфорилирования (Slater, 1962). Однако большинство авторов не сомневаются в существовании митохондриальной АТФазы как индивидуального фермента, который в нативном состоянии замаскирован и проявляет свою активность при старении и повреждении частиц (Leon et al., 1958). Имеются основания предполагать, что свойства митохондриальной АТФазы сходны со свойствами АТФазы, локализованной на поверх-

ности эритроцитов, лейкоцитов, сперматозоидов, активность которой увеличивается при повреждении.

**Содержание гликогена.** Интактные клетки печени сытых животных содержат значительное количество гликогена (34—41 мг в 1 г ткани). При действии повреждающих факторов содержание гликогена резко снижается, составляя 20—40 % от первоначальных величин (Kalant, Young, 1957; Exton, 1964; Моженок, 1969, 1973; Моженок, Бреслер, 1973).

**Увеличение образования аммиака** всегда отмечается при адаптационном синдроме. В 30-х годах нашего века был разработан точный микрометод для определения аммиака и «аммиаку повреждения» было посвящено большое количество исследований (Владимиров, 1954). Содержание аммиака в интактных клетках составляет доли миллиграммов в 100 г ткани; при адаптационном синдроме это количество увеличивается в 2—10 раз. Увеличение образования аммиака было обнаружено в ткани головного мозга при судорожных состояниях и в клетках головного мозга при их альтерации.

Раньше предполагалось, что источником образования аммиака является инозиновая кислота (продукт дефосфорилирования и дезаминирования АТФ). Позже выяснилось, что количество обнаруживающегося аммиака не соответствует содержанию инозиновой кислоты в клетках. Предполагается, что аммиак может освобождаться из белков при дезаминировании глутаминовой и аспарагиновой кислот, входящих в их состав. В фазу отдыха аммиак связывается с глутаминовой кислотой с образованием глутамина. Эта энергозависимая реакция катализируется глутаминсинтетазой (Vrba, Folbergrova, 1959). Имеются данные, указывающие на то, что аммиак может освобождаться из аминокислот при дезаминировании в процессе их использования как источников энергии (Richter, Dawson, 1948).

Образование аммиака при адаптационном синдроме представляет значительный интерес в связи с тем, что эта реакция является исходным звеном в синтезе полиаминов.

**Активация гидролаз** является постоянным признаком адаптационного синдрома. Еще в старых работах отмечалось увеличение содержания небелкового азота при разных формах повреждения клеток и тканей. Гидролитический распад крахмала в растительных клетках, а также гликогена в животных клетках при повреждении является ранним и чувствительным признаком альтерации. При контрактуре мышц диффузия продуктов распада дипептида карнозина (гистидина и  $\beta$ -аланина) также рассматривается как указание на активацию гидролиза пептидных связей (Браун, Немчинская, 1960). Причиной активации гидролитических процессов в клетке при адаптационном синдроме являются, по-видимому, денатурационные изменения ферментов и субстратов (белков). Известно, что увеличивается атакуемость денатурированных белков протеазами, активность ферментов в начальной фазе денатурации также повышается. Гидролитические ферменты клетки, оптимум действия которых находится в зоне рН 5.0, изолированы в лизосомных структурах. Для

внелизосомных гидролаз оптимум действия расположен в зоне рН 7.0—8.0. Нарушение проницаемости лизосомных мембран с последующим выходом в окружающее пространство кислых гидролаз играет существенную роль в развитии и исходе адаптационного синдрома (о роли лизосом в витальном окрашивании клетки см. выше).

Адаптационный синдром до сих пор исследовался на уровне клетки как целостной системы. Этот сложный процесс развивается в среде, морфологически и функционально расчлененной. Неоднократно отмечалось, что одним из условий, обеспечивающих устойчивость и подвижность клеточной системы, является ее организация. Один из принципов этой организации — автономия внутриклеточных структур.

В течение первого периода развития биохимической цитологии утвердилось представление о том, что структурной и функциональной дифференциации клетки отвечает и строжайшая биохимическая организация. Экспериментальный материал последних лет, однако, убеждает в том, что биохимическая специализация внутриклеточных структур не абсолютна. Системы аэробного синтеза АТФ и гликолиза представлены в клеточном ядре, в митохондриях присутствуют ДНК, РНК и т. д. Биологический смысл общих биохимических функций у внутриклеточных структур не выяснен до сих пор. Не ясно, являются ли они рудиментом или играют существенную роль.

В связи с этим представляют интерес данные, указывающие на способность изолированных внутриклеточных структур восстанавливать свои свойства после альтерации. При изучении действия ряда повреждающих агентов на изолированные митохондрии выяснилось, что вещества, различные по своей природе (соли, спирты, амиды), вызывают однотипные изменения: снижение уровня дыхания и окислительного фосфорилирования, стимуляцию АТФазной активности, увеличение выхода нуклеотидов. С ростом концентрации агента увеличивается степень изменения этих показателей. После удаления альтерирующего агента наблюдается восстановление функциональных свойств митохондрий (Браун и др., 1965а; Браун, Несветаева, 1967). Восстановление одних функций происходит в большей степени, других — в меньшей. Практически полностью восстанавливаются дыхание и фосфорилирование. Уменьшение АТФазной активности после удаления альтерирующего агента наблюдается не всегда, а в ряде случаев отмечается ее нарастание.

Наряду с неспецифическими изменениями в реакции митохондрий на действие повреждающих агентов наблюдаются и характерные для каждого агента признаки. Особенно высокой обратимостью отличается действие этанола и КСl. Изолированные митохондрии, обработанные 9 %-ным этанолом (2 моль/л), практически полностью восстанавливают свои исходные свойства. Имеются также данные, указывающие на возможность обратимого повреждения изолированных ядер. При действии некоторых агентов (этанола, мочевины) происходит значительное угнетение дыхания изолированных ядер. После удаления агентов дыхание ядер полностью

восстанавливается (Булычев, 1967). Таким образом, в ряде случаев возможно восстановление функциональных свойств внутриклеточных структур после их альтерации. Возможность воспроизведения некоторых сторон адаптационного синдрома на изолированных внутриклеточных структурах указывает на известную их автономность и ставит вопрос о роли последних в восстановлении клеточной системы после ее альтерации.

Существенным принципом организации внутриклеточных структур является использование для построения разных их элементов материалов, различных по устойчивости. Представляется вероятным, что в процессе филогенеза в результате отбора закрепилась способность использовать для жизненно важных, более ответственных элементов, а также для структур, находящихся в жестких условиях существования, материалы повышенной прочности.

В настоящее время уже собран обширный экспериментальный материал, свидетельствующий о далеко идущей корреляции между условиями обитания видов, устойчивостью их тканей и клеток и устойчивостью составляющих их белков (Александров, 1975; 1985; Березин, Можяев, 1985). Была обнаружена также связь между устойчивостью белков и устойчивостью тканей в организме. Так, актомиозин сердечной мышцы проявляет большую устойчивость, чем актомиозин скелетных мышц (Браун и др., 1963). Ферментные системы миокарда более устойчивы, чем ферменты скелетных мышц. Получены данные, показывающие, что этот же принцип лежит в основе разной устойчивости каталитического аппарата ядра и цитоплазмы. При исследовании свойств лактатдегидрогеназы было установлено, что снижение на 50 % активности этого фермента из цитоплазмы происходит при 70 °С. Тот же фермент из ядра при 75 °С полностью сохраняет исходную активность. Возникает вопрос о причинах такого различия в устойчивости ферментов. Наиболее реальной причиной может быть разный изозимный состав лактатдегидрогеназы. Как известно, лактатдегидрогеназа существует в виде пяти изозимов, отличающихся рядом свойств, в том числе устойчивостью к действию нагрева. Самый устойчивый изозим — первый, наименее устойчивый — пятый. При исследовании состава лактатдегидрогеназы цитоплазмы и ядра методом электрофореза на крахмальном геле было установлено, что в цитоплазме она представлена наименее устойчивым — пятым изозимом, в то время как в ядре примерно половина всей активности этого фермента обеспечивается изозимами повышенной устойчивости — третьим и четвертым (Немчинская и др., 1967, 1968). Таким образом, различия в устойчивости клеточных компонентов к действию раздражителей обеспечиваются еще одним элементом их организации — устойчивостью их белковых составляющих. Результаты этих работ приобретают особый интерес в связи с взглядами В. Я. Александрова, указавшего, что гибкость и ригидность структуры белковой молекулы находятся в прямой корреляции с ее биохимической активностью. Это предположение находит подтверждение в исследованиях активности гликолиза в ядре и цитоплазме.

**Нарушение структуры нуклеиновых кислот.** Большое значение для цитохимии адаптационного синдрома имеют работы, в которых были обнаружены изменения зеленой и красной флюоресценции акридинового оранжевого (АО) при окраске им различных клеточных элементов и субклеточных структур под влиянием раздражителей (Мейсель, 1951; Мейсель, Гуткина, 1953; Bertalanffy, 1963; Черногрядская и др., 1978). Этот метод позволяет выявлять изменения в клетке на ранних стадиях альтерации и нашел применение в медицинской практике. Природа наблюдаемых изменений флюоресценции вначале была неясна. Предполагалось, что зеленая флюоресценция обусловлена комплексообразованием красителя с ДНК, а красная — с РНК. В модельных опытах с препаратами нативной, денатурированной и ренатурированной ДНК удалось установить, что наблюдаемые изменения флюоресценции зависят от конформации полинуклеотида. Было обнаружено, что квантовый выход флюоресценции мономера акридинового оранжевого (АО) в комплексе с нативной и ренатурированной ДНК увеличивается, а в комплексе с денатурированной ДНК уменьшается. Увеличение зеленого свечения мономера АО с нативной ДНК связано с интеркаляцией (вставлением) плоских ароматических молекул красителя между плоскостями пар оснований в биспирали ДНК. В связи с этим представлением увеличение квантового выхода флюоресценции мономеров АО можно объяснить закреплением молекул красителя и уменьшением безызлучательной потери энергии возбуждения. Интеркаляция в настоящее время изучается весьма интенсивно, так как оказалось, что она наблюдается при взаимодействии ДНК не только с синтетическими веществами типа АО, но и с веществами других химических классов, как синтетическими, так и природными. Наиболее изученными интеркаляторами являются бромистый этидий, акрихин, хлорохин, антибиотики (актиномицин D, дауномицин, адриамицин), алкалоиды (эллиптицин, сангвинарин и др.). Многочисленные данные подтверждают высокую активность интеркаляторов как ингибиторов метаболизма нуклеиновых кислот. При изучении действия интеркаляторов *in vivo* оказалось, что в малых концентрациях они ингибируют синтез цитоплазматических ДНК: эписомных ДНК бактерий, митохондриальных ДНК эукариотов, хлоропластных ДНК растений. При действии ряда интеркаляторов на изолированные митохондрии печени крыс оказалось, что они вызывают разобщение дыхания и фосфорилирования. Большой интерес представляют данные, указывающие на интеркаляторный механизм биологических эффектов сангвинарина — алкалоида, действующего начала чистотела (Фаддеева, 1962, 1964, 1969; Беляева и др., 1974; Фаддеева, Браун, 1977; Фаддеева и др., 1980).

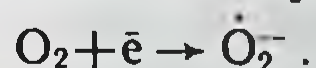
### СВОБОДНЫЕ РАДИКАЛЫ

Симптоматика неспецифического адаптационного синдрома включает ряд биологических и биофизических показателей, обусловленных образованием в клетке свободных радикалов. Сюда относятся умень-

шение резерва антиоксидантов, нарушение мембранного транспорта в результате перекисного окисления фосфолипидов, явления биохемилюминесценции и другие реакции.

Свободными радикалами называются частицы, содержащие один или несколько неспаренных электронов. Такие частицы высоко электрофильны и реактивны. Свободные радикалы — постоянные компоненты содержимого клетки. Они возникают в ходе многих энзиматических реакций. Им приписывают определенную роль в обеспечении нормальной физиологической активности клеток, участие в синтезе ряда активных метаболитов (простагландинов, лейкотропинов). Они играют роль в качестве активаторов митогенеза, клеточной пролиферации, дифференциации. Некоторые из них обладают инсулиноподобными свойствами: стимулируют транспорт глюкозы внутрь клетки и синтез гликогена. Вместе с тем, обладая чрезвычайной химической агрессивностью, свободные радикалы легко вступают в реакции с различными биомолекулами (белками, липидами, нуклеиновыми кислотами, углеводами), нарушают их структуру и функции.

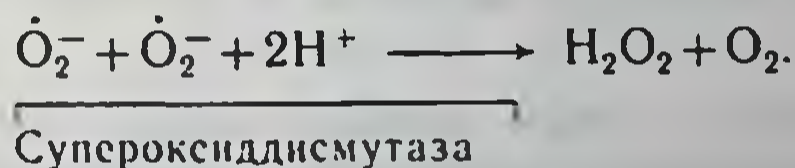
Из семьи свободных радикалов в клетке на первый план выступает «супероксидный анион» —  $\dot{O}_2^-$ . Радикал  $\dot{O}_2^-$  образуется в результате одновалентного восстановления молекулярного кислорода:



Супероксидный анион возникает в результате ферментативных реакций, катализируемых ксантиноксидазой, альдегидоксидазой, дигидрооротатоксидазой и др. Источником  $\dot{O}_2^-$  в клетке является редуцтазная система НАДФ-Н—цитохром С. Супероксидный анион может возникать в клетке и не ферментативным путем, в частности, в ходе окисления гидрохинона, катехоламинов, тиолов, ферредоксина и др. (Фридович, 1979).

Супероксидный анион агрессивен и высокотоксичен. По данным Риго с сотрудниками (Rigo et al., 1977), Сирле и Вильсона (Seagle, Willson, 1980), его реактивность более высока в гидрофобной фазе, чем в водной. В связи с этим есть основания предполагать, что  $\dot{O}_2^-$  особенно активен, возникая в гидрофобных зонах мембранных структур (Halliwell, 1982).

Анион  $\dot{O}_2^-$  самопроизвольно, но главным образом под влиянием имеющейся в любой аэробной клетке ферментной системы супероксиддисмутазы вступает в реакцию дисмутации с другой частицей  $\dot{O}_2^-$ :



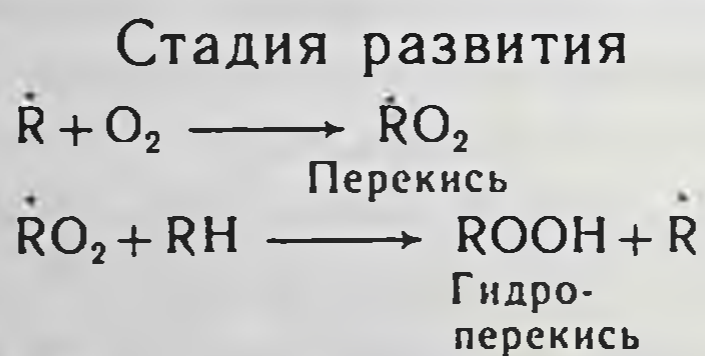
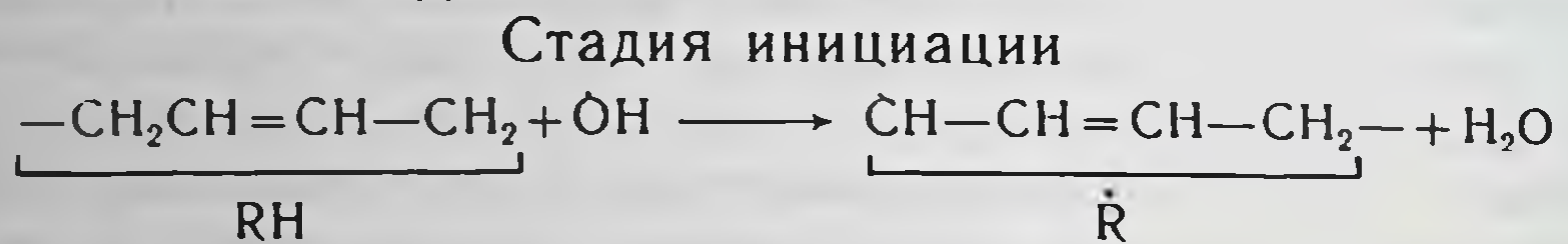
$H_2O_2$  (перекись водорода) не является свободным радикалом, но высокотоксична. Она может вступать в реакцию с  $\dot{O}_2^-$  с образованием исключительно агрессивного гидроксильного радикала:



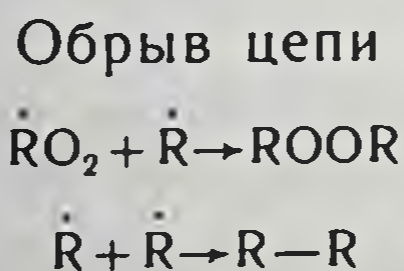
Эту реакцию впервые открыли Хабер и Вайсс (Haber, Weiss, 1934). Она протекает с небольшой скоростью, но в присутствии ионов  $Fe^{2+}$  резко активизируется.

Радикал  $\text{OH}^\cdot$  является инициатором перекисного окисления липидов (Gutteridge et al., 1982), он образуется в клетках при воздействии проникающей радиации. Считается, что токсический эффект последней обусловлен главным образом действием этого необычайно активного радикала.

Свободные радикалы и  $\text{H}_2\text{O}_2$  атакуют любые биомолекулы. В белках они сшивают полипептидные цепи, окисляют SH-группы, лишают ферменты активности. В нуклеиновых кислотах вызывают разрывы, в углеводах — полимеризацию. В липидах инициируют цепные реакции перекисного окисления. Следует подчеркнуть, что в расшифровку химического механизма свободнорадикального окисления липидов решающий вклад внесли исследования, посвященные изучению причин порчи жиров, масел, мяса и других пищевых продуктов. Было установлено, что цепная реакция окисления липидов проходит ряд последовательных стадий:



Две последние реакции повторяются многократно. В результате количество свободных радикалов поддерживается на одном уровне, а содержание перекисей увеличивается. Цепная реакция продолжается, пока не произойдет обрыв цепи в результате столкновения одной радикальной частицы с другой:



Основным субстратом свободнорадикального окисления липидов в клетке являются фосфолипиды мембранных структур. Фосфолипиды в результате окисления распадаются, из них образуются высокотоксичные продукты — альдегиды, кетоны, накопление которых в клетке вызывает ее повреждение и гибель (Суслова, Владимиров, 1973).

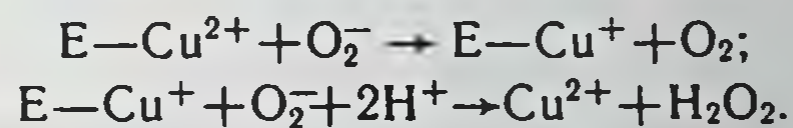
В 50—60-х годах в ряде лабораторий были собраны высокочувствительные фотометрические установки, позволившие регистрировать световые потоки крайне малой интенсивности. На этих установках было обнаружено и измерено собственное излучение ряда живых объектов. Пионерами в этой области в СССР были Б. Н. Тарусов и его сотрудники (Тарусов и др., 1967). Тарусов изучал свечение различных фракций гомогенатов печени, им было установлено, что, во-первых, свечение обнаруживается только в аэробных условиях, а, во-вторых, основная доля свечения приходится на фракцию,



содержащую липиды. Эти данные неоднократно подтверждены. Исследования показали, что свечение вызывают неспециализированные фотогенные процессы. Оно закономерно сопровождает окисление ненасыщенных липидов. Исследованиям свечения клеток посвящено большое число работ. По мнению М. В. Волькенштейна (1985), явление свечения живых систем не имеет существенного биологического значения, но может быть использовано в качестве индикатора окислительных процессов.

Образование высокореактивных свободных радикалов в клетке происходит в нормальных условиях постоянно. Этот процесс представлял бы значительную опасность, если бы в клетке не существовали эффективные средства защиты. Основными из этих средств являются ферментные системы — супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионпероксидаза и некоторые другие катализирующие реакции, в результате которых токсичные свободные радикалы превращаются в безвредные соединения.

Супероксиддисмутаза содержится во всех аэробных клетках. Она составляет около 0.1 % общего белка протоплазмы. Наличие этого фермента является необходимым условием существования клеток в аэробных условиях. Супероксиддисмутаза представляет собой металлофермент. Она известна в двух формах. Одна из них имеет молекулярную массу 32 000 и состоит из двух субъединиц, каждая из которых содержит в активном центре один атом меди и один атом цинка. Механизм действия супероксиддисмутазы включает два типа реакций:



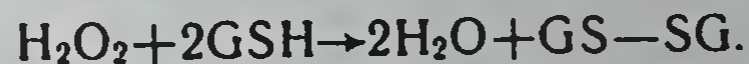
Атом цинка не участвует в реакции. Ему принадлежит роль стабилизатора структуры активного центра фермента. Во всяком случае, без цинка фермент не активен. Cu—Zn-супероксиддисмутаза локализована в цитозоле и во внеклеточных кристах митохондрий.

Вторая форма супероксиддисмутазы состоит из четырех субъединиц с молекулярной массой (М. м.) 20 000 каждая. В активном центре каждой из субъединиц содержится атом марганца. Mn-супероксиддисмутаза локализована в матриксе митохондрий.

Каталаза — металлофермент (М. м. около 440 000) состоит из четырех субъединиц, каждая из которых содержит по одной группе гема, локализована в пероксисомах (Masters, Holmes, 1977; Панченко и др., 1981).

Глутатионпероксидаза — также металлофермент (М. м. 84 000), молекула фермента состоит из четырех субъединиц, каждая из которых содержит в активном центре атом селена (Se).

Глутатионпероксидаза катализирует реакцию разложения  $H_2O_2$  при обязательном участии глутатиона (GSH):



Второй линией защиты от свободных радикалов являются содержащиеся в каждой клетке антиоксиданты, т. е. вещества, легко окисляющиеся, перехватывающие активные радикалы и таким обра-

зом предохраняющие от разрушения более важные биологические молекулы. К антиоксидантам относятся вещества различного химического состава — глутатион, цистеин, аскорбиновая кислота, витамин Е (токоферол), каротин и др. К активным антиоксидантам относятся также белки, содержащие SH-группы. К последним принадлежат SH-ферменты, катализирующие многие реакции углеводного, жирового и белкового обменов. Ряд тиоферментов принимает участие в энергетическом обмене клетки и в механизме регуляции метаболизма. При окислении SH-групп тиоферментов они инактивируются и катализируемые ими реакции блокируются.

Наконец, третьей линией защиты являются фосфолипиды клеточных мембран. Ненасыщенные углеводородные цепи фосфолипидов подвергаются атаке свободных радикалов и, таким образом, оберегают от разрушения важные центры клетки.

Образование свободных радикалов усиливается с переходом клетки от состояния относительного покоя к деятельности, с увеличением интенсивности метаболизма и потребления кислорода. Одновременно с повышением содержания в клетке свободных радикалов усиливается активность ферментов-детоксикаторов — супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы (Packer, 1984).

Установлено наличие корреляции между активностью супероксиддисмутазы и интенсивностью метаболизма у приматов (Tolmasoff et al., 1981). Было показано, что активность супероксиддисмутазы у животных обычно увеличивается в результате тренировки (Packer, 1984). Вместе с тем выяснилось, что в ряде случаев активность ферментов детоксикации оказывается недостаточной для обезвреживания образующихся в клетке свободных радикалов.

Образование свободных радикалов и инициируемых ими процессов усиливается при воздействии на клетку повреждающих физических и химических факторов, о чем свидетельствуют прямые определения содержания свободных радикалов в клетках, подвергшихся действию повреждающих агентов (Högberg, Kristoferson, 1977). Об этом можно судить на основании данных определения биохимилюминесценции поврежденных клеток (Мамедов, 1970). Это же следует из результатов, демонстрирующих изменения фонда антиоксидантов в поврежденных клетках, а также из данных, указывающих на способность антиоксидантов увеличивать устойчивость клеток к повреждающим воздействиям (Соколовский, 1979, 1984).

Возможность повреждения клеток в результате свободнорадикального окисления привлекает внимание медицинских кругов. Различным аспектам этой проблемы посвящено большое число исследований последних лет. Опубликованы сообщения об активации свободнорадикального окисления при воспалительных, ишемических, стрессовых состояниях, легочных дисфункциях, артритах и при ряде других процессов (Герасимов, 1981; Устинова, 1983; Rowley, Halliwell, 1983; Jenkins et al., 1984; Packer, 1984; Мильчаков, 1985; Козлов, Носков, 1986).

Причину усиления свободнорадикального окисления в клетках часть авторов видит в ослаблении активности антиоксидантных фер-

ментов в результате их инактивации. Последняя может быть обусловлена, например, ацидозом, характерным для начальной фазы клеточного повреждения. По данным Шнайдера и Флои (Schneider, Flohe, 1967), при снижении рН в цитозоле с 7.5 до 6.75 активность Se-глутатионпероксидазы снижается в 10 раз. В качестве другой причины инактивации антиоксидантных ферментов указывают на возможность их разрушения свободными радикалами. Супероксиданион атакует каталазу и инактивирует ее (Kono, Fridovich, 1982). С другой стороны, перекись водорода инактивирует супероксиддисмутазу (Halliwell, 1978; Di Guiseppe, Fridovich, 1980). Есть указания, что уменьшение содержания в клетке антиоксидантных ферментов может происходить в результате выхода их из клетки в окружающую среду (Guagnieri et al., 1979).

Сообщают также, что дефицит антиоксидантных ферментов может происходить в результате недостаточности в питании таких элементов, как Se, Cu, Zn, Mn, т. е. компонентов, необходимых для синтеза металлоферментов — супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы.

Предположение о патогенетической роли свободнорадикального окисления в ряде патологических состояний продолжает обсуждаться в литературе с нарастающим энтузиазмом.

Нарушение здоровья неизвестной этиологии приписывают увеличению свободнорадикального окисления. Так, например, в последние годы повсеместно увлекаются аэробикой. Ряд авторов (Davies et al., 1982; Quintanilha, Packer, 1983) сообщают, что у некоторых поклонников этого вида спорта наблюдаются ишемические явления со стороны сердца, мозга, легких. Эти нарушения объясняются резкой активацией дыхания и связанного с ним увеличения свободнорадикального окисления, что при недостаточности систем детоксикации может быть причиной поражения клеточных элементов.

Для лечения некоторых заболеваний с невыясненным патогенезом применяются лекарственные средства, известные своими антиоксидантными свойствами (аскорбиновая кислота, токоферол, каротин, витамин А) и в случае положительного эффекта такой терапии выдвигаются предположения о патогенетическом значении в данном заболевании свободнорадикального окисления. В иных случаях положительный результат лечения лекарственными средствами с невыясненным механизмом действия приписывают антиоксидантным свойствам этих препаратов и т. д.

Прямых исследований содержания в клетке свободных радикалов и определений активности антиоксидантных ферментов производилось еще недостаточно. Неизвестно, как изменяются эти показатели в процессе развития адаптационного синдрома, как в обратимую его фазу, так и при переходе в необратимую. Не ясны причины активации свободнорадикального окисления при адаптационном синдроме, вызванном аноксией, хотя, казалось бы, уменьшение доступа кислорода должно было бы способствовать ослаблению этого процесса. Не ясен, наконец, биологический смысл внутриклеточного образования таких высокорепродуктивных факторов, какими являются свободные

радикалы. Возможно, что с их помощью осуществляется блокирование ряда идущих в нормальных условиях энзиматических процессов, что обеспечивает клетке в аварийной ситуации сохранение жизни.

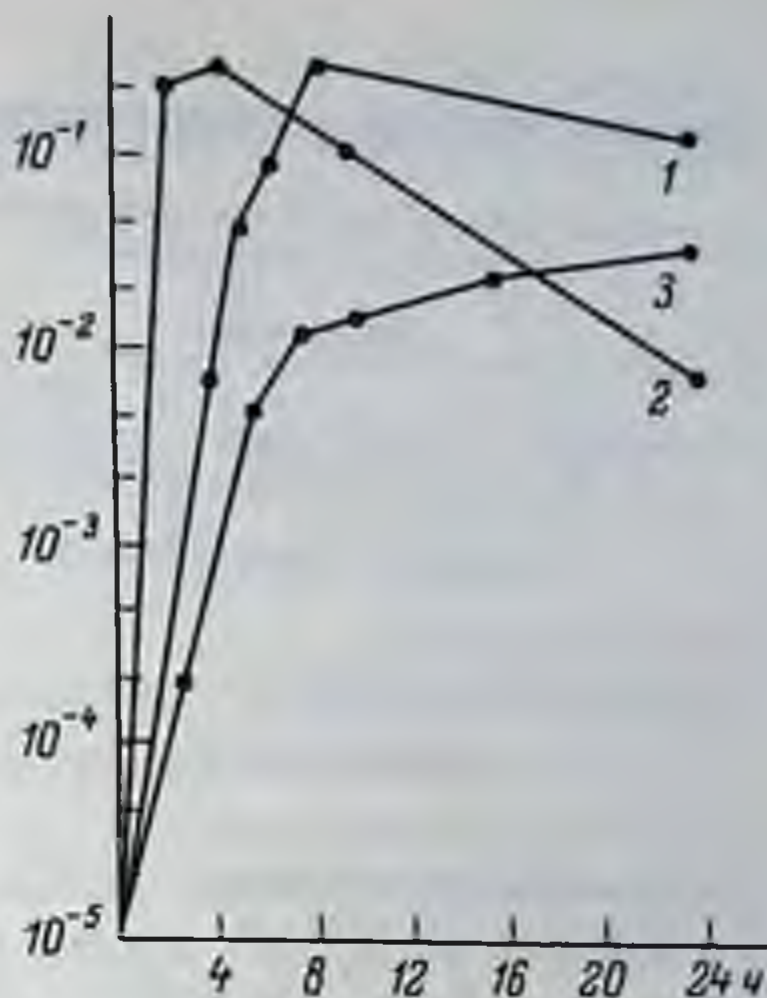
## СТРЕССОВЫЕ БЕЛКИ

В. В. Лепешкин (Lepeschkin, 1937, с. 4), описывая клеточный некробиоз, указывает, что если клетки из неблагоприятных условий переводятся в нормальную среду, то они не только восстанавливают свои первоначальные свойства, но становятся более устойчивыми к повреждающим воздействиям. Этот вывод обосновывается многочисленными наблюдениями (Thörner, 1919; Shackell, 1928, цит. по: Lepeschkin, 1937; Жуков, 1935; Романов, 1949). Особенно выразительны данные, демонстрирующие увеличение теплоустойчивости клеток после «теплового шока», т. е. кратковременного воздействия высокой температуры. На рис. 30 представлены результаты одного из таких экспериментов, проведенного с фибробластами китайского хомячка. Эти клетки погибают при 45 °С через 30—45 мин. Опыт, результаты которого изображены на рис. 30, проводили следующим образом. В ряд пробирок вводили одинаковые объемы взвеси фибробластов. Все пробирки были одновременно прогреты при 45 °С в течение 15 мин. После этого пробирки с фибробластами были охлаждены до комнатной температуры. Одна из пробирок сразу же после теплового шока была прогрета при 45 °С в течение 45 мин, остальные пробирки одна за другой с интервалами в 4 ч прогревались при 45 °С в течение 45 мин. Клетки, подвергшиеся воздействию нагрева при 45 °С в течение 45 мин сразу же после теплового шока, все погибли. Через 4 ч после теплового шока такой же нагрев оказался губительным только для 50 % клеток. Через 8 ч после теплового шока это воздействие выдерживали все клетки, и такая высокая толерантность сохраняется и дальше — иногда до одной-двух недель, затем приобретенная высокая толерантность постепенно снижается и полностью исчезает.

Для объяснения результатов такого рода опытов, проведенных в разное время с клетками разных видов животных и растений, с клетками простейших и микробов, были выдвинуты различные гипотезы. Одни авторы предполагали, что в результате теплового шока в клетках происходит синтез антиденатураторов (сахаров, глицерина, аминокислот), т. е. субстанций, присутствие которых предохраняет белки от денатурации (Александров, 1975; 1985; Nash et al., 1982; Березин, Можяев, 1985). По другой гипотезе после кратковременного воздействия высокой температуры белки клетки приобретают высокую устойчивость благодаря присоединению ионов  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Mn}^{2+}$  (Александров, 1975). Еще одно предположение сводилось к тому, что в результате теплового шока между надмолекулярными структурами протоплазмы происходит увеличение числа слабых связей или замена части слабых связей на более прочные, в связи с чем прото-

Рис. 30. Индукция термотолерантности различными стрессовыми факторами (по: Nover et al., 1984).

1 — тепловой шок, 2 — 6 %-ный этанол; 3 — 100 мкмоль/л  $CdCl_2$ . По оси абсцисс — время после предварительной обработки; по оси ординат — доля клеток (из 100), выживших после действия стрессовых факторов.



плазматические структуры становятся менее подвижными и, следовательно, более резистентными (Levitt, 1980).

Все указанные гипотезы перестали обсуждаться после опубликования работ, в которых было показано, что в результате теплового шока в клетках индуцируется активный синтез нового класса белков, получивших название «белков теплового шока» (БТШ). Основополагающее значение в этой области имели работы Ритосса и Тисьерса с соавторами (Ritossa, 1962; Tissieres et al., 1974). Первым было установлено, что в результате короткой обработки высокой температурой личинок дрозофил в хромосомах клеток слюнных желез обнаруживается значительное число пуффов, что указывает на стимуляцию генетической активности. Через 12 лет Тисьерс с соавторами доказал образование в слюнных железах дрозофил после их термической обработки особых белков, для которых было предложено название «белков теплового шока».

Следует сказать, что изменение генетической программы клеток в результате воздействия факторов среды наблюдали и описывали задолго до Ритосса и Тисьерса. Так, Эмерсоном (Emerson, цит. по: Adams, Rinne, 1982) еще в 1921 г. описаны изменения листьев кукурузы под влиянием солнечного облучения: окрашивание в красный цвет происходит только листьев, освещенных солнцем.

В последние годы исследования БТШ получили значительное развитие, и этой области посвящены обстоятельные обзоры (Kelley, Schlesinger, 1978; Ashburner, Bonner, 1979; Storti et al., 1980; Lindquist, 1981; Slater et al., 1981; Adams, Rinne, 1982; Bienz, Gurdon, 1982; Schlesinger et al., 1982; Nover et al., 1984; Lanks, 1986).

По данным многочисленных исследований, способность клеток отвечать на краткосрочный интенсивный нагрев усилением синтеза БТШ присуща практически всем классам животного и растительного мира (табл. 7).

В работах ряда исследователей были изолированы специфические мРНК БТШ, которые синтезируются de novo, так как ингибиторы синтеза РНК — актиномицин D и пуромицин — блокируют синтез БТШ (McKenzie et al., 1975; Mirault et al., 1977; Spradling et al., 1977; Kelley, Schlesinger, 1978; Hightower, 1980; Johnston et al., 1980; Kelley et al., 1980; Tsukeda et al., 1981). Исключение состав-

Т а б л и ц а 7

Примеры индуцированного синтеза белков теплового шока (по: Nover et al., 1984, с дополнениями)

Организмы	Литературный источник
<b>Микроорганизмы</b>	
<b>Protozoa (простейшие)</b>	
<i>Naegleria gruberi</i> <i>Tetrahymena pyriformis</i>	Walsh, 1980; Loomis, Wheeler, 1980 Guttman et al., 1980
<b>Slime moulds</b>	
<i>Dictyostelium discoideum</i> <i>Polyspondylium pallidum</i> <i>Physarum polycephalum</i>	Loomis, Wheeler, 1980, 1982 Francis, Lin, 1980 Wright, Tollon, 1984
<b>Fungi (грибы)</b>	
<i>Achlya ambisexualis</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Gwynne, Brandhorst, 1982 Miller et al., 1979; McAlister, Finkelstein, 1980
<i>Neurospora crassa</i>	Perlman, Feldman, 1982; Kapoor, 1983
<b>Animal (животные)</b>	
<b>Moluscs</b>	
<i>Aplysia californica</i>	Greenberg et al., 1983
<b>Nematodes (черви)</b>	
<i>Caenorhabditis elegans</i>	Russnak et al., 1983
<b>Insects (насекомые)</b>	
<i>Calpodes ethlius</i>	Dean, Atkinson, 1983
<i>Drosophila</i> sp.	Ashburner, Bonner, 1979
<i>Chronomus</i> sp.	Vincent, Tanguay, 1979
<i>Ceratitis capitata</i>	Stephanon et al., 1983
<b>Echinoderms (иглокожие)</b>	
<i>Sea urchin</i>	Guidice et al., 1980
<b>Fishes (рыбы)</b>	
Форель	Kothary, Candido, 1982
<b>Amphibia (земноводные)</b>	
<i>Xenopus laevis</i>	Bienz, Gurdon, 1982
<i>Rana caesbiana</i>	Kelola-Pirie, Atkinson, 1983
<b>Birds (птицы)</b>	
Куриные эмбриональные фибробласты	Kelley, Schlesinger, 1978
<b>Mammals (млекопитающие)</b>	
Клетки HeLa	McCormick, Penmak, 1969
Мышиные L-клетки	Kelley, Schlesinger, 1978; Wang et al., 1981; Key et al., 1981
<b>Plants (растения)</b>	
<i>Zea mays</i>	Baszczynski et al., 1982, 1983; Войников и др., 1984, 1986

Таблица 7 (продолжение)

Организмы	Литературный источник
<i>Phaseolus vulgaris</i>	Shiu et al., 1977
<i>Nicotiana tabacum</i>	Barnett et al., 1980
<i>Glycine max</i>	Key et al., 1981
<i>Lycopersicon peruvianum</i>	Nover, Scharf, 1984

ляют ооциты *Xenopus*: в этих клетках синтез одного из БТШ происходит на предсуществующей мРНК, регулируемой на уровне трансляции (Bienz, Gurdon, 1982).

Для открытия и характеристики БТШ применяются методы электрофореза. БТШ по молекулярной массе разделяются на ряд групп: БТШ-110 (М. м. около 110 000), БТШ-85 (М. м. 80 000—90 000), БТШ-70, БТШ-16—28 и др. Изоточки всех БТШ расположены между 5.0—6.5. Это кислые белки. Некоторые из БТШ обнаруживают энзиматическую активность: один из БТШ (Lanks, 1986) обладает свойствами протеазы; в составе БТШ корней кукурузы обнаружена алкогольдегидрогеназа. Многие БТШ представляют собой продукты метилирования, фосфорилирования, АДФ-рибозилирования и гликозилирования. Для иллюстрации множественности и многообразия свойств БТШ Новак и Шаф (Nover, Scharf, 1984) приводят данные о содержании БТШ в томатах, подвергнутых тепловому шоку. На электрофореграммах авторами установлено присутствие 25 разных БТШ (табл. 8).

Таблица 8

Характеристика белков теплового шока клеток томатов (по: Nover, Scharf, 1984)

Белок, №	Молекулярная масса	pH	Белок, №	Молекулярная масса	pH
1	80 000	5.4—6.2	17	21 500	5.8, 6.0
2	74 000	5.0	18	21 200	5.1, 5.3
3	70 000	5.25—5.5	20	18 500	6.3
4	68 000	5.5—5.7	21	18 000	6.0—6.1
10	35 500	5.3, 5.5	22	16 800	5.4, 5.6, 5.9
12	28 700	6.1	23	16 800	6.6
15	25 000	5.9	24	16 500	5.9, 6.1
16	23 700	5.6, 5.8	25	15 000	6.7

В последние годы было установлено, что синтез белков, подобных БТШ, может быть индуцирован не только гипертермией, но и другими видами альтерирующих воздействий: гипоксией (Ashburner, Bonner, 1979; Gullman et al., 1980), этанолом (Li et al., 1980, 1982), действием ингибиторов окислительного фосфорилирования и переноса электронов, мышьяковокислым натрием (Ashburner, Bonner, 1979; Лозов-

ская и др., 1982), пуромицином и аминокислотными аналогами, такими как р-флюорофенилаланин и канаваин (Kelley, Schlesinger, 1978; Hightower, 1980; Hightower, White, 1981), сульфгидрильными реагентами — арсенитом натрия и йодацетамидом (Johnston et al., 1980; Li, Werb, 1982), ионами тяжелых металлов Cu, Zn, Cd, Hg (Levinson et al., 1980), вирусами некоторых болезней (Collins et al., 1980). В связи с этим БТШ было предложено именовать «стрессовыми белками» (СБ). Рядом авторов было показано, что предварительная обработка клеток этанолом вызывает резистентность не только к последующей обработке этанолом, но также и к температурному стрессу (Li, Hahn, 1978), а предварительное нагревание приводит к увеличению толерантности к этанолу (Li et al., 1980). В клетках млекопитающих эффект этот продолжается в основном в течение 2—3 сут, и в это время выживаемость клеток увеличивается (Nielsen, Overgaard, 1979; McAlister, Finkelstein, 1980; Li, Werb, 1982; Subjeck et al., 1982).

Набор СБ зависит от объекта, от природы и интенсивности альтерирующего агента. В слюнных железах *Drosophila melanogaster* тепловой шок вызывает синтез восьми белков, у *Drosophila hydei* — шести, в куриных эмбриональных фибробластах тепловой шок и аналоги аминокислот стимулируют синтез трех белков (Kelley, Schlesinger, 1978), у личинок морского ежа — двух (Roccheri et al., 1981), в клетках колеоптилей соевых бобов — десяти (Key et al., 1981). У кукурузы нагрев при 40 °С вызывает появление десяти СБ, а при 45 °С вместо этих белков стимулируется синтез четырех других (Соопег, Туапһиа, 1983). Тепловой шок у тетрахимены индуцирует синтез девяти белков, холодовой шок — пяти белков, но отличающихся от БТШ (Fink, Zeuthen, 1980).

Рейтер и Пенман (Reiter, Penman, 1983) обнаружили, что при гипертермии часть БТШ синтезируется очень быстро. Эти белки получили название «быстрых» (prompt) белков. «Быстрые» стрессовые белки имеют уникальную локализацию внутри клетки; они обнаружены только в ядерном матриксе — промежуточных филаментах (ЯМ-ПФ). Основные же СБ с М. м. 85 000 обнаружены только в растворимой фракции, а белок с М. м. 69 000 — во всех фракциях (в растворимой фракции и в цитоскелете и хроматине). «Быстрые» СБ, по-видимому, синтезируются на предсуществующей мРНК. Нетранслируемые постполирибосомальные мРНК известны в течение многих лет. По всей вероятности, эти мРНК при тепловом шоке используются как матрицы для синтеза «быстрых» стрессовых белков.

Синтез СБ происходит в значительных размерах: у дрожжей, например, они составляют 2.5 % от общего белка, после теплового шока их содержание увеличивается в 5—10 раз (McAlister et al., 1980), в слюнных железах *Drosophila* и в куриных эмбриональных фибробластах эти белки составляют больше 50 % белкового синтеза после теплового шока (Ashburner, Bonner, 1979; Kelley et al., 1980), а в клетках печени гипертермия вызывает увеличение синтеза СБ на 30 % (Акопов и др., 1985).



СБ распределены в разных компартментах клетки. Низкомолекулярные СБ связаны преимущественно с ядерным хроматином, а высокомолекулярные обнаружены главным образом в цитоплазме (Back et al., 1979; Arrigo, 1980; Arrigo et al., 1980; Guttman et al., 1980; Kelley, Schlesinger, 1982; Збарский и др., 1986).

Проблема СБ привлекает пристальное внимание онкологов. Многочисленными исследованиями было показано, что гипертермия может применяться как метод лечения злокачественных заболеваний (Cavaliere et al., 1967; Overgaard, Overgaard, 1972; Gerber et al., 1975; Connor et al., 1977; Miller et al., 1977). Сообщения о гипертермической индукции опухолевой регрессии появились в литературе с конца прошлого века. Наряду с клиническими наблюдениями экспериментальная онкология располагает обширными, хотя и противоречивыми, данными относительно сравнительной устойчивости опухолевых и нормальных клеток. С. Н. Александров (1949) исследовал сравнительную чувствительность нормальных и опухолевых клеток к действию ряда повреждающих агентов (гипертермии, этилового спирта, соляной кислоты). О выживаемости клеток он судил по их витальному окрашиванию. По данным этого автора, злокачественные и нормальные клетки обладают одинаковой чувствительностью к повреждению. В других работах, напротив, было показано, что малигнизированные клетки обладают большей чувствительностью к действию высокой температуры, чем нормальные (Cavaliere et al., 1967; Kasi, Hahn, 1975; Suit, Phil, 1977; Elliott, Morton, 1979; Kim, Hahn, 1979; Hall, 1982; Kang et al., 1982; Виленчик, 1985). Естественно, встал вопрос о природе термолабильности опухолевых клеток и возможной связи ее с синтезом СБ. Как показали исследования Цукеды с сотрудниками (Tsukeda et al., 1981), белки теплового шока содержатся также и в клетках опухолей. Однако синтез этих белков в малигнизированных клетках уменьшается после высокотемпературной обработки (43 °С) в течение 1 ч, в то время как в нормальных клетках при этом происходит активный синтез белков. Синтез белка с М. м. 70 000 значительно стимулируется в нормальных и малигнизированных клетках, а с М. м. 90 000 и 100 000 — только в малигнизированных; напротив, синтез белков с М. м. 200 000 и 250 000 уменьшается в нормальных клетках после тепловой обработки, эти белки очень чувствительны к опухолевой трансформации и называются фибронектинами (Yamada, Olden, 1978; Yamada, Kennedy, 1979; Sekiguchi, Nakamura, 1980).

Таким образом, многочисленные исследования позволяют сделать следующие выводы: 1) опухолевые клетки более чувствительны к гипертермии, чем нормальные, особенно в интервале температур 41.5—42 °С; 2) гипертермия приводит к более эффективному воздействию облучения и химиотерапевтических средств на опухолевые клетки; 3) наиболее чувствительны к нагреву клетки в S-фазе, т. е. в фазе, когда они резистентны к ионизирующей радиации; эта индуцированная СБ радиочувствительность, очевидно, связана с глубокими изменениями хроматиновой структуры, т. е. с чрезмерным увеличением содержания негистоновых белков (Nover et al., 1984); 4) синтез

СБ и кинетика их образования у опухолевых клеток, по-видимому, отличаются от нормальных клеток; однако значение этого фактора до сих пор не выяснено. По данным многочисленных исследователей, существует отчетливая временная корреляция между кинетикой развития толерантности и снижением устойчивости клеток к повреждающим воздействиям, с одной стороны, и кинетикой синтеза и деградацией основных СБ — с другой (McAlister, Finkelstein, 1980; Burdon et al., 1982; Li, Werb, 1982; Li et al., 1982; Subjeck et al., 1982; Tomasovic et al., 1983; Tomasovic, Koval, 1985). Эти данные большинство исследователей считают доказательством адаптационного значения синтеза СБ, их роли в увеличении устойчивости клеток к действию повреждающих факторов. Однако молекулярный механизм их защитного действия до сих пор остается не выясненным. Имеются основания предполагать, что стрессовые белки концентрируются в компартментах клетки и защищают жизненно важные центры клетки от повреждения.

По данным Дельпино с сотрудниками (Delpino et al., 1986), лонидамин [1-(2,4)-дихлорбензил-1Н-индазол-3-карбоновая кислота] — антиопухолевый и антисперматогеенный агент, индуцирует синтез стрессовых белков такого же типа, как и тепловой шок, с М. м. 72 000 и 86 000. Особый интерес представляет тот факт, что лонидамин при воздействии на клетки специфически повреждает митохондрии (они набухают, разрушаются кристы, утрачивается их матрикс). По данным Флориди и Ленинджера (Floridi, Lehninger, 1983), лонидамин ингибирует дыхательную активность митохондрий. Полученные данные авторы интерпретируют как доказательство ключевого значения митохондрий для синтеза стрессовых белков.

Минтон с сотрудниками (Minton et al., 1982) предположил, что механизм активности СБ основан на их действии как антиденатураторов. Для проверки этой гипотезы изучали влияние высокой температуры и этанола на сывороточный альбумин, щелочную фосфатазу и тромбин без и в присутствии высокоустойчивых к денатурации глобулярных белков — РНКазы и овомукоида. Полученные авторами данные (рис. 31—34) свидетельствуют об эффективной стабилизации альбумином активности ферментов в условиях денатурирующего действия нагрева и спирта. Для сравнения авторы исследовали действие известных белковых антиденатураторов — сахарозы, полиэтиленгликоля, декстрана. Механизм стабилизирующего действия антиденатураторов-белков, как полагают авторы, состоит в образовании комплексов в результате белок-белок взаимодействий. Обращает на себя внимание тот факт, что для получения стабилизирующего эффекта необходимы относительно высокие концентрации белковых антиденатураторов. Эти данные, по мнению авторов, находятся в соответствии с высокими концентрациями БТШ в клетке и указывают, что механизм действия БТШ, по-видимому, заключается в стабилизации чувствительных к шоку жизненно важных белков клетки. Минтон считает, что именно высокая концентрация БТШ свидетельствует об их неспецифическом стабилизирующем действии. Если бы функция БТШ была основана на их ферментативной активности, то

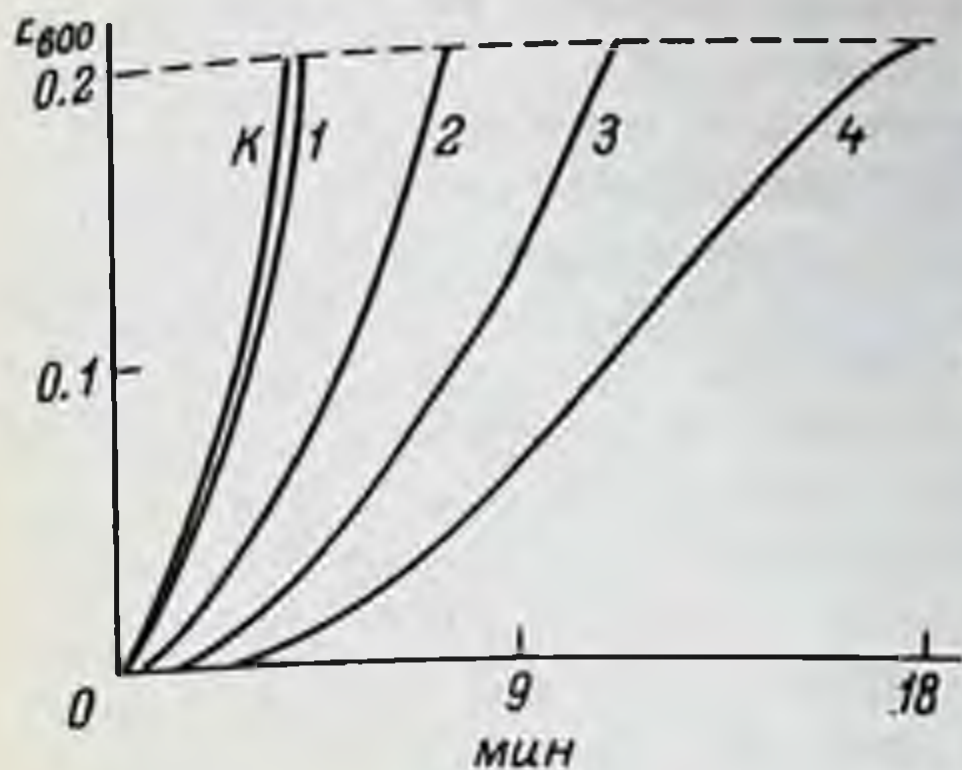


Рис. 31. Изменение оптической плотности сывороточного альбумина (0.3 мг/мл) при 64 °С в присутствии РНКазы (по: Minton et al., 1982).

Концентрация РНКазы: К — 0 %, 1 — 1 %, 2 — 2 %, 3 — 3 %, 4 — 4 %. По оси абсцисс — время инкубации; по оси ординат — оптическая плотность при 600 нм.

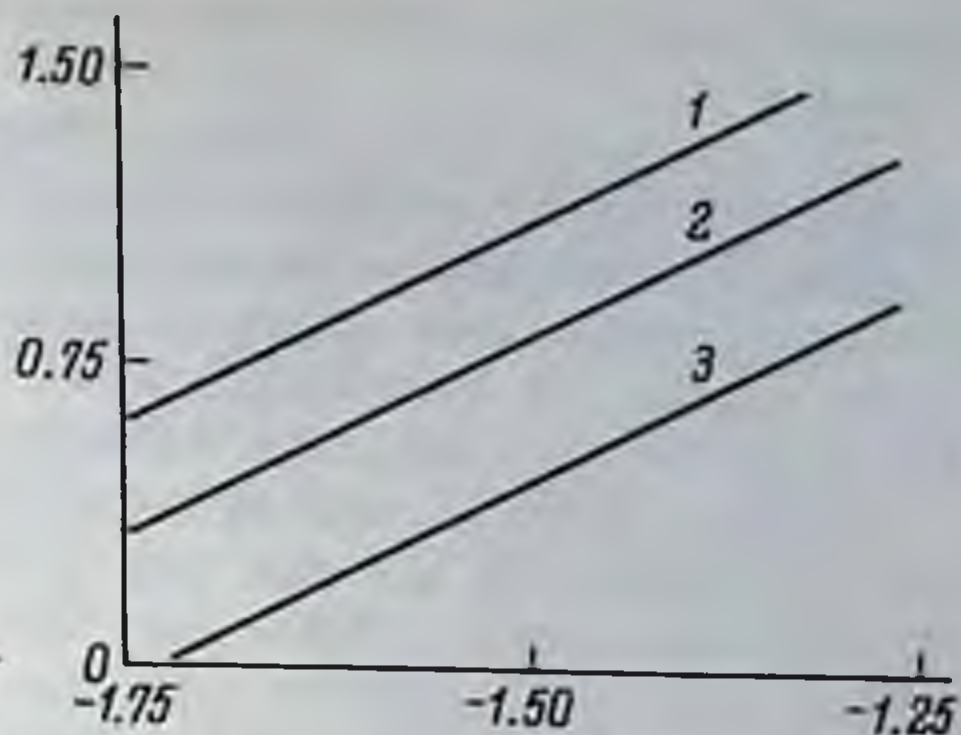


Рис. 32. Влияние овомукоида на коагуляцию альбумина при 64 °С (по: Minton et al., 1982).

1 — контроль, без овомукоида; 2—3 — концентрации овомукоида: 2 — 10 г в 100 мл, 3 — 20 г в 100 мл раствора. По оси абсцисс — логарифм концентрации альбумина; по оси ординат — логарифм скорости коагуляции.

Рис. 33. Действие различных веществ на относительный уровень коагуляции альбумина при 64 °С (по: Minton et al., 1982).

1 — полиэтиленгликоль; 2 — декстран; 3 — овомукоид; 4 — сахароза; 5 — РНКазы. По оси абсцисс — концентрация веществ; по оси ординат — логарифм скорости коагуляции.

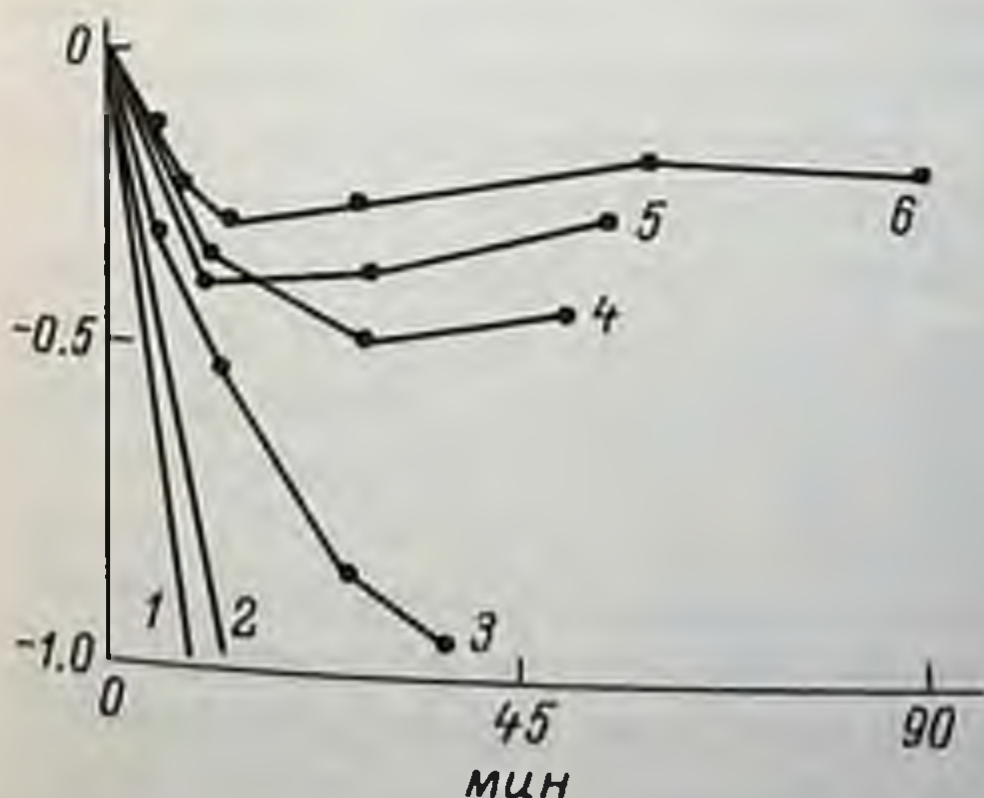
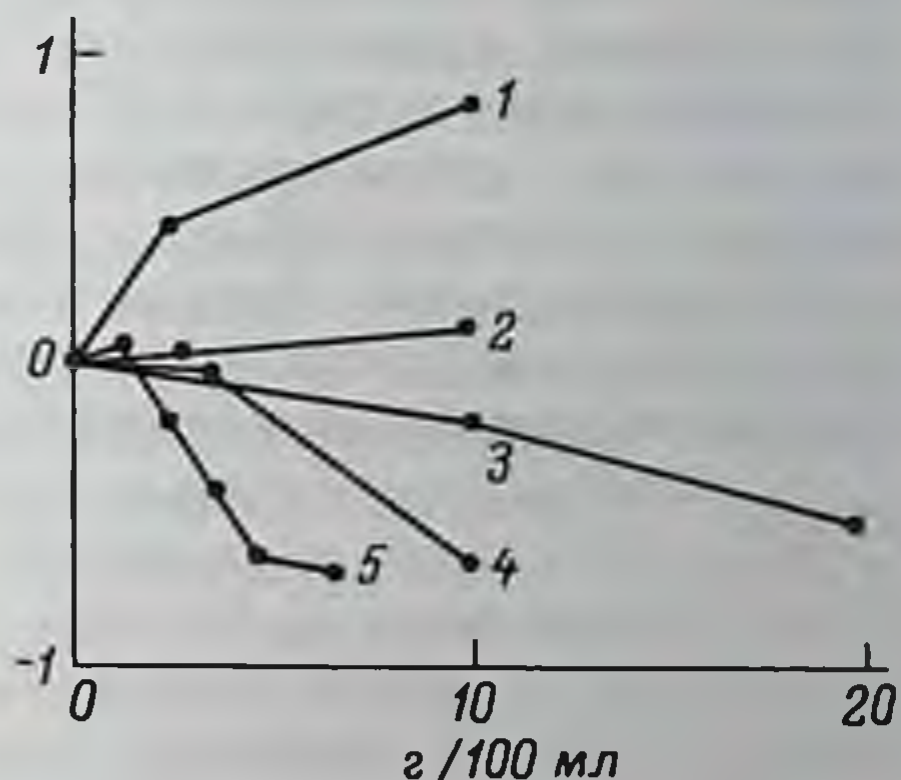


Рис. 34. Зависимость активности тромбина при 54 °С от присутствия ряда веществ (по: Minton et al., 1982).

Вещества (концентрации в г на 100 мл): 1 — полиэтиленгликоль (9.5), 2 — декстран (9.5), 3 — контроль, 4—6 — РНКазы (4 — 3.1, 5 — 6.2, 6 — 12.4). По оси абсцисс — время; по оси ординат — логарифм относительной активности.

трудно было бы представить смысл столь высоких их концентраций в клетке.

Мы использовали модель Минтона для выяснения возможной роли СБ в защите основного белка цитоскелета — актина против гипертермии (подробно об этих опытах см. ниже). Здесь скажем только, что термостабильные белки — овомукоид и РНКаза — активно защищают актин от повреждающего действия высокой температуры и в значительно меньших концентрациях, чем в опытах Минтона.

Следует сказать, что исследования молекулярных основ защитного действия СБ до сих пор развиваются недостаточно широко. Это обстоятельство порождает скепсис в отношении адаптогенных свойств СБ. Так, Арриго (Arrigo, 1980) предполагает участие СБ в репарации клеток после теплового шока. По его данным, подавление синтеза этих белков в культуре ткани дрозофилы препятствует возобновлению синтеза РНК после возвращения клеток к условиям нормальной температуры. В. Я. Александров (1985), отмечая существование корреляции между синтезом СБ и увеличением устойчивости клеток к повреждению, также не считает это убедительным доказательством адаптогенной роли СБ. Ланкс (Lanks, 1986) указывает, что СБ не следует смешивать с группой протеинов, синтез которых индуцируется в клетках при недостатке глюкозы и называемых поэтому «глюкозорегулируемыми белками» (ГРБ). Эти белки по молекулярной массе сходны с СБ, однако их синтез определяется специфическими генами. Заслуживает внимания то обстоятельство, что факторы, стимулирующие синтез СБ, оказывают тормозящее влияние на синтез ГРБ, и наоборот — факторы, тормозящие синтез СБ (недостаток глюкозы, инсулин), усиливают синтез ГРБ. На этом основании Ланкс считает оба класса белков участниками механизма поддержания клеточного гомеостаза.

## ЧАСТЬ ЧЕТВЕРТАЯ

# ИЗМЕНЕНИЯ АКТИНОВЫХ КОМПОНЕНТОВ ЦИТОСКЕЛЕТА ПРИ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОМ АДАПТАЦИОННОМ СИНДРОМЕ КЛЕТОЧНОЙ СИСТЕМЫ

---

### АКТИН В НЕМЫШЕЧНЫХ КЛЕТКАХ

Как указывалось в предыдущих главах, среди показателей повреждения на передний план выступают явления, свидетельствующие об уменьшении дисперсности клеточных коллоидов, что проявляется в увеличении светорассеяния, увеличении вязкости протоплазмы вплоть до ее желатинизации. По поводу молекулярной природы этих изменений был высказан ряд предположений.

В. В. Лепешкин полагал основой этих изменений распад клеточных липопротеинов. Л. В. Гейльбрунн видел в них сходство с процессом свертывания крови, т. е. реакцию, аналогичную превращению растворимого фибриногена в нерастворимый фибрин. Д. Н. Насонов и В. Я. Александров приписывали наблюдаемые изменения денатурации нативных белков протоплазмы. Как видим, выдвигая эти представления, морфология демонстрировала настоятельную необходимость сближения с биохимией. Однако взаимного понимания между морфологией и биохимией не было. Лабильность стабилизированных слабыми связями внутриклеточных протеидов (комплексов белок-белок, белок-липид и т. д.) исключительно велика и несравнима с устойчивостью белков — химических индивидов. Их изолирование из протоплазмы до сих пор представляет нерешенную задачу препаративной биохимии. Таким образом, предположение Лепешкина о взрывчатом характере липопротеинов представляет собой вопрос, решение которого отодвигается в будущее.

Гейльбрунн настаивал на сходстве молекулярных механизмов свертывания протоплазмы и крови. Он, разумеется, знал, что в крови коагулирует фибриноген, составляющий около 4 % от белков плазмы. Природа белка, свертывающегося в протоплазме, по представлениям Гейльбрунна, неизвестна, но в мышечных клетках аналогом фибриногена он считал миозин. Насонов и Александров (1940) неоднократно отмечали сложный состав белков протоплазмы и значительные различия в их устойчивости к денатурирующим воздействиям. Однако конкретные указания на сравнительную устойчивость разных белков отсутствуют, если не считать данных А. С. Трошина (1939) о коагуляции глобулинов как о причине повреждающего действия на мышцы гипотонии.

Столь же неопределенны представления о субстанциональной природе изменений протоплазмы при ее альтерации в работах современных исследователей. По мнению Трампа (Trump et al., 1983), клеточное повреждение — динамический многостадийный процесс. Клетка, подвергшаяся воздействию повреждающего фактора, проходит семь последовательных стадий; некоторые стадии разделяются еще на подстадии, так что выходит не менее 10—12. В схеме Трампа подробно описываются изменения митохондрий и мембран, фигурируют денатурация белков, выход электролитов, изменения цитоскелета, но нет даже упоминания о тех изменениях внутриклеточных белков, которые обнаруживаются в самом начале процесса альтерации. По данным Боулера (Bowler, 1981), первичным эффектом воздействия повреждающего агента является нарушение клеточной мембраны, в которой происходят изменения конформации липидов и белков. Однако на изменения внутриклеточных белков, которые происходят в самом начале процесса альтерации, указаний не имеется.

Мы думаем, что в настоящее время имеются достаточно обоснованные предположения о природе белка, ответственного за изменения, происходящие в клетке при действии на нее повреждающих факторов. Литературные и наши собственные данные убеждают в том, что таким белковым рецептором в клетке является актин и его реакции с другими компонентами клетки.

Актин был открыт в мышцах Штраубом (Straub, 1942). Леви (Loewy, 1952) обнаружил наличие актомиозиноподобного белка в плазмодии миксоциета.

Б. Ф. Поглазовым с сотрудниками (Поглазов, Баев, 1961; Поглазов и др., 1982) присутствие актина и миозина было выявлено в клетках печени, мозга, поджелудочной и щитовидной желез. В последние годы присутствие белков актомиозинового комплекса было установлено в яйцах морского ежа (Kane, 1975), костных клетках (King, Holtrop, 1975), амебе (Pollard, Korn, 1973), тромбоцитах (Pollard, Thomas, 1974) и лейкоцитах человека (Tatsumi et al., 1973), эритроцитах (Sheetz, Singer, 1977), фибробластах (Ostlund, Pastan, 1974), в клетках высших растений (Tiwari et al., 1984) и водорослей (Воробьева, Поглазов, 1963), в *Euglena gracilis* (Lenergan, 1985) и бактериях (Nakamura et al., 1978). Благодаря этим исследованиям сейчас с полной определенностью можно заключить, что актин присутствует во всех клетках (Поглазов, 1981; Korn, 1982), где он составляет 15—20 % общего белка. Следует отметить, что в неммышечных клетках содержится гораздо больше актина, чем миозина (Pollard, 1981b) (табл. 9).

Актин — глобулярный белок. Его молекулярная масса 41 785, диаметр молекулы 4—5 нм, она состоит из одной пептидной цепи из 374 аминокислотных остатков, в том числе один остаток необычной аминокислоты — 3-метилгистидина (Asatoor, Armstrong, 1967); N-концевая аминокислота ацетилована (Elzinga et al., 1973). В молекуле актина содержится большое количество отрицательно заряженных групп, особенно на N-конце: из пяти N-концевых амино-

Таблица 9

Содержание актина и миозина в клетках разного типа (по: Pollard, 1981b)

Белковая система	% от общего белка	Концентрация		Отношение молярное актин/миозин
		мг/г	мкмоль/г	
А к т и н				
Амеба	14	10.5	250	193
Тромбоциты человека	10	10	240	109
Скелетные мышцы кролика	19	37	900	6.2
М и о з и н				
Амеба	0.3	0.2	1.3	—
Тромбоциты человека	1	1	2.2	—
Скелетные мышцы кролика	35	66	144	—

кислотных остатков четыре содержат в боковых цепях карбоксильные группы, а среди первых 25 аминокислотных остатков отрицательно заряжены семь. В результате сравнительных исследований выяснилось, что актин является филогенетически консервативным белком и очень сходен, хотя и не идентичен по первичной структуре и по свойствам, в различных клетках. Отличия немышечных актинов по первичной структуре часто касаются замены одной единственной аминокислоты. Однако в синтезе немышечных актинов и мышечного актина принимают участие различные гены (Elzinga et al., 1976); у крыс обнаружено не менее восьми активных генов (Firtel, 1981; Gunning et al., 1984; Fa-Ten-Kao, 1985).

В клетках млекопитающих обнаружено шесть видов молекул актина, кодируемых разными генами (Маргулис, 1985). Точное картирование генов актина проводилось на препаратах хромосом из слюнных желез *Drosophila melanogaster* и установлено, что эти последовательности хаотично распределены по хромосомам (Fyberg et al., 1981). Полученные данные указывают на то, что гены актина действительно можно отнести к дисперсным (по расположению в хроматине), мультигенным генам. На основании исследования структуры кодирующих последовательностей генов актина и, следовательно, аминокислотных последовательностей можно сделать вывод о наличии небольшого видового и тканевого полиморфизма у этого белка (Dugica et al., 1980; Gallwitz, Sures, 1980; Fyberg et al., 1981; Shan et al., 1982). По данным ряда авторов (Dugica et al., 1980; Merlino et al., 1980), исследовавших экспрессию генов на ранних этапах развития морского ежа, синтезом актина управляют два вида мРНК длиной 2.1 и 1.7 тыс. пар нуклеотидов (т. п. н.). Первая появляется со стадии двух бластомеров и функционирует до

образования гастрюлы и позже. Вторая появляется только через 13 ч после оплодотворения, и ее синтез возрастает в течение 20 ч. Обе актиновые мРНК обнаружены в клетках *Drosophila melanogaster*: транскрипт длиной 2 т. п. н. присутствует на всех этапах эмбриогенеза, тогда как транскрипт длиной 1.77 обнаружен только после 12 ч развития. Предполагают, что эти две мРНК функционируют независимо (Sodja et al., 1982). мРНК из мышцы 12-суточного крысиного эмбриона регулирует в бесклеточной системе синтез  $\beta$ - и  $\gamma$ -изоактинов, из мышцы 18-суточного эмбриона — синтез почти исключительно  $\alpha$ -изоформы (Palmer, Sabogio, 1978).

Разные ткани характеризуются присутствием определенных изоформ актина, основные из которых  $\alpha$ -,  $\beta$ - и  $\gamma$ -изоактины, различаются по аминокислотной последовательности N-концевых пептидов (Van dekerckhove, Weber, 1978a, 1978b)

$\alpha$ -актин: Асп—Глю—Асп—Глю;  
 $\beta$ -актин: Асп—Асп—Асп;  
 $\gamma$ -актин: Глю—Глю—Глю.

Именно эти N-концевые пептиды определяют различия в заряде изоактинов, что свидетельствует о локализации N-концевого пептида на поверхности молекулы.

В скелетных мышцах обнаружен главным образом  $\alpha$ -актин (наиболее кислая форма), который локализуется в миофибриллах. Сократительный аппарат гладких мышц содержит  $\beta$ - и  $\gamma$ -изоактины. В неммышечных клетках синтезируются  $\beta$ - и  $\gamma$ -изоактины, совпадающие по изоэлектрической точке с соответствующими актинами гладких мышц, но отличающиеся от них по аминокислотной последовательности. Наблюдаемые межтканевые различия по изоформам актина следует рассматривать как количественные. В мышечных, а также в неммышечных клетках экспрессируется смесь  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -изоформ актина, но в разных соотношениях. Показано, что в мышечных клетках  $\alpha$ -актин локализован в миофибриллах,  $\beta$ - и  $\gamma$ -актины находятся в цитоплазме (Lubit, Schwartz, 1980). Имеются указания, что  $\gamma$ -актин в клетках связан в основном с митохондриями. К. И. Галактионов с сотрудниками (1985) установил, что в неммышечных клетках  $\alpha$ -актин локализован в ядрах и метафазных хромосомах и отсутствует в микрофиламентах цитоплазмы.

По данным рентгеноструктурного анализа кристаллов  $\Gamma$ -актина в комплексе с ДНКазой I, молекула актина является удлиненной и состоит из двух доменов, общий размер которых составляет  $6.7 \times 4.0 \times 3.7$  нм (Aebi et al., 1980). Сходные размеры ( $5.6 \times 3.3 \times 4.0$  нм) получены при электронно-микроскопическом исследовании негативно окрашенных тяжей актина, полученных в присутствии  $\text{Cd}^{2+}$  (Aebi et al., 1980). Домены актина разделены между собой глубокой щелью. В щели локализована, по-видимому, связанная с актином АТФ, в то время как центры связывания  $\text{Ca}^{2+}$  находятся на поверхности молекулы (Suck et al., 1981).

Немышечные актины имеют по данным электрофореза в полиакриламидном геле молекулярную массу 42 000 (Tilney, Detmers, 1975; Sheetz et al., 1976). В клетках нативный актин присутствует





Рис. 35. Молекулярная организация тонкого филамента (по: Dillon, 1981).

обычно в форме Г-актина (глобулярного), каждая молекула которого связана с остатком АТФ и ионом  $\text{Ca}^{2+}$ . Изолированный Г-актин является термолабильным белком (Neasock et al., 1982), при добавлении солей он превращается в Ф-актин (полимерный, фибриллярный). Полимеризация сопровождается гидролизом АТФ до АДФ. Это та форма актина, которая создает характерные волокна в клетке — микрофиламенты. Ф-актин образует двойную спираль: период спирали соответствует 38 нм при диаметре субъединиц 5.5 нм (Dillon, 1981) (рис. 35).

При взаимодействии с тяжелым меромиозином или его субфрагментом I Ф-актин образует характерные стреловидные структуры (Huxley, 1969), свидетельствующие о полярности нитей. По-видимому, полярность связана с особенностями упаковки мономеров в полимере. Некоторые свойства мономеров в Ф-актине утрачиваются. Так, связанные с Ф-актином АДФ и  $\text{Ca}^{2+}$  в отличие от АТФ и  $\text{Ca}^{2+}$  в Г-актине практически не обмениваются со средой (Martonose, Gougea, 1960). Ф-актин не ингибирует активность ДНКазы I (Blikstad et al., 1978) и устойчив к действию протеолитических ферментов (Nama et al., 1965; Jacobson, Rosenbuch, 1976). Эти различия могут быть следствием появления новых межмономерных активных центров. Не исключено, однако, что они являются результатом конформационных изменений актина при полимеризации.

Кроме Г- и Ф-форм актин может существовать в паракристаллической форме П-актина, или в третьей форме актина. В клетках П-актин обычно наблюдается при взаимодействии Ф-актина с актин-связывающими белками. Функциональное значение этой формы актина недостаточно изучено (Kane, 1975; Palmer, Sabogio, 1978; Harwell et al., 1980).

Используя метод осаждения в градиенте плотности, Кэррвэй и Вейс (Carraway, Weiss, 1985) показали, что в микровиллях клеток асцитной карциномы Эрлиха актин находится в четырех различных формах: Ф-актин, олигомерный актин (актин, состоящий из 2—4 мономеров), актин, связанный с гликопротеинами, и небольшое количество Г-актина.

Актин в немышечных клетках содержится не только в цитоплазме, но также и в ядре. В ооцитах *Xenopus laevis* актин составляет 6% от общего белка ядер (Clark, Meggiam, 1977); 75% ядерного актина распределено диффузно, 25% тесно связано с нерастворимым ядерным гелем. В геле находятся хромосомы, нуклеолы, ядерные гранулы. Полагают, что в ядерном матриксе актин существует в филаментной форме и тесно связан с РНК (Nakayasu, Ueda, 1985).

В большинстве случаев актин равномерно диспергирован по всей цитоплазме, но иногда он присутствует в больших количествах в одних частях клетки и отсутствует в других. Различная локализация актиновых филаментов в клетках объясняется разными механизмами ее регуляции. Существует большое число белков, способных соединяться с актином с высокой константой связывания. Взаимодействие актина с миозином ответственно за подвижность клетки (Kane, 1983). *In vivo*, как и *in vitro*, филаменты актина и миозина взаимодействуют между собой, образуя актомиозиновый комплекс: при этом Mg-активируемая АТФазная активность миозина возрастает в 20—30 раз (Imamura et al., 1965; Ogiol-Audit, 1978). Актин взаимодействует с тяжелым меромиозином, образуя характерные структуры — «оперенные головки». Эта реакция используется для определения локализации филаментов актина в клетке. «Декорирование актина», как называют реакцию актина с тяжелым меромиозином, указывает на наличие периодичности в филаментах и на их полярность (Begg et al., 1978). В каждом исследованном типе клеток, в которых актиновые филаменты прикрепляются к плазматической мембране, «оперенные головки» отходят от мембраны. Эта ориентация отчетливо видна в микровиллях яиц морского ежа и в клетках эпителия.

В клетках актиновые филаменты связаны с двумя другими типами белков — тропомиозином и тропонином. В желобках двунитчатой актиновой спирали располагаются молекулы тропомиозина, составляя единую нить. Каждая молекула тропомиозина в этой нити имеет протяженность, равную 7—8 глобулам актиновой спирали. Тропомиозин частично участвует в стабилизации структуры актиновой протофибриллы. Основная же его роль связывается с регуляцией взаимодействия молекул актина и миозина (Spudich et al., 1972; Wakabayashi et al., 1973). Тропонин присоединяется к тропомиозину через каждые 38 нм вдоль нити Ф-актина (Ohtsuki, 1975) и в отсутствие ионов  $Ca^{2+}$  ингибирует взаимодействие Ф-актина с миозином и подавляет Mg-АТФазу миозина (Hitchcock et al., 1973). Добавление ионов кальция, которые соединяются с С-тропомиозиновой субъединицей, снижает ингибиторный эффект тропонина. Актин, тропомиозин и тропонин находятся в микрофиламентах в соотношении 7 : 1 : 1 соответственно (Potler, 1976).

Актин связан с плазматическими мембранами и составляет 13—19 % общего мембранного белка (Therrien et al., 1984). Из белков, осуществляющих контакт актиновых филаментов с клеточной мембраной, наиболее хорошо изучен спектрин, выделенный вместе с актином из теней эритроцитов (Ralston, 1978; Cohen, 1983). Он состоит из двух субъединиц с М. м. 240 000 и 220 000. К сопутствующим спектрину белкам относятся анкирин (М. м. 200 000) и белки с М. м. 80 000. Они образуют стабильные комплексы с очищенным спектрином и повышают его способность связываться с мембраной (Tyler et al., 1979). В процессе связывания актина с плазматической мембраной определенная роль приписывается также и некоторым белкам, которые идентичны по функциям и организации

спектрину эритроцитов. К этим белкам относятся  $\alpha$ -актинин, фимбрин, винкулин, талин. Они обнаружены в клетках разного типа: в ткани мозга, клетках мозжечка, эпителии кишечника, фибробластах, клетках HeLa (Geiger et al., 1980; Bennett et al., 1982). Эти белки сконцентрированы в тех областях клетки, в которых оканчиваются пучки микрофиламентов, т. е. в местах актин-мембранных контактов (Manseau, Burridge, 1984). Исследования показали, что  $\alpha$ -актинин может специфически взаимодействовать с мембраной только в том случае, если она содержит диацилглицерол (ДГ) и пальмитиновую кислоту (ПК). Одной из важных функций ДГ является активация  $\text{Ca}^{2+}$ -фосфолипидзависимой протеинкиназы С. In vitro в присутствии ДГ и ПК образуется комплекс между  $\alpha$ -актином и актином, который напоминает видимые в электронном микроскопе микрофиламентные пучки. Таким образом,  $\alpha$ -актинин может быть одним из белков, непосредственно участвующих в образовании структур, связывающих цитоскелет с мембраной (Burridge, Urvine, 1984; Nishizuka, 1984; Burg et al., 1985).

#### АКТИН И ЕГО РОЛЬ В ОРГАНИЗАЦИИ ЦИТОСКЕЛЕТА

Исследование структуры цитоплазмы — традиционная, но не теряющая актуальности проблема биологии клетки. Еще Н. Н. Кольцов (1936) предполагал, что определенную роль в поддержании формы клетки и организации ее движений играют некоторые внутриклеточные структуры. Нидхэм (Needham, 1937) ввел в биологию клетки понятие «цитоскелет», считая основой организации протоплазмы ориентированные волокна и нитчатые молекулы. Благодаря развитию электронной микроскопии были обнаружены: микротрубочки (МТ) диаметром 20—25 нм, промежуточные филаменты (ПФ) толщиной 8—10 нм и микрофиламенты (МФ) толщиной 5—7 нм. Методы биохимии и иммунофлюоресцентной микроскопии позволили идентифицировать их белковый состав (Когн, 1978, 1982; Lazarides, 1980; Schliwa et al., 1982; Гельфанд, Розенблатт, 1984). Однако для того чтобы понять, каким образом совокупность фибриллярных структур, составляющих цитоскелет (ЦС), функционирует в процессах движения и изменения формы клеток, необходимо выяснить, как филаменты ЦС связаны друг с другом и с другими клеточными структурами. Большие возможности для этого открывает метод реплик: если изолированный ЦС, полученный в результате экстракции детергентами, зафиксировать, высушить, напылить тонким слоем металла, а затем снять полученную реплику и исследовать ее с помощью электронного микроскопа, то можно наблюдать 3-мерную структуру ЦС (Trotter, Kelley, 1979; Heuser, Kirschner, 1980; Гельфанд, Бершадский, 1982). Т. М. Свиткина с сотрудниками (1983), используя этот метод, охарактеризовали общий план строения ЦС мышечных эмбриональных фибробластов. Авторы показали наличие в клетке четырех зон ЦС (рис. 36 и 37): зона I — самая периферическая часть клетки. Она представляет собой очень густую сеть, состоя-

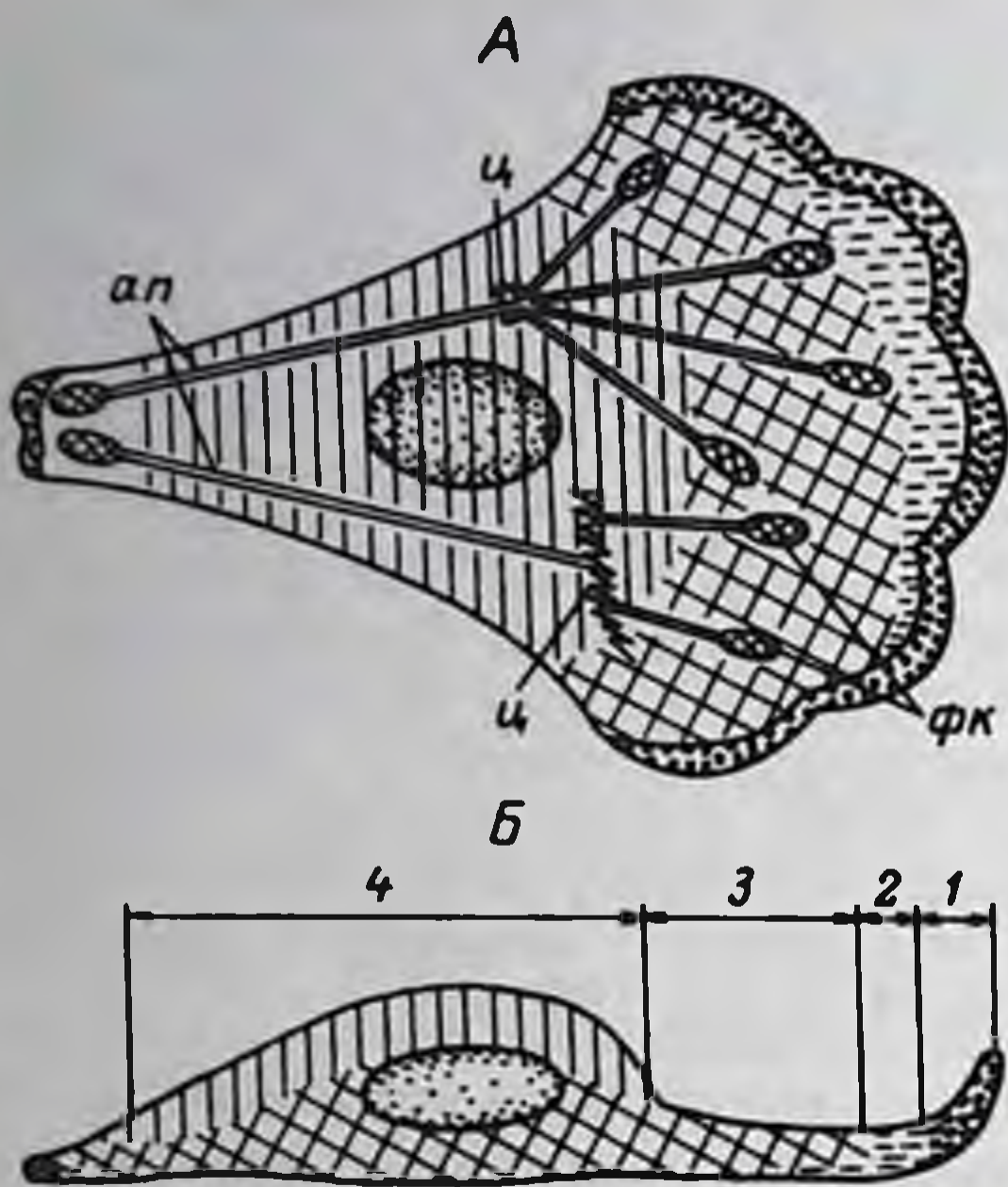


Рис. 36. Схема регионализации цитоплазмы мышечного эмбрионального фибробласта (по: Свиткина и др., 1983).

А — вид сверху; Б — разрез вдоль длинной оси клетки. 1—4 — зоны цитоплазмы, различающиеся по строению цитоскелета; ап — актиновые пучки; фк — фокальные контакты; ц — центры организации актиновых пучков.

шую из соединенных под разными углами коротких отрезков тонких фибрилл (3—11 нм). Эти фибриллы являются актиновыми филаментами. Другие типы фибрилл в зоне 1 не обнаружены. Зона 2 начинается сразу за зоной 1. Она имеет сравнительно небольшую ширину — до 6 нм. Характерной особенностью зоны 2 является очень малое содержание в ней цитоскелетных структур. Здесь встречаются фибриллы с диаметром 24—27 нм, которые идентифицируются по толщине и характеру своего расположения как микротрубочки. В зоне 2 присутствуют островки сетчато-гранулярного материала, по структуре напоминающие сети микрофиламентов. Зона 3 представляет собой переплетение всех трех основных типов фибрилл — микротрубочек, промежуточных филаментов, микрофиламентов. Микрофиламенты в зоне 3 находятся как в виде пучков, так и поодиночке. В дополнение к основным трем типам фибрилл в этой зоне часто встречается еще один тип — очень тонкие (5—7.5 нм) и довольно короткие (до 15 нм) мостики между различными или однотипными фибриллами. Зона 4 — центральная, околоядерная, часть клетки, в которой находится плотный слой микрофиламентов. Этот слой называют кортексом. Кортекс имеет разную плотность в разных районах зоны. Вблизи ядра и над ядром он довольно редкий с большим количеством отверстий. По мере удаления от ядра кортекс часто сгущается в сплошной пласт, а затем снова разрежается, разделяясь на серию пучков.

Таким образом, на основании данных электронномикроскопических исследований можно заключить о преимущественной локализации актиновых филаментов на периферии клетки. Такое распределение является правилом как для свободно двигающихся клеток, так и для



Рис. 37. Типы организации актиновых микрофиламентов в немышечных клетках (по: Пинаев, 1985).

клеток в тканях. Актиновые филаменты представлены в клетках несколькими типами (Stossel, 1984; Пинаев, 1985) (рис. 37).

Первый тип — стресс-фибриллы или пучки параллельно ориентированных нитей, обнаруженные в фибробластах, эпителиальных клетках в культуре, в эндотелиальных клетках *in situ*, в цитоплазме амёб. Стресс-фибриллы представляют собой длинные пучки микрофиламентов, пронизывающих клетку насквозь и соединяющие места взаимодействия поверхности клеток с субстратом (фокальные контакты) или другими клетками, а также с противоположными участками клеточной мембраны. Иногда они образуют целые слои или пласты микрофиламентов (Coldman et al., 1976).

Второй тип — сеть актиновых филаментов, которая по внешнему виду напоминает рыболовную сеть с треугольными отверстиями, ориентированная вокруг ядра. В точках соединения пучков микрофиламентов образуются «узлы» или «фокусы» сети. Расстояние между «фокусами» около 3.7 нм (Lazarides, 1976; Roizen et al., 1978).

Третий тип — довольно длинные актиновые волокна, локализующиеся на различных полюсах клетки и встречающиеся в фибробластах и эпителиальных клетках. Эти волокна составляют так называемую периферийную, примембранную сеть микрофиламентов.

Основная масса актина в клеточном кортексе состоит из коротких волокон, которые образуют относительно изотропную структуру. Эта система филаментов называется микрофиламентной сетью и представляет собой основную актиновую организацию, которая разрушается цитохалазином. Сети актиновых филаментов составляют периферию подвижных клеток, таких как амёбы, макрофаги, лейкоциты, клетки тканевых культур, трансформированных онкогенными вирусами. Наличием такого обширного изотропного матрикса актиновых филаментов можно объяснить гелеобразную структуру, которая существует на периферии цитоплазмы. Размеры пор геля могут определять включение органелл определенного размера. Возможно, что нарушение сети ответственно за переход цитоплазматического матрикса от геля к более жидкому состоянию, в котором органеллы способны перемещаться более свободно (Gruenstein et al., 1975; Weihing, 1976).

Еще относительно мало изучены плотные тела, которые в немембранных клетках расположены главным образом у клеточной мембраны и редко встречаются в цитоплазме. Поскольку все микрофиламентные структуры имеют контакт с мембранами, такое расположение плотных тел представляется закономерным (Schollmeyer et al., 1976). Недавно в цитоплазме фибробластов были обнаружены вытянутые плотные структуры. К числу плотных тел можно отнести также фокальные контакты, которые возникают под мембраной в момент прикрепления клетки к субстрату. От фокальных контактов берут начало стресс-фибриллы (Свиткина и др., 1983). Аналогичный электронно-плотный материал, от которого отходят пучки актиновых микрофиламентов, найден в микроворсинках кишечного эпителия (Mooseker, Tilacy, 1975) и в акросоме сперматозоидов (Tilney, 1978; Tilney, De Rosier, 1980). Эти электронно-плотные тела содержат в своем составе набор актинсвязывающих белков типа спектрина,  $\alpha$ - и  $\beta$ -актининов, винкулина, филамина, гельзолина и ряда других, которые способны вызвать диссоциацию комплекса актина с белком, подавляющим его полимеризацию, инициировать полимеризацию актина, способствовать наращиванию длины полимера актина и прекращать полимеризацию по достижении определенной длины полимера.

Имеются указания на то, что актиновые филаменты взаимодействуют с микротрубочками. Об этом свидетельствует, в частности, совместная локализация МТ и актина в митотическом веретене делящихся клеток. Поллард с сотрудниками (Pollard et al., 1984) на основании опытов *in vitro* приходит к выводу о возможности взаимодействия актина с МТ. Актиновые филаменты и МТ *in vitro* образуют гель. Под электронным микроскопом видно, что актиновые филаменты располагаются приблизительно на расстоянии 10 нм от поверхности МТ. АТФ и некоторые другие нуклеотидфосфаты ингибируют желатинирование комплексов актиновых филаментов и МТ. Взаимодействие актиновых филаментов с МТ зависит от присутствия белков, связывающих МТ (МАР, microtubules associating proteins). Вопрос о том, как осуществляется регуляция взаимодействия актиновых филаментов с МТ, еще мало исследован. Авторы указывают, что уровни фосфорилирования МАР определяют их способность поперечно связывать актиновые филаменты. Связь между МАР и МТ — прочная, а с актиновыми филаментами относительно слабая. Вопрос о функциональном значении этих взаимодействий еще не ясен. Поллард с сотрудниками высказывает предположение, что они играют роль в двигательных реакциях клетки и определяют целостность цитоплазматического матрикса. Т. М. Свиткина и Ю. М. Васильев (1986), используя колцемид для разрушения МТ и электронно-микроскопический метод платиновых реплик, исследовали влияние МТ на организацию актинового ЦС. Разрушение МТ колцемидом вызывает глубокие перестройки всего ЦС. Эти данные свидетельствуют о том, что целостность системы МТ необходима также для поддержания нормальной структуры системы актиновых МФ в клетке, главным образом микрофиламентного кортекса.

Итак, в настоящее время не вызывает сомнения утверждение о том, что система актиновых МФ представляет существенный элемент ЦС клетки, определяющий ее подвижность (Когн, 1982). Во многих клетках, в частности у амёб, нет промежуточных филаментов и очень мало МТ, отсюда следует, что актиновые филаменты одни в состоянии обеспечить образование геля в цитоплазме этих клеток. В других типах клеток в золь-гель переходах могут играть роль и МТ и промежуточные филаменты. Но по общему мнению актиновые сети являются фундаментальным компонентом цитоплазматической структуры для большинства клеток (Pollard et al., 1982).

На симпозиуме, посвященном вопросам структуры и функции цитоматрикса, преобладало мнение о том, что основная структурная организация цитоматрикса — микротрабекулярная решетка (МТР). МТР связывает все структуры в клетке и оказывает влияние на свойства цитоплазмы (Porter, 1984; Satir, 1984). Структура МТР изменяется под влиянием цитохалазина и различной концентрации в среде ионов  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{H}^+$  и др. При действии цитохалазина происходят глубокие изменения ЦС. В результате взаимодействия цитохалазина с актиновыми филаментами сеть распадается и филаменты оказываются свободными. Это наблюдение показывает, что разрушение сети — процесс не энергозависимый (McLean-Fletcher, Pollard, 1980; Schliwa et al., 1982). Возвращение к исходному состоянию, когда восстанавливаются нормальные условия, происходит удивительно быстро. Протоплазма, говоря словами Портера, это живой гель, способный отвечать обратимыми структурными изменениями на многочисленные стимулы (Porter, 1984).

#### ПОЛИМЕРИЗАЦИЯ АКТИНА И РЕАКЦИИ ЕГО С АКТИНСВЯЗЫВАЮЩИМИ БЕЛКАМИ

Присутствие актина в немышечных клетках усилило интерес к его реакциям, в частности к реакциям полимеризации и деполимеризации. По общему мнению, эти реакции играют важную роль в различных клеточных функциях и во взаимодействиях плазматической мембраны с компонентами ЦС.

Процесс полимеризации является предметом многочисленных исследований. К настоящему времени накоплено много фактов, касающихся инициации этого процесса, его регуляции и механизма, роли нуклеотидов, структуры образующегося полимера.

Распространено мнение, что в мышцах полимеризация актина происходит однократно и весь актин присутствует в полимерной форме, образуя I-диски. Однако эта точка зрения разделяется не всеми. В частности, Б. Ф. Поглазов (1983, с. 668) пишет: «По-видимому, подобное мнение недостаточно обосновано и будет пересмотрено. Во всяком случае, практика получения актина из поперечнополосатых мышц животных свидетельствует о том, что при

простой экстракции водой в отсутствие деполимеризующих агентов из мышечной ткани можно выделить довольно большое количество Г-актина».

Микрофиламенты ЦС в немышечных клетках могут собираться и разбираться многократно. Однако принципиальной разницы между процессами полимеризации в мышечной ткани и немышечных клетках, по-видимому, нет. Более того, сравнение актина из различных сократительных систем выявило некоторые особенности его структуры, существенные для полимеризации, а факторы, влияющие на полимеризацию актина (ионная сила, содержание дивалентных ионов и полиаминов, нуклеотидов, регуляторные белки) в мышечных и немышечных сократительных системах, по-видимому, в значительной степени сходны (Когп, 1982).

Уже в первых работах по исследованию актина (Straub, Feuer, 1950) было выявлено значение АТФ и АДФ для полимеризации актинсвязывающих нуклеотидов. Эти нуклеотиды поддерживают актин в конформации, способной к полимеризации (Поглазов, 1961, 1962, 1965; Asakura, 1961; Waechter, Engel, 1977). При физиологических концентрациях  $\text{Ca}^{2+}$  мономерный актин связывает АТФ с более высоким сродством, чем АДФ (Seidel et al., 1966; Cooke, Murdoch, 1973; Wanger, Wegner, 1983). При полимеризации происходит гидролиз АТФ и образование АДФ, который оказывается прочно связанным с белком и трудноотделимым от него (Kasai et al., 1962a, 1962b). Хашимото с сотрудниками (Hashimoto et al., 1986) исследовал полимеризацию актина и освобождение АТФ в тромбоцитах при действии фаллоидина, цитохалазина и других эффекторов. По данным авторов, полимеризация актина находится в корреляции с освобождением АТФ и не оказывает влияния на агрегацию тромбоцитов.

Полимеризация Г-актина инициируется при добавлении нейтральных солей. Скорость процесса максимальна при концентрации  $\text{KCl}$  и  $\text{NaCl}$  0.1—0.15 моль/г (Feuer et al., 1948). Ионы  $\text{Mg}^{2+}$  в значительной мере способствуют ускорению полимеризации, вызванной одновалентными катионами, но могут и сами вызвать полимеризацию в отсутствие других ионов. Добавление ионов  $\text{Ca}^{2+}$  также вызывает полимеризацию Г-актина, если в среде нет других ионов, и подавляет полимеризацию, вызванную одновалентными катионами (Feuer et al., 1948; Kasai et al., 1962a, 1962b). Эффективность катионов при полимеризации усиливается в ряду  $\text{Rb}^+ < \text{K}^+ < \text{Na}^+ < \text{Li}^+ < \text{Mg}^{2+} < \text{Ca}^{2+}$  (Mommerts, 1952). Полимеризация происходит также при понижении рН (Steiner et al., 1952; Поглазов, Баев, 1961).

Значительный интерес представляет открытие Ориол-Аудит (Oriol-Audit, 1978, 1985) специфической индукции полимеризации актина под влиянием полиаминов. Структуры некоторых полиаминов приводятся в табл. 10. Эти соединения содержат в молекуле несколько аминных групп и при физиологических рН в значительной степени протонированы и функционируют как поликатион-кислоты. Полиамины известны давно. Они представляют собой постоянные компоненты протоплазмы и находятся в ней в комплексе с нуклеи-



Значения полимеризации актина, полученные в присутствии различных диаминов, полиаминов и производных гуанидина при их концентрации 0.5 ммоль/л, рН 7.5 (по: Oriol-Audit, 1978)

Название вещества	Формула	Значения полимеризации, %
Диамины или полиамины		
Этилендиамин	$\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}_2$	5
1,3-диаминопропан	$\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_3-\text{NH}_2$	33
1,4-диаминобутан (путресцин)	$\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_4-\text{NH}_2$	47
1,5-диаминопентан (кадаверин)	$\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_5-\text{NH}_2$	52
1,6-диаминогексан	$\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_6-\text{NH}_2$	58
Спермидин	$\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_4-\text{NH}-(\text{CH}_2)_3-\text{NH}_2$	89
Спермин	$\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_3-\text{NH}-(\text{CH}_2)_4-\text{NH}-(\text{CH}_2)_3-\text{NH}_2$	93
Производные гуанидина		
Агматин	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N} \\ \diagdown \\ \text{C} \\ \diagup \\ \text{HN} \end{array} - \text{NH} - (\text{CH}_2)_4 - \text{NH}_2$	57
Аркаин (1,4-диамидино-путресцин)	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N} \\ \diagdown \\ \text{C} \\ \diagup \\ \text{HN} \end{array} - \text{NH} - (\text{CH}_2)_4 - \text{NH} - \begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \diagup \\ \text{C} \\ \diagdown \\ \text{NH} \end{array}$	80
Аудовин (1,5-диамидино-кадаверин)	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N} \\ \diagdown \\ \text{C} \\ \diagup \\ \text{HN} \end{array} - \text{NH} - (\text{CH}_2)_5 - \text{NH} - \begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \diagup \\ \text{C} \\ \diagdown \\ \text{NH} \end{array}$	78
Гирудонин (1,7-диамидино-спермидин)	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N} \\ \diagdown \\ \text{C} \\ \diagup \\ \text{HN} \end{array} - \text{NH} - (\text{CH}_2)_4 - \text{NH} - (\text{CH}_2)_3 - \text{NH} - \begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \diagup \\ \text{C} \\ \diagdown \\ \text{NH} \end{array}$	98

новыми кислотами и белками (Williams-Ashman, Cannelakis, 1980; Haddox, Russel, 1981; Chen, 1983; Roch et al., 1983; Selmeci et al., 1985). Пути биосинтеза полиаминов в клетке многообразны. У эукариотов они образуются при декарбоксилировании орнитина, осуществляемом под влиянием орнитиндекарбоксилазы — фермента чрезвычайно высокой активности. В результате этой реакции возникает путресцин, являющийся предшественником ряда других полиаминов (спермидина, спермина). В последние годы интерес к полиаминам резко усилился в связи с открытием их способности стимулировать деление и дифференцировку клеток, а также их возможной роли в индукции опухолевого роста.

В работах Ориол-Аудит с сотрудниками (Oriol-Audit, 1982; Grant et al., 1983, 1984; Grant, Oriol-Audit, 1985) исследовано влияние большой группы полиаминов на полимеризацию актина. По данным авторов, полиамины в небольших концентрациях в отсутствие солей и двухвалентных катионов индуцируют полимеризацию актина. На рис. 38 приводятся результаты опыта, в котором исследовано изменение вязкости раствора Г-актина при введении в него полиаминов. Как видно, растворы полиаминов при концентрации 0.5—2.0 ммоль/л вызывают практически 100 %-ную полимеризацию Г-актина. Полимеризационная способность полиаминов находится в корреляции с числом метиленовых ( $-\text{CH}_2-$ ) групп в их молекуле; спермидин, спермин и гирудонин проявляют полимеризационный эффект в наибольшей степени по сравнению с другими полиаминами (табл. 10). Полимеризационная активность моноаминов проявляется слабо. Состав и свойства Ф-актина, получаемого в результате действия полиаминов, не отличаются от состава и свойств Ф-актина, образующегося в результате действия KCl. Полиамины индуцируют полимеризацию актина значительно более эффективно, чем другие биологические катионы, а также  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Mg}^{2+}$ . Варьируя концентрации спермина или спермидина, получают полимерный актин в виде филаментов, пучков или паракристаллов. Пучки актиновых филаментов, образованные под влиянием полиаминов, разрушаются при введении в раствор цитохалазина или АТФ. Пучки актиновых филаментов образуют с миозином комплекс, обладающий высокой АТФазной активностью. По мнению Ориол-Аудит, полимеризационная активность полиаминов не может быть обусловлена увеличением ионной силы, так как активность полиаминов проявляется в очень малых концентрациях. Есть основания считать, что способность полиаминов вызывать полимеризацию актина является их специфическим свойством.

Мы уже указывали, что при повреждении клетки наблюдается выход полиаминов в окружающую среду (Bowleg, 1981). Образование полиаминов в процессе альтерации может быть следствием стимуляции их биосинтеза или освобождения их из соединений с белками, РНК и другими полианионами. Есть основание предполагать, что полиамины наряду с катионами другого характера ( $\text{K}^+$ ,  $\text{H}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  и др.), освобождающимися при повреждении клетки, могут индуцировать полимеризацию актина, столь характерную для адаптационного синдрома. Ориол-Аудит высказывает интересные соображения о значении в механизме полимеризации регулярного расположения карбоксильных групп в молекуле актина и их взаимодействия с полиаминами.

Способность катионов индуцировать полимеризацию актина наводит на мысль, что этот процесс нуждается в нейтрализации отрицательного заряда молекулы актина. Однако ряд факторов противоречит «электростатической» теории полимеризации. Например, миллимолярные концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  стимулируют полимеризацию, а большие концентрации ее ингибируют (Danberg, Löw, 1977). Критические концентрации KCl,  $\text{MgCl}_2$  и  $\text{CaCl}_2$ , ниже которых актин

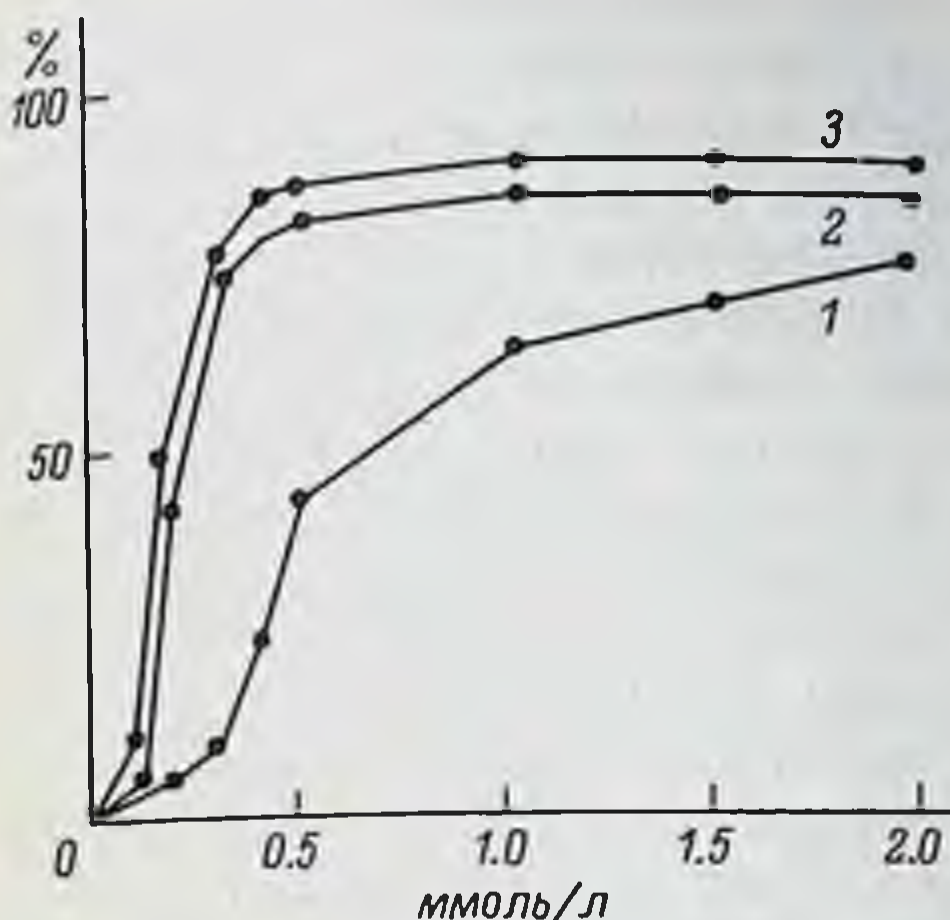


Рис. 38. Зависимость степени полимеризации актина от концентрации полиамина (по: Oriol-Audil, 1982).

1 — путресцин; 2 — спермидин; 3 — спермин. По оси абсцисс — концентрация полиамина; по оси ординат — полимеризация актина, % от контроля.

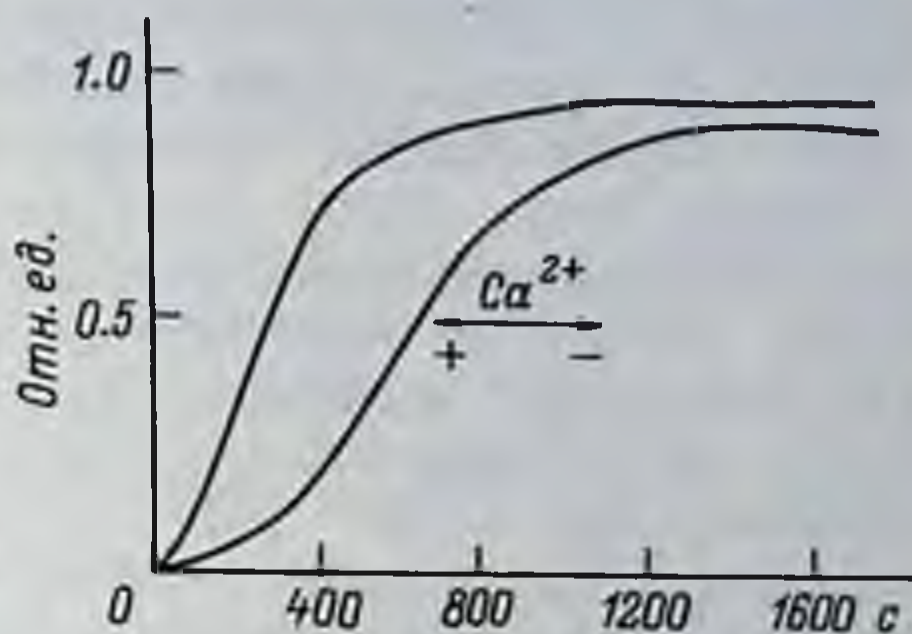


Рис. 39. Характер  $Mg^{2+}$ -индуцируемой полимеризации  $\Gamma$ -актина (23.5 мкмоль/л) в зависимости от наличия  $Ca^{2+}$  (400 мкмоль/л) (по: Frieden, Goddette, 1983).

По оси абсцисс — время; по оси ординат — изменение флуоресценции.

не может существовать в филаментной форме, установлены следующие:  $KCl$  — 8 ммоль/л,  $MgCl_2$  — 0.2 ммоль/л,  $CaCl_2$  — 0.4 ммоль/л; концентрация актина — 0.5 мг/мл, pH 8.0, 25 °C (Maquyama, Tsukagoshi, 1984).

Эксперименты показали, что  $\Gamma$ — $\Phi$ -трансформация актина — сложный феномен и включает несколько стадий: 1) активация, т. е. изменение конформации молекул актина; 2) нуклеация, в результате которой активированные мономеры контактируют друг с другом с образованием димеров, тримеров; в результате образуется олигомер, который медленно диссоциирует, но быстро присоединяет димеры, т. е. образуются затравки для полимеризации актина; 3) элонгация — стадия образования полимера.

Скорость полимеризации зависит от уровня конформационных изменений актина. Фриден и Годеттен (Frieden, Goddette, 1983) показали (рис. 39), что  $Ca^{2+}$  эффективно снижает количество индуцируемых конформационных изменений, необходимых для полимеризации (время полимеризации увеличивается, а уровень ее уменьшается). Авторы подчеркивают важность активации конформационных изменений в актине до полимеризации.

Существуют значительные отличия в реакциях  $\Gamma$ - и  $\Phi$ -форм актина с различными реагентами. Например, из пяти остатков цистеина в молекуле  $\Gamma$ -актина, локализованных на местах 10, 217, 256, 283 и 373, способность к взаимодействию с 3,2-дикарбокси-4-йодацетамидазобензолом проявляют цистеины на местах 10, 283, 373, в то время как в молекуле  $\Phi$ -актина реакционноспособным

оказывается только цистеин-10 (Lusty, Fasold, 1969). Диэтилпирокрбонат присоединяется к гистидину-40 в Г-актине, но не в Ф-актине; в этом случае полимеризация Г-актина ингибируется. Актин теряет способность к полимеризации при модификации Тир-53 в результате взаимодействия с 5-дiazонием тетразолия (Bender et al., 1976), при карбоксилировании Гис-40 (Mühlrad et al., 1969), нитровании Тир-69 (Lehger, Elzinga, 1972) и фотоокислении 3-МеГис-73 (Johnson, Perry, 1970). Доступность этих остатков при полимеризации уменьшается. Известно также, что индуцируемая солями способность актина к полимеризации утрачивается при отщеплении 69 N-концевых аминокислотных остатков (Jacobson, Rosenbuch, 1976), но не теряется при отщеплении C-концевого фенилаланина (Dgrabikowski et al., 1977). Эти наблюдения дают возможность заключить, что области, близкие к NH<sub>2</sub>-концам, вовлекаются в конформационные изменения, которые сопровождают полимеризацию.

Ряд авторов (Strömngvist et al., 1984) наблюдали увеличение скорости полимеризации актина при действии глицерина, полиэтиленгликоля, этанола. Они объясняют этот эффект способностью указанных веществ изменять конформацию актина.

Вопрос о том, создается ли «готовность к полимеризации» молекул Г-актина в результате воздействия электролитов и других агентов до их ассоциации или конформационные изменения молекул белка возникают уже в полимере, в образовании которого принимает участие агент, в виде солевых или иных мостиков.

Исследуя свойства Г-актина в присутствии KCl (0.1 моль/л), но при концентрации белка ниже критической, т. е. в условиях, когда полимеры не образуются и межмономерные взаимодействия исключены, Рич и Эстес (Rich, Estes, 1976) показали, что при этом, оставаясь мономером, Г-актин становится столь же устойчивым к протеолизу, как и Ф-актин, т. е. происходят какие-то конформационные изменения Г-актина, вызванные KCl. Мономер актина (Г\*-актин или Ф-мономер актина) отличается от Г-актина устойчивостью к действию протеолитических ферментов. Он отличается и по дифференциальному спектру поглощения в УФ-области, а также по интенсивности спектра флуоресценции, но не отличается по спектрам кругового дихроизма и инфракрасным спектрам (Hegyű, Venyaminol, 1980; Rouayrenc, Travers, 1981; Pardee, Spudich, 1982; Varden et al., 1983; Fischer et al., 1983). Ряд биохимических экспериментов также подтверждает наличие конформационных изменений, предшествующих полимеризации. Исследование полимеризации актина при низкой концентрации MgCl<sub>2</sub> (0.3—0.5 ммоль/л) показало, что добавление зародышей полимеризации одновременно с MgCl<sub>2</sub> уменьшает латентный период реакции, но не уничтожает его полностью. Если добавление зародышей полимеризации предшествует инкубации Г-актина в MgCl<sub>2</sub>, то латентный период исчезает, а скорость реакции увеличивается. Во время латентного периода наблюдается изменение флуоресценции актина, меченного по Цис-373 (Frieden et al., 1980; Gerschman et al., 1980). Убедительным доводом в пользу активации мономера на первой стадии полимеризации

являются также данные о том, что фрагмент актина, не содержащий 68 N-концевых аминокислотных остатков, восстанавливает способность к полимеризации после обработки мочевиной при концентрации 4 моль/л, т. е. после конформационных перестроек молекулы (Johnson et al., 1979). Наличие конформационных изменений в молекуле Г-актина при соответствующих условиях было доказано по изменениям спектра электронно-парамагнитного резонанса (Hagwell et al., 1980).

Конформационные изменения в молекуле Г-актина (при концентрации Г-актина выше критической) позволяют мономерам актина контактировать друг с другом с образованием димеров, тримеров, олигомеров. Эти события составляют стадию нуклеации (Tilney, Tilney, 1984). Величина критической концентрации актина зависит от ионной силы раствора и состава ионов, рН, температуры и от свойств самого актина. Показано, что при одной и той же ионной силе раствора критическая для полимеризации концентрация  $\beta$ - и  $\gamma$ -актинов (0.07—0.09 мг/мл) выше, чем критическая концентрация  $\alpha$ -актина (0.02—0.05 мг/мл). Различия в критических концентрациях значительно увеличиваются с понижением температуры (Prochniewicz, Yanagida, 1981). Гершман с сотрудниками (Gerschman et al., 1984) указывал, что связанный с  $Mg^{2+}$  актин начинает образовывать ядра гораздо быстрее, чем актин, связанный с  $Ca^{2+}$ , и образует более стабильные полимеры. Авторы предполагают, что прочно связанные дивалентные катионы оказывают значительное влияние на полимеризацию актина. Скорость образования зародышей увеличивается также при снижении концентрации АТФ в растворе (Fung, Eyoob, 1983).

Кроме того, эффективными стимуляторами нуклеации являются различные механические воздействия (быстрое вращение, пропускание через капилляр, обработка ультразвуком) (Maquama, 1981; Feggi, Ggazi, 1982). Зародыши полимеризации удалось выделить и охарактеризовать с помощью жидкостной хроматографии под давлением (Varden et al., 1982; Ggazi et al., 1984). По данным электронной микроскопии, зародыши полимеризации представляют собой нерегулярные агрегаты диаметром 10—20 нм (Ggazi et al., 1984). Существует несколько примеров возникновения и организации центров образования актиновых филаментов. Было показано, что образование акросомального отростка-актомера начинается в сперматозоиде морского ежа при контакте его яйца с яйцеклеткой. В этот момент происходит каскад реакций, приводящих к полимеризации актина, что позволяет сперматозоиду проколоть оболочку и внедриться в яйцеклетку. В актомере образуется ядро только из 22 филаментов (Tilney, Tilney, 1984). При дифференциации сперматид подковообразного краба появляется плотный материал, состоящий из 50 и даже 100 филаментов (Vasguier, 1986).

Следующая стадия полимеризации актина — элонгация — медленный процесс. Поллард и Музекер (Pollard, Mooseker, 1981) приводят некоторые константы скорости этого процесса (табл. 11). Эти же авторы указывают, что молекула актина в физиологических

Таблица 11

Константы ассоциации и диссоциации мономеров при полимеризации актина  
(по: Pollard, Mooseker, 1981)

Условия полимеризации	Константы ассоциации		Константы диссоциации	
	быстрый конец	медленный конец	быстрый конец	медленный конец
KCl, 20 ммоль/л	5.9	0.8	6.0	0.7
KCl, 20 ммоль/л + цитохала- зин Б, 20 ммоль/л	0	0.3	0	0.6
KCl, 75 ммоль/л + MgSO <sub>4</sub> , 5 ммоль/л	8.8	2.2	2.0	1.4
KCl, 75 ммоль/л + MgSO <sub>4</sub> , 5 ммоль/л + цитохалазин Б, 20 ммоль/л	0	1.8	0	1.3

условиях растет со скоростью 70 молекул в 1 с, т. е. при концентрации актина 4—5 мг/мл нить длиной 3 мкм может образоваться за 10—12 с.

Одной из интереснейших особенностей актиновых филаментов является их полярность, которая выражается в различных скоростях ассоциации на двух концах: быстро растущий зубчатый (*B*) плюс-конец имеет большую (в несколько раз выше) скорость ассоциации, чем медленно растущий острый (*P*) минус-конец (рис. 40) (Woodgum et al., 1975; Kondo, Ishiwata, 1976). Изменения длины филамента во времени Поллард с сотрудниками (Pollard et al., 1982) представляет следующими уравнениями:

$$dl^B/dt = K_+^B(A) - K_-^B \text{ — зубчатый конец;}$$

$$dl^P/dt = K_+^P(A) - K_-^P \text{ — острый конец,}$$

где  $K_+$  — константа ассоциации,  $K_-$  — константа диссоциации,  $A$  — константа свободных мономеров (Pollard et al., 1982). Концы филаментов различаются и по тому, какой нуклеотид они содержат: АТФ или АДФ. Филаменты со связанной АТФ собираются быстрее, чем со связанной АДФ.

Разная скорость ассоциации на плюс- и минус-конце была подтверждена в экспериментах по изучению влияния  $\beta$ -актинина на надстройку актина на разных концах пучков микрофиламентов из микроворсинок щеточной каемки тонкого кишечника кур. Было найдено, что актин способен надстраивать оба конца, но с разной скоростью. На одном из них, соответствующем оперенному концу стреловидных структур при декорировании пучков тяжелым меромиозином, надстройка идет в несколько раз быстрее, чем на другом — минус-конце. Константы ассоциации и диссоциации зависят от ионной силы раствора: в KCl при концентрации 20 ммоль/л скорости ассоциации на быстром и медленном концах нити различны (табл. 11).

Скорости диссоциации также различны, в результате чего отношение констант на обоих концах нити одинаково и не растет ни на одном

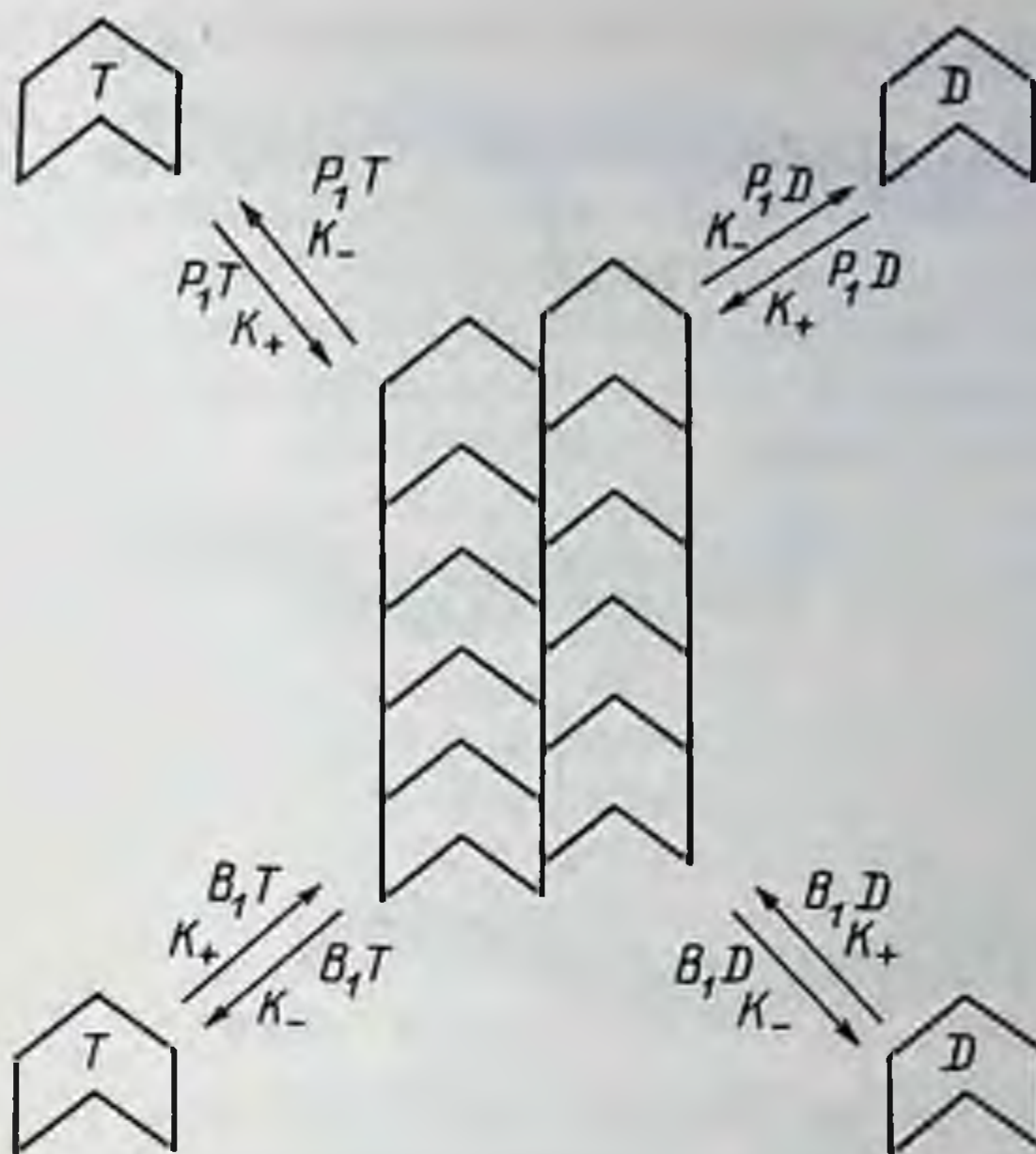


Рис. 40. Кинетическая модель полимеризации актина (по: Pollard et al., 1982).

Концы филамента:  $B$  — зазубренный,  $P$  — острый,  $K$  — константы скорости:  $K_+$  — константа скорости ассоциации,  $K_-$  — константа скорости диссоциации.  $T$  — связь с АТФ;  $D$  — связь с АДФ.

из концов (Pollard, Mooseker, 1981). Напротив, при концентрации  $KCl$  75 ммоль/л и  $MgSO_4$  5 ммоль/л отношение констант различно, поэтому добавление мономеров на быстром конце сопровождается диссоциацией мономеров на медленном конце, вследствие чего происходит перемещение или транслокация мономеров вдоль нити от быстро растущего к медленно растущему концу (рис. 41) (Wegner, 1976; Engel et al., 1977). Для того чтобы молекула, присоединенная на быстром конце, продвинулась по нити длиной 1 мкм и диссоциировала на медленном конце, требуется около 10 мин. По данным Полларда с сотрудниками (Pollard et al., 1982), эффективность транслокации составляет 20 %, т. е. одна из 5 молекул  $\Gamma$ -актина, ассоциированных с нитью, претерпевает транслокацию, остальные диссоциируют на своем конце. Предполагается, что транслокационный характер полимеризации актина связан с необратимым гидролизом АТФ (Wegner, 1976; Wanger et al., 1985), в результате которого нить становится несимметричной (рис. 41). Возможно, молекулярной основой такой асимметрии являются конформационные изменения глобулы актина при превращении АТФ в АДФ. В настоящее время этому явлению дано название «тредмиллинг» («treadmilling») (Wanger et al., 1985). Последовательные измерения кинетических констант на двух концах филамента означают, что «treadmilling» может иметь место *in vitro* (Pollard, Mooseker, 1981; Bonder et al., 1983a, 1983b). Киршнер и Вонг (Kirschner, 1980; Wang, 1985) указали, что «treadmilling» может играть важную роль и в жизнедеятельности клетки.

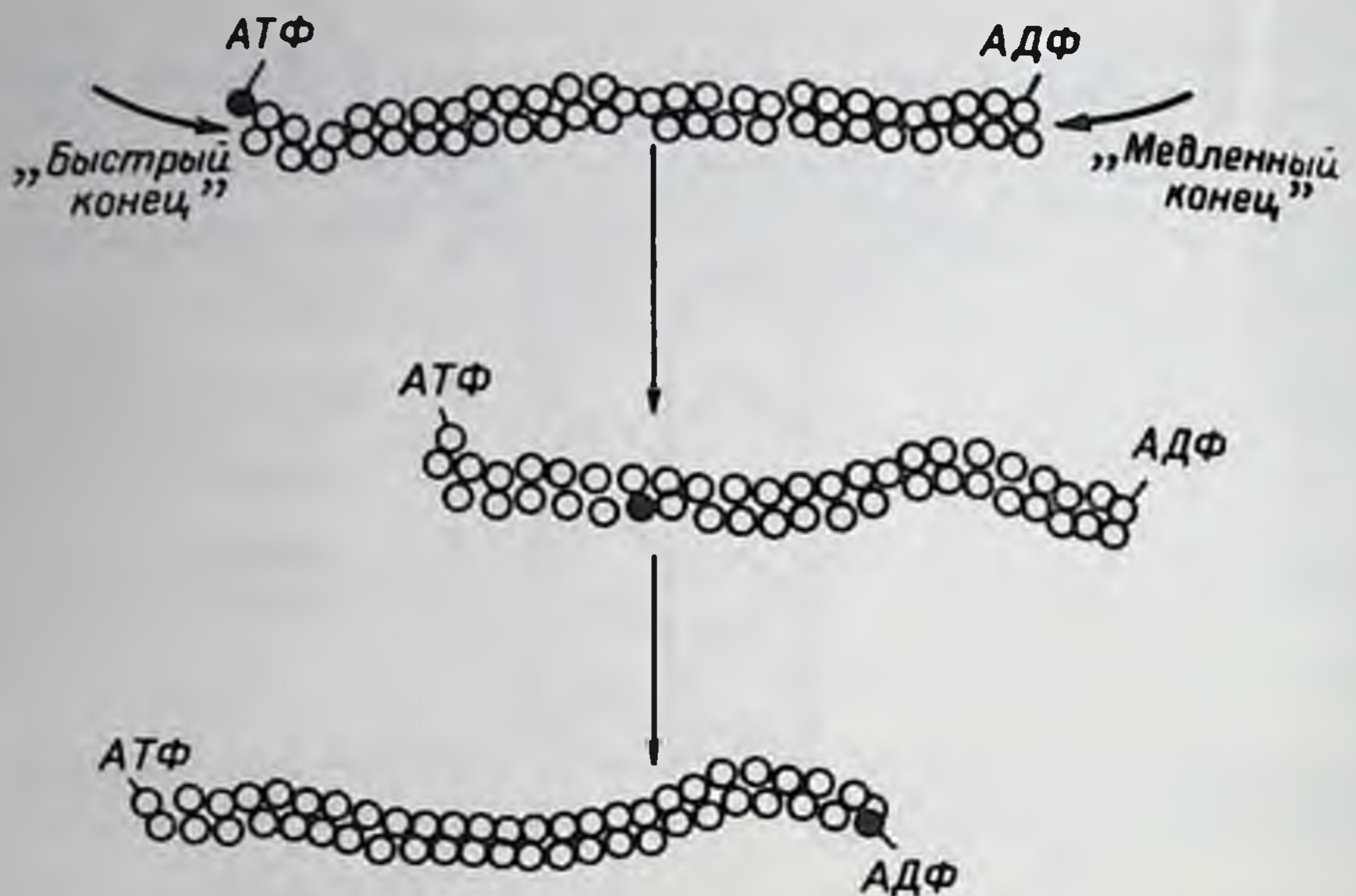


Рис. 41. Схема транслокации мономеров вдоль нити актина (по: Хайтлина, 1985).  
Черный кружок — перемещающийся мономер актина.

При полимеризации актина происходит увеличение вязкости раствора, увеличение светорассеяния, изменение спектров поглощения и кругового дихроизма (Higashi, Oosawa, 1965; Murphy, 1971; Varden et al., 1983), возникает двойное лучепреломление (Pollard et al., 1982), а также коротковолновый сдвиг спектра УФ-флюоресценции (Lehger, Kerwar, 1972; Туроверов и др., 1975).

В клетках различных типов актин значительно различается и по полимеризационным свойствам (Gordon et al., 1977; Collins, Korn, 1981; Korn, 1982):  $\alpha$ -актины скелетных мышц образуют стабильные полимеры,  $\beta$ - и  $\gamma$ -актины немышечных клеток — менее стабильные полимеры. По-видимому, причиной разной стабильности полимеров являются различия в характере связей между молекулами.

При денатурации актин утрачивает способность к полимеризации. Степень полимеризации актина в ядре и цитоплазме клеток различна: внутри ядра полимеризовано  $2/3$  актина, внутри цитоплазмы —  $1/3$ . Объясняется это, видимо, тем, что полимерный актин в ядре вовлекается в конденсацию хроматина (Rubin, Goldstein, 1978).

Учитывая, что в присутствии солей актин полимеризуется, можно было ожидать, что в условиях клетки весь актин перейдет в Ф-форму. Однако около 50 % актина в клетке находится в мономерной форме. Это свидетельствует в пользу существования в клетке агентов, препятствующих полимеризации белка. С другой стороны, известно, что при активации двигательных реакций идет быстрая сборка новых микрофиламентов, т. е. процесс ассоциации стимулируется (Craig, Pollard, 1982; Korn, 1982; Пинаев, 1985).

В последние годы были открыты многочисленные белки, которые связываются с актином и регулируют его полимеризацию. Большое



число этих белков изолировано из различных клеток и тканей (табл. 12).

Точная локализация актинсвязывающих белков в клетках еще не известна, а их функции изучены в основном *in vitro*. По-видимому, в отличие от небелковых факторов, действие которых менее специфично, многие актинсвязывающие белки могут регулировать процесс полимеризации актина локально, т. е. контролировать отдельные стадии полимеризации или определять свойства полимера.

Актинсвязывающие белки подразделяются на несколько классов. Первый включает белки, которые вызывают желатинирование Ф-актина, соединяя актиновые филаменты в пучки (cross linking proteins). Эбаша с сотрудниками (Ebashi et al., 1964) обнаружил белковый фактор, усиливающий суперпреципитацию актомиозина за счет взаимодействия с его Ф-актиновым компонентом. В дальнейшем было установлено, что этот белок, получивший из-за сходства с актином по аминокислотному составу название  $\alpha$ -актинина, вызывает переход раствора Ф-актина в гель и способствует образованию сети (Ebashi, Ebashi, 1965; Maguyama, Ebashi, 1965). Как показали опыты с мечеными и флюоресцирующими антителами,  $\alpha$ -актинин обнаружен в плотных телах гладких мышц в стресс-фибриллах и в «фокусах» околоядерной сети ряда немышечных клеток (Masaki et al., 1967; Goll et al., 1972; Lazarides, Burridge, 1975; Schollmeyer et al., 1976). Очищенный  $\alpha$ -актинин (М. м. 180 000) состоит из двух субъединиц (М. м. по 90 000). На взаимодействие его с актином влияет тропомиозин. Раньше считали, что эти белки конкурируют за места связывания на молекуле актина (Robson et al., 1970). Затем, однако, было доказано, что  $\alpha$ -актинин и тропомиозин имеют разные участки связывания (Цховребова и др., 1982). В последнее время обнаружено, что  $\alpha$ -актинин из некоторых немышечных клеток в отличие от  $\alpha$ -актинина из мышц обладает  $\text{Ca}^{2+}$ -чувствительностью: микромолярные количества кальция подавляют образование актинового геля при взаимодействии с этим типом  $\alpha$ -актинина (Burridge, Fegamisco, 1981; Rosenberg et al., 1981a, 1981b).

Сходным действием обладает фрагмин, изолированный из *Physarum polycephalum* (Hasegawa et al., 1980). Этот белок имеет М. м. несколько больше 40 кД и проявляет свое действие лишь в присутствии ионов  $\text{Ca}^{2+}$ .

Переход Ф-актина в гель вызывает и филамин — высокомолекулярный (М. м. 500 000)  $\text{Ca}^{2+}$ -независимый белок, впервые изолированный из гладких мышц кур, а затем и из немышечных клеток (фибробластов, тромбоцитов, микроворсинок кишечного эпителия). Филамин находится в виде димера, состоящего из субъединиц (М. м. 250 000); в гелевой сетке один димер филамина приходится на 8—12 мономеров актина (Wang, Singer, 1977). Филамины обладают способностью поперечно связывать актиновые филаменты (Когп, 1982; Wehling, 1985). При взаимодействии с Ф-актином нарушаются его регуляторные свойства; активирующий эффект филамина на Mg-АТФазу миозина блокируется (Davies et al., 1977). При низких молярных отношениях филамин/актин (от 1 : 200 до 1 : 50) актиновые

Таблица 12

Актинсвязывающие белки в немышечных клетках (по: Stossel, 1984)

Основные классы	Название белка	Источник	Литературный источник
Белки, секвестрирующие (удаляющие) актиновые мономеры	Профилин	Повсюду	Fattoum et al., 1980; Lindberg et al., 1981; Tseng, Pollard, 1982; Ozaki et al., 1983; Tobacman et al., 1983
	Депактин	Яйцеклетки морских животных	Hosoya et al., 1982; Mabuchi, 1983
Белки, разъединяющие актиновые филаменты, блокирующих концы актиновых филаментов	Гельзолин	Клетки млекопитающих	Yin, Stossel, 1979; Petrusci et al., 1980; Yin et al., 1981a, 1981b; Lind et al., 1982; Kurth et al., 1983; Nishida et al., 1983
	Виллин	Эпителиальные клетки, ооциты жабы	Craig, Powell, 1980; Isenberg et al., 1980, 1983; Corvin, Hartwig, 1983; Hesterberg, Weber, 1983; Mooseker et al., 1984
	«capping»-белки	Амебы, мозг	Bamburg et al., 1980; Isenberg et al., 1980, 1983; Grumet, Lin, 1981; Marula et al., 1983
	Фрагмин	<i>Physarum</i>	Hasegawa et al., 1980; Hinssen, 1981a, 1981b
	Северин	<i>Dictyostelium</i>	Maruyama, Sakai, 1981; Brown et al., 1982; Yamamoto et al., 1982
Белки, ингибирующие актиновые филаменты	$\alpha$ -актинин	Макрофаги млекопитающих, лейкоциты	Southwick, Hartwig, 1979; Southwick, Stossel, 1981, 1983; Southwick et al., 1982; Cote, Smillie, 1981;
	Тропомиозин	Повсюду (?)	Cohen, Cohen, 1972; Cole, Smillie, 1981; Terossian et al., 1981; Bernstein, Banburg, 1982; Fattoum et al., 1983
	Миозин	Повсюду	Abe, Maruyama, 1974; Trinick, Offer, 1979
Белки, связывающие поперек актиновые филаменты, образуя актиновые сети различной степени изотропности	Актинсвязывающий белок	Клетки млекопитающих, птиц, ооциты жаб	Stossel, Hartwig, 1976; Schollmeyer et al., 1978; Schloss, Goldman, 1979; Rosenberg et al., 1981a, 1981b; Corwin, Hartwig, 1983

Таблица 12 (продолжение)

Основные классы	Название белка	Источник	Литературный источник
Белки, связывающие актиновые филаменты поперек и образующие пучки	Спектрин	Эритроциты	Marchesi, 1983
	Фодрин	Повсюду (?)	Levine, Willard, 1981; Glennay, Glennay, 1983; Glennay et al., 1983
	Белок с М. м. 220 000	Яйцеклетки морских животных	Bryan, Kane, 1978
	Белок с М. м. 120 000	<i>Dictyostelium</i>	Bretscher, 1981
	Фасцин	Яйцеклетки морских животных	Bryan, Kane, 1978
	Фимбрин	Клетки позвоночных	Bretscher, 1981; Glennay et al., 1981
Белки, связывающие актиновые волокна с другими структурами: с плазматической мембраной	$\beta$ -актинин	Повсюду	Mimura, Asano, 1979; Burridge, Feramisco, 1981; Pollard, 1981; Rosenberg et al., 1981; Condeelis, Vahey, 1982; Fechkeimer et al., 1982; Bennett et al., 1984
	Белок с М. м. 53 000	Мозг млекопитающих	Maekawa et al., 1983
	Спектрин	Эритроциты	Marchesi, 1983
	Фодрин	Повсюду (?)	Levine, Willard, 1981; Glennay, Glennay, 1983; Glennay et al., 1983
	Винкулин	Клетки позвоночных	Geiger et al., 1984
	Белок, связывающий витамин D	Лимфоциты млекопитающих	Petrini et al., 1983
с микротрубочками	Актинсвязывающий белок	Клетки млекопитающих и птиц, ооциты жабы	Fox et al., 1984a
	МТ-связывающие белки	Повсюду	Pollard et al., 1984

Филаменты связываются в трехмерные сети; при более высоких (1:20) — в пучки. Таким образом, филамины обуславливают организацию надмолекулярных структур в клетке. Предполагают, что филамин стабилизирует актиновые полимеры, может быть в результате связывания со слабо растущими концами филаментов,

и что филамин и актиновые мономеры образуют комплекс, который может стать ядром полимеризации. В мышечных клетках филамин всегда содержится в тех местах, где локализован актин (Когп, 1982; Wehling, 1985). В некоторых случаях желатинированию Ф-актина под действием филамина предшествует образование игольчатых агрегатов, формирующихся с участием белка фасцина (М. м. 58 000) за счет объединения нитей актина боковыми поверхностями (De Rosier et al., 1977; De Rosier Censullo, 1981). Игольчатые агрегаты наблюдаются также при взаимодействии Ф-актина с фактором роста нейронов (М. м. 27 000) (Castellani, O'Brien, 1981).

В макрофагах был обнаружен актинсвязывающий белок (АСБ), который стимулирует желатинизацию как в присутствии  $Ca^{2+}$ , так и без него.

Из почвенной амебы были изолированы четыре белковых фактора (М. м. 23 000, 28 000, 32 000 и 38 000), вызывающих желатинирование Ф-актина и получивших название гель-актинов (Maguta, Когп, 1977). Эти белки, как и филамин, ингибируют активацию Ф-актином Mg-АТФазы миозина. К числу белков, вызывающих переход актина в гель, относится актиногелин (М. м. 115 000), изолированный из клеток карциномы Эрлиха (Asano, 1980). В присутствии незначительного количества  $Ca^{2+}$  одна молекула этого белка связывается с 10—12 мономерами актина. Он найден также в макрофагах и гепатоцитах крыс (Asano, 1980).

В микроворсинках кишечного эпителия содержатся белки фимбрин (М. м. 68 000) и виллин (М. м. 91 000), которые сшивают актиновые филаменты в пучки (Bretscher, Weber, 1979, 1980).

К соединению с Ф-актином способен белок спектрин из эритроцитов (М. м. 220 000), при этом увеличивается вязкость раствора Ф-актина (Tilney, Detmers, 1975). Белок этот рассматривается как особый фактор, серологически сходный с миозином из гладких мышц. Сходство это проявляется также в наличии у него АТФазной активности. Таким образом, его взаимодействие с Ф-актином, по-видимому, сходно с образованием актомиозина.

Ф-актин может соединяться с фибрином (Laki, Muszbek, 1974), функциональная значимость этого соединения пока остается неизвестной. Он взаимодействует и с фибронектином, принимающим участие в процессе прикрепления клеток к субстрату (Котелянский и др., 1980). В последние годы было показано взаимодействие Ф-актина с рядом других белков: винкулином (М. м. 130 000) —  $Ca^{2+}$ -независимым белком, выделенным из многих типов мышечных клеток (Geiger, 1979); фасцином (М. м. 58 000) —  $Ca^{2+}$ -независимым белком, изолированным из яйцеклеток морского ежа (Когп, 1982), упорядоченное расположение фасцина в клетке выявляется только при формировании пучков актиновых филаментов, вокруг которых образуются филоподии (Otto et al., 1979; De Rosier, Edds, 1980).

Ко второму классу актинсвязывающих белков относятся белки, взаимодействующие с Г-актином; они препятствуют полимеризации актина и сохраняют таким образом пул Г-актина в клетке (табл. 13).

Белки, взаимодействующие с Г-актином и влияющие на его полимеризацию  
(по: Хайтлина, 1985)

Белок	Источник	Молекулярная масса	Ca <sup>2+</sup> -чувствительность	Литературный источник
ДНКаза I	Поджелудочная железа	29 000	—	Lazarides, Lindberg, 1974
Профилин	Соматические клетки млекопитающих	16 000	—	Carlsson et al., 1977
$\alpha$ -актинин	Скелетные мышцы позвоночных	34 000— 37 000	—	Maruyama et al., 1977
$\beta$ -актинин	Мембраны соматических клеток	32 000	—	Geny et al., 1982
Фрагмин	<i>Physarum</i>	43 000	+	Hasegawa et al., 1980
Виллин	Эпителиальные клетки	95 000	+	Glenney et al., 1981
Гельзолин	Макрофаги	91 000	+	Yin et al., 1981a, 1981b
Белок-модулятор «capping»-белок	Скелетные и сердечные мышцы позвоночных	92 000	+	Roudyrenc et al., 1984
	Гладкие мышцы позвоночных	85 000	+	Hinssen et al., 1984
	<i>Acanthamoeba</i>	31 000	—	Isenberg et al., 1980
Винкулин	Мозг млекопитающих	29 000	+	Füchtbauer et al., 1983
	Гладкие мышцы позвоночных	130 000	—	Geiger, 1979
Спектрин	Клетки млекопитающих	130 000	+	Burridge, Ferrarisco, 1981
	Эритроциты	480 000	—	Sato et al., 1979

Представляют интерес данные, полученные при изучении ингибиторов ДНКазы I. Еще в 1964 г. Линдберг (Lindberg, 1964) сообщил о присутствии в селезенке телят белкового ингибитора ДНКазы I. В дальнейшем было показано, что это соединение представляет собой комплекс, состоящий из одной молекулы актина и одной молекулы низкомолекулярного белка профилина (Lazarides, Lindberg, 1974; Carlsson et al., 1977). Профилин (М. м. 16 000) прочно соединяется с С-концом Г-актина и препятствует его полимеризации (Nyström et al., 1979; Nishida et al., 1984a, 1984b, 1984c; Kaiser et al., 1986). Профилин имеет две изоформы, изоэлектрические точки которых — 5.5 и 9.0. Обе формы слабо ингибируют удлинение на зубчатом конце актиновых филаментов и сильно — на остром (Kaiser et al., 1986). Актин в комплексе с профилином практически не содержит АТФ (Carlsson et al., 1977). По-видимому, профилин способствует сохранению нативной структуры актина, но (как и ДНКаза I) блокирует его полимеризацию.

Аналогичный ингибитор полимеризации актина был изолирован и из других тканей (Berger, May, 1967; Lindberg, Skoog, 1970). При исследовании взаимодействий указанных белков выяснилось,

что ДНКазы I вызывает деполимеризацию Ф-актина с образованием стабильного комплекса, включающего I моль ДНКазы I и I моль Г-актина (Hitchcock et al., 1976).

Ингибирующим действием на полимеризацию актина обладает также  $\gamma$ -актинин (Kuroda, Maquyama, 1976).

Недавно был описан класс белков (низкомолекулярных), которые могут быстро деполимеризовать Ф-актин как в присутствии, так и в отсутствие  $Ca^{2+}$ : депактин (М. м. 17 000) из клеток морского ежа (Mabuchi, 1983), белок (М. м. 19 000) из мозга млекопитающих (Nishida et al., 1984a, 1984b). Быстро способен деполимеризовать Ф-актин и дестрин — белок из почки свиньи (М. м. 19 000) (Nishida et al., 1985). Было показано, что связывание мышечного тропомиозина с Ф-актином не защищает Ф-актин от деполимеризации дестрином, но значительно замедляет ее скорость. Дестрин может также деполимеризовать Ф-актин, содержащий тропомиозин.

Следующий класс актинсвязывающих белков — белки, регулирующие длину актиновых филаментов («capping»-proteins — белки «заглушки»). Они действуют строго избирательно и, вероятно, распознают разные участки актиновой молекулы. Отчетливо выделяются две группы таких белков, одна из которых взаимодействует только с быстро полимеризующимся концом актиновых филаментов, а другая — с медленным. По-видимому, эти белки принимают участие не только в образовании актиновых структур, но и в их разборке.

По данным Маруямы с сотрудниками (Maquyama, 1966; Maquyama et al., 1977), в скелетных мышцах кролика содержится белок актинин, который связывается с актином в соотношении 1 : 10, ограничивая длину полимера;  $\beta$ -актинин состоит из двух субъединиц (М. м. 37 000 и 34 000), которые образуют комплекс *in vitro*, и блокирует сборку филаментов на плюс- и на минус-концах.

Гельзолин — глобулярный белок, впервые изолированный из макрофагов легкого кролика, регулирует сетчатую структуру актиновых филаментов (Yin, Stossel, 1979). В присутствии микромолярных концентраций  $Ca^{2+}$  гельзолин связывается с ним и с актиновыми микрофиламентами, предотвращая их желатинирование актинсвязывающими белками (Yin, Stossel, 1980; Yin et al., 1981a, 1981b). В последние годы гельзолин был изолирован из многих типов клеток. Присутствие его обнаружено в стресс-фибриллах. Показано, что он может изменять полимеризацию актина различными путями. Гельзолин соединяется с зубчатыми концами фрагментированных актиновых филаментов, а острые их концы остаются свободными для деполимеризации или полимеризации. Кроме того, гельзолин образует плотный комплекс с одной или двумя актиновыми молекулами. Эти гельзолин-актиновые комплексы теряют способность фрагментировать филаменты. Они запирают актиновые филаменты путем соединения с зубчатыми концами, что приводит к ингибированию элонгации или к укорочению филаментов (Selve, Wegner, 1986). Существует гельзолин плазмы, или сыворотки крови, где он присутствует в больших количествах — 0.3 % от общего белка плазмы. Плазменный гельзолин — внеклеточный белок, близко-

родственный, но не идентичный внутриклеточному гельзолину. Он разъединяет актиновые филаменты и запирает быстрорастущий конец (Kilnhoffer et al., 1985).

Бревин — плазматический белок (М. м. 92 000), по свойствам сходный с гельзолином (Haggis, Schwartz, 1981). Гельзолин и бревин имеют в своих молекулах два локуса для связывания  $Ca^{2+}$ . Кальций, как показали иммуноцитохимические исследования, вызывает конформационные изменения в молекулах гельзолина и бревина, что дает возможность этим белкам образовывать комплексы с актином (Hwo, Bryan, 1986).

Существуют актинсвязывающие белки со смешанным действием. Из плазмодия миксомицетов выделен белок, ингибирующий полимеризацию актина, с такой же, как у него, молекулярной массой, но с другим аминокислотным составом. Этот белок получил название фрагмин. Активация фрагмина происходит в присутствии микромолярных концентраций  $Ca^{2+}$ . При снижении концентрации  $Ca^{2+}$  до 0.1 мкмоль/л и ниже фрагмин не проявляет своих регуляторных свойств. Если соотношение фрагмина и актина снижается до 1 : 100, то вязкость полимерного актина уменьшается на 50 %. В присутствии тропомиозина деполимеризация актина прекращается. Добавление миозина полностью ее восстанавливает (Hasegawa et al., 1980; Hinssen, 1981a, 1981b).

Как видно из приведенных данных, активность актинсвязывающих белков регулируется физиологическими концентрациями  $Ca^{2+}$ , по крайней мере *in vitro*. Этот механизм может быть прямым или опосредованным. Примером прямой  $Ca^{2+}$ -регуляции является торможение поперечносвязывающей способности  $\alpha$ -актинина и стимуляции функциональной активности гельзолина в присутствии микромолярных концентраций  $Ca^{2+}$ . В некоторых случаях при изменении концентрации  $Ca^{2+}$  белок может перейти из одного функционального класса в другой. Например, виллин при низком уровне  $Ca^{2+}$  стимулирует образование Ф-актиновых пучков, а при больших его концентрациях этот же белок разрушает полимерные молекулы.

Регуляция кальцием активности актинсвязывающих белков происходит с участием  $Ca^{2+}$ -связывающего белка кальмодулина (Klee, Vanaman, 1982; Орлов и др., 1985; Пермяков, 1985). Собу с сотрудниками (Sobue et al., 1981, 1982) сообщил, что гладкие мышцы желудка кур содержат белок — кальдесмон, способный блокировать образование геля, вызванное добавлением филамина. Подавление взаимодействия актина с филамином авторы объясняют конкуренцией кальдесмона с филамином за один и тот же центр связывания в Ф-актине. Возможно также, что кальдесмон вызывает аллостерическое изменение в молекуле актина, в результате чего она становится неспособной к взаимодействию с филамином. Кальдесмон (М. м. 140 000) образует комплекс с кальмодулином. Кальдесмон состоит из двух субъединиц (М. м. 150 000 и 147 000). Этот белок сохраняет растворимость после обработки при 90 °С (Bretscher, 1984). Термостойкие формы кальдесмона гладких мышц присутствуют во многих неммышечных клетках (Bretscher, Lynch, 1985), например в тромбо-

цитах, фибробластах. Кальдесмон располагается в стресс-фибриллах вместе с тропомиозином и миозином, т. е. он является частью функциональной сократимой единицы, в которую входит по крайней мере пять белков — актин, миозин, тропомиозин, киназа легкой цепи миозина и кальдесмон. Присутствие или отсутствие  $Ca^{2+}$  определяет тип взаимодействий: кальмодулин—кальдесмон или кальдесмон—Ф-актин; этот механизм был назван «flip-flop» регуляцией (Owada et al., 1984). Кальдесмон сам по себе не вызывает образования геля или укорачивания актиновых филаментов. В этом отношении он отличается от других взаимодействующих с Ф-актином белков, таких как гельзолин, актиногелин, фрагмин, виллин.

Онесава с сотрудниками (Yonezawa et al., 1985) выдвинул предположение, что превращение полимерных и мономерных форм актина регулирует изменения во внутриклеточном рН. Авторы исследовали действие кофилина — актинсвязывающего белка (М. м. 21 000), выделенного из мозга и почки млекопитающих (Maekawa et al., 1984; Nishida et al., 1984), и установили присутствие кофилина в ряде различных типов клеток млекопитающих. Было показано, что связывание кофилина с Ф-актином блокирует связывание тропомиозина с Ф-актином и ингибирует взаимодействие актина с миозином. Авторы продемонстрировали также, что изменения рН оказывают существенное влияние на взаимодействие кофилина с актином. При рН 7.3 кофилин соединяется с Ф-актином, при этом укорачивается длина филамента и увеличивается концентрация мономерного актина. При рН 7.1 кофилин образует соединение с мономерным актином. Авторы этой работы, возможно, впервые продемонстрировали рН-зависимый контроль за полимеризацией и деполимеризацией актина, хотя уже было показано, что некоторые актинсвязывающие белки, такие как белок (М. м. 95 000) из *Dictyostelium discoideum* (Condeelis, Vahey, 1982) и МТ-связывающий белок из мозга позвоночных (Nishida et al., 1981), поперечно сшивают Ф-актин в зависимости от рН.

Совсем недавно Поллард (Pollard, 1986), изучая сборку и динамику актиновой филаментной системы у *Acanthamoeba*, обнаружил, что пять различных актинсвязывающих белков (табл. 14) регулируют пул мономеров в клетке, блокируют концы филаментов, секвестируют филаменты и связывают их поперек. Поллард подчеркивает, что многие из этих взаимодействий включают очень слабое сродство между белковыми молекулами. Кроме того, все эти белки  $Ca^{2+}$ -независимы и, по-видимому, присутствуют во всех клетках эукариотов. Это обстоятельство может быть существенным для понимания механизма процесса самосборки актиновых филаментов в клетке. В связи с этим Поллард выдвинул гипотезу, что актиновая филаментная система, участвующая в двигательных реакциях клетки, активируется миозином.

Таким образом, актинсвязывающие белки не только определяют форму и размеры структурных элементов ЦС клеток, но и принимают участие в регуляции его пространственной организации в целом. На рис. 42 изображены возможные конфигурации актина в резуль-



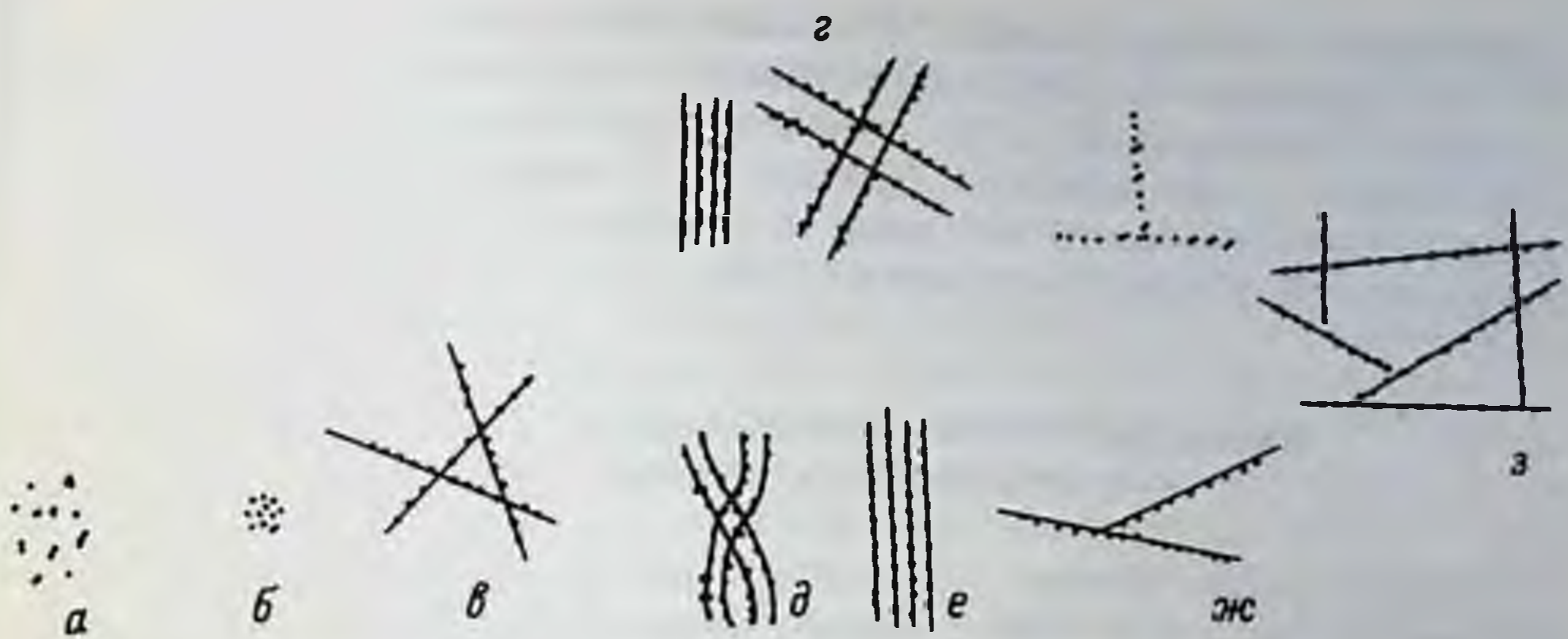


Рис. 42. Конфигурации актина in vitro (по: Stossel, 1984).

а — мономер; б — олигомерное ядро; в — актин в виде перекрещивающихся палочек; з — линейные паракристаллы или полигональные сети; д — пучки, напоминающие стресс-фибриллы; е — высокоупорядоченные пучки; ж — пучки, ветвящиеся под прямым или косым углом; з — трехмерный гель.

тате его взаимодействия с актинсвязывающими белками (в некоторых случаях белки соединяются с полимерным актином по длине полимера, в других происходит связывание крест-накрест и образуются крупные надмолекулярные агрегаты и сетчатые структуры, возникает желатинизация, образуется трехмерный гель) (Stossel, 1984).

Важной и еще не решенной проблемой актин-белковых взаимодействий является вопрос о том, как объяснить наличие в молекуле актина столь значительного числа мест связывания. Один из возможных ответов состоит в том, что в аминокислотной последовательности актиновой молекулы есть места для различных актинсвязывающих белков. Так, Суто (Sutoh, 1986) обнаружил в актине места

Таблица 14

Актиновая система у *Acanthamoeba* (по: Pollard, 1986)

Класс	Число субъединиц и молекулярная масса	Содержание, моль/кг	Молярное отношение
Актин	1 × 42 000	170	100
Мономерсвязывающие белки:			
профилин	1 × 12 000	100	59
актофорин	1 × 17 000	24	14
«Capping»-белок	29 000 + 31 000	2.1	1
Белок желатинирования	2 × 90 000	4.2	3
Спектрин	? × 260 000	0.2	1
Мнозины:			
мнозин-1	1 × 125 000 — 130 000	1.3	1
мнозин-2	2 × 175 000	2.3	1

связывания для трех белков: N-концевой кислотный сегмент (остатки 1—12) участвуют в связывании тяжелой цепи миозина, С-концевой сегмент (остатки 356—375) — легкой цепи миозина (оба сегмента участвуют в связывании депактина — актиндеполимеризующего белка, изолированного из ооцитов краба). ДНКза I использует сегмент, включающий остатки 48—82.

### РЕАКЦИИ АКТИНА ПРИ ДЕЙСТВИИ НА КЛЕТКУ РАЗЛИЧНЫХ РАЗДРАЖИТЕЛЕЙ

Пристальный интерес к актину имеет несомненно серьезные основания, так как этот белок мультифункционален. Высокая консервативность его аминокислотной последовательности в филогенетическом развитии предполагает, что его внутренняя молекулярная организация необходима для фундаментальных клеточных функций.

Штоссель (Stossel, 1984) указывает на четыре основные функции актина: 1) при полимеризации актина увеличивается вязкость его раствора, эти изменения вязкости могут происходить в разных местах клетки, где соответственно будет меняться консистенция; 2) длинные нити Ф-актина, образуя тяжи и пучки, определяют размеры и форму клеток, обеспечивают упорядоченное расположение органелл; 3) актин в результате взаимодействия с миозином способен сокращаться; таким образом, актин участвует в двигательных реакциях клетки как одноклеточных организмов, так и клеток в составе многоклеточного организма; 4) актиновые нити связывают разные части клеток, включая мембраны, между собой.

Шлива (Schliwa, 1981) описывает участие актина в процессах внутриклеточного транспорта, эндоцитоза, экзоцитоза, митоза, а также в ряде патологических процессов. В литературе нет указаний на возможное значение реакций актина для такого состояния клеточной системы, как неспецифический адаптационный синдром. Между тем основные реакции, постоянно проявляющиеся при повреждении, такие как увеличение светорассеяния, изменение вязкости, желатинизация, представляют характерные признаки реакций, связанных с участием актина, его полимеризацией и взаимодействием с актинсвязывающими белками (Kopp, 1982; Pollard et al., 1982).

В результате детальных исследований выяснилось, что в мышечных клетках существует значительный пул Г-актина. Так, в тромбоцитах его количество достигает 50—75 % от общего содержания актина, в лимфоцитах оно равно 60—65 %, в клетках HeLa — 50—55 % (Blikstad et al., 1978; Fox, Phillips, 1981), в ооцитах *Xenopus* мономерный актин составляет примерно треть всего актина (Meggiam, Clark, 1978).

При изменении ионного состава среды Г-актин легко переходит в полимерную форму, а Ф-актин связывается с белками среды. В результате этих реакций возникают надмолекулярные агрегаты,

уменьшается степень дисперсности частиц, что проявляется в увеличении светорассеяния, в увеличении вязкости, желатинизации и коагуляции. Интересно заметить, что еще 150 лет назад Дюжарден (Dujardin, 1835) указывал, что клетка содержит желатинообразующий материал. В лаборатории Клода Бернара его сотрудник Кюне (Kühne, 1864) получил под давлением сок из мышечных и других тканей. Тканевые соки обнаруживали способность коагулировать при комнатной температуре. Эти данные впоследствии были подтверждены, и создано убеждение о высокой лабильности внутриклеточных белков. Гейльбрунн, наблюдая, как вытекающая из места разреза капля цитоплазмы застывает в гель, отождествлял это свойство протоплазмы с процессом коагуляции фибриногена в крови. Аналогом фибриногена он, ссылаясь на работы Кюне, считал в протоплазме мышц миозин.

Впервые непосредственная связь между актиновыми филаментами и изменениями в цитоплазме получена в экспериментах с экстрактами из клеток. Было показано, что экстракты, полученные в растворах низкой ионной силы, подвергаются быстрой спонтанной желатинизации. Действие различных факторов, таких как температура, ионы  $Ca^{2+}$ , АТФ и этиленгликольдиаминтетраацетат, сопровождается превращением раствора саркоплазматических белков в плотный гель (Trompson, Wolpert, 1963; Иванов и др., 1968; Pollard, Ito, 1970).

Существенным шагом вперед в этом направлении являются исследования, начатые Кейном в 1975 г. и продолжающиеся до настоящего времени (Кейн, 1975, 1976, 1983). Яйцеклетки морского ежа гомогенизировали на холоде в растворе, содержащем сахарозу или глицерин. Затем взвесь остатков клеток отделяли центрифугированием, а супернатант оставляли стоять при температуре 35—40 °С. Примерно через час супернатант застывал в гель. Анализы, проведенные Кейном, показали, что основным компонентом образовавшегося геля является актин; в образовании основы геля из пучков актиновых филаментов принимают участие два белка — фасцин (М. м. 58 000) и еще один белок (М. м. 220 000).

Данные Кейна были подтверждены рядом авторов в опытах с макрофагами млекопитающих (Hartwig, Stossel, 1973; Stossel, Hartwig, 1976), с *Acanthamoeba* (Pollard, 1976a, 1976b), с ооцитами *Xenopus* (Clark, Merriam, 1977), с клетками HeLa, лейкоцитами человека, тромбоцитами, *Amoeba proteus* (Ishiguro, Okada, 1979), с тканью мозга (Palmer et al., 1984). По мнению этих авторов, в экстракте, полученном из клеток, Г-актин превращается в Ф-актин, который в свою очередь вступает во взаимодействие с белками окружения.

Хикок с сотрудниками (Heacock et al., 1982) в опытах *in vitro* показал, что актин изменяется при воздействии на клетки гипертермии. Морфологическим эффектом нагревания клеток является освобождение плазматической мембраны от лежащих под ней элементов ЦС, состоящего главным образом из актинсодержащих микрофиламентов.

Штоссель (Stossel, 1984), описывая различные реакции актина с белками *in vitro*, предполагает, что эти же реакции могут происходить и в клетке. О. И. Подгорная и Г. П. Пинаев (1981) при обсуждении биологического смысла желатинирования, обнаруживаемого в цитоплазматических экстрактах, исходят из того, что в основе гелеобразования лежит полимеризация актина и образование трехмерной сети. Это дает клетке некоторые преимущества, которыми она обычно не располагает. Во-первых, превращение цитоплазмы в гель может служить для фиксации состояния клетки или для выключения большинства биохимических процессов с тем, чтобы после превращения цитоплазмы обратно в золь клетка была способна перейти в новое метаболическое состояние. Во-вторых, образование трехмерной сети должно привести к значительному повышению упорядоченности структуры цитоплазмы, что дает возможность обеспечить мгновенную передачу сигналов по образовавшейся системе связи. В-третьих, создание в клетке большого числа дополнительных фибриллярных структур может дать временное увеличение ориентированных поверхностей для локализации дополнительных ферментных комплексов. Таким образом, могут быть включены дополнительные энергетические резервы клетки для неспецифического ее ответа на внешние воздействия.

Совершенно ясно, что процесс желатинизации цитоплазмы имеет большое значение для жизнедеятельности клетки и, как мы увидим дальше, лежит в основе многих ее изменений при различных воздействиях.

Как известно, в клетке при повреждении происходит увеличение концентрации одно- и двухвалентных катионов, способных инициировать полимеризацию актина.

В последние годы обращено внимание на роль ионной регуляции в патологии клетки. Трамп с сотрудниками (Trump et al., 1981a, 1981b, 1983; Trump, Bergezesky, 1984) выдвинул гипотезу, согласно которой поток  $Ca^{2+}$  из внеклеточных пространств вызывает изменения цитоскелета клетки. Рамос и Акоста (Ramos, Acosta, 1985) также считают, что аккумуляция больших количеств свободного  $Ca^{2+}$  может изменять структурную и функциональную целостность ряда клеточных компартментов и, следовательно, вызывать повреждение клеток. Авторы предлагают использовать измерение уровня  $Ca^{2+}$  в качестве чувствительного индикатора клеточного повреждения и цитотоксичности химических препаратов.

Актин как один из компонентов ЦС играет важную роль в передаче внешних сигналов внутрь клетки. На примере активации тромбоцитов тромбином рядом авторов (Berridge, Urvine, 1984; Nishizuka, 1984; Burn et al., 1985; Cochseoft, Comperts, 1985) была разработана схема этого процесса. Тромбин после взаимодействия с мембраной тромбоцита запускает расщепление фосфатидилинозитолтрифосфата ( $PTdInsP_3$ ) на инозитолтрифосфат ( $InsP_3$ ) и диацилглицерол (ДГ), а также расщепление фосфолипидов до жирных кислот (табл. 15). При наличии ДГ и пальмитиновой кислоты образуется стабильный связанный с мембраной комплекс между ДГ, пальмити-

## Эффект тромбина на предварительно меченые фосфолипиды тромбоцитов (Vign et al., 1985)

Фосфолипиды	Время после введения меченого тромбина					
	5 с	10 с	15 с	30 с	60 с	1 ч
Фосфатидат-1,2-диацил- глицерол-3-фосфат	178±38	335±133	493±218	633±400	829±531	1121±722
Фосфатидилинозитол	107±11	108±16	101±14	91±13	96±17	117±15
Фосфатидилинозитол-4- фосфат	88±14	93±7	89±6	86±3	95±7	91±15
Фосфатидилинозитол-4,5- бифосфат	70±16	73±8	95±21	115±26	134±33	133±32

новой кислотой и  $\alpha$ -актинином. Этот комплекс увеличивает сродство связанного с мембраной  $\alpha$ -актина и ЦС и таким образом играет существенную роль во взаимодействии ЦС и мембраны. Актиновые волокна в присутствии ДГ и пальмитиновой кислоты реорганизуются в крупные пучки. Сходный эффект получен при добавлении комплекса  $\alpha$ -актинин+ДГ+пальмитиновая кислота к глобулярному актину; в результате происходит полимеризация актина. Так как ДГ, пальмитиновая кислота,  $\alpha$ -актинин и актин присутствуют во всех типах клеток, то этот механизм может быть общим при взаимодействии мембраны и ЦС в процессе движения клеток и в их морфогенезе.

Система цитоплазматических фибриллярных структур, т. е. цитоскелет, участвует в ряде клеточных функций, особенно в обеспечении подвижности клеток и в поддержании их формы. Известно, что клеточное движение зависит от АТФ. В связи с этим В. И. Гельфанд и А. Д. Бершадский (1982) изучали влияние истощения АТФ на цитоскелетные структуры. Авторы, используя ингибиторы энергетического обмена, показали, что от присутствия АТФ зависит не только функционирование, но также и целостность некоторых компонентов двигательного аппарата клетки. В частности, целостность пучков актинсодержащих МФ в клетках требует наличия АТФ, тогда как система МТ относительно устойчива к истощению АТФ. Описанные результаты свидетельствуют о том, что АТФ не только является источником энергии для движения клеток, но и регулирует образование пучков МФ.

Данные литературы свидетельствуют, что переход тромбоцитов от дисковидной формы к сферической и агрегация клеток осуществляются при активном участии актина тромбоцитов (Adelstein, Conti, 1975; Одесская, 1976; Самаль и др., 1983). Актиновые нити наблюдаются на поверхности тромбоцитов при активировании клеток агрегирующими агентами. После стимуляции тромбоцитов тромбином содержание неполимеризованного актина снижается на 30—40% с соответствующим увеличением Ф-актина. Подобные наблюдения были описаны для клеток эндотелия в культуре. При стимуляции клеток тромбином они меняют форму, и пул неполимеризованного

актина уменьшается на 15—20 %; содержание общего актина остается неизменным. Гирудин, специфический ингибитор тромбина, предотвращает изменения в актиновом пуле. Цитохалазин В блокирует тромбининдуцируемую полимеризацию актина и вызывает деполимеризацию, составляя 10—15 % актина в филаментной форме (Galdal et al., 1984). Изменения содержания и состояния актина наблюдаются в нейтрофилах крови человека и кролика при действии хемотактических факторов или других стимулов (Vassin et al., 1985) и у *Dictyostelium discoideum* (McRobbie, Newell, 1985). Стимуляция нейтрофилов, как показали исследования с применением специфического для Ф-актина флюоресцентного красителя — НБДФ (нитрозобензодиазол-фаллоидина), индуцирует полимеризацию актина, что необходимо для гель-золь трансформации внутри клетки (Howard, Meyer, 1984).

Однако изменения формы клеток иногда могут происходить без значительных сдвигов уровней Г- и Ф-актина, например, при обработке ЭДТА, трипсином, азидом натрия, динитрофенолом (Heacock et al., 1984).

В иммуноцитологических исследованиях на клетках поджелудочной железы (Vendayan, 1985) показано, что актин вместе с другими белками ЦС играет роль не только в транспорте секреторных гранул из аппарата Гольджи к плазматической мембране, но также принимает участие в процессе концентрации секреторного белка. Бэгс с сотрудниками (Begg et al., 1983) использовал гидростатическое давление (200—700 атм) для изучения динамики актиновой организации в периферическом слое клетки (кортексе) оплодотворенного яйца и определения значения кортикального актина в раннем развитии. Было показано, что давление средней величины вызывает обратимые нарушения в организации кортикального актина. Авторы предполагают, что периферическая сеть актина стабилизирует поверхность яйца и участвует в образовании сократительной зоны в процессе цитокинеза. Возможно, что давление индуцирует гель-золь трансформацию кортикального слоя в результате разрушения кортикальных актиновых филаментов. Давление до 700 атм оказывает небольшой эффект на полимеризацию актина *in vitro*. На основании этих результатов пока трудно судить о влиянии давления на состояние актина в живой клетке. Авторы предполагают, что давление *in vivo* действует, изменяя внутриклеточную ионную среду, которая в свою очередь может изменить характер взаимодействия между актином и актинсвязывающими белками. Например, индуцируемое давлением высвобождение ионов  $Ca^{2+}$  может ингибировать поперечносвязывающее (cross-linking) действие чувствительного к  $Ca^{2+}$   $\alpha$ -актинина или индуцировать фрагментацию актиновых филаментов.

Обработка клеток HeLa в культуре цитохалазином В увеличивает пул актина в них на 20—30 % и нарушает их подвижность; колхицин, разрушающий организацию МТ и высвобождающий свободный тубулин, уменьшает фракцию Г-актина на 20 % (Heacock et al., 1984). Позднее Таненбаум и Бретт (Brett, Tannenbaum, 1985)

показали, что при действии цитохалазина В в дозах, достаточных, чтобы вызвать перераспределение ЦС и изменить клеточную морфологию, происходит увеличение относительного содержания актина и усиление его синтеза. В основе действия цитохалазинов лежит один и тот же механизм: они соединяются с быстро полимеризующимся концом филаментного актина (плюс-конец), при этом осуществляется энергонезависимая фрагментация актиновых сетей (ЦС) как *in vitro* (McLean-Fletcher, Pollard, 1980), так и *in vivo* (Schliwa, 1982). Реакции клеток разного типа на действие цитохалазинов отражают основные различия в организации актиновой части ЦС и ее взаимодействия с МТ и промежуточными филаментами (Brett, Goldman, 1986).

Фаллоидин — один из основных токсинов бледной поганки — вызывает вакуолизацию паренхиматозных клеток печени, так что в целом печень выглядит набухшей. Препараты мембран гепатоцитов крыс, отравленных *in vivo*, как и препараты мембран этих клеток, отравленных *in vitro*, обнаруживают большое количество филаментных структур. Фаллоидин связывается главным образом с фракцией, обогащенной этими филаментами. Такой эффект предотвращается, если предварительно мембраны инкубировать в течение 10 мин при 37 °С с цитохалазином В (Lengsfeld et al., 1974).

Увеличение содержания филаментного актина на 25—50 % происходит в клетках при действии диамид-оксида, что свидетельствует о значении окислительных реакций в образовании актиновых филаментов (Blikstad, Carlsson, 1982).

Быстрые изменения в полимерном состоянии актина имеют место во время клеточного цикла и морфологических изменений клетки. В клетках культуры фибробластов временное разрушение актинсодержащих стресс-фибрилл происходит в ответ на стимуляцию ростовыми факторами и опухолевыми промоторами (Schlesinger, Geiger, 1981; Schliwa et al., 1982; Bockus, Stiles, 1984; Hergan, Pledger, 1985).

Функциональная роль полимерного актина может быть проиллюстрирована рядом примеров: сперматозоид при внедрении в яйцеклетку выбрасывает нить из полимерного актина; распластывание клеток в культуре происходит при помощи филоподиев, которые в основном состоят из Ф-актина (Vacquier, 1986).

В работе группы авторов (Kazuya et al., 1983) было показано, что дистрофия скелетных мышц сопровождается снижением общего содержания актина; при этом количество Ф-актина увеличивается, а Г-актина остается на очень низком уровне. Н. В. Карсанов и М. П. Пирцхалайшвили (1985) обнаружили, что при инфаркте миокарда в самые ранние сроки происходит изменение конформационных свойств актина и снижение его полимеризационной способности. Эти изменения актина, являющегося основным белком тонких миофиламентов, могут быть причиной уменьшения сократительной способности пучков волокон миокарда, что в свою очередь является одним из важнейших факторов в возникновении острой недостаточности сердца при инфаркте миокарда.

Изменение в соотношении Г- и Ф-актина наблюдается и при опухолевой трансформации. В эпидермальных раковых клетках обнаружена строгая корреляция между числом МФ и инвазивными свойствами этих клеток (Lengsfeld et al., 1974). Было показано, что для опухолевых клеток характерно увеличение содержания Ф-актина (Cagley et al., 1981; Gowing et al., 1984), причем Ф-актиновые агрегаты присутствовали в самых разнообразных трансформированных клетках. Бошек с сотрудниками (Boschek et al., 1981) выявил два активных пика в кинетике клеточной трансформации, вызванной вирусом саркомы Рауса: 1) с первых 15 мин и до 2 ч наблюдается появление характерных «цветков» на наружной клеточной поверхности; эти «цветки» содержат Ф-актин,  $\alpha$ -актинин, миозин, тропомиозин; 2) между 6—12 ч происходит исчезновение стресс-фибрилл и клетки округляются.

Как известно (Owada et al., 1984), кальмодулин-кальдесмоновая система играет регуляторную роль в функциях актиновых филаментов в немышечных клетках. Клеточный уровень кальдесмона в трансформированных клетках уменьшается, составляя 1/3 от уровня в нормальных клетках. Локализация его в трансформированных клетках становится диффузной (в нормальных клетках кальдесмон локализуется в стресс-фибриллах и на полюсах клетки), т. е., видимо, в трансформированных клетках снижение уровня кальдесмона и нарушение его нормального распределения коррелирует с потерей ими  $\text{Ca}^{2+}$ -регуляции. Витт с сотрудниками (Witt et al., 1983), исследуя трансформацию куриных эмбриональных фибробластов вирусом саркомы Рауса, обнаружил, что  $\alpha$ -актин (наиболее кислая изоформа) является самой чувствительной к трансформации. Авторы считают, что  $\alpha$ -актин требуется для стабилизации ЦС путем взаимодействия с актинсвязывающими белками, такими как винкулин,  $\alpha$ - и  $\beta$ -тропомиозин внутри клетки.

Известно, что вирусная и химическая трансформация ведут к значительному снижению  $\alpha$ - и особенно  $\beta$ -тропомиозина в культуре фибробласта цыпленка (Hendricks, Weintraub, 1984). Винкулин сильно обогащается фосфотирозином после трансформации вирусом саркомы Рауса, хотя и не уменьшается в количестве (Sefton, Hunter, 1981). Интерес к винкулину возрос еще больше, когда выяснилось, что он служит мишенью действия белка  $\text{pp60}^{\text{Src}}$ , который обладает протеинкиназной активностью и является продуктом онкогена. При трансформации культивируемых клеток вирусом саркомы Рауса пучки актиновых филаментов открепляются от мембраны и образуют агрегаты в цитоплазме. При электрофоретическом исследовании белков, примыкающих к мембране, было обнаружено, что больше всего подвергается фосфорилированию винкулин (Boschek et al., 1981; Sefton et al., 1981).

Таким образом, изменения в распределении между мономерным и филаментным актином находятся в тесной связи с широким разнообразием клеточных процессов — повреждением клетки, движением, адгезией, вирусной инфекцией, обработкой клеток лекар-



ственными препаратами или факторами роста. Можно с уверенностью сказать, что для нормального функционирования клетки важна ее способность полимеризовать и деполимеризовать актин и что нарушение любой из этих способностей является фатальным для клетки. Исходя из этих представлений можно объяснить уже известные факты, связанные с нарушением клеточной деятельности, например отсутствие пучков МФ в фибробластах онкогенной линии (Бершадский и др., 1981), нарушение секреции инсулина в  $\beta$ -клетках вследствие скопления большого количества МФ на периферии клетки (Orci et al., 1972) и т. д. Содержание актина становится маркером для характеристики физиологии и морфологии нормальных (Gaggels, Gibson, 1976; Santerre, Rich, 1976; Tilney, Tilney, 1984) и трансформированных клеток (Gowing et al., 1984).

Учитывая высокое содержание актина в клетках и его способность к взаимодействию с различными ферментами, ряд авторов (Поглазов и др., 1982; Clarke, Morton, 1982; Поглазов, 1983; Masters, 1984) выдвинули предположение, что актин не только принимает участие в перечисленных выше реакциях, но и играет определенную роль в регуляции обменных процессов. На это указывают такие факты, как ингибирующее действие  $\Gamma$ -актина на ДНКазу I, его участие как фактора элонгации в процессах биосинтеза белка, стимулирующий эффект на ассоциированную с микротрубочками АТФазу и др. Способность актина к полимеризации является в этом отношении очень важным свойством, так как позволяет регулировать количество его активной формы.

Долгое время считали, что ферменты гликолиза являются классическими растворимыми ферментами клетки. Сейчас многочисленными исследованиями установлено, что в скелетных мышцах эти ферменты связаны с актином (Masters, 1977, 1981, 1984; Walsh et al., 1977, 1980; Поглазов и др., 1982; Morton et al., 1982; Еронина и др., 1983; Сугрובה и др., 1983; Stephan et al., 1983). Авторы цитируемых работ предполагают, что эти связи ведут к организации гликолитических ферментов, что содействует регуляции метаболизма глюкозы. Было также показано, что гликолитические ферменты связываются с актином и в немышечных клетках (Masters, 1981; Clarke, Morton, 1982; Morton et al., 1982).

Как выяснилось, при связывании ферментов с актином происходит изменение их конформации и активности (рис. 43 и 44). Так, взаимодействие альдолазы с  $\Phi$ -актином приводит к активации фермента (Walsh et al., 1977, 1980; Kuter et al., 1981, 1983). Наибольший активирующий эффект (в 4 раза) наблюдается в том случае, если  $\Phi$ -актин находится в комплексе с тропомиозином и тропонином. При этом выявляется зависимость от ионов  $\text{Ca}^{2+}$ , блокирующих активность. Константа Михаэлиса альдолазы при комплексировании ее с  $\Phi$ -актином возрастает.

Активирующее действие  $\Phi$ -актин оказывает и на киназу фосфорилазы, а  $\Gamma$ -актин обладает слабым активирующим эффектом (Поглазов и др., 1982). Это факт существенный, так как киназа фосфорилазы является ключевым ферментом и запускает всю цепь

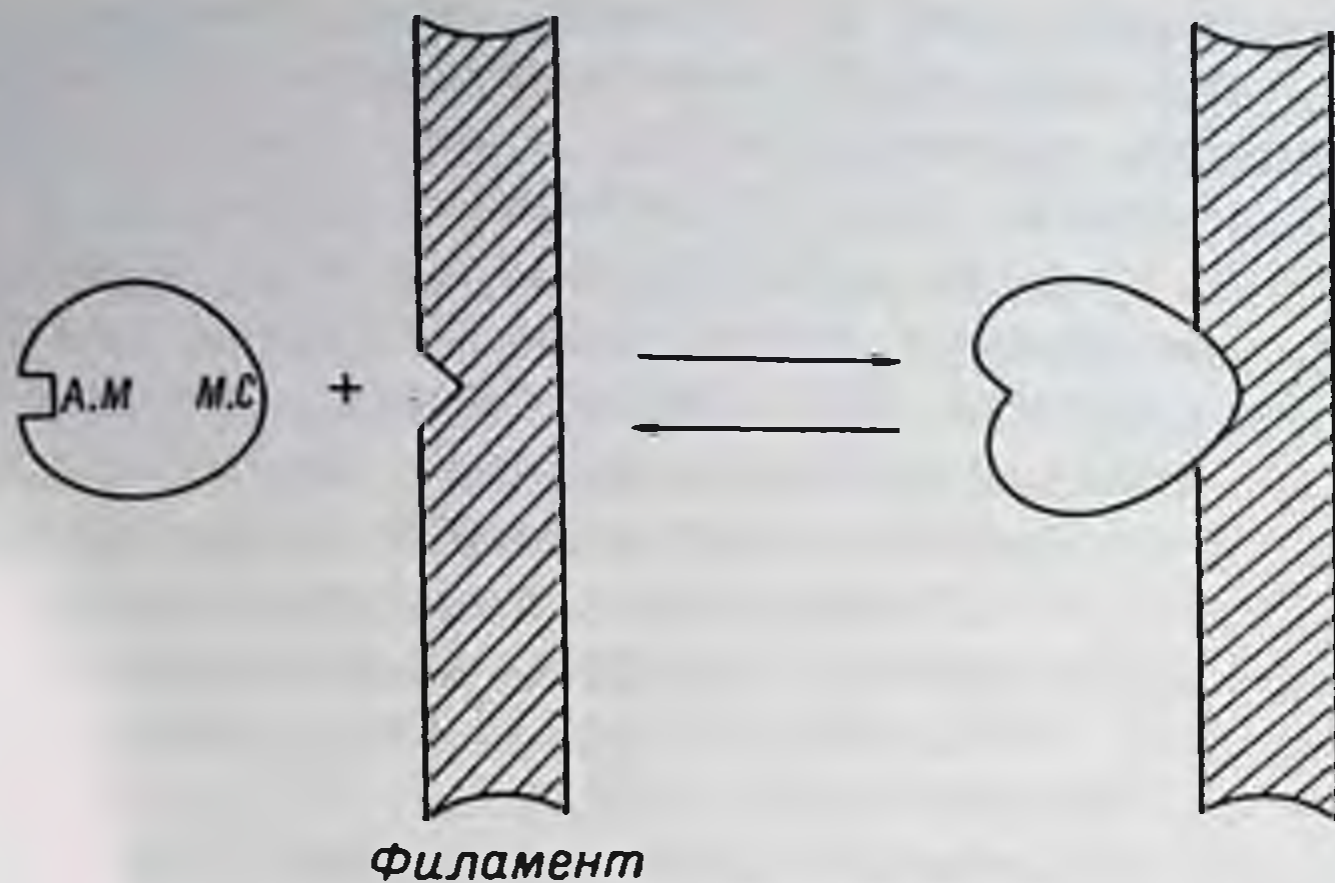


Рис. 43. Взаимодействие между ферментом и филаментной структурой (по: Masters, 1984).

*M. C* — место связывания; *A. M* — активное место.

реакций гликогенолиза. Т. Б. Ероина с сотрудниками (1983) показала, что глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа также значительно активируется Ф-актином; при этом наблюдается уменьшение константы Михаэлиса, что свидетельствует о конформационных изменениях фермента. При образовании комплекса лактатдегидрогеназы с Ф-актином происходит снижение активности фермента и возрастание константы Михаэлиса (Сугрובה и др., 1983).

Предполагают, что актин взаимодействует и с ферментами пентозофосфатного пути, аминокислотного метаболизма, катаболизма пиримидина (Masters, 1984).

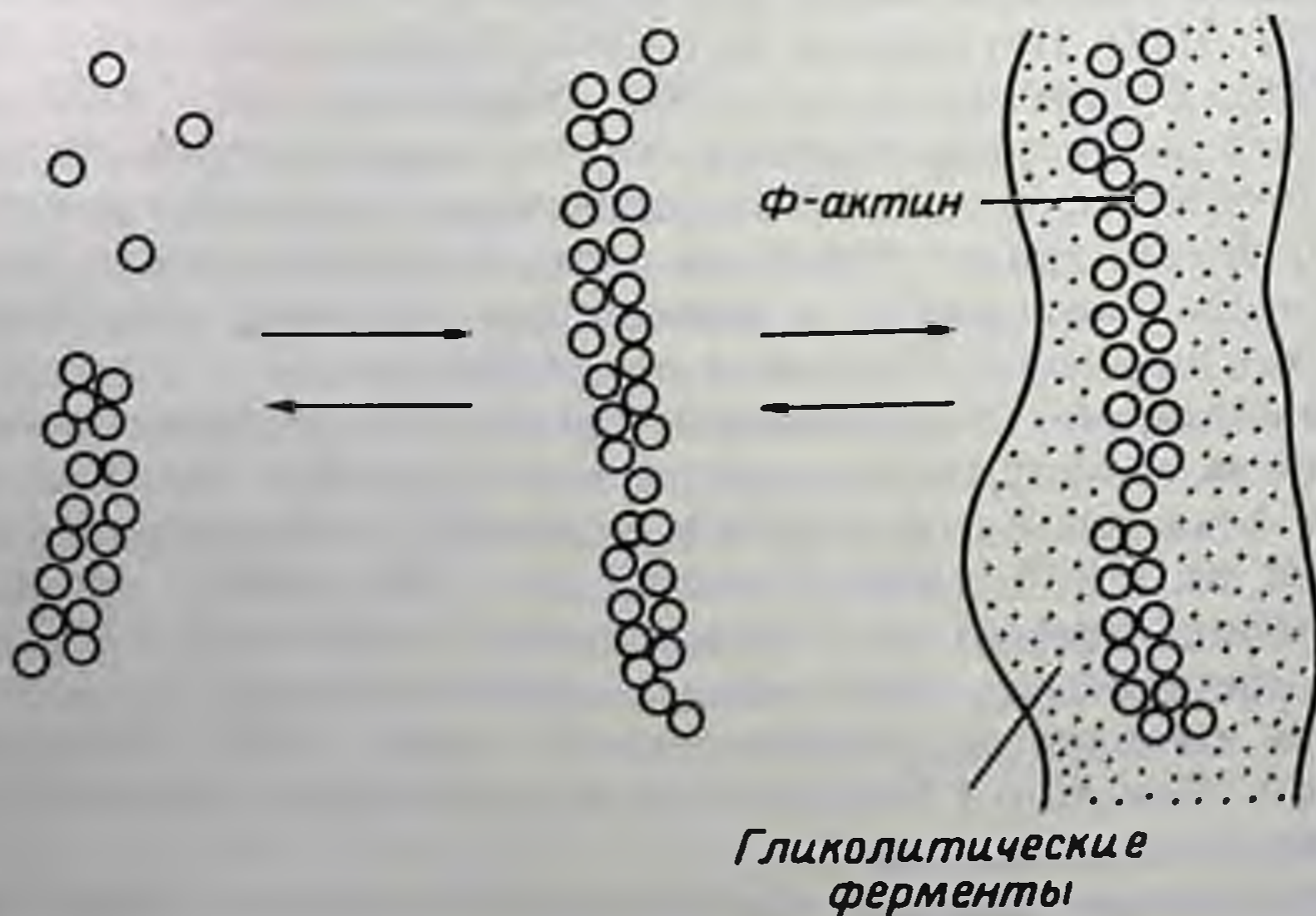


Рис. 44. Динамическое равновесие между актиновыми мономерами, микрофиламентами (Ф-актин) и гликолитическими ферментами (по: Masters, 1984).

Все вышесказанное позволяет считать, что актин, возможно, играет определенную роль в регуляции, организации и функционировании метаболизма в эукариотических клетках.

Недавние исследования показали, что актин является не только основным компонентом тонких филаментов в мышцах и микрофиламентов в неммышечных клетках, но он входит и в состав ядра клетки (Clark, Merriam, 1977; Goldstein et al., 1977). По данным Шира с сотрудниками (Sheer et al., 1984), актин выполняет какие-то функции при транскрипции генов, кодирующих белки. Инъекция актиновых антител или определенных актинсвязывающих белков в ядра ооцитов амфибий ингибирует транскрипцию хромосом. Кроме того, актин, по-видимому, играет роль иницирующего фактора для РНК-полимеразы II (Egly et al., 1984). Если актин необходим для генной транскрипции, то следует ожидать, что мутации в актиновом гене должны вызывать изменения в генной экспрессии. Ряд авторов (Kaglik et al., 1984; Higomi, Hotta, 1985; Higomi et al., 1986) продемонстрировали, что мутантный актиновый белок является причиной избирательной экспрессии генов белков теплового шока.

#### **ПОЛИМЕРИЗАЦИЯ АКТИНА И НЕСПЕЦИФИЧЕСКИЙ АДАПТАЦИОННЫЙ СИНДРОМ КЛЕТочНОЙ СИСТЕМЫ**

Как уже отмечалось, наиболее ранними и достоверными показателями адаптационного синдрома клеточной системы (точнее же той его фазы, которая, по терминологии Г. Селье, соответствует фазе «сопротивления») являются «коллоидные реакции», отражающие изменения дисперсности входящих в состав клетки коллоидов: увеличение светорассеяния цитоплазмы и ядра и вязкости. Для объяснения природы коллоидных реакций был выдвинут ряд гипотез. В. В. Лепешкин считал их результирующей по крайней мере четырех процессов: 1) вакуолизации, возникающей в результате пересыщения протоплазмы водой; 2) провоцируемого этим пересыщением округления фибриллярных структур; 3) распада «витаида» и последующей агрегации освободившихся его липидных и белковых компонентов; 4) денатурации белков и последующего образования межбелковых надмолекулярных комплексов. Л. В. Гейльбрунн постулировал сходство молекулярного механизма свертывания протоплазмы и крови. Он воздерживался от указаний на природу субстрата протоплазмы — аналога фибриногена крови, и выражался неопределенно: «свертывание белков протоплазмы». Впрочем, ссылаясь на результаты опытов Кюне, Гейльбрунн полагал, что белок мышечной ткани — миозин сходен по свойствам с фибриногеном. Д. Н. Насонов и В. Я. Александров рассматривали коллоидные реакции как результат денатурации и коагуляции белков протоплазмы. Белки в клетке различаются по устойчивости, поэтому предполагалось, что в первую очередь денатурируют и коагулируют наиболее лабильные из них. Такими наиболее чувствительными к воздействию денатурирующих агентов считались глобулины.

В работах последних лет идеи Л. В. Гейльбрунна, Д. Н. Насонова и В. Я. Александрова возрождаются на новой основе. Дэй и Джильаксона (Day, Gilbert, 1972) полагают, что характер рентгенограмм тин—миозин—эпидермин—фибриноген. На этом основании ряд авторов высказывают предположение о наличии в клетках белка типа фибриногена и изменения коллоидного состояния протоплазмы приписывают превращению клеточного фибриногена в фибрин (Русяев, Кузник, 1977; Мачабели, Крымский, 1984).

В. А. Монастырским (1979, 1985) предпринята попытка соединить идеи Гейльбрунна и Насонова—Александрова с современными данными о содержании в мышечных клетках Г-актина. В протоплазме клеток, по мнению Монастырского, содержатся или новообразуются два энзиматических фактора. Один из них подобен тромбину — фактору, индуцирующему в плазме крови превращение фибриногена в фибрин; другой фактор — типа пламина, т. е. фибринолитический. Клеточный тромбин инициирует полимеризацию Г-актина и трансформацию белков, аналогичную процессу денатурации, а клеточный пламин вызывает деполимеризацию Ф-актина и ренативацию денатурирующих белков.

На наш взгляд, представления о природе коллоидных реакций нуждаются в пересмотре. Мы указывали на работы Кейна, наблюдавшего желатинизацию экстрактов, полученных из клеток морского ежа, и обнаружившего в составе образовавшегося геля филаменты Ф-актина в комплексе с актинсвязывающими белками. Мы считаем вероятным, что в коллоидные реакции протоплазмы вносят свой вклад и реакции актина — его полимеризация и вторичные взаимодействия.

Актин в настоящее время обнаружен практически во всех мышечных клетках. Содержание его составляет до 20 % от общего белка клетки. Полимеризация актина и его взаимодействие с актинсвязывающими белками сопровождается увеличением светорассеяния и вязкости. Есть основания предполагать, что условия, возникающие в клетке при адаптационном синдроме, способны провоцировать изменения молекулярной структуры Г-актина, инициирующие переход его в Ф-форму, и вторичные реакции с актинсвязывающими белками. Такими условиями являются, во-первых, увеличение концентрации одно- и двухвалентных катионов и, во-вторых, освобождение из связи с РНК и белками полиаминов — специфических триггеров процесса полимеризации актина.

В одном из наших исследований было изучено влияние на полимеризацию Г-актина ряда неэлектролитов (Браун и др., 1984). Некоторые из них известны своей способностью предотвращать или ослаблять коллоидные реакции альтерированных клеток и увеличивать устойчивость клеток к действию неблагоприятных факторов. Мы исследовали влияние на полимеризацию Г-актина следующих неэлектролитов: мочевины, тиомочевины, сахарозы, глицерина, глутарового альдегида, полиэтиленоксида. Некоторые неэлектролиты использовались в диапазоне концентраций, при-

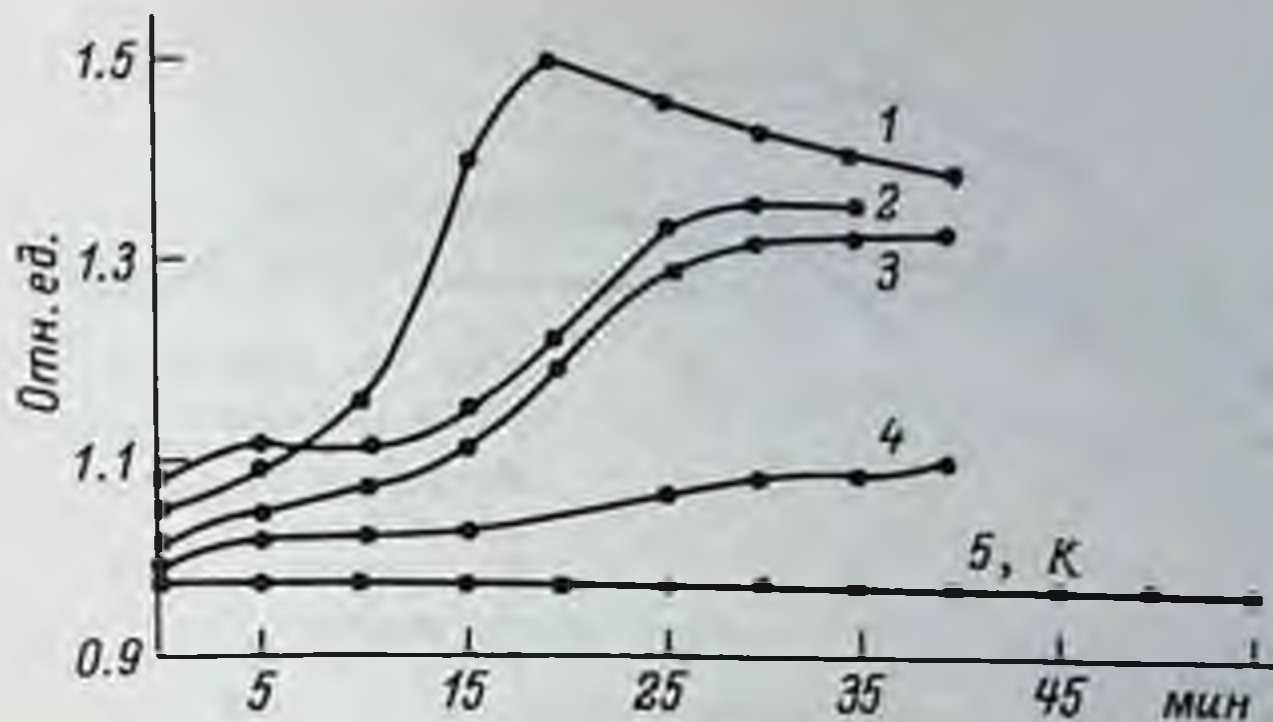


Рис. 45. Влияние неэлектролитов на изменение вязкости раствора Г-актина после добавления KCl (по: Браун и др., 1984).

К — контроль, вязкость Г-актина без KCl; 1 — изменение вязкости раствора Г-актина после добавления KCl (конечная концентрация 0.1 моль/л); 2—5 — то же в присутствии 1 %-ного полиэтиленоксида (2), сахарозы, 0.25 моль/л (3), мочевины, 0.5 моль/л (4), глутарового альдегида, 0.1 моль/л (5). По оси абсцисс — время, прошедшее после добавления KCl; по оси ординат — относительная вязкость раствора Г-актина.

менявшихся в опытах на клетках (Трошин, 1939; Ильинская, 1960).

Исследованные концентрации неэлектролитов и полученные результаты приводятся на рис. 45. По нашим данным, мочевина, тиомочевина, сахароза, глицерин и полиэтиленоксид тормозят переход Г-актина в Ф-форму. Эффект торможения усиливается с увеличением концентрации агентов. Мы уже указывали, что этот переход протекает в несколько стадий. Торможение полимеризации Г-актина под влиянием неэлектролитов отчетливо проявляется на стадии нуклеации. Ингибирующее влияние тиомочевины на полимеризацию актина наиболее сильное по сравнению с другими неэлектролитами. Такое же значительное торможение полимеризации актина вызывает препарат гутимин, применяемый для профилактики и лечения последствий пребывания людей в условиях пониженного содержания кислорода (рис. 46). Глутаровый альдегид блокирует полимеризацию полностью. Механизм действия неэлектролитов на полимеризацию Г-актина, вероятно, обусловлен присоединением к молекуле белка некоторого числа молекул неэлектролита, увеличением размера частиц и связанным с этим уменьшением их подвижности. Присоединение мочевины, тиомочевины, сахарозы, глицерина, полиэтиленоксида и гутимина к Г-актину происходит, по-видимому, в неактивных центрах белка, так как полимеризация затягивается, но не останавливается. Глутаровый альдегид, вероятно, блокирует активные центры и полимеризация становится невозможной. Выше упоминалось, что некоторые из исследованных нами неэлектролитов защищают клетки от повреждающих воздействий — высокой температуры, гипотонии, удлиняют продолжительность жизни клеток при их переживании вне организма. В растворе мочевины (при концентрации 0.5 моль/л), приготовленном на рингеровской жидкости, мышцы сохраняют функциональную активность в течение 6334 мин,

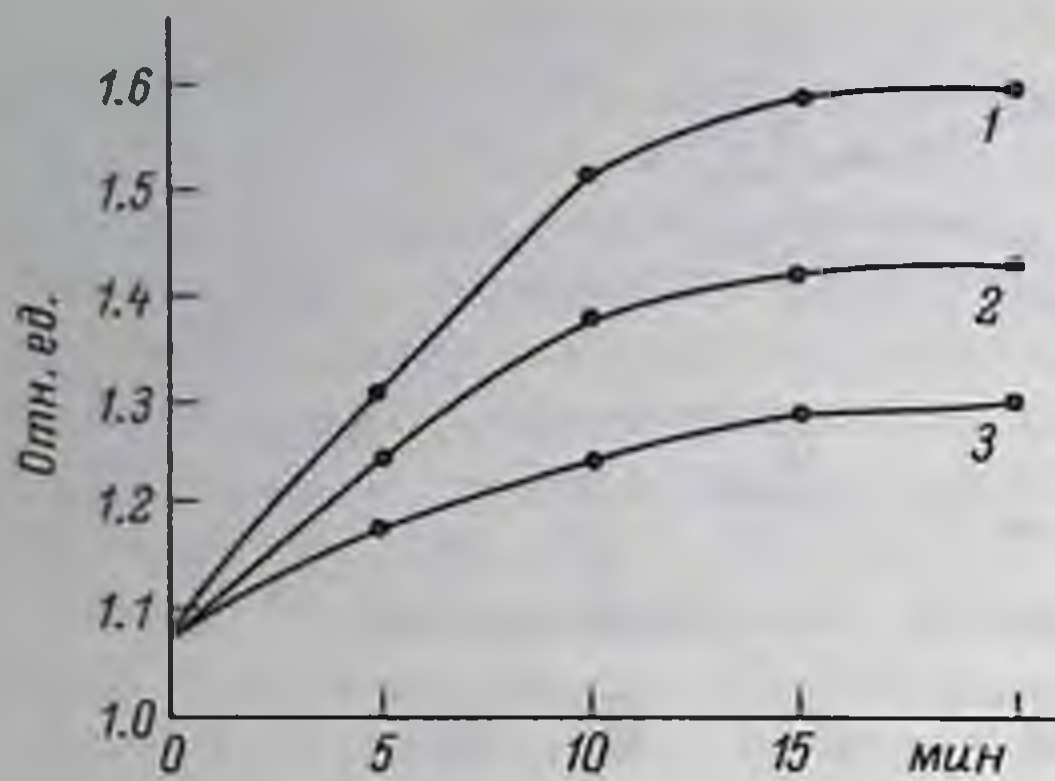


Рис. 46. Действие гутимина на вязкость раствора Г-актина (1 мг/мл). Изменение вязкости раствора Г-актина при добавлении: 1 — KCl (0.1 моль/л), 2 — гутимина (0.02 моль/л) и KCl (0.1 моль/л), 3 — гутимина (0.1 моль/л) и KCl (0.1 моль/л). На осях — то же, что и на рис. 45.

контрольные, при переживании в растворе Рингера, 2457 мин (Ильинская, 1960). В растворе Рингера, разбавленном в 4 раза с добавкой сахарозы (72 ммоль/л), мышцы сохраняют живое состояние более 24 ч, в контроле же погибают через 40 мин (Трошин, 1939). Глутаровый альдегид в небольших концентрациях увеличивает длительность переживания клеток вне организма (Kagaku, 1982), повышает устойчивость хлоропластов к действию высокой температуры (Parageorgiou, 1982).

Мы не раз указывали, что ответная реакция клетки на действие неблагоприятных факторов — процесс многоступенчатый. Более подробно изучена стадия, которая, по Д. Н. Насонову и В. Я. Александрову, отвечает фазе обратимого повреждения, а по классификации Г. Селье — «фазе сопротивления» (рис. 47). Большинство известных показателей адаптационного синдрома, в том числе и коллоидные реакции, относятся именно к этой фазе. «Главным признаком живого вещества является стремление его сохранить равновесие. . . Все факторы, вызывающие изменения в одну сторону, немедленно приводят в действие силы, которые стремятся направить это изменение в обратную сторону» (Гейльбрунн, 1957, с. 99). Известно, что у клеток, находящихся в течение ряда часов в фазе обратимого повреждения, субстанциальные и функциональные свойства восстанавливаются. Однако течение репаративного процесса осложняется и тормозится, если в цитоплазме и ядре образовалась густая сеть волокон Ф-актина и переплетенных с ним белков, в петлях которой захвачены и иммобилизованы вода, метаболиты, ферменты, органоиды. В связи с этим присутствие агентов, способных предотвратить или ослабить полимеризацию актина и вторичные реакции Ф-актина, может оказать положительный эффект: нарушение функциональной активности клетки происходит в меньшей степени, а течение и исход адаптационного синдрома оказываются более благоприятными.

В дальнейших наших исследованиях была поставлена задача выяснить, изменяется ли при адаптационном синдроме содержание Г-актина в клетках. Опыты были поставлены на экстрактах из клеток (макрофагов крыс и лимфоцитов крови человека), подвергнутых действию гипоксии и гипертермии. О количестве Г-актина в клеточ-

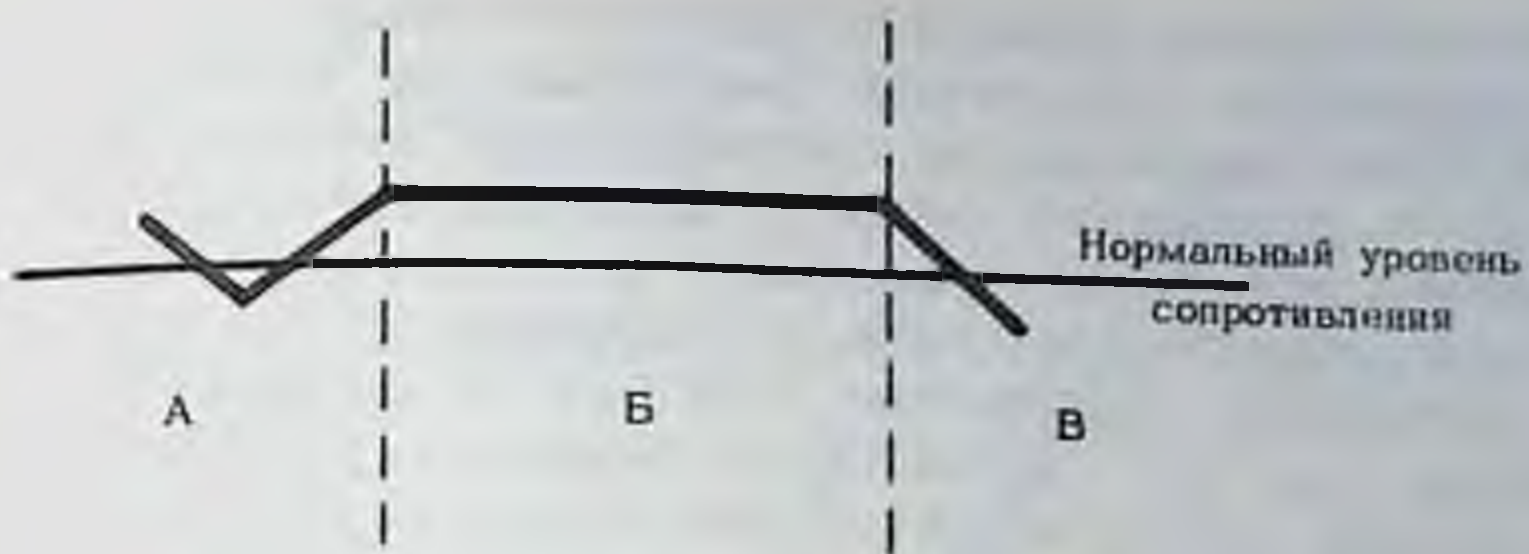


Рис. 47. Три фазы общего адаптационного синдрома (по: Селье, 1982).

*A* — реакция тревоги; *B* — фаза сопротивления; *B* — фаза истощения.

ных экстрактах судили по его способности инактивировать ДНКазу I (Lazarides, Lindberg, 1974). По данным Кунитца и Линдберга (Kunitz, 1950; Lindberg, 1964), величина гиперхромного эффекта, достигаемая в результате расщепления ДНК (при ее стандартном содержании) ДНКазой I, в первые минуты возрастает пропорционально содержанию фермента (поглощение растворов измеряли при 260 нм на спектрофотометре СФ-16 каждые 15 с в течение 2 мин) и составляет 28—31 % от поглощения нативной ДНК. Содержание Г-актина (*A*) в экстрактах из альтерированных клеток по сравнению с содержанием его в экстрактах из интактных клеток рассчитывали по формуле (в процентах):

$$A = \frac{a-c}{a-b} 100,$$

где *a* — величина гиперхромности контрольного раствора через 2 мин после начала реакции; *b* — та же величина при добавлении экстракта из интактных клеток; *c* — при добавлении того же объема экстракта из альтерированных клеток.

Как видно из полученных данных (табл. 16), содержание Г-актина в экстрактах из альтерированных макрофагов и лимфоцитов снижено. Уменьшение содержания Г-актина находится в корреляции с данными визуального определения величины светорассеяния клеток: при альтерациях, не сопровождавшихся заметным увеличе-

Таблица 16

Содержание Г-актина в экстрактах из альтерированных клеток (в % к его содержанию в экстрактах из интактных клеток)

Температура, °С	Время, мин	Тип клеток	
		макрофаги	лимфоциты
44	10	87±9.2	76±6.1
	30	74±8.4	59±6.0
46	10	44±5.2	21±4.4
52	10	34±6.9	0
56	10	14±3.4	0
Гипоксия	120 (2 ч)	92±8.6	80±10.7
	300 (5 ч)	68±7.7	56±8.1

нием светорассеяния, падение содержания Г-актина было минимальным. Полученные результаты указывают на возможный вклад реакций актина (денатурации, полимеризации, межбелковых взаимодействий) в коллоидные реакции альтерированной протоплазмы.

В связи с полученными данными представляют интерес результаты исследования Бликстада и Карлсона (Blikstad, Carlsson, 1982), изучавших содержание Г-актина в клетках HeLa после воздействия на них ингибиторов метаболизма — динитрофенола и азиды натрия. Авторы не наблюдали заметного снижения содержания Г-актина в отравленных клетках. Этот результат, на наш взгляд, и следовало ожидать, так как в отличие от гипоксии и гипертермии, т. е. повреждающих факторов общего действия, в клетках, отравленных специфическими ингибиторами, в течение длительного времени не выявляются традиционные признаки адаптационного синдрома (коллоидные реакции, нарушение сегрегационной функции и др.).

Данные об уменьшении содержания Г-актина при гипертермии уместно сопоставить с результатами исследования *in vitro* теплоустойчивости чистых препаратов Г-актина. По данным М. А. Глушанковой (1974), Г-актин, изолированный из мышц травяной и озерной лягушки, денатурирует и коагулирует при 54—58 °С. При увеличении концентрации белка в 4 раза его теплоустойчивость увеличивается на 10 °С. По данным Хикока с сотрудниками (Heacock et al., 1982), денатурация 50 % Г-актина из мышц кролика происходит при температуре 54 °С в течение 10 мин, а при температуре 58 °С — даже в течение 5 мин, что позволяет авторам отнести Г-актин к термолабильным белкам. Этот вывод, по-видимому, вполне обоснован, однако нужно учесть, что устойчивость Г-актина в клетке, где присутствуют белки и другие стабилизаторы, может быть значительно более высокой. На это указывают наши данные, полученные при воздействии на клетки температур в зоне 55—60 °С. По мнению Хикока, при этих температурах Г-актин полностью денатурирует в течение 10 мин. По нашим данным, даже при 55 °С и при более длительном воздействии может быть обнаружено заметное количество Г-актина.

Выше указывалось, что Минтон с сотрудниками (Minton et al., 1982), желая объяснить возможный механизм индукции синтеза белков теплового шока, предположил, что эти белки, являясь высокоустойчивыми к действию повреждающих факторов и образуя с лабильными белками комплексы, стабилизируют и защищают их от денатурации. Как видно из данных Минтона, устойчивые к термической денатурации белки — овомукоид и РНКазы заметно повышают устойчивость внеклеточного белка — сывороточного альбумина к действию высокой температуры и спирта. Обращают на себя внимание высокие концентрации белков-стабилизаторов, необходимые для получения защитного эффекта. В опытах Минтона фигурируют 10—20 %-ные концентрации овомукоида и РНКазы. В развитии этих представлений нами (Браун, Моженок, 1986) были предприняты исследования влияния тех же высокорезистентных к денатурации белков — овомукоида и РНКазы на устойчивость актина



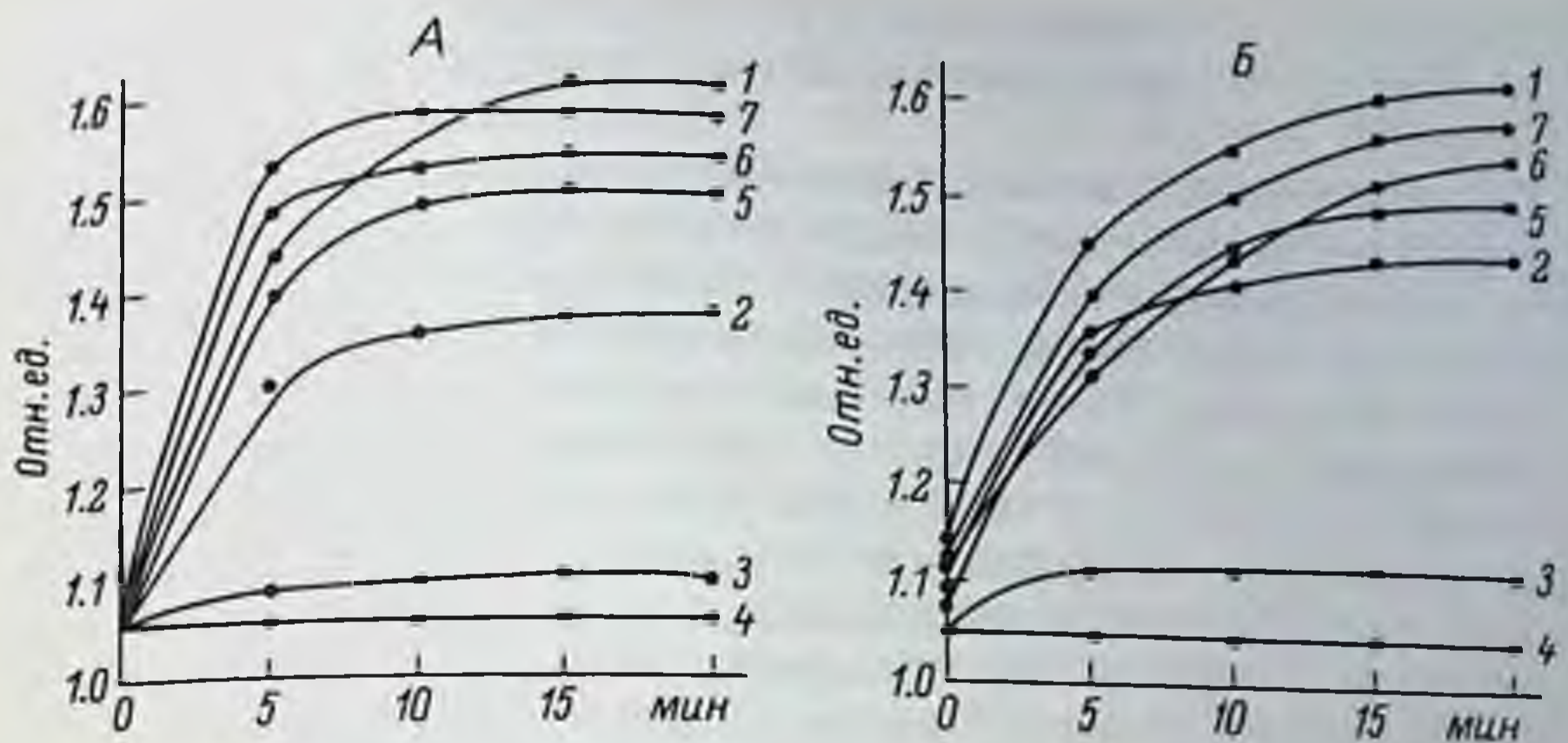


Рис. 48. Изменение вязкости раствора Г-актина (1 мг/мл) при действии гипертермии в присутствии овомукоида (по: Браун, Моженок, 1986).

Концентрация овомукоида: А — 1.5 %, Б — 3 %. 1 — актин + КСl (0.1 моль/л); 2 — Г-актин + нагрев (42.5 °С) + КСl; 3 — Г-актин + нагрев (43.5 °С) + КСl; 4 — Г-актин + нагрев (45 °С) + КСl; 5 — Г-актин + овомукоид + нагрев (42.5 °С) + КСl; 6 — Г-актин + овомукоид + нагрев (43.5 °С) + КСl; 7 — Г-актин + овомукоид + нагрев (45 °С) + КСl. На осях — то же, что на рис. 45.

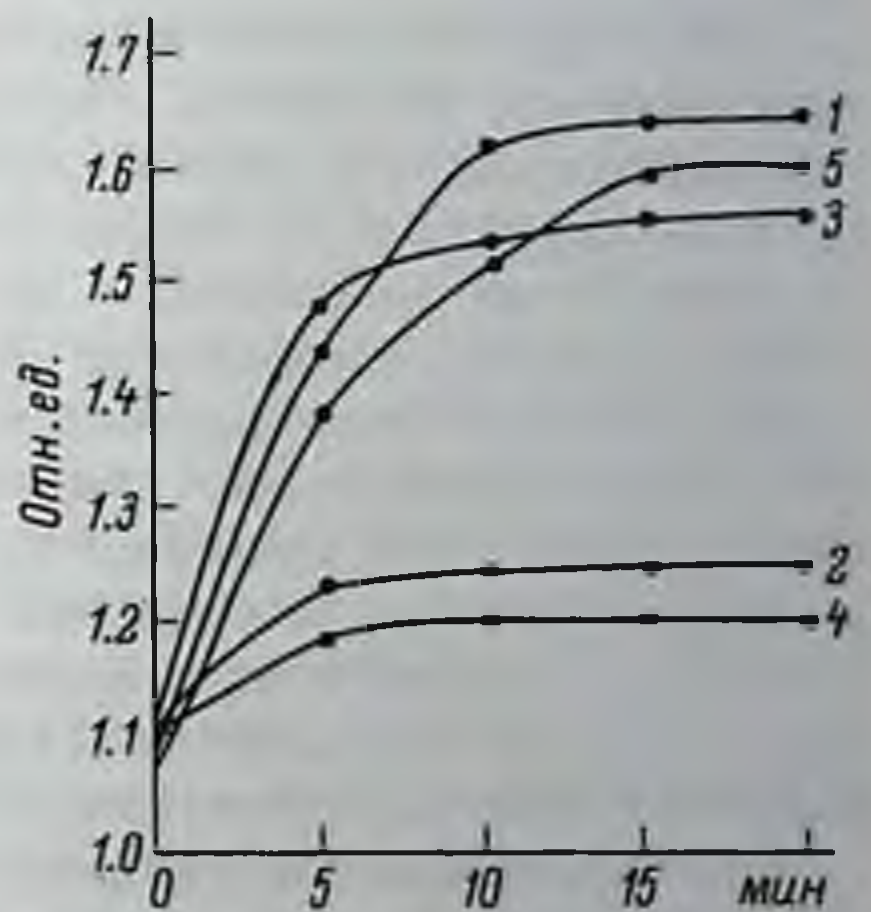


Рис. 49. Изменение вязкости раствора Г-актина при действии гипертермии в присутствии хлорпромазина (0.033 %-ного).

1 — актин + КСl (0.1 моль/л), 2 — Г-актин + нагрев (42 °С) + КСl; 3 — Г-актин + хлорпромазин + нагрев (42 °С) + КСl; 4 — Г-актин + нагрев (45 °С) + КСl; 5 — Г-актин + хлорпромазин + нагрев (45 °С) + КСl. На осях — то же, что на рис. 45.

к действию высокой температуры (рис. 48, А и Б). Защитное действие овомукоида оказалось весьма демонстративным. Представляет интерес отметить, что стабилизирующий эффект овомукоида на актин проявляется и при значительно меньших концентрациях.

К этим опытам примыкает небольшая серия экспериментов Е. А. Мадейры (работа проведена в нашей лаборатории), демонстрирующих замечательную способность небольших концентраций хлорпромазина стабилизировать актин (рис. 49). Эти опыты были предприняты под влиянием сообщения Чао с сотрудниками (Tsaο et al., 1982), которые показали более длительное переживание гепатоцитов крыс в растворах хлорпромазина при очень малых концентрациях (порядка 5—100 мкмоль/л).

## РОЛЬ АКТИНА В НЕКОТОРЫХ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССАХ

Широкое участие актина в различных формах клеточной активности привлекло внимание к вопросам о возможной роли его изменений в патологических процессах. Исследования в этой области развернулись в последние годы очень широко.

Более подробно были изучены изменения актина и их роль в патогенезе миопатий разного происхождения, например при мышечной дистрофии, а также при денервации мышц. Электронно-микроскопические исследования позволили выявить в мышечных волокнах при этих заболеваниях палочковидные структуры, локализующиеся в основном на периферии волокна. Эти образования достигают 5 мкм в длину и 1 мкм в диаметре. Они состоят из актина,  $\alpha$ -актинина и десмина (скелетина) (Maig, Tomé, 1972; Jockusch et al., 1980; Thornell et al., 1980).

Изменения актина имеют место при синдроме «лейкоцитов-ленивцев», при котором наблюдается аномальное поведение полиморфноядерных лейкоцитов (ПМЛ). У больных с этим синдромом клетки проявляют активный хемотаксис, но обнаруживают аномальное (медленное) движение и аномальный фагоцитоз; хотя содержание актина в них находится в пределах нормы, но способность его полимеризоваться нарушена. Предполагают, что это вызвано либо изменением актина, либо факторы, контролирующие полимеризацию актина, нарушены (Rungger-Brandle, Gabbiani, 1983).

Нарушение процесса полимеризации актина наблюдается в эритроцитах аномальной формы. В наследственных болезнях, таких как эллиптоцитоз и пиропойкилоцитоз цитоскелет эритроцитов содержит аномальный, чувствительный к температуре спектрин (Lux, Wolfe, 1980; Tomaselli et al., 1981), который не может образовывать тетрамеры, что ведет к мембранной нестабильности. Наблюдается и неудовлетворительное фосфорилирование спектриновой молекулы, что выражается в образовании аномального полимеризованного спектрин-актинового комплекса (Lux, Wolfe, 1980).

Большое внимание уделяют организации актиновых микрофиламентов в опухолевых клетках. В нескольких лабораториях было показано (Malech, Lentz, 1974; Schenk, 1974; McNutt, 1976; Harg, Toh, 1977), что в некоторых карциномах человека опухолевые клетки, особенно те, которые локализованы на периферии опухоли, и те, которые прорастают в окружающую ткань, обладают сходными с псевдоподиями цитоплазматическими выступами, содержащими хорошо развитую микрофиламентную сеть. Остается открытым вопрос: либо этим морфологическим изменениям соответствует увеличение общего количества актина, либо изменяется степень его полимеризации (Low et al., 1981). Однако иммунофлюоресцентные исследования показали, что в неопластических эпителиальных клетках изменение в степени полимеризации актина происходит в большей степени, чем в общем количестве белка; наблюдается и увеличение количества Ф-актина (Low et al., 1981).

Достаточно хорошо изучена актиновая организация в эпидермальных клетках при заживлении ран. В процессе заживления обнаруживаются признаки, существенные для восстановления целостности ткани и репарации: 1) образование грануляционной ткани; 2) движение эпителиальных клеток. Обе ступени характеризуются типичными модификациями цитоскелета (Bullough, 1970; Peacock, Van Winkle, 1970; Gabbiani, 1979). В открытых ранах локализация и миграция эпителиальных клеток начинается с ее краев. Показано, что миграция играет важную роль в восстановлении эпителия, в процессе которого развивается кортикальный слой микрофиламентов (Gabbiani, Ryan, 1974) и разрушаются десмосомальные комплексы (Gabbiani et al., 1978). Эпителиальные клетки заживающей раны содержат увеличенные количества полимеризованного актина, что, вероятно, представляет молекулярную основу двигательной активности эпителиальных клеток (Low et al., 1981).

Модификация актиновых филаментов происходит и в клетках кровеносных сосудов при воздействии патологических стимулов. Клетки стенок кровеносных сосудов подвержены механическим стрессам, которые постоянно изменяют их форму и внутриклеточные взаимоотношения. Цитоскелет этих клеток играет существенную роль в поддержании нормальной многослойной организации стенок сосуда и в обеспечении клеточной адаптации к патологическим стимулам, таким как повышенное давление. У крыс при экспериментально вызванной гипертонии в эндотелиальном слое аорты наблюдаются увеличение объема и плотности клеток, рост проницаемости к пероксидазе хрена, повышение уровня репликации и появление в цитоплазме многочисленных микрофиламентных пучков с плотными телами. Эти изменения имеют место в ранние фазы повреждения (7—10 сут). Появление микрофиламентных пучков напоминает стресс-фибриллы, которые присутствуют в культурах эндотелиальных клеток (Schwartz et al., 1981). Предполагают, что эти стресс-фибриллы, обнаруживаемые *in vivo*, могут изменяться при неблагоприятных и патологических стимулах (Burridge, 1981).

Таким образом, в ходе патологических процессов изменяется соотношение форм актина: увеличивается содержание Ф-актина, а содержание Г-актина уменьшается.

Рунгер-Брендл и Габбиани (Rungger-Brandl, Gabbiani, 1983, p. 392) в обзоре, посвященном роли цитоскелета в патологических процессах, указывают: «Сейчас пришло время сконцентрировать научный потенциал для изучения цитоскелетных и цитоконтрактильных структур, чтобы понять основные изменения, происходящие при патологии клеток».

## ЗАКЛЮЧИТЕЛЬНЫЕ ЗАМЕЧАНИЯ

Ганс Селье — крупный современный физиолог, создатель учения о стрессе — рассказывает, как у него возникла идея о «синдроме болезни» (Селье, 1982). В 1925 г. он был студентом-медиком. На одной из первых лекций в аудиторию вводили одного за другим больных разными болезнями. Почти каждый пациент жаловался на плохое самочувствие, слабость, потерю аппетита, веса. Почти у всех были желудочно-кишечные расстройства, повышенная температура. Выражение лица пациентов выдавало их болезненное состояние. Но профессор не придавал значения этим симптомам, поскольку они были неспецифическими. Студента Селье тогда поразило, что так мало признаков, характерных для какой-то определенной болезни, в то же время большинство признаков являлось общим для многих не связанных между собой болезней, а, может быть, и всех. Было непонятно, почему с незапамятных времен врачи концентрировали все свои усилия на распознавание отдельных болезней, на открытие специальных лекарств и не обращали внимания на «синдром болезни». Прошли годы. Селье стал научным работником и в ходе исследований обнаружил, что ряд самых различных неблагоприятных условий — голодание, кровопотеря, боль, страх, усталость — могут вызывать у животных сходные эффекты. При описании этого факта и появился впервые в медицинской литературе термин «стресс». Вскоре, в другом исследовании, Селье снова столкнулся с фактом неспецифической реакции организма на различные неблагоприятные воздействия, и тогда вспомнились ему студенческие мысли о «синдроме болезни». Так сформировалась концепция «стресса», согласно которой «организм реагирует стереотипно одинаковыми биохимическими изменениями, назначение которых — справиться с возросшими требованиями к человеческой машине» (Селье, 1982, с. 26).

«После того как живое существо появилось на свет, немного можно изменить в его врожденных свойствах. Оно тотчас же оказывается во враждебной среде. . . В чреве матери оно было защищено в достаточной степени, но после перерезки пуповины предоставлено самому себе, подвержено действию холода, жары, потенциально опасной пищи, микробов, физических повреждений. С этого момента и на протяжении всей жизни главной проблемой для него будет

адаптация» (Селье, 1982, с. 47). Стресс — это выработанный в процессе эволюции, путем отбора, неспецифический комплекс реакций, обеспечивающих живой системе переход на новый режим существования. Это механизм увеличения устойчивости к неблагоприятным факторам среды, т. е. адаптация. Понимая так биологический смысл стресса, легко понять мотив, по которому Селье термин «стресс» нередко заменяет словосочетанием «общий адаптационный синдром», более полно и точно определяющий сущность описываемого круга явлений.

Концепция «стресса» оказалась весьма плодотворной. Исследования на ее основе приобрели значительный размах в разных областях медицины, ветеринарии. На ее основе разрабатываются и успешно применяются профилактические и лечебные меры борьбы с разнообразными видами патологии человека и животных. В 1984 г. в библиотеке Международного института стресса в Монреале по тематике стресса собрано более 250 000 книг и статей.

Если внимание врачей сосредоточено главным образом на специфических проявлениях болезни, а неспецифическому «синдрому болезни» не придают большого значения, то у цитологов сложилась ситуация прямо противоположная. Наблюдая результаты воздействий на клетки разнообразных факторов, как правило, отмечают стереотипный, неспецифический характер изменений. Начало было положено работами Рудольфа Вирхова, открывшего изменения свойств клеток при различных патологических состояниях. «Мутное набухание» было обнаружено Вирховым у клеток почечных канальцев больных Брайтовой болезнью (нефритом). «Мутное набухание» он нашел у клеток печени больных гепатитом, у клеток легочного эпителия при воспалении легких и т. д. Вирхов предположил, что клетки изменяются в результате воздействия на них бактериальных токсинов, химических ядов и других повреждающих факторов, и думал, что однотипный характер реакций клеток объясняется способностью протоплазмы, как и крови, свертываться. Для проверки своего предположения Вирхов предпринял модельные эксперименты. Свежевырезанную роговицу он разделил на две части. Одна служила контролем, другую он подвергал воздействию гипертермии, сулемы, щелочи. Поврежденные клетки оказались мутными и набухшими.

Микроскопы во времена Вирхова давали относительно небольшое увеличение. Можно было думать, что при слабом увеличении не удастся выявить особенности разного вида воздействий. К концу XIX в. микроскопы достигли почти предела разрешающей способности. Видный цитофизиолог того времени Макс Ферворн тщательно изучил деструкцию корненожки (*Hyalopus*) под влиянием различных повреждающих факторов и пришел к выводу, что во всех случаях реакция протоплазмы была однотипной. Желая наглядно пояснить природу неспецифических ответных реакций клетки, Ферворн сравнивает живое вещество с нитроглицерином, который в ответ на любое воздействие взрывается и распадается на одни и те же составные части.

Известный исследователь клеточного повреждения растений и биофизик В. В. Лепешкин следующими словами охарактеризовал изменения клеток в результате воздействия на них повреждающих факторов: «Морфологические явления при некробиозе от рода повреждающих агентов не зависят» (Lepeschkin, 1937, с. 21). В другом месте, описывая действие на клетки кислот и щелочей, Лепешкин отмечает: «Морфологические изменения живой материи, вызываемые действием кислот и щелочей, в общем такие же, как и при действии других повреждающих агентов» (Lepeschkin, 1937, с. 122). Различия в действии альтерирующих факторов, по-видимому, имеются, но они выражаются главным образом в неодинаковой скорости наступления различных стадий в клеточном некробиозе, в порядке их появления и в яркости проявления. Тот факт, что различные по своей природе химические и физические агенты вызывают в клетках однотипные изменения, указывает, что при реакции живой протоплазмы приходит в движение какой-то один и тот же процесс, какой-то один молекулярный механизм. Таким процессом, по предположению Лепешкина, является распад липопротеинов, крайне лабильных комплексов живой протоплазмы.

Другой видный исследователь клеточного повреждения, Л. В. Гейльбрунн, также подчеркивает однотипный характер изменений протоплазмы в ответ на воздействия разнородных физических и химических факторов. Стереотипность этой реакции, по мнению Гейльбрунна, указывает на то, что механизм ее единый — это коагуляция белков протоплазмы — реакция, сходная по биологическому значению и, по всей вероятности, по молекулярному механизму с процессом свертывания крови (Гейльбрунн, 1957).

Д. Н. Насонов о характере ответной реакции клетки на действие неблагоприятных факторов высказывается следующим образом: «Прежде всего обращает на себя внимание то обстоятельство, что при действии самых разнообразных физических и химических раздражителей, иногда совершенно разнородных по своему характеру, проявляется один и тот же комплекс изменений, который, очевидно, является выражением одной реакции, возникшей в результате воздействия на клетку любого агента. Поэтому ответную реакцию протоплазмы можно назвать неспецифической реакцией» (Насонов, 1959, с. 12). Д. И. Насонов и В. Я. Александров (1940) собрали обширный материал, свидетельствующий о неспецифической реакции клеток на внешние воздействия, и на этой основе выдвинули «денатурационную теорию» клеточного повреждения.

В последние годы для изучения процессов, протекающих в поврежденной клетке, привлекаются все более сложные, все более совершенные методы исследования; характеристика поврежденного состояния протоплазмы пополняется новыми показателями. Но полученные до сих пор данные только укрепляют представление о неспецифическом характере изменений поврежденной протоплазмы. Последнее достижение в этой области — открытие белков теплового шока. Вначале предполагали, что синтез этих белков представляет специфический признак термического повреждения, но вскоре

выяснилось, что синтез белков теплового шока провоцирует любое воздействие и первоначальное название «белки теплового шока» пришлось заменить более адекватным термином «стрессовые белки».

Д. Н. Насонов начинает свою лекцию «О природе возбуждения» рассуждением о биологическом смысле реакции организма на изменения в окружающей среде: «Во всех случаях реакции эти будут в той или иной степени полезными для организма и в конечном итоге направлены на поддержание его существования. В простейшем случае это уход от опасности. Если это возможно — происходит переход на новый режим существования, иными словами, адаптация к новым условиям, т. е. защитная реакция. Не может быть сомнения в том, что способность реагировать на изменения в среде полезным для себя действием является филогенетически древнейшим свойством всякой живой системы» (Насонов, 1948).

Мы говорили выше о соображениях Ганса Селье по поводу биологического смысла стрессовой реакции («общего адаптационного синдрома»). Применимы ли эти представления к клеточной системе? Не следует ли рассматривать неспецифический ответ клетки на повреждающие воздействия как адаптивную, т. е. защитную, реакцию? Такой вывод, по-видимому, вполне обоснован. Клеточной системе присущи все характерные черты живого; ей, как и всему живому, свойственна способность реагировать полезным для себя образом на изменения в среде. Отсюда следует, что обозначения «некробиоз», «паранекроз», «обратимая альтерация» неполно или неточно отражают биологический смысл процесса. Нам представляется более подходящим заимствованное у Селье словосочетание «неспецифический адаптационный синдром клеточной системы».

Стресс, по представлениям Селье, процесс трехфазный (см. рис. 47). Первая фаза — *alagt*-реакция (*alagt* — тревога, переполох), вторая — фаза сопротивления, третья — фаза истощения.

Селье неоднократно указывает на возможность стресса на разных уровнях организации живого, в том числе и на клеточном. Укладываются ли известные данные о клеточных реакциях на повреждение в трехступенчатую схему Селье? Трамп (Trump et al., 1981a), изучая реакции клеток-аэробов на действие аноксии, устанавливает в развитии процесса семь основных и пять побочных фаз. Кинг (King et al., 1959) насчитывает их 13. В развитии парабактериального процесса различают четыре-пять стадий. Д. Н. Насонов в реакции клетки на действие раздражителей выделяет три фазы: 1) предпаранекротическую; 2) паранекротическую; 3) фазу необратимой альтерации. Таким образом, число фаз по рубрикам Селье и Насонова совпадает. Но адекватны ли они по характеру состояний?

Свое понимание природы фазы сопротивления и причин перехода ее в последнюю фазу истощения Селье поясняет следующим образом: «После первоначальной „*alagt*-реакции“ организм адаптируется и оказывает сопротивление, причем продолжительность периода сопротивления зависит от врожденной приспособленности организма и от силы стрессора. В конце концов наступает истощение. Мы до сих пор точно не знаем, что именно истощается, но ясно, что не

только запас калорий: ведь в период сопротивления продолжается нормальный прием пищи...» (Селье, 1982, с. 35). Естественно встает вопрос: правомерна ли аналогия между *alagm*-реакцией и состоянием предпаранекротической фазы? Адекватно ли состояние фазы «сопротивления», в ходе которой «продолжается нормальный прием пищи», с состоянием паранекроза, характеризующегося резким сужением функциональной активности клетки, блокированием ряда реакций, идущих в норме, и включением реакций, не идущих или почти не идущих в нормальных условиях?

Для обоснованного ответа на эти вопросы данных в полном объеме еще нет. Скажем только, что результаты биохимических исследований указывают, что при действии раздражителей на клетки после некоторого периода резкого подъема метаболической активности, продолжительность которого зависит от типа клеток, от характера и интенсивности раздражителя наступает стадия нормализации. Содержание АТФ удерживается на постоянном уровне, а в некоторых случаях заметно увеличивается. Дыхание нормализуется. Включается синтез стрессовых белков. Защитный, приспособительный характер реакций клеток в этой стадии, по-видимому, не вызывает сомнений. После стадии «обратимой альтерации», продолжительность которой определяется не только исчерпанием запасов энергетических веществ, но зависит и от рода клеток, от характера и интенсивности раздражителя, клетка погибает, если она не будет переведена в нормальные условия. Переход от жизни к смерти, как правило, сопровождается желатинизацией и коагуляцией протоплазмы.

В монографии «Стресс без дистресса» Селье не обсуждает возможность оказать влияние на стрессовую реакцию в смысле ее ослабления, изменения длительности ее фаз и т. д. Между тем это одно из актуальных заданий современной биологии — открытие эффективных методов, увеличивающих способность живых систем к адаптации, т. е. усиливающих их сопротивляемость к неблагоприятным воздействиям. Значение этих разработок будет со временем возрастать: с ростом численности человечества, с расширением сфер его деятельности, с научно-техническим прогрессом живой мир будет во все большей степени подвергаться воздействию продуктов химической промышленности, «потенциально опасной пищи», увеличенной радиации и т. д. Все чаще будет возникать необходимость обеспечения жизни человека, жизни и продуктивности животных и растений в условиях, необычных для нормального функционирования. Таким образом, разработки и розыск адаптогенных эффекторов (термин «адаптоген» предложен Н. В. Лазаревым, 1966) представляет задачу большой практической важности. Значение исследований в этой области осознано давно. Не однажды предпринимались попытки практических подходов к их решению. Однако полученные результаты не были значительными, что объясняется, по-видимому, недостаточно разработанной теорией предмета, отсутствием принципиальных установок для выбора путей научного поиска. Соображения о том, что эти работы должны вестись с учетом



механизмов обеспечения устойчивости и надежности живых систем, выработанных в процессе биологической эволюции, не могли быть реализованы, так как эти механизмы не были известны. Только в последнее время благодаря прогрессу в исследованиях химии белка, достижениям молекулярной экологии, ферментной инженерии и других дисциплин в этой области произошли заметные сдвиги.

Сравнительная физиология и экология располагают обширными материалами, демонстрирующими широкие различия в устойчивости живых систем разного уровня организации к неблагоприятным факторам среды. Наряду с формами, обитающими в относительно мягких условиях (температуры, давления, солености, кислотности и т. д.), известны многочисленные примеры существования и процветания организмов в поразительно суровых условиях, например в горячих источниках с температурой воды 95—100 °С, в воде лиманов с концентрацией соли порядка 20 %; недавно обнаружена жизнь в ручейках, стекающих со склонов вулкана, содержание серной кислоты в которых достигает 20 %! В последние годы были открыты многочисленные примеры различий в устойчивости гомологичных тканей у разных видов животных и у близкородственных видов. Описаны варианты устойчивости в связи с полом, сезоном, стадиями онтогенеза, физиологическим состоянием и т. д.

Вопрос о субстрате протоплазмы, ответственном за различную устойчивость живых систем, не вызывал дискуссий. Приоритет белка, «ведущего (по выражению А. Я. Данилевского) главный мотив протоплазматической гармонии», оставался незыблемым. Но молекулярная основа различной устойчивости белков и механизмы обеспечения нативного состояния белков при 95—100 °С и в других экстремальных условиях долгое время оставались неизвестными.

Выше уже упоминалось о работе Кюне (Kühne, 1964), который, отжимая под гидравлическим прессом мышцы только что убитых животных, получил «мышечную плазму» — желтоватую жидкость. «Мышечная плазма» свертывалась при комнатной температуре в течение немногих часов, а при 37 °С — в течение нескольких минут. Эти данные были подтверждены в ряде лабораторий; их повторяли, получая тем же методом плазму печени, почек, яиц морского ежа и других объектов с теми же результатами. Эти данные создали и поддерживали в течение нескольких десятков лет убеждение в исключительной неустойчивости внутриклеточных белков. Для того чтобы объяснить, каким образом столь лабильные протеины могут существовать и функционировать при температуре тела теплокровных животных, а тем более при температурах обитания термофилов, были сконструированы различные гипотезы. Об одной из них упоминается в разделе «Денатурационная теория...». Внутриклеточные белки, согласно этой гипотезе, непрерывно в клетке денатурируют, но благодаря наличию в клетке особой энзиматической системы «ренативазы», или «ренатуразы», непрерывно возвращаются в нативное состояние. Так как обращение денатурации представляет, по предположению авторов, энергозависимый

процесс, то понятно, что выход из строя энергетического метаболизма приводит к быстрой денатурации белка в клетке.

После работ В. А. Энгельгардта, Ф. Штрауба, А. Сцент-Дьердьи и ряда других исследователей было установлено, что свертывание мышечной и других видов плазмы является следствием не денатурации и коагуляции внутриклеточных белков, а результатом образования межбелковых комплексов Ф-актина с актинсвязывающими белками. Существование энзиматической системы «ренативазы» не подтвердилось. Гипотеза перестала обсуждаться. Однако недавно она обрела новую жизнь в работах В. А. Монастырского (1979, 1985).

Другая гипотеза, как и первая, исходит из представления о высокой лабильности внутриклеточных белков, быстрой их денатурации и инактивации при температуре тела теплокровных животных и термофильных организмов. Денатурированные белки, согласно этой гипотезе, атакуются внутриклеточными протеазами и уничтожаются. Убыль белков немедленно восполняется новосинтезированными. Таким образом, постулируется наличие в клетках мощной белоксинтезирующей системы, а так как синтез белка представляет энергозависимый процесс, то для его обеспечения требуется значительная затрата энергии. Гипотеза не получила экспериментального подтверждения в полном объеме, хотя стимуляция синтеза белка в клетке при повреждении и при переживании в экстремальных условиях отмечается в ряде работ.

В третьей гипотезе для объяснения возможности поддержания нативного состояния белков выдвинуто представление о «протеидизации» (термин предложен В. А. Энгельгардтом). Большая часть белков клетки находится в несвободном состоянии. Они образуют протеиды — комплексы с липидами, нуклеиновыми кислотами, низкомолекулярными веществами. Протеиды устойчивее протеинов, так как молекула белка в них в ряде точек связана слабыми связями с партнером; она труднее разворачивается; конформационная подвижность белка еще более иммобилизована, если ассоциация белка с лигандом многоточечная. В работе А. Д. Брауна (1960) представление о «депротеидизации» привлечено для объяснения некоторых явлений, наблюдаемых при повреждении клетки для трактовки механизма освобождения и выхода веществ из клетки в результате воздействия повреждающих факторов.

Наконец, четвертая гипотеза привлекает для объяснения увеличения устойчивости белков определенные, хотя и небольшие, изменения его первичной структуры, приводящие к стабилизации глобулы. Белки мезофильных форм сохраняют нативность до 50—60 °С. Белки термофилов более стабильны: они нативны при температурах на 20—30 °С более высоких. По термодинамическим расчетам это различие в устойчивости может быть обеспечено увеличением небольшого числа слабых связей в глобуле: одним-двумя солевыми мостиками, пятью-шестью водородными связями или присутствием в гидрофобном ядре глобулы нескольких дополнительных метильных групп. Столь незначительные изменения числа связей не требуют существенной перестройки структуры ядра. Полученные данные

действительно указывают, что белки термофилов отличаются от гомологичных белков мезофилов весьма незначительными изменениями первичной структуры.

С учетом современных представлений о механизмах поддержания нативной конформации белков для розыска адаптогенных эффекторов наиболее перспективными являются разработки по трем направлениям. Первым из них учитываются условия увеличения устойчивости клеточных белков. Второе находится в связи со способностью клетки к восстановительным реакциям. Третье основано на данных, указывающих, что даже относительно глубокие конформационные изменения белков опасны для жизни клетки в меньшей степени, чем генерализация реакций полимеризации, белок-белок взаимодействий, желатинизации, коагуляции. Таким образом, воздействия, способные привести к повышению устойчивости клетки, могут быть направленными на повышение устойчивости ее белков, на стимуляцию реакций, лежащих в основе репарационных процессов, на предотвращение или ослабление межбелковых взаимодействий.

Пути увеличения устойчивости белков в природе многообразны. Некоторые из них в настоящее время с успехом используются для создания высокоустойчивых препаратов в ферментной инженерии. Эти же приемы, по всей вероятности, могли бы быть использованы и для увеличения стабильности белков живых объектов. Наиболее реальным представляется отбор адаптогенов — веществ, способных соединяться с белком, адсорбироваться им, образуя нековалентные (водородные, электростатические, гидрофобные) поперечные связи с двумя-тремя рядом расположенными полипептидными цепями. При создании дополнительных связей между полипептидными цепями глобула с наложенными скрепками утрачивает свою конформационную подвижность и устойчивость ее возрастает. В качестве веществ-скрепок могут быть использованы некоторые аминокислоты, лекарственные препараты, красители, антибиотики, производные гуанидина и др. Указанный способ стабилизации белков достигается воздействиями на поверхность белковой глобулы.

В принципе возможен и другой способ, действующий изнутри глобулы. Как выясняется из исследований последних лет (Tapfögd, 1980; Шульц, Ширмер, 1982), стабильность белка определяется устойчивостью его гидрофобного ядра. Чем выше содержание в белке аминокислот с гидрофобным радикалом, чем компактнее они уложены, чем большее число образовалось между ними гидрофобных связей, тем выше суммарная энергия их взаимодействия, тем устойчивее ядро, а с ним и белковая глобула. Задача состоит в том, чтобы интеркалировать (внедрить) в гидрофобную глобулу небольшие неполярные молекулы с целью образовать дополнительные связи с гидрофобными компонентами глобулы и, таким образом, увеличить ее стабильность (Mozhaev, Martinek, 1984, цит. по: Березин, Можяев, 1985). Однако сформировавшееся ядро белковой глобулы мало доступно для проникновения в него даже малых молекул. Диффузия веществ в ядро происходит крайне медленно. Поэтому интеркаляция молекул в ядро должна производиться до его образования.

В. В. Можаяевым и К. Н. Мартинекком (цит. по: Березин, Можаяев, денатураторов, а затем свертывания его в присутствии веществ, способных взаимодействовать с гидрофобными радикалами, образуя с ними нековалентные связи. Применение этого способа оправдало себя в бионженерии, но, по-видимому, может быть осуществлено и *in vivo*. Синтезированный белок сходит с матрицы с еще не сформированным ядром. Его конформация в этот момент приближается к статистическому клубку. Если в этот период в среде присутствуют молекулы, которые могут быть «захвачены» неполярными радикалами синтезированной полипептидной цепи и которые способны связаться с этими радикалами и не препятствовать белку свернуться, то вполне вероятно, что образующаяся белковая глобула обнаружит увеличенную устойчивость.

Ряд данных указывает, что увеличение устойчивости живых объектов создается при интенсификации метаболизма. Обработка клеток производными бензимидазола ведет к усилению синтеза белка и к повышению неспецифической устойчивости к действию раздражителей (Розин, 1967). Факторы, стимулирующие синтез стрессовых белков, приводят к увеличению устойчивости клеток к повреждающим воздействиям: клетки новорожденных животных, характеризующиеся высоким уровнем метаболических процессов, оказываются более устойчивыми к действию ряда химических агентов, чем клетки взрослого организма (Dawkins, 1964).

Особый интерес представляет возможность увеличения устойчивости клеточной системы к действию повреждающих факторов путем ингибирования процессов полимеризации и белок-белок взаимодействий. В случае генерализации этих процессов происходит иммобилизация в клетке воды, метаболитов, нарушается энергообеспечение. В последние годы выясняется, что токсическое действие ряда химических агентов связано с их способностью инициировать реакции полимеризации актина. Таков, в частности, механизм токсического действия на клетку полиаминов, адриамицина и др. Напротив, агенты, предотвращающие или ослабляющие полимеризацию, увеличивают устойчивость клетки к неблагоприятным факторам. Изолированные мышцы живут в среднем 2400 мин, парные мышцы, переживающие в мочеvine (1 моль/л), живут вдвое дольше. Мочевина, по нашим данным, тормозит полимеризацию актина и вторичные реакции Ф-актина с актинсвязывающими белками. Есть данные, что глутаровый альдегид увеличивает устойчивость клеток к повреждению, так как это один из наиболее мощных ингибиторов полимеризации актина. Производные тиомочевины, применяющиеся в качестве антигипоксантов, оказались активными ингибиторами полимеризации актина. С целью отбора перспективных по интенсивности солюбилизаторов и антикоагулянтов, следует рекомендовать использовать данные модельных экспериментов, в частности, способность агентов подавлять *in vitro* полимеризацию актина. До середины 60-х годов актин наряду с миозином считался специфическим белком мышечной ткани. В 1965 г. японские исследо-

ватели обнаружили присутствие актина в цитоплазме немышечных клеток. Через 3 года эти наблюдения были подтверждены. В 1970—1975 гг. разразился актиновый «бум». Актин обнаруживают практически во всех немышечных клетках. Для биохимии и молекулярной биологии открылось широкое поле для исследовательской работы.

Актиновой тематике посвящаются многочисленные экспериментальные и обзорные статьи, программы симпозиумов и конференций. В короткое время выясняется перворазрядное значение актина и его реакций в обеспечении формы клеток, в двигательных реакциях, в транспорте веществ, в процессах митоза, эндо- и экзоцитоза, в неопластической трансформации, пролиферации, инвазии, метастазировании. . . Этот список можно продолжить, но и дальше мы не найдем в нем указаний на возможную роль актина для такого существенного состояния клеточной системы, как повреждение.

Между тем основные и ранние показатели клеточного повреждения (увеличение светорассеяния, изменения вязкости, желатинизация) представляют собой процессы, характерные для актина и его реакций, — денатурации, полимеризации, взаимодействия с актинсвязывающими белками. Никто из пишущих об актине не вспоминает, что еще 150 лет назад Дюжарден обнаружил, что в клетках содержится материя, способная желатинировать. Никто не упомянет Л. В. Гейльбрунна, который, настаивая на сходстве механизмов коагуляции протоплазмы и свертывания крови, наблюдал и описал, как капелька жидкости, вытекающая из клетки при ее повреждении, застывает в гель. Не произвели впечатления и недавние наблюдения Кейна, описавшего превращение экстракта из гомогената клеток в плотный гель. По данным Кейна, основным компонентом геля оказался актин (Капе, 1975, 1976, 1983).

Мы не упрекаем биохимиков или молекулярных биологов за отсутствие у них интереса к проблеме клеточного повреждения — они далеки от этой тематики, но мы не понимаем позиции в этом вопросе исследователей, десятки лет занимающихся изучением действия на клетки гипертермии или гипоксии, спирта или солей.

Наши исследования в этой области относятся к 1984—1986 гг. Мы обнаружили падение содержания в клетках Г-актина при гипертермии, гипоксии. Нами было показано, что агенты, тормозящие процесс полимеризации актина, защищают клетки от повреждения.

Мы думаем, что исследования в этом направлении перспективны. Их практическое и теоретическое значение очевидно.

## ПРИМЕЧАНИЯ

<sup>1</sup> Реакция клетки на действие неблагоприятных факторов среды, как правило, многофазна. Это процесс, развивающийся во времени. Начальные его стадии изучены еще довольно слабо. Этому вопросу уделяет некоторое внимание Д. Н. Насонов в монографии «Местная реакция протоплазмы и распространяющееся возбуждение» (1959). Ранние фазы неспецифического синдрома исследовали А. А. Кусакина (1957, 1959а, 1959б), С. В. Левин (1960, 1961, 1962а, 1962б), Д. Л. Розенталь и И. П. Суздальская (1965), С. Н. Романов (1948, 1949), В. П. Трошина (1956, 1963, 1964а, 1964б), В. П. Трошина и И. П. Суздальская (1970), Б. П. Ушаков (1950, 1954, 1959). Помимо того, недавно (в конце 1987 г.) издательством «Наука» опубликована монография В. Ф. Машанского и И. М. Рабиновича «Ранние реакции клеточных органоидов», в которой подробно описаны морфофункциональные изменения клеток в ранние сроки действия раздражителей.

<sup>2</sup> Д. Н. Насонов, подчеркивая характерную для современной цитологии узкую специализацию, не раз говорил, что цитологи не понимают фактов и точек зрения своих коллег, работающих рядом, но в другой области, поэтому потребность в теории, в обобщении для понимания общих законов реагирования живого вещества ощущается в настоящее время особенно остро. Насонову нравились «Русские ночи» почти забытого в наше время писателя XIX в. В. Ф. Одоевского\* (двоюродного брата декабриста), и он часто вспоминал отрывок из этой книги: «Другое зло: гибельная *специальность*, которая ныне почитается единственным путем к знанию, и обращает человека в камер-обскуру, вечно наведенную на один и тот же предмет; целые годы она отражает его без всякого сознания, зачем и для чего и в какой связи этот предмет с другими?.. От этого зла — *раздор и разрозненность* в науке и в жизни... от него бессилие человека пред природой» (с. 164). И дальше: «Потребность одной общей живой теории ощущается с каждым днем более и более лучшими умами века, везде — в истории, как и в других науках» (с. 169).

<sup>3</sup> Книга академика АМН СССР А. Д. Адо (1985) богата по содержанию, по глубине и многоплановости трактовки рассматриваемых проблем. Она представляет итог многолетних, плодотворных разработок теоретических и методологических проблем современной медицины. Особый интерес представляет отношение А. Д. Адо к проблеме повреждения клетки как к существенному этапу почти любого патологического процесса. «Проблема повреждения клетки, — пишет А. Д. Адо, — как общепатологическая проблема должна занять ведущее место в современной патологической физиологии» (с. 63). В соответствии с достижениями современной молекулярной цитологии А. Д. Адо излагает данные о повреждении клеточных мембран, нарушении ионных потоков, указывает и положительно оценивает работы по повреждению клетки Д. Н. Насонова и его школы. Вместе с тем в книге попадаются неточные формулировки и ошибки, что, вероятно, объясняется небрежным научным редактированием. Так, указывается (с. 60), что В. Я. Александров в 1967 г. изучал влияние повреждения скелетной мышцы лягушки в форме цинкеро-некроза на механизмы возбуждения мышечных клеток. В. Я. Александров никогда не занимался

\* Одоевский В. Ф. Русские ночи. Л., 1975. 320 с. (Литературные памятники).

этим вопросом. Ценкеровский некроз изучал С. Н. Александров, который опубликовал на эту тему монографию (совместно с Д. Л. Розенталь) в 1965 г. Указывается, что паранекроз в возбудимых тканях развивается вслед за парабиозом (с. 63). Д. Н. Насонов не раз указывал, что парабиоз и паранекроз — две стороны одного и того же состояния клетки: «...если под парабиозом разуметь совокупность физиологических или функциональных изменений... то под паранекрозом следует понимать совокупность изменений состояния живого субстрата...» (Насонов, 1959, с. 14). Указывается, что ацидоз поврежденной клетки вызывается повреждением лизосом (с. 59), но выход ферментов из лизосом при аутолизе протоплазмы происходит главным образом после смерти клетки. В период, соответствующий паранекротическому процессу, ацидоз возникает в результате резкого стимулирования в этот период гликолиза.

<sup>4</sup> На XIV Международном генетическом конгрессе в докладе профессора Н. Лоприенно были приведены следующие цифры. На 1 января 1977 г. зарегистрировано более 4 млн. химических соединений, каждую неделю число их увеличивается на 6 тыс., 50 000 химических соединений относятся к веществам повседневного использования.

<sup>5</sup> Лицом к лицу

Лица не увидеть.

Большое видится на расстоянии...

С. Есенин. Письмо к женщине.

<sup>6</sup> «Имя Вирхова занимает почетное место в ряду гениальных представителей немецкого народа».

Из резолюции Пленума Социалистической единой партии Германии от 4 октября 1949 г.

<sup>7</sup> Иоганнес Мюллер (1801—1858 гг.) был сыном сапожника. Ему стоило немало трудов окончить медицинский факультет (в Бонне). Его блестящие способности к науке проявились рано. В 19 лет он получил премию за работу по экспериментальной эмбриологии. В 25 лет был избран профессором анатомии Боннского университета. В 1833 г. в Берлинском университете освободилась кафедра анатомии. Мюллер написал министру просвещения письмо, в котором высказал убеждение, что наиболее подходящим кандидатом на замещение вакантной должности руководителя кафедры является он, Иоганнес Мюллер. Письмо, проникнутое любовью к науке, горячим желанием служить ее прогрессу, произвело впечатление, и Мюллер получил кафедру. Он занимал ее 25 лет. Кафедра анатомии Берлинского университета под руководством Мюллера стала мировым центром биологической науки. Ряд учеников Мюллера стали знаменитыми учеными. Среди них: В. Вальдеер, Р. Вирхов, В. Гельмгольц, Я. Генле, Э. Дюбуа-Реймон, К. Людвиг, Я. Рейхерт, Т. Шванн. В своих воспоминаниях они отзываются о своем учителе Иоганнесе Мюллере с неизменным восхищением и любовью.

<sup>8</sup> Наш великий хирург Н. И. Пирогов слушал лекции И. Мюллера в Берлинском университете и в своих воспоминаниях оставил описание внешности Мюллера: «Лицо Мюллера поражало нас своим классическим профилем, высоким челом и двумя межбровными бороздами, придававшими его взгляду суровый вид и делавшими несколько суровым пронзительный взгляд его выразительных глаз. Как на солнце, неловко было новичку смотреть прямо в лицо на Мюллера» (Пирогов, 1910, с. 501).

<sup>9</sup> Из воспоминаний Дюбуа-Реймона (Малис, 1899, с. 11).

<sup>10</sup> «Микроскопическое исследование о соответствии в структуре и росте животных и растений». Два выпуска этой книги вышли в свет в 1838 г., третий (последний) — в 1839 г. Издательство АН СССР, отмечая 100-летний юбилей клеточной теории, выпустило в 1939 г. книгу Т. Шванна с приложением статьи М. Шлейдена («Данные о фитогенезисе») в русском переводе под редакцией и с комментариями профессора З. С. Кацнельсона.

<sup>11</sup> «Познание взаимной связи процессов, совершающихся в природе, двинулось гигантскими шагами вперед, особенно благодаря трем великим открытиям: во-первых, благодаря открытию клетки как той единицы, из размножения и дифференциации которой развивается все тело растения и животного... во-вторых, благодаря открытию превращения энергии... наконец, в-третьих, благодаря впервые в общей связи представленному Дарвином доказательству того, что все окружающие нас теперь организмы, не исключая и человека, возникли в результате длительного процесса развития...» (Маркс К., Энгельс Ф. Соч. 2-е изд. Т. 21. С. 303—304).

<sup>12</sup> Гуморальная патология (от humor — жидкость). По представлениям врачей древности, основную роль в жизнедеятельности играют четыре жидкости — кровь, слизь, черная и желтая желчь. В здоровом организме все жидкости смешаны в надлежащей пропорции. При нарушении соотношения их, что может произойти, если какая-то из этих жидкостей начнет накапливаться в избытке или отделяться от других внутри тела или извергаться из него наружу (например, при внутренних и внешних кровотечениях), возникает болезнь. На этой концепции были основаны многие практические мероприятия старых врачей, в частности, широкое применение кровопускания.

<sup>13</sup> Третье издание «Целлюлярной патологии» вышло в 1862 г., четвертое — в 1871 г., пятое — в 1883 г., шестое — в 1896 г. Первый русский перевод (с первого немецкого издания) вышел в 1859 г., второй русский перевод (с третьего немецкого издания) — в 1866 г. Книга Р. Вирхова имела бы, вероятно, еще больший успех, если бы язык, которым она написана, был бы менее усложненным, более доступным для рядового читателя. В связи с этим интересно мнение Карла Маркса: «Мне стоило больших усилий прочесть в Манчестере его (Вирхова) „Целлюлярную патологию“ главным образом благодаря его манере писать» (Маркс К., Энгельс Ф. Соч. 2-е изд. Т. 32. С. 457). Русские переводчики «Целлюлярной патологии» также отмечают трудный язык Вирхова (см.: Вирхов, 1866; предисловие И. Чацкого).

<sup>14</sup> Данные биохимии, эндокринологии, иммунологии последнего десятилетия утвердили выдающееся значение гуморальных факторов в физиологии и патологии. Современная патология представляет собой синтез целлюлярных и гуморальных направлений. Следует отметить, что Вирхов предвидел этот путь развития патологии в будущем. Он писал: «Я боролся и, как мне кажется, не безрезультатно, с гуморальной патологией последних лет и старался реабилитировать в свое время столь посрамленную солидарную (тканевую. — А. Б., Т. М.) патологию, но не для того, чтобы вновь создать солидарную патологию и окончательно уничтожить гуморальную, но для того, чтобы обе — и солидарную и гуморальную патологии объединить в одну, эмпирически построенную целлюлярную патологию. Я уверен, что такой будет „патология будущего“» (с. 311).

<sup>15</sup> В ознаменование 150 лет со дня рождения Р. Вирхова (1971 г.) его знаменитая книга «Целлюлярная патология» вышла в факсимильном издании (ФРГ), а в Берлине была проведена научная сессия, на которой в многочисленных докладах было всесторонне освещено развитие в послевирховский период разных отраслей медицины, в том числе цитодиагностики. Труды юбилейной Вирховской сессии опубликованы.

<sup>16</sup> М. В. Волькенштейн (1981) отзываясь о митогенетическом излучении следующим образом: «Существование митогенетических лучей не подтвердилось, их изучение поэтому давно оставлено». И дальше: «Равным образом ложны и другие сообщения о специфических ультрафиолетовых излучениях, возникающих при иных биологических процессах». Относится ли сказанное к некробиотическим лучам В. В. Лепешкина? Были ли предприняты попытки воспроизвести его опыты и если были, то каковы их результаты, нам неизвестно.

<sup>17</sup> Первая жена Э. С. Бауэра, Маргит Кафка (умерла в 1918 г.), венгерская писательница, отразила образ Бауэра в герое своего романа («Цветы и годы»). Брат Бауэра, Белла Белаш, известный венгерский писатель и режиссер, лауреат премии им. Л. Кошута.

<sup>18</sup> Стефания Стефановна Бауэр (урожденная Сциллярд), вторая жена Бауэра, математик по образованию, была верным помощником и другом ученого. В предисловии к «Теоретической биологии» Бауэр пишет: «Особенно я обязан моей жене С. С. Бауэр, которая прошла весь путь этой работы от его начала, помогая мне особенно в физической и математической стороне дела, проверяя вычисления, изготовив рисунки и т. д.» (Бауэр, 1935, с. 2).

<sup>19</sup> Нам удалось отыскать статью Э. С. Бауэра, ссылка на которую отсутствует в списке трудов Бауэра, составленном Б. П. Токиным: *Bauer E. Beiträge zur Studium der Protoplasma. 8. Hysteresis und der hysteresischen Vorgänge // Arch. Entwicklung Mechanik. 1924. Bd 101. S. 521—528.* В этой работе анализ реакции протоплазмы на внешние воздействия ведется в духе традиционных представлений о протоплазме как коллоидном растворе.

<sup>20</sup> Мать Д. Н. Насонова, Екатерина Александровна, в девичестве Корнилова, приходилась внучатой племянницей герою Севастопольской обороны вице-адмиралу В. А. Корнилову. Дмитрий Николаевич очень гордился своим знаменитым родственником.



ком. В его кабинете до сих пор висит портрет вице-адмирала В. А. Корнилова — копия с известной картины К. Брюллова, выполненная известным советским художником И. Глазуновым (юношеская работа).

<sup>21</sup> Отец Дмитрия Николаевича, Николай Викторович Насонов (1855—1939 гг.), крупный ученый-зоолог, академик, автор многочисленных трудов по морфологии, зоогеографии, систематике и эмбриологии насекомых, ракообразных, ресничных червей и некоторых позвоночных, редактор 25-томного издания «Фауна России и сопредельных стран» («Фауна СССР»). Дочь Николая Викторовича, Нина Николаевна, искусствовед, брала уроки живописи у К. Петрова-Водкина. Все три сына Николая Викторовича стали крупными учеными в разных областях науки. Дмитрий Николаевич (1895—1957 гг.) — чл.-кор. АН СССР, академик АМН СССР, цитофизиолог, лауреат Государственной премии. Арсений Николаевич (1898—1965 гг.) — ученый-историк, автор многочисленных трудов по истории России в феодальный период. Всеволод Николаевич (родился в 1900 г.) — выдающийся ученый в области строительных конструкций. Автор проектов комплекса зданий Московского университета им. М. В. Ломоносова, Дворца науки и культуры в Варшаве, Центрального стадиона им. В. И. Ленина в Лужниках (Москва) и других зданий и инженерных сооружений. В 1957—1969 гг. — директор Центрального НИИ строительных конструкций им. В. А. Кучеренко и главный редактор журнала «Строительная механика и расчет сооружений». Лауреат Государственной и Ленинской премий.

<sup>22</sup> Ученик и друг Д. Н. Насонова, чл.-кор. АН СССР Афанасий Семенович Трошин, проработавший более 20 лет директором Института цитологии, скончался 23 декабря 1985 г., т. е. почти в тот же день, что и 28 лет назад Д. Н. Насонов (21 декабря 1957 г.). Для увековечивания памяти А. С. Трошина было решено ежегодные собрания памяти Д. Н. Насонова впредь именовать: «Научные собрания памяти Д. Н. Насонова и А. С. Трошина» и соответственно расширить тематику докладов.

<sup>23</sup> На конференции по цитоплазматическому матриксу (в Нью-Йорке, 1984 г.) председательствующий К. Портер (Porter, 1984) во вступительном докладе, желая подчеркнуть неопределенность современных представлений о структуре протоплазмы и то обстоятельство, что состояние этой проблемы принципиально мало изменилось за последние 30—40 лет, счел уместным включить в текст доклада пародию Скарса. Эта пародия была приурочена Скарсом к симпозиуму по структуре протоплазмы в 1940 г. и представляла сатиру на современников — исследователей коллоидной химии протоплазмы. Пародия Скарса написана по мотивам старой притчи Сакса «Слепые и слон», сюжет которой заимствован у древнего персидского поэта Руми (1207—1273 гг.). Приводим стихи Скарса в переводе проф. В. В. Соколовского, который перевел пародию, следуя оригиналу, семистопным ямбом:

Четыре доктора наук (все четверо слепых)  
Познать желают протопласт — понять нетрудно их:  
Езда в незнаемое жжет сердца всех четверых.

Вот первый доктор осторожно водит пальцем вдоль  
Чего-то жидкого — вода здесь фаза! В этом соль!  
Ура! Ура! Наш протопласт — обычный гидрозоль!

Коллега, говорит другой, Вы не попали в цель  
В своей гипотезе, увы, уселись Вы на мель:  
Объект упруг — наш протопласт вполне нормальный гель.

Подходит третий — он за шкуру зверя тербит.  
Он щиплет протопласта в бок — рука его скользит.  
Мне кажется, он говорит, что протопласт — липид.

Четвертый доктор заявил: я сообщить Вам рад:  
Объект в воде нерастворим, хотя водой богат.  
Я думаю, что протопласт — живой ко-а-цер-ват!

Коварен, сложен, прихотлив живой природы нрав.  
Специалисты спорят пылко — фактов тьму собрав.  
Все в целом заблуждаются, но в частном каждый прав.

<sup>24</sup> На симпозиуме «Общие механизмы клеточных реакций на повреждающие воздействия» (Ленинград, 1976 г.) одного из докладчиков упрекнули в игнорировании теории, в фактографии. В ответе оппоненту докладчик с апломбом продекларировал: «Теория, мой друг, суха, а древо жизни вечно зеленеет». Раздались жидкие аплодисменты. По окончании обсуждения доклада председательствующий А. С. Трошин в своем резюме между прочим сказал: «Аплодировавшие докладчику явно запомнили, что эти слова Мефистофеля продиктованы его неуважением к разуму, презрением к возможностям человеческого познания, любованием дурного, низкого в человеке. Вспомните: от описания Мефистофелем теоретических систем наук у студента „ум зашел за разум. В голове будто мельничный жернов вертится“. А от сентенций вроде: „Кто улучит удобный миг, тот и устроится прекрасно“ (с. 117),\* от описания нескромных приемов врачебного обследования дам в будуаре юноша приходит в восторг. Затем и следует знаменитая реплика Мефистофеля».

Известны слова И. П. Павлова о значении фактов для науки («Факты — воздух для ученого»). Это правильно. Но еще Клод Бернар указывал, что факты представляют необходимый материал, но только их использование и построенные на полученных данных заключения, т. е. теория, составляет и строит в действительности науку.

<sup>25</sup> К кислотам («донорам протонов»), по теории И. Н. Бренстада (1923), относятся частицы (молекулы, ионы), способные терять протоны. К щелочам («акцепторам протонов») — частицы, способные присоединять протоны. Кислота, утратившая протон, превращается в щелочь; щелочь, присоединившая протон, превращается в кислоту. Кислота и щелочь, превращающиеся в друг друга в результате протолитической реакции (т. е. реакции, механизм которой состоит в потере и присоединении протонов), называются *к о р р е с п о н д и р у ю щ и м и*. Большинство красителей являются солями, т. е. системами из противоположно заряженных ионов, электрически не нейтрализующих друг друга. В соответствии с этим красители разделяют на две большие группы. В одной группе в красителе-соли положительный заряд приходится на окрашенную часть системы; противоположно заряженным ионом является обычно  $Cl^-$  или  $SO_4^{2-}$ . Эти красители называются катионными или электроположительными. В другой группе красителей окрашенная часть является анионом. В качестве противоиона здесь обыкновенно выступают  $Na^+$  или  $K^+$ . Это анионная, анодическая или электроотрицательная группа красителей. Всем катионным и анионным красителям свойственны в большей или меньшей степени протолитические функции, т. е. способность к отдаче или присоединению протонов. Таким образом, красители нужно отнести к катион-кислотам или анион-основаниям. В ряде случаев молекулы красителей содержат одновременно основные и кислые группы, т. е. являются амфолитами. Из уравнения:  $A$  (кислота)  $\rightarrow B$  (щелочь) +  $H$  (протон), являющегося выражением кислотно-щелочного равновесия, применяя закон действующих масс, получают выражение для константы диссоциации кислоты:

$$\frac{[B][H^+]}{[A]} = K_A,$$

для константы ассоциации щелочи

$$\frac{[A]}{[B][H^+]} = K_B,$$

для корреспондирующих кислоты и щелочи

$$K_A K_B = 1.$$

Сила кислот определяется величиной  $K_A$ , сила щелочей —  $K_B$ . Ниже приводится список кислот, в том числе некоторых красителей, расположенных по их силе в бензоле (Brönsted, 1923).

\* Гете. Фауст. Пер. Б. Л. Пастернака. М., 1953. 618 с.

- |                             |                               |
|-----------------------------|-------------------------------|
| 1. Хлористый водород        | 10. Нейтральный красный       |
| 2. Метиловый красный        | 11. Монохлорбензойная кислота |
| 3. Диметил-гельб            | 12. Муравьиная кислота        |
| 4. Трихлоруксусная кислота  | 13. Фенилуксусная кислота     |
| 5. Дихлоруксусная кислота   | 14. Бензойная кислота         |
| 6. Пикриновая кислота       | 15. Уксусная кислота          |
| 7. Монохлоруксусная кислота | 16. Бромкрезолпурпур          |
| 8. Салициловая кислота      | 17. Пиперидиниум ион          |
| 9. Бромфеноловый синий      | 18. Бромтимоловый синий       |

Мы видим, что порядок силы кислот в бензоле для кислот одного и того же типа примерно такой же, как в воде. Красители с цвиттер-ионной структурой обнаруживают значительное увеличение силы. Метиловый красный, например, оказывается сильнее трихлоруксусной кислоты, а нейтральный красный сильнее муравьиной кислоты.

Известные представления о силе красителей как кислот и оснований дает величина рН их водных растворов. Эти данные мы нашли в монографии Киено с сотрудниками (Kiyono et al., 1938) и работе Н. Л. Фельдман (1948), они приведены ниже.

1 %-ный бриллиант-азурин . . . . .	9.43
1 %-ный трипановый синий . . . . .	8.82
1 %-ный тионин . . . . .	4.93
1 %-ный метиленовый синий . . . . .	3.81
1 %-ный нейтральный красный . . . . .	2.71
0.1 %-ный » . . . . .	4.31
0.01 %-ный » . . . . .	5.05
0.001 %-ный » . . . . .	5.91

Нейтральный красный в физиологическом растворе

0.1 %-ный . . . . .	5.02
0.01 %-ный . . . . .	5.34
0.001 %-ный . . . . .	6.87

рН основных красителей (0.04 моль/л)

Нейтральный красный . . . . .	2.9	Янус зеленый . . . . .	4.0
Метиленовый синий . . . . .	4.1	Диамант-фуксин . . . . .	4.7
Бриллианткрезиловый синий . . . . .	3.5	Метилфиолетовый . . . . .	3.5
Толуидиновый синий . . . . .	3.7	Далня . . . . .	3.7
Нильский голубой сульфат . . . . .	3.1	Хризоидин . . . . .	3.5
Нильский голубой хлоргидрат . . . . .	2.8	Малахитовый зеленый . . . . .	2.8
Тионин . . . . .	3.9	Бриллиантовый зеленый . . . . .	3.2
Бисмарк коричневый . . . . .	2.8	Родамин . . . . .	2.7

Хотя приведенные данные не могут считаться особенно точными, так как для определения были взяты имеющиеся в продаже, не подвергавшиеся чистке препараты красителей, тем не менее ясно, что растворы основных красителей имеют отчетливую кислую реакцию, а растворы кислотных красителей — щелочную.

В работе Л. Л. Литинской с сотрудниками (1982) приводятся данные о динамике рН лизосом в клетках культуры эмбриональной почки свиньи, окрашенных 0.01 %-ным нейтральным красным. Величину рН определяли микроспектрофотометрическим методом, используя отношения оптических плотностей, измеренных при двух разных длинах волн. По данным авторов, величина рН в лизосомах изменяется во времени со средним периодом 20—40 мин. Размах колебаний рН варьирует от 4.5 до 6.9. Эти данные представляют значительный интерес. Следует учесть, что содержание

красителя в гранулах эритроцитов достигает 0.25 моль/л, а по данным Литинской с сотрудниками, в гранулах клеток эмбриональной почки свиньи даже 0.75 моль/л! При рН 4.5—6.9 значительная часть молекул нейтрального красного находится в незаряженной форме. Следовательно, содержимое лизосом сильно забуферено. Тем не менее в течение 20—40 мин рН его может сдвигаться на 2 единицы. Эти данные демонстрируют исключительно высокую мощность лизосомных мембран.

<sup>26</sup> Насыщенный водный раствор нейтрального красного содержит 5.64 % красителя (Lillie, 1977). Более высокая концентрация красителя в содержимом гранул, по-видимому, объясняется тем, что часть красителя находится в соединении с компонентами (белками?) гранул. По данным Литинской с сотрудниками (1979), в гранулах клеток культуры эмбриональной почки свиньи содержание нейтрального красного достигает 20 %, т. е. более чем в 3 раза превышает концентрацию красителя в насыщенном растворе.

<sup>27</sup> В нескольких работах последних лет возрождается старое представление о накоплении красителей в предсуществующих структурах. Моргенштерн (Morgenshtern et al., 1963) сообщает, что при окраске тромбоцитов акридиновым оранжевым гранулы в тромбоцитах возникают очень быстро (momentan). Л. Л. Литинская с сотрудниками (1982, с. 1215) в примечании к статье указывает: «Термин „гранулообразование“ является не совсем точным, так как показано, что нейтральный красный накапливается в предсуществующих структурах».

<sup>28</sup> Гипотезу Н. Г. Хлопина (1927) оспаривает А. А. Зеленин (1971), по данным которого, локализация криномных и прижизненных гранул не совпадает. По соображениям А. А. Зеленина, криномные гранулы представляют собой образования, состоящие из слипшихся рибосом.

<sup>29</sup> Реакция гранулообразования используется для характеристики физиологического состояния тканей, предназначенных для пересадки, для оценки токсических свойств лекарственных препаратов, пестицидов, дезинфектантов и других химических препаратов.

<sup>30</sup> Однотипность может говорить о сходстве в характере реакций, но не означает тождества между ними. Исследования В. Я. Александрова на инфузориях показали, что в ответных реакциях клеток на действие повреждающих агентов всегда обнаруживаются наряду с общими неспецифическими проявлениями специфические, характерные для каждого агента. Такие же результаты были получены и при изучении реакций тканевых элементов; в скелетных мышцах под влиянием различных факторов (температуры, давления, электролитов, неэлектролитов и т. д.) развивается контрактура. В этом проявляется однотипность ответа мышцы. Однако характер контрактур, как показали Д. Н. Насонов и И. П. Суздальская (1948), для каждого агента строго специфичен: по рисунку миограммы нетрудно узнать агент, вызвавший ее. И набор стрессовых белков у клеток разных типов при воздействии различного вида раздражителей далеко не одинаков. Таким образом, на фоне общей неспецифической реакции всегда выступают черты частного, специфического характера. В этом сочетании неспецифического со специфическим заложена возможность специфического реагирования живых систем и развития этой способности в эволюции.

## ЛИТЕРАТУРА

- Адо А. Д. Вопросы общей нозологии. М., 1985. 240 с.
- Акопов С. Б., Бульдьева Т. В., Кузьмина С. Н., Збарский И. Б. Влияние гипертермии на полипептидный состав ядерного матрикса печени крысы // Биохимия. 1985. Т. 50. Вып. 2. С. 1127—1131.
- (Александров В. Я.) *Alexandrov V. J. Über die Bedeutung der Oxido-Reduktiven Bedingungen für die vitale Färbung mit besonderen Berücksichtigung der Kernfärbung in lebender Zellen* // *Protoplasma*. 1932. Bd. 77. S. 16—27.
- Александров В. Я. Реакция клетки на повреждающие воздействия // Природа. 1948а. № 1. С. 24—34.
- Александров В. Я. Специфические и неспецифические реакции клетки на повреждающие воздействия // Тр. Ин-та цитологии, гистологии, эмбриологии. М., 1948б. Т. 3, № 1. С. 3—82.
- Александров В. Я. Денатурация и реакция клетки на внешние воздействия // Совещание по белку. М.; Л., 1948в. С. 95—101.
- Александров В. Я. Методика прижизненной окраски основными красителями тканей и органов млекопитающих // Тр. АМН СССР. 1949. Т. 3. С. 10—15.
- Александров В. Я. Клетки, макромолекулы и температура. Л., 1975. 329 с.
- Александров В. Я. Реактивность клеток и белки. Л., 1985. 317 с.
- Александров В. Я., Насонов Д. Н. О причинах коллоидных изменений протоплазмы и увеличения сродства ее к красителям под влиянием повреждающих воздействий // Арх. анатомии, гистологии и эмбриологии. 1939. Т. 22, № 1. С. 11—43.
- Александров С. Н. Сравнительное исследование чувствительности переживающих злокачественных и нормальных клеток к некоторым повреждающим воздействиям // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1949. Т. 27. Вып. 1. С. 8—11.
- Александров С. Н., Розенталь Д. Н. Распространение повреждения в соматических мышечных волокнах. М.; Л., 1965. 27 с.
- Ахмедов А. Т. Активность и локализация альдолазы в дифференцирующихся эритроидных клетках голубя: Автореф. дис. . . . канд. биол. наук. Л., 1979. 25 с.
- Бауэр Э. С. Теоретическая биология. М.; Л., 1935. 206 с.
- Белицер В. А., Варецкая Т. В. Связывание красителей белками в нативном, денатурированном и химически модифицированном состоянии // Укр. биохим. журн. 1959. Т. 3, № 2. С. 171—185.
- Беляева Т. Н., Фаддеева М. Д., Браун А. Д. Влияние некоторых основных красителей, в том числе интеркалирующих в ДНК, на аденозинтрифосфатазную активность митохондрий // Цитология. 1974. Т. 16, № 6. С. 741—746.
- Березин И. В., Можяев В. В. Взаимосвязь структуры и стабильности белков. Новые подходы к стабилизации ферментов // Успехи биол. химии. 1985. Т. 26. С. 108—124.
- (Бершадский А. Д., Гельфанд В. И., Васильев Ю. М.) *Bershadsky A. D., Gelfand V. I., Vasiliev Ju. M. Multinucleation of transformed cell normalizes their spreading on the substratum and their cytoskeleton structure* // *Cell Biol. Intern. Resp.* 1980. Vol. 5. P. 143—151.
- Бирштейн Т. М., Воробьев В. И., Птицын О. Р. Теория механохимических явлений. 1. Близкодействие в полиэлектролитах и механохимия // Биофизика. 1961. Т. 6, № 5. С. 524—533.

- Браун А. А., Иванов М. Ф. Витальная окраска поперечнополосатой мышечной ткани в различных экспериментальных условиях // Арх. анатомии, гистологии, эмбриологии. 1933. Т. 12, № 12, № 1. С. 3—20.
- Браун А. Д. Связывание красителей нативными и денатурированными белками // Биохимия. 1948а. Т. 13, № 5. С. 409—416.
- Браун А. Д. Связывание красителей нативными и денатурированными нитями миомина // Докл. АН СССР. 1948б. Т. 62, № 2. С. 263—266.
- Браун А. Д. Взаимодействие нативных и денатурированных белков с красителями: Автореф. дис. . . . д-ра биол. наук. Л. 1949. 22 с.
- Браун А. Д. Взаимодействие белков с трифенилметановыми красителями // Биохимия. 1951. Т. 16. Вып. 5. С. 399—409.
- Браун А. Д. Выход креатина и других веществ из скелетных мышц при действии на них раздражителей // Вопросы цитологии и протистологии. Л., 1960. С. 121—133.
- Браун А. Д. Повреждение и возбуждение клеток // Руководство по цитологии. М.; Л., 1966. Т. 2. С. 137—172.
- Браун А. Д., Веселкина М. Н. Торможение процесса сегрегации нейтрального красного и новокаина в эритроцитах лягушки под влиянием сульфонамидов // Докл. АН СССР. 1978. Т. 240, № 4. С. 971—974.
- Браун А. Д., Ганелина Л. Ш. Структурно-химические основы увеличения устойчивости растянутых мышц к повреждающим воздействиям // Тр. V Международ. биохим. конгр. Т. 1. Реф. секц. сообщ. М., 1961. С. 412—413.
- (Браун А. Д., Ганелина Л. Ш.) Braun A. D., Ganelina L. Sh. Structure-chemical foundations on the increase of stability of the stretched muscles against injury // V Intern. congr. biochemistry. 1962. Vol. 1. P. 1—4.
- (Браун А. Д., Моженок Т. П.) Braun A. D., Mozhenok T. P. The role of actin and its reactions in the process of cell injury // Acta biol. Acad. sci. hung. 1986. Vol. 37. Suppl. P. 156.
- Браун А. Д., Немчинская В. Л. Взаимодействие аденозинтрифосфата с красителями // Биохимия. 1958. Т. 23, № 3. С. 359—365.
- Браун А. Д., Немчинская В. Л. Выход белков, аминокислот и карнозина из скелетных мышц, находящихся в покое и при действии на них повышенного гидростатического давления // Вопросы цитологии и общей физиологии. М.; Л., 1960. С. 32—42.
- Браун А. Д., Несветаева Н. М. Об обратимости повреждения изолированных митохондрий // Цитология. 1967. Т. 9, № 1. С. 112—116.
- Браун А. Д., Соколова В. И. Содержание разных форм креатина в скелетных мышцах лягушки в покое и при действии гипертонического раствора хлористого натрия // Цитология. 1962. Т. 4, № 6. С. 680—684.
- Браун А. Д., Стабровская В. И. Аденилатциклазная система клетки // Цитология. 1974. Т. 16, № 12. С. 1447—1458.
- Браун А. Д., Фельдман Н. Л. Токсичность красителей и связывание их нативными белками // Докл. АН СССР. 1949. Т. 68, № 4. С. 757—760.
- Браун А. Д., Савостьянова М. В., Морозова Р. И. Спектрофотометрическое изучение обесцвечивания трифенилметановых красителей в щелочной среде и в присутствии белка // Изв. АН СССР. Сер. физ. 1950. Т. 14, № 4. С. 536—541.
- Браун А. Д., Несветаева Н. М., Фиженко Н. В. Об устойчивости актомиозина миокарда и скелетных мышц к денатурирующему действию тепла, этилового спирта и мочевины // Цитология. 1963. Т. 5, № 3. С. 335—338.
- Браун А. Д., Несветаева Н. М., Фиженко Н. В. О связи между устойчивостью клеток и тканей к повреждению и способностью белков к денатурации // Клетка и температура среды. М.; Л., 1964. С. 228—232.
- Браун А. Д., Булычев А. Г., Ганелина Л. Ш., Немчинская В. Л., Несветаева Н. М. Влияние повреждающих факторов на внутриклеточные структуры // Цитология. 1965а. Т. 7, № 4. С. 494—500.
- Браун А. Д., Немчинская В. Л., Попова З. Б. О связывании красителей нуклеиновыми кислотами и нуклеопротеидами // Первая конф. по нуклеиновым кислотам и нуклеопротеидам. М., 1965б. С. 8—9.
- Браун А. Д., Булычев А. Г., Ганелина Л. Ш. Изменения метаболизма клетки при повреждении // Цитология. 1967. Т. 9, № 10. С. 1225—1247.

- (Браун А. Д., Булычев А. Г., Фиженко Н. В.) Braun A. D., Bulychev A. G., Fischenko N. V. Decrease in the proteinase resistance of urease as a result of its functional activity // Intern. Res. Commun. Syst. 1973. Vol. 8. P. 15.
- Браун А. Д., Булычев А. Г., Стабровская В. И. Новые данные к проблеме молекулярных механизмов повреждения клетки // Функциональная морфология и биохимия клетки. Л., 1974. С. 283—285.
- Браун А. Д., Моженок Т. П., Покровская Т. Г. Влияние неэлектролитов на полимеризацию Г-актина // Цитология. 1984. Т. 26, № 5. С. 614—617.
- Браун А. Д., Моженок Т. П., Пунченко И. А. Содержание Г- и Ф-актина в клетках при их повреждении // Цитология. 1986а. Т. 28, № 10. С. 1127.
- Браун А. Д., Беляева Т. Н., Боровиков Ю. С., Булычев А. Г., Кириллина В. П., Моженок Т. П., Стабровская В. И., Фаддеева М. Д. Механизмы биохимических и структурных нарушений эукариотических клеток при патологических состояниях, вызванных действием повреждающих агентов // V Всесоюз. биохим. съезд: Тез. стенд. сообщ. Киев, 1986б. Т. 2. С. 254—255.
- Браун А. Д., Ковалева Т. А., Моженок Т. П. Эпсилон-аминокапроновая кислота тормозит распространение повреждения в мышечном волокне // Цитология. 1987. Т. 29, № 3. С. 369—372.
- Булычев А. Г. Изменение биологических свойств изолированных митохондрий под влиянием температурного фактора // Цитология. 1964. Т. 6, № 2. С. 245—249.
- Булычев А. Г. Структурные и функциональные изменения изолированных митохондрий и ядер при действии термического фактора: Автореф. дис. . . . канд. биол. наук. Л., 1966. 21 с.
- Булычев А. Г. Влияние повреждающих факторов на окислительный ресинтез АТФ в ядрах зубной железы // Материалы науч. конф. Ин-та цитологии АН СССР, посвящ. 50-летию Великой Октябрьской социалистической революции. Л., 1967. С. 20.
- (Булычев А. Г.) Bulychev A. G. A possible role of  $H^+$ -ATPase in the accumulation of weak bases in lysosome-like structures of nucleated erythrocytes in *Rana temporaria* L. // Lysosomes. Structure and function. Smolenice, 1983. P. 34—35.
- Булычев А. Г., Веселкина М. Н. Влияние ингибиторов энергетического метаболизма и синтеза белка на процесс сегрегации нейтрального красного в эритроцитах лягушки // Цитология. 1983. Т. 25, № 4. С. 426—433.
- Булычев А. Г., Машанский В. Ф. Влияние термической обработки на ультраструктуру и биохимическую активность митохондрий // Тез. докл. 1-го Всесоюз. биохим. съезда. М.; Л., 1963. С. 29—30.
- Булычев А. Г., Машанский В. Ф. О локализации энзимов на митохондриальных мембранах // Цитология. 1964. Т. 6, № 3. С. 312—318.
- Булычев А. Г., Веселкина М. Н., Машанский В. Ф., Браун А. Д. О лизосомальной природе процесса сегрегации и аккумуляции катион-кислот в ядерных эритроцитах // Тр. II Всесоюз. симпоз: Структура и функции лизосом. Новосибирск. 1980. С. 36—37.
- Булычев А. Г., Веселкина М. Н., Браун А. Д. АТФазная активность зон сегрегации новокаина, изолированных из эритроцитов травяной лягушки // Цитология. 1985. Т. 27, № 2. С. 196—202.
- Быков К. М. Выступление на конференции Физиологического института им. А. А. Ухтомского // Вестн. ЛГУ. 1951. № 6. С. 94—96.
- Вермель Е. М. История учения о клетке. М., 1970. 260 с.
- Веселкина М. Н. Особенности сегрегационной функции эритроцитов лягушки: Автореф. дис. . . . канд. биол. наук. Л., 1979. 22 с.
- Веселкина М. Н., Селиванова Г. В., Браун А. Д. Цитофотометрическое исследование гранул, образующихся в эритроцитах лягушки при инкубации их в растворах нейтрального красного и новокаина // Цитология. 1976. Т. 18, № 3. С. 307—311.
- Веселкина М. Н., Булычев А. Г., Браун А. Г. Влияние ингибиторов метаболизма на сформированные зоны сегрегации новокаина и нейтрального красного в эритроцитах лягушки // Цитология. 1985. Т. 27, № 4. С. 433—439.
- Виленчик М. М. Модификация канцерогенных и противоопухолевых эффектов излучений (биомедицинские аспекты). М., 1985. 287 с.
- Вирхов Р. Целлюлярная патология как учение, основанное на физиологической и патологической гистологии (перевод с третьего переработанного и пополненного издания И. Чацкина). М., 1866. 397 с.

- Владимиров Г. Е. Функциональная биохимия мозга. М., 1954. 314 с.
- Владимиров Ю. А., Арчаков А. И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М., 1972. 252 с.
- Владимиров Ю. А., Оленев В. И., Сулова Т. Б., Потапенко А. Я. Механизм перекисного окисления липидов и его действие на биологические мембраны // Молекулярная патология мембранных структур, М., 1975. С. 56—117. (Итоги науки и техники. Сер. Биофизика / ВИНТИ; Т. 5).
- Войников В. К., Иванова Г. Г., Рудиковский А. В. Белки теплового шока растений // Физиология растений. 1984. Т. 31. Вып. 5. С. 970—975.
- Войников В. К., Рудиковский А. В., Поликарпочкина Р. Т. Белки теплового шока клеток суспензионной культуры кукурузы // Физиология растений. 1986. Т. 33. Вып. 2. С. 221—225.
- Волькенштейн М. В. Биофизика. М. 1981. С. 150.
- Волькенштейн М. В. О новой книге В. Я. Александрова «Реактивность клеток и белки» (Л.: Наука. 1985. 316 с.) // Молекуляр. биология, 1985. Т. 19. Вып. 5. С. 1436—1437.
- Воробьев В. И., Ганелина Л. Ш. О природе изменения устойчивости мышц к денатурирующим (термическим) воздействиям при растяжении // Биохимия. 1963. Т. 27. Вып. 3. С. 565—568.
- Воробьева И. А., Поглазов Б. Ф. Выделение сократительного белка из водоросли *Nitella flexilis* // Биофизика. 1963. Т. 8. Вып. 4. С. 427—429.
- Воскресенский О. Н., Жутаев И. А., Бобырев В. Н., Безуглый Ю. В. Антиоксидантная система, онтогенез и старение // Вопросы мед. химии. 1982. Т. 28, № 1. С. 14—27.
- Галактионов К. И., Фридлянская И. И., Пинаев Г. П. Обнаружение изоформы актина, специфической для мышечной ткани в ядрах и хромосомах немускульных клеток // Докл. АН СССР. 1985. Т. 285, № 2. С. 478—479.
- Гамалей И. А., Каулин А. Б. Микроскопическая вязкость мышечных волокон. 1. Методика. Действие гипертонии и кофеина // Цитология. 1972а. Т. 14, № 8. С. 940—946.
- Гамалей И. А., Каулин А. Б. Микроскопическая вязкость мышечных волокон. 2. Температурная зависимость // Цитология, 1972б. Т. 14, № 11. С. 1322—1327.
- Гамалей И. А., Каулин А. Б. Микроскопическая вязкость мышечных волокон. 4. Анизотропная структура внутриклеточной воды // Цитология. 1973. Т. 15, № 6. С. 690—695.
- Гамалей И. А., Каулин А. Б., Трошин А. С. Свойства клеточной воды. // Цитология. 1977. Т. 19, № 12. С. 1309—1326.
- Ганелина Л. Ш. Влияние растяжения на изолированные скелетные мышцы лягушки // Цитология. 1962а. Т. 4, № 1. С. 32—41.
- Ганелина Л. Ш. Влияние растяжения «мышечной модели» на ее устойчивость к денатурирующим воздействиям // Цитология. 1962б. Т. 4, № 2. С. 223—227.
- Ганелина Л. Ш. Переживание изолированных скелетных мышц лягушки в растворах хлористого калия при действии на них растяжения // Цитология. 1962в. Т. 4, № 3. С. 339—342.
- Ганелина Л. Ш. Влияние растяжения мышц на их устойчивость к повреждающим воздействиям: Автореф. дис. . . канд. биол. наук. Л., 1963. 24 с.
- Ганелина Л. Ш., Немчинская В. Л., Браун А. Д. О некоторых особенностях регуляции гликолиза в ядрах печени и зубной железы // Цитология. 1966. Т. 8, № 4. С. 526—529.
- Гейльбрунн Л. Динамика живой протоплазмы. М., 1957. 345 с.
- Гейльбрунн Л. В. Живая и мертвая протоплазма // Вопросы цитологии и общей физиологии. М.: Л., 1960. С. 74—79.
- Гельфанд В. И., Бершадский А. Д. Структура клеточного цитоскелета и ее изменение под действием ингибиторов энергетического обмена // Сборка предбиологических и биологических структур. М., 1982. С. 326—333.
- Гельфанд В. И., Розенблат В. А. Микротрубочки. Их структура, химия и функциональная роль. М., 1984. С. 78—143. (Итоги науки и техники. Сер. Биол. химия / ВИНТИ; Т. 4).
- Герасимов А. М. Антиокислительная ферментная система цитозоля животных: Автореф. дис. . . канд. мед. наук. М., 1981. 24 с.



- Глушанкова М. А. Теплоустойчивость актина травяной и озерной лягушек // Изменчивость теплоустойчивости клеток животных в онтогенезе и филогенезе. Л., 1974. С. 153—157.
- Григорьева В. И. Прижизненные исследования консервирования на холоду роговицы глаза кролика // Докл. АН СССР. 1960. Т. 74, № 4. С. 807—809.
- Данилевский А. Я. Основное вещество протоплазмы и его видоизменение жизнью // Речь на II Международ. мед. конгр. в Риме. СПб., 1894. 16 с.
- Димитров О. А., Колотилова А. И. Влияние аминазина на дыхание и окислительное фосфорилирование митохондрий больших полушарий головного мозга крыс // Биохимия. 1967. Т. 32, № 1. С. 156—161.
- Дьяковска Р. Влияние кремневой кислоты *in vitro* на потребление кислорода и на окислительное фосфорилирование в митохондриях печени крыс // Изв. Центр. лаб. биохимии Болгар. АН. София, 1964. Т. 2. С. 115—121.
- Ерошина Т. Б., Муронец В. И., Наградова Н. К., Островская М. В., Поглазов Б. Ф. Действие актина на каталитические свойства глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы // Биохимия. 1983. Т. 48. Вып. 3. С. 401—404.
- Заварзин А. А. Основы сравнительной гистологии. Л., 1985. 400 с.
- Зайцев В. В. Свободнорадикальные процессы и метаболизм гидроперекисей в гепатоцитах // Гепатоцит. Функционально-метаболические свойства. М., 1985. С. 125—145.
- Збарский И. Б., Акопов С. Б., Бульдяева Т. Б., Кузьмина С. Н. Белки теплового шока ядерного матрикса клеток культуры фибробластов китайского хомячка // V Всесоюз. биохим. съезд: Тез. стенд. сообщ. Киев, 1986. Т. 2. С. 9.
- Зеленин А. В. Морфологическая и цитохимическая природа акридиновых гранул // Изв. АН СССР. Сер. биол. 1965. № 6. С. 925—927.
- Зеленин А. В. Взаимодействие аминопроизводных акридина с клеткой. М., 1971. 231 с.
- Зеленин А. В., Бирюзова В. И., Воротницкая Н. Е. Выделение субклеточной фракции, обогащенной цитоплазматическими акридиновыми гранулами // Докл. АН СССР. 1965. Т. 162, № 4. С. 925—926.
- (Иванов И. И., Голикова А. И.) *Ivanov I. I., Golikova A. I.* Spontaneous gelatinization of sarcoplasmic proteins of skeletal and smooth muscles and possible relation of this phenomenon to developmental mechanism of plastic tonus // *Biorheology*. 1973. Vol. 10. P. 7—16.
- Иванов И. И., Коровкин Б. Ф., Маркелов И. М., Черниенко И. С. Изменение ферментативной активности саркоплазматических белков сердечной мышцы при экспериментальном инфаркте миокарда // Укр. биохим. журн. 1965. № 5. С. 712—720.
- Иванов И. И., Ивантеева Е. П., Михалева Н. П. Об обратимом желатинировании мышечных белков *in vitro* и связи этого явления с феноменом вязкого последствия // Докл. АН СССР. 1968. Т. 183, № 6. С. 1439—1440.
- Ильинская Н. Б. Адаптация соматической мускулатуры лягушек к действию мочевины // Докл. АН СССР. 1960. Т. 133, № 3. С. 722—725.
- Каган В. Е., Архипенко Ю. В., Меерсон Ф. З., Козлов Ю. П. Модификация ферментной системы транспорта  $Ca^{2+}$  в саркоплазматическом ретикулуме при перекисном окислении липидов. Повреждения *in vitro* при развитии патологических состояний // Биохимия. 1983. Т. 48. Вып. 7. С. 1141—1148.
- Карсанов Н. В., Пирцхалайшвили М. П. Полимеризационная способность актина Штрауба при инфаркте миокарда у человека и окклюзии коронарной артерии в эксперименте // Вопр. мед. химии. 1985. Т. 31. Вып. 3. С. 53—57.
- Кацнельсон З. С. Основные этапы развития цитологии // Руководство по цитологии. М.; Л., 1965. Т. 1. С. 16—41.
- Кедровский Б. В. Рибонуклеиновая кислота и ее роль в развитии и функции клетки // Успехи соврем. биологии. 1951. Т. 31. Вып. 1. С. 38—56.
- Кизель А. Р. Химия протоплазмы. М.; Л., 1940. 624 с.
- Кириллина В. П. О характере структурных изменений сократительного аппарата поперечнополосатых мышц при распространяющемся повреждении: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Л., 1979. 20 с.
- Кириллина В. П., Боровиков Ю. С., Браун А. Д., Черногрядская Н. А. Влияние ингибиторов протенназ на процесс распространения некроза поперечнополосатых мышц // Тез. докл. III Астрахан. симпозиум. мед. энзимологии. Астрахань. 1979. С. 64—65.

- Кириллина В. П., Боровиков Ю. С., Стабровская В. И., Браун А. Д. Влияние  $Ca^{2+}$  на сократительную способность и АТФазную активность актомиозина мышц при ценкеровском некрозе // Тез. IV Всесоюз. конф. биохимии мышц. Л., 1981. С. 48—49.
- Кирьянова Е. А., Зеленин А. В. Некоторые закономерности накопления инородных для клетки тел в лизосомах // Докл. АН СССР. 1970. Т. 190, № 2. С. 451—453.
- Клесов А. А., Болобова А. В., Островская М. В., Поглазов Б. Ф. Активация целлюлаз из различных источников актином // Биохимия. 1986. Т. 51. Вып. 2. С. 188—194.
- Козлов Г. С., Носков С. М. Перекисное окисление липидов и антиоксидантные системы организма при экспериментальном стрептококковом миокардите и ревмокардите // Вопр. мед. химии. 1986. Т. 32. Вып. 5. С. 41—44.
- Кольцов Н. К. Организация клетки. М.; Л., 1936. 652 с.
- Кондрашева М. Н. К биохимической характеристике парабитического процесса // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1954. Т. 37, № 1. С. 40—44.
- Кондрашева М. Н. Влияние строфантина К на фосфорилирование и дыхание саркосом // Вопр. мед. химии. 1963. Т. 9, № 3. С. 273—279.
- Кожев С. В., Руденок А. И. О феномене самозащиты дрожжевых клеток при действии высоких температур // Общие механизмы клеточных реакций на повреждающие воздействия. Л., 1977. С. 187—188.
- Коровкин Б. Ф. Ферменты в диагностике инфаркта миокарда. Л., 1965. 312 с. (Котелянский В. Е., Беджинян М. В., Смирнов В. В.) Koteliansky V. E., Bejginian M. V., Smirnov V. V. Electron microscopy study of fibronectin structure // FEBS Lett. 1980. Vol. 120. P. 283—289.
- (Котелянский В. Е., Глухова М. А., Ширинский В. П., Балаев В. Р., Кандаленко В. Ф., Рукосуев В. С., Смирнов В. В.) Koteliansky V. E., Glukhova M. A., Shirinsky V. P., Balaev V. R., Kandalenko V. F., Rukosuev V. S., Smirnov V. V. Identification of filamine-like protein in chicken heart muscle // FEBS Lett. 1981. Vol. 125. P. 44—50.
- Кроленко С. А. Влияние транспорта неэлектролитов и минеральных ионов на структуру и функцию Т-системы скелетных мышечных волокон: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Л., 1974. 40 с.
- Кусакина А. А. Изменения прозрачности, сорбционных свойств и степени поляризации в мышце лягушки при некоторых альтерирующих воздействиях // Вестн. ЛГУ. Сер. биол. 1957. Вып. 3. С. 119—127.
- Кусакина А. А. Изменение светопропускания кожно-грудинной мышцы лягушки при различных альтерирующих воздействиях // Цитология. 1959а. Т. 1, № 2. С. 218—228.
- Кусакина А. А. Опыт применения фотоэлектрической методики к измерению изменений степени прозрачности ткани в ходе парабитического процесса: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Л., 1959б. 14 с.
- Кярнер Ю. К. О лизосомах и витальном окрашивании фибробластов в первичных тканевых культурах // Арх. анатомии, гистологии, эмбриологии. 1966. Т. 50, № 5. С. 60—66.
- Кярнер Ю. К. Идентификация и характеристика лизосом в клетках тканевых культур: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Тарту. 1968. 20 с.
- Лазарев Н. В. Итоги и перспективы работы лаборатории лекарственных методов экспериментальной профилактики и терапии злокачественных опухолей // 40 лет деятельности Ленинградского Ин-та онкологии МЗ СССР. 1926—1966. Л., 1966. С. 45—53.
- Лазарев Н. В., Розин М. А. О неспецифических приспособительных реакциях // Вопросы цитологии и общей физиологии. М.; Л., 1960. С. 137—148.
- Левин С. В. Количественное изучение светорассеяния в отдельных живых клетках // Цитология. 1960. Т. 2, № 4. С. 489—497.
- Левин С. В. Изменение степени дисперсности коллоидных частиц протоплазмы нервных клеток под влиянием растворов сернистого хирина, яичного альбумина и этилуретана // Цитология. 1961. Т. 3, № 4. С. 409—417.
- Левин С. В. Зависимость интенсивности светорассеяния в нервных клетках от концентрации и времени действия некоторых альтерирующих агентов // Цитология. 1962а. Т. 4, № 1. С. 63—67.
- Левин С. В. Светорассеяние в нервных клетках при их альтерации: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Л., 1962б. 13 с.

- Левин С. В. Субстанциональные изменения в клетке при повреждении // Руководство по цитологии. М.; Л., 1966. Т. 2. С. 142—144.
- Левин С. В. Структурные изменения клеточных мембран. Л., 1976. 224 с.
- Литинская Л. Л., Оглоблина Т. А., Векслер А. М., Агроскин Л. С., Папаян Г. В., Хруст Ю. Р., Эйбус Л. Х. Динамика рН в лизосомах и цитоплазме клеток культуры тканей при прижизненном измерении с помощью индикаторного красителя нейтрального красного // Цитология. 1982. Т. 24, № 10. С. 1215—1222.
- Лозовская Е. Р., Левин А. В., Евгеньев М. Б. Тепловой шок у дрозофил и регуляция активности генов // Генетика. 1982. Т. 18, № 11. С. 1749—1762.
- Лоприено Г. Мутагены окружающей среды и быстрая сравнительная оценка мутагенности // Молекулярные основы генетических процессов. М., 1981. С. 127—138.
- Лукьянова Л. Д., Балмуханов Б. С., Уголев А. Т. Кислородзависимые процессы в клетке и ее функциональное состояние. М., 1982. 299 с.
- Макаров П. В. Основы цитологии. М., 1953. 532 с.
- Малис Ю. Г. Р. Вирхов. Его жизнь и научно-общественная деятельность. СПб., 1899. 80 с.
- Мамедов Т. Г. Сверхслабое излучение клеток при раздражении // Физико-химические аспекты возбуждения и проведения. М., 1970. С. 86—94.
- Маргулис Б. А. Проблема регуляции синтеза сократительных белков. // Механизмы контроля мышечной деятельности. Л., 1985. С. 51—61.
- Мачабели М. С., Крымский Л. Д. Некоторые молекулярные и клеточные основы системы регуляции агрегатного состояния крови // Анестезиология и реаниматология. 1984, № 4. С. 68—73.
- Мейсель М. Н. Люминесцентно-микроскопический анализ функционального состояния живого вещества // Изв. АН СССР. Сер. биол. 1951. Т. 15, № 6. С. 788—792.
- Мейсель М. Н., Гуткина А. В. Применение люминесцентной микроскопии для быстрого обнаружения патологических изменений в тканях и органах // Докл. АН СССР. 1953. Т. 91, № 3. С. 641—650.
- Мелехов Е. Н. Принцип регуляции скорости процесса повреждения клетки и реакция защитного торможения метаболизма (РЗТМ) // Журн. общ. биологии. 1985. Т. 46, № 2. С. 174—189.
- Мильчаков В. И. Исследование защитной функции супероксиддисмутазы в сердце при гипероксии: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 1985. 22 с.
- Моженок Т. П. О реакции клеток медленно растущих гепатом на кортизон // Материалы 2-й Науч. конф. Ин-та цитологии АН СССР, посвящен. 50-летию ВЛКСМ. Л., 1969. С. 23—24.
- Моженок Т. П. Сравнительное изучение некоторых особенностей раннего действия гепатотропных канцерогенов и обмена медленно растущих гепатом (микрофлуориметрическое и цитофотометрическое исследование): Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Л., 1973. 17 с.
- Моженок Т. П., Браун А. Д. Роль актина в реакции клетки на повреждающие воздействия // Материалы Биохим. конф. Прибалт. стран. Минск, 1986. С. 28—29.
- Моженок Т. П., Бреслер В. М. Цитофотометрическое изучение содержания гликогена в клетках печени и гепатом 46 и 48 при действии кортизона // Цитология. 1973. Т. 15, № 1. С. 60—66.
- Моженок Т. П., Ахмедов А. Т., Немчинская В. Л., Кудрявцева М. В. О присутствии гликогена в клетках эритроидного ряда у голубей (по данным цитофлуориметрии и цитофотометрии) // Цитология. 1979. Т. 21, № 9. С. 1053—1057.
- Молотковский Ю. Г., Жесткова И. М. О механизме защитного действия сахаров к высокой температуре // Физиология растений. 1964. Т. 11, № 2. С. 301—307.
- Монастырский В. А. Тромбин-плазминовая система организма, ее биологическая роль и значение расстройств при патологии // Пробл. гематологии и переливания крови. 1979. Т. 24, № 7. С. 19—23.
- Монастырский В. А. Тромбин-плазминовая система как регулятор агрегатного состояния коллоидов организма // Гематология и трансфузиология. 1985. Т. 30, № 8. С. 3—9.
- Мужеев В. А. Взаимоотношение структуры и обмена веществ мышцы и роль раздражителя при мышечном сокращении: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Л., 1949. 26 с.

- Мусил Я. Основы биохимии патологических процессов. М., 1985. 314 с.  
(Насонов Д. Н.) *Nassonov D. N. Über den Einfluss der Oxydationsprozesse auf die Verteilung von Vitalfarbstoffen in der Zelle // Zellforsch. Mikrosk. Anat.* 1930. Bd 11. S. 179—217.
- Насонов Д. Н. Об ответной реакции живой протоплазмы на действие различных раздражителей // Учен. зап. ЛГУ. 1937. № 17. С. 227—236.
- Насонов Д. Н. О природе возбуждения. М., 1948. 16 с.
- Насонов Д. Н. Выступление на конференции Физиологического института им. А. А. Ухтомского // Вестн. ЛГУ. 1951. № 6. С. 81—91.
- Насонов Д. Н. Местная реакция протоплазмы и распространяющееся возбуждение. М.; Л., 1959. 434 с.
- Насонов Д. Н., Александров В. Я. К вопросу об изменениях живого вещества при обратимом переходе его в мертвое состояние // Арх. биол. наук. 1934. Т. 36. Сер. А. Вып. 1. С. 96—111.
- Насонов Д. Н., Александров В. Я. Реакция живого вещества на внешние воздействия. М.; Л., 1940. 252 с.
- Насонов Д. Н., Браун А. Д. Соединение нативных и денатурированных белков с красителями в связи с проблемой паранекроза // Проблема белка. М., 1949. С. 9—10.
- Насонов Д. Н., Суздальская И. П. Стойкое возбуждение, повреждение и наркоз поперечнополосатых мышц. Сообщ. 1. Контрактуры от этилового спирта, эфира, NaCl, KCl и HCl // Изв. АН СССР. Сер. биол. 1948. № 4. С. 393—410.
- Нейфах А. А. Рецензия на книгу В. Я. Александрова «Реактивность клеток и белки» // Цитология. 1986. Т. 28, № 1. С. 130—131.
- Нейфах С. А. Примечания к переводу книги: Рэкер Э. «Биоэнергетические механизмы». М., 1967. С. 272.
- Немчинская В. Л. Связывание красителей нативной и денатурированной ДНК и ядерными нуклеопротеинами // Вопр. цитологии и протистологии. М.; Л., 1960. С. 134—140.
- Немчинская В. Л., Браун А. Д. Изменения свойств изолированных ядер клеток в процессе переживания и при действии раздражителей // Цитология. 1962. Т. 4, № 4. С. 409—417.
- Немчинская В. Л., Ганелина Л. Ш., Браун А. Д. О различиях в изозимном составе лактатдегидрогеназ ядра и цитоплазмы клеток печени крыс // Цитология. 1967. Т. 9, № 3. С. 307—310.
- (Немчинская В. Л., Ганелина Л. Ш., Браун А. Д.) *Nemchinskaya V. L., Ganelina L. Sh., Braun A. D. Differences in isozyme patterns of nucleic and cytoplasmic lactate dehydrogenase of rat liver cells // Nature.* 1968. Vol. 217. P. 250—253.
- Несветаева Н. М. Изменение энергетического обмена скелетных мышц в процессе развития контрактур, вызванных хлористым натрием // Вопр. цитологии и общей физиологии. М.; Л., 1960. С. 168—174.
- Несветаева Н. М. Изменение энергетического обмена скелетных мышц лягушки в процессе развития контрактур, вызванных хлористым калием // Цитология. 1962. Т. 4, № 4. С. 453—456.
- Никольский Н. Н. Изменения проницаемости клеток при повреждении // Общие механизмы клеточных реакций на повреждающие воздействия. Л., 1977. С. 23—25.
- Ниселовская Л. И. Влияние введения дифтерийного токсина на процессы окислительного фосфорилирования // Фосфорилирование и функция. Л., 1960. С. 363—366.
- Ниселовская Л. И., Падерина Е. М. Процессы окислительного фосфорилирования в печени морских свинок, отравленных стафилококковым токсином // Вопр. мед. химии. 1963. Т. 9, № 3. С. 256—260.
- Новиков К. Н. Перекисное окисление липидов в гепатоцитах // Гепатоцит. Функционально-метаболические свойства. М., 1985. С. 146—169.
- Одесская Т. А. Тромбостенин-сократительный белок кровяных пластинок — важный фактор динамических превращений тромбоцитов // Пробл. гематологии и переливания крови. 1976. Т. 21. Вып. 2. С. 37—40.
- Орлов С. Н., Покудин Н. И., Ситожевский А. В. О механизмах вовлечения кальциемодулина в регуляцию сродства  $Ca^{2+}$  и максимальной активности Са-насоса мембраны эритроцитов // Биохимия. 1985. Т. 50. Вып. 12. С. 2056—2062.

- Островская Т. А. Реакции на альтерирующие воздействия некоторых белков, субклеточных структур и клеток в изолированном состоянии и в системе: Автореф. дис. . . . канд. биол. наук. Л., 1969. 21 с.
- Павлов И. П. Письмо к молодежи. ПСС. Т. 1. 1951. С. 22—23.
- Панов М. А. Прямое и не прямое действие специфических ингибиторов на эукариотические клетки: Автореф. дис. . . . д-ра биол. наук. Л., 1984. 44 с.
- Панов М. А., Розовская И. А. Влияние ингибиторов энергетического обмена на взаимодействие нейтрального красного с клетками асцитной карциномы Эрлиха // Цитология. 1977. Т. 19, № 1. С. 67—75.
- Панченко Л. Ф., Герасимов А. М., Антоненков В. Л. Роль пероксисом в патологии клетки. М., 1981. 207 с.
- Пермяков Е. А. Парвальбумин и родственные кальцийсвязывающие белки. М., 1985. С. 191.
- Пинаев Г. П. Регуляторные белки сократительных систем клетки // Успехи биол. химии. 1983. Т. 24. Вып. 1. С. 83—98.
- Пинаев Г. П. Регуляторная роль минорных белков в структурной организации сократительного аппарата // Механизмы контроля мышечной деятельности. Л., 1985. С. 62—100.
- Пирогов Н. И. Вопросы жизни (дневник старого врача). Киев, 1910. 501 с.
- Подгорная О. И., Пинаев Г. П. Молекулярная природа желатинирования экстрактов из немышечных клеток // Немышечные двигательные системы. М., 1981. С. 156—174.
- Поглазов Б. Ф. Миозиноподобный белок в ткани мозга // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1961. № 9. С. 52—56.
- Поглазов Б. Ф. Изучение миозиноподобной аденозинтрифосфатазы внутренних органов // Биохимия. 1962. Т. 27, № 1. С. 161—172.
- Поглазов Б. Ф. Структура и функции сократительных белков. М., 1965. 223 с.
- Поглазов Б. Ф. Немышечные сократительные белки // Немышечные двигательные системы. М., 1981. С. 3—13.
- Поглазов Б. Ф. Регуляторные функции актина в клетке // Изв. АН СССР. Сер. биол. 1983. № 5. С. 667—677.
- Поглазов Б. Ф., Баев А. А. О роли сульфгидрильных групп в полимеризации актина // Биохимия. 1961. Т. 26. Вып. 3. С. 535—548.
- Поглазов Б. Ф., Ливанова Н. Б., Островская М. В. Взаимодействие актина с киназой фосфориллазы // Докл. АН СССР. 1982. Т. 263. Вып. 1. С. 221—224.
- Покровский А. А. Использование ферментных реакций в клинике с диагностическими целями // Актуальные вопросы современной биохимии. М., 1962. С. 220—250.
- Поликар А., Бесси М. Элементы патологии клетки. М., 1970. 348 с.
- Попова З. Б., Браун А. Д. Некоторые свойства ремазола красного и две формы его связывания мышцами, мышечными моделями и актомиозином // Цитология. 1964. Т. 6, № 4. С. 508—512.
- (Привалов П. Л.) Privalov P. L. Stability of proteins. Small globular proteins // Adv. Protein Chem. 1979. Vol. 33. P. 167—241.
- Пуанкаре Ж. А. Последние мысли. Пб., 1923. 193 с.
- Раевская М. А. Возникновение и распределение повреждения в поперечнополосатых мышцах лягушки: Автореф. дис. . . . канд. биол. наук. Л., 1941. 23 с.
- Розенталь Д. Л., Суздальская И. П. Исследование субстанциональных изменений при повреждении и возбуждении клеток методом витального окрашивания // Достижения современной физиологии нервной и мышечной системы. М.; Л., 1965. С. 75—103.
- Розин М. А. Клетка и неспецифическая сопротивляемость организма. Л., 1967. 148 с.
- Романов С. Н. Связывание красителя нервными клетками в различные сроки после раздражения // Докл. АН СССР. 1948. Т. 61, № 5. С. 909—912.
- Романов С. Н. Влияние предварительного нагревания мышц на величину связывания ими красителя // Докл. АН СССР. 1949. Т. 66, № 4. С. 593—596.
- Романов С. Н. Биологическое действие механических колебаний. Л., 1983. 208 с.
- Румянцев П. П. Изучение гранулярно-вакуолярных включений, возникающих в клетках при действии новокаина и некоторых других веществ // Цитология. 1959. Т. 1, № 2. С. 183—194.

- Русяев В. Ф., Кузник В. И. Факторы свертывания и процесс возбуждения клеток // Успехи физиол. наук. 1977. Т. 8, № 2. С. 94—111.
- Рэкер Э. Биоэнергетические механизмы: новые взгляды. М., 1979. 216 с.
- Самаль А. Б., Черенкевич С. Н., Хмара Н. Ф. Выявление пативного актина в тромбоцитах флуоресцентным методом // Биофизика. 1983. Т. 28, Вып. 2. С. 298—301.
- Свиткина Т. М., Васильев Ю. М. Изменение цитоскелета мышечных эмбриональных фибробластов под действием кальцемида. Электронно-микроскопическое исследование платиновых реплик // Цитология. 1986. Т. 28, № 1. С. 38—42.
- Свиткина Т. М., Шевелев А. А., Бершадский А. Д., Гельфанд В. И. Структура цитоскелета мышечных эмбриональных фибробластов. Электронно-микроскопическое исследование платиновых реплик // Цитология. 1983. Т. 25, № 9. С. 1004—1012.
- Северин Е. С., Кочеткова М. Н. Роль фосфорилирования в регуляции клеточной активности. М., 1985. 288 с.
- Селье Г. Стресс без дистресса. М., 1982. 123 с.
- Соколовский В. В. Тиоловые соединения в биохимических механизмах жизнедеятельности // Тиоловые соединения в биохимических механизмах патологических процессов. Л., 1979. С. 5—9.
- Соколовский В. В. Окислительно-восстановительные процессы в биохимическом механизме неспецифической реакции организма на действие экстремальных факторов внешней среды // Антиоксиданты и адаптация. Л., 1984. С. 5—19.
- Стабровская В. И. Увеличение содержания аденозинтрифосфата в скелетных мышцах лягушек при действии на них мочевины // Цитология. 1967а. Т. 9, № 5. С. 536—541.
- Стабровская В. И. Действие мочевины на некоторые стороны метаболизма скелетных мышц лягушки // Цитология. 1967б. Т. 9, № 6. С. 719—727.
- Стабровская В. И. Некоторые биохимические изменения в мышцах при контрактурах // Механизмы проницаемости, возбуждения и повреждения клетки. Л., 1969. С. 242—264.
- Стабровская В. И., Браун А. Д. Изменение АТФазной активности и тинкториальных свойств актомиозина при действии мочевины на изолированный белок и на мышцу // Цитология. 1969. Т. 11, № 2. С. 201—209.
- Стабровская В. И., Браун А. Д. Изменения белков и некоторых показателей повреждения скелетных мышц в ходе теплового воздействия // Цитология. 1972. Т. 14, № 10. С. 1253—1259.
- Стабровская В. И., Браун А. Д. Свободная и связанная альдолаза скелетных мышц, интактных и при тепловом повреждении // Докл. АН СССР. 1976. Т. 231, № 4. С. 987—989.
- Сугрובה Н. П., Ероина Т. Б., Чеботарева Н. А., Островская М. В., Ливанова Н. Б., Курзанов Б. И., Поглазов Б. Ф. Регуляция активности ферментов в адсорбционных ферментных системах. 3. Взаимодействие лактатдегидрогеназы из мышц свиньи с Ф-актином // Молекуляр. биология. 1983. Т. 17, Вып. 2. С. 430—435.
- Суздальская И. П., Ивахнюк И. С. Зависимость скорости развития ценкеровского некроза в волокнах портняжной мышцы лягушки от концентрации хлоралгидрата, мочевины и уретана // Цитология. 1983. Т. 25, № 5. С. 552—557.
- Суслова Т. Б., Владимиров Ю. А. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах // Биологические мембраны. М., 1973. С. 75—93.
- Тарусов Б. Н., Иванов И. И., Петрусевиц Ю. М. Сверхслабое свечение биологических систем. М., 1967. 168 с.
- Токин Б. П. Теоретическая биология и творчество Э. С. Бауэра. Л., 1963. 162 с.
- Тонгур В. С. Влияние давления на денатурацию яичного белка // Коллоид. журн., 1949. Т. 11, № 4. С. 274—279.
- Тонгур В. С., Казьмина Н. А. Влияние давления на белки. Ренатурация сывороточного альбумина под давлением // Биохимия. 1950. Т. 15, № 3. С. 212—215.
- Тонгур В. С. Некоторые вопросы «обратимости денатурации» белка // Успехи соврем. биологии. 1951. Т. 31, № 3. С. 391—412.
- Тонгур В. С. Регенерация яичных альбуминов под давлением // Биохимия. 1952. Т. 17, № 4. С. 497—503.
- Тонгур В. С. Действие высоких давлений на проколлаген // Коллоид. журн. 1953. Т. 15, № 2. С. 126—129.

- Трошин А. С. О механизме защитного действия неэлектролитов при повреждении мышц гипотонией // Арх. анатомии, гистологии и эмбриологии. 1939. Т. 22, № 1 С. 44—66.
- Трошин А. С. Распределение веществ между клеткой и средой. Л., 1985. С. 192
- Трошин А. С., Трошина В. П. Дмитрий Николаевич Насонов. Л., 1984. 99 с.
- Трошина В. П. Некоторые данные о стадии усиленного гранулообразования // Арх. анатомии, гистологии и эмбриологии. 1956. Т. 33, № 4. С. 69—74.
- Трошина В. П. К вопросу о продромической фазе парабиоза // Нервная система. Л., 1963. С. 55—57. (Тр. ЛГУ им. А. А. Жданова; Вып. 4).
- Трошина В. П. Действие дибазола на мышечную ткань лягушки // Цитология. 1964а. Т. 6, № 3. С. 362—365.
- Трошина В. П. Парабиотические токи портняжной мышцы лягушки, вызванные действием неэлектролитов // Физико-химические основы происхождения биопотенциалов. М., 1964б. С. 218—223.
- Трошина В. П., Суздальская И. П. Функциональное состояние мышечной ткани в фазу сниженной окрашиваемости // Механизмы местной реакции и распространяющегося возбуждения. Л., 1970. С. 41—48.
- Тур Ф. Е. Влияние добавочного отягощения на кривую мышечного утомления // Физиол. журн. 1938. Т. 24, № 1—2. С. 372—373.
- Туроверов К. К., Хайтлина С. Ю., Пинаев Г. П. Флуоресцентные свойства актина. Определение содержания нативного актина в его препаратах // Биохимия. 1975. Т. 40. Вып. 2. С. 316—321.
- Устинова Е. Е. Влияние кратковременного и длительного стресса на сердце и предупреждение стрессорных повреждений: Автореф. дис. . . канд. мед. наук. М., 1983. 24 с.
- Ушаков Б. П. Изменение сорбционных свойств нерва краба при возбуждении // Докл. АН СССР. 1950. Т. 8, № 1. С. 205—208.
- Ушаков Б. П. Парабиоз мышцы и проблема соотношения функциональных и субстанциональных изменений при возбуждении // Успехи соврем. биологии. 1954. Т. 38, № 3. С. 294—318.
- Ушаков Б. П. О механизме адаптации клеток животных // Цитология. 1959. Т. 1, № 1. С. 35—47.
- Ушаков В. Б. К вопросу о причине тепловой смерти мышечного волокна // Цитология. 1963. Т. 5, № 2. С. 204—211.
- Ухтомский А. А. Завещание Н. Е. Введенского // Учен. зап. ЛГУ. 1939. Т. 41. Вып. 10. С. 8—14.
- Фаддеева М. Д. К вопросу о спектральных свойствах комплекса ДНК с акридиновым оранжевым // Цитология. 1962. Т. 4, № 2. С. 231—232.
- Фаддеева М. Д. Спектральные свойства комплексов акридинового оранжевого с нативной, денатурированной и ренатурированной ДНК // Цитология. 1964. Т. 6, № 2. С. 241—245.
- Фаддеева М. Д. Взаимодействие нуклеиновых кислот с основными флуоресцентными красителями // Механизмы проницаемости, возбуждения и повреждения клетки. Л., 1969. С. 64—86.
- Фаддеева М. Д., Браун А. Д. Повреждение интеркалирующими агентами // Общие механизмы клеточных реакций на повреждающие воздействия. Л., 1977. С. 149—151.
- Фаддеева М. Д., Беляева Т. Н., Новиков И. П., Шалаби З. Г., Браун А. Д. Изучение возможности интеркаляции алкалоида сангвинарина в натриевую ДНК // Докл. АН СССР. 1980. Т. 253, № 2. С. 491—494.
- Фельдман Н. Л. Роль коацервации в отложении гранул основных витальных красителей в клетках // Докл. АН СССР. 1948. Т. 62, № 6. С. 817—820.
- Фельдман Н. Л. Влияние денатурации белков на коацервацию их с красителями // Докл. АН СССР. 1950. Т. 74, № 6. С. 1139—1142.
- Фельдман Н. Л. О причинах подавления гранулообразования красителей при повреждении клеток // Докл. АН СССР. 1953. Т. 89, № 2. С. 345—346.
- Фиженко И. В., Браун А. Д. О характере ингибирования ферментов основными красителями // Цитология. 1967. Т. 9, № 9. С. 1144—1150.
- Фридович И. Свободные радикалы в биологии. М., 1979. 318 с.
- Хайтлина С. Ю. Полимеризация актина и молекулярные механизмы ее регуляции // Механизмы контроля мышечной деятельности. Л., 1985. С. 171—190.

- (Хлопин Н. Г.) *Chlopin N. G.* Experimentelle Untersuchungen über die sekretorischen Prozesse in Zytoplasma // Arch. exp. Zellforsch. 1927. Bd 4. S. 462—599.
- Цейтлин Л. А. О механизме действия некоторых снотворных веществ на процессы окислительного фосфорилирования // Биохимия. 1955. Т. 20, № 6. С. 725—729.
- Цховребова Л. А., Хайтлина С. Ю., Шелудько Н. С., Подлубная З. А. Взаимодействие  $\alpha$ -актина и тропомозина с Ф-актином // Биофизика. 1982. Т. 27, № 1. С. 20—25.
- Цыперович А. С. Исследование денатурации и стабилизации глобулярных белков: Автореф. дис. . . д-ра биол. наук. Киев, 1954. 29 с.
- Цыперович А. С., Лосева А. Д. О механизме денатурации белков. Свойства глобулярного белка, стабилизированного воздействиями денатурирующего фактора // Биохимия. 1956. Т. 21, № 5. С. 546—556.
- Цыперович О. С., Лосева А. Л. Стабилизация пепсина, трипсина и химотрипсина аминокислотами // Укр. биохим. журн. 1960. Т. 32, № 1. С. 25—43.
- Чеботарева Н. А., Сугрובה Н. П., Островская М. В., Ливанова Н. Б., Поглазов Б. Ф., Курганов Б. И. Взаимодействие мышечной гликогенфосфорилазы Б с Ф-актином // Биохимия. 1986. Т. 51. Вып. 2. С. 341—344.
- Черногрядская Н. А., Розанов Ю. М., Богданова М. С., Боровиков Ю. С. Ультрафиолетовая флуоресценция клетки. Л., 1978. 215 с.
- Шульц Г., Ширмер Р. Принципы структурной организации белков. М., 1982. 354 с.
- Эйдус Л. Х. Неспецифическая реакция клеток и радиочувствительность. М., 1977. 151 с.
- Энгельгардт В. А. Трансформация энергии в биологических системах // Наука и жизнь. 1969. № 6. С. 33—45.
- Этингоф Р. Н., Щуколюков С. А. О влиянии витамина А на набухание и окислительное фосфорилирование митохондрий печени крыс // Вопр. мед. химии. 1963. Т. 9. С. 535—537.
- Abe S. L., Maruyama K.* Dynamic viscoelastic study of acto-heavy meromyosin in solution // Biochim. biophys. acta. 1974. Vol. 160. P. 160—172.
- Abood L. W.* Mechanism of inhibition of phosphorylation in brain mitochondria by electrical impulses // J. Amer. Physiol. 1954. Vol. 176. P. 247—251.
- Actin: structure and function in muscle and non-muscle cells* // Eds C. G. Dos Remedios, J. A. Barden. Sidney, 1983. 517 p.
- Adams C., Rinne R. V.* Stress protein formation: gene expression and environmental interaction with evolutionary significance // Intern. Rev. Cytol. 1982. Vol. 79. P. 305—315.
- Adelstein R. S., Conti M. A.* Phosphorylation of platelet myosin increases actin-activated myosin ATPase activity // Nature. 1975. Vol. 256. P. 597—598.
- Aebi U., Isenberg G., Pollard T. D., Smith P. R.* Structure of crystalline actin sheets // Nature. 1980. Vol. 288. P. 296.
- Ajling S. C.* Biochemical aspects of an inhibitor protein from uterine myometrium // Proteinase inhibitors. Medical and biological aspects. New York; Tokyo, 1983. P. 191—200.
- Agranoff B. M., Murthy P., Seguin E. B.* Thrombin-induced phosphodiesteratic cleavage of phosphatidylinositol biphosphate in human platelets // J. Biol. Chem. 1983. Vol. 258. P. 2076—2078.
- Aldridge W. N., Parker V. H.* Barbiturates and oxidative phosphorylation // Biochem. J. 1960. Vol. 76. P. 47—56.
- Alkjersig N., Fletcher A. P., Sherry S.* E-ACA an inhibitor of plasminogen activation // J. Biol. Chem. 1959. Vol. 254. P. 832—841.
- Allison A. C., Young M. R.* Vital staining and fluorescence microscopy of lysosomes // Lysosome in biology and pathology. Amsterdam, 1969. Vol. 2. P. 600—628.
- Ambrus J., Lassman H., Mink I.* Studies on the mechanism of action of inhibitors of the fibrinolysis system // Ann. N. Y. Acad. Sci. 1968. Vol. 146. P. 430—438.
- Amelung D.* Fermentdiagnostik interner Erkrankungen. Stuttgart, 1964. 443 S.
- Anson M. L., Mirsky A. E.* The reversibility of protein coagulation // J. Phys. Chem. 1931. Vol. 35. P. 185—193.
- Aravindakshan J., Braganca B. M.* Oxydative phosphorylation in brain and liver mitochondria of animals injected with cobra venom // Biochem. biophys. acta. 1959. Vol. 31. P. 463—466.



- Arrigo A. P. Investigation of the function of the heat shock proteins in *Drosophila melanogaster* tissue culture cells // *Mol. Gen. Genet.* 1980. Vol. 178. P. 517-524.
- Arrigo A., Fakan S., Tissieres A. Localization of the heat-shock induced proteins in *Drosophila melanogaster* tissue culture cells // *Develop. Biol.* 1980. Vol. 78. P. 86-103.
- Asakura S. Conformational changes in actin at polymerization // *Arch. Biochem. Biophys.* 1961. Vol. 92. P. 140-149.
- Asano A. Actinogelin a new protein related to  $Ca^{2+}$ -regulation microfilament system // *Abstr. 2th Intern. Congr. Cell Biology.* Berlin, 1980. 977 p.
- Asatoor A. M., Amstrong M. D. 3-Methylhistidine, a component of actin // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1967. Vol. 26. P. 168-173.
- Ashburner M., Bonner J. J. The induction of gene activity in *Drosophila* by heat shock // *Cell.* 1979. Vol. 17. P. 241-254.
- Avissar N., Kaminsky E., Leibovich S. J., Oplatko A. Rabbit skeletal muscle F-actin can be stable at low ionic strength, provided trace amounts of  $Ca^{2+}$  are absent // *Biochim. biophys. acta.* 1979. Vol. 577. P. 267-272.
- Back J., Oakenfull D., Smith M. Increased thermal stability of proteins in the presence of sugars and polyols // *Biochemistry.* 1979. Vol. 18. P. 5191-5196.
- Ball E. H., Singer S. J. Mitochondria are associated with microtubules and not with intermediate filaments in cultured fibroblasts // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1982. Vol. 79. P. 123-126.
- Bamburg I. R., Harris H. E., Weeds A. G. Partial purification and characterization of an actin-depolymerizing factor from brain // *FEBS Lett.* 1980. Vol. 121. P. 178-182.
- Barden J. A., Grant N. J., Remedios C. G. Identification of the nucleus of actin polymerization // *Biochem. J.* 1982. Vol. 5. P. 685-692.
- Barden J. A., Wu C. C., Remedios C. G. Actin monomer conformation under polymerizing conditions studied by proton nuclear magnetic resonance and circular dichroism spectroscopy // *Biochim. biophys. acta.* 1983. Vol. 748. P. 230.
- Barnett Th., Alischler M., Mc Daniel C. N., Mascarenhas J. P. Heat shock induced proteins in plant cells // *Develop. Genet.* 1980. Vol. 1. P. 331-340.
- Baszczyński C. L., Walden D., Atkinson G. Regulation of gene expression in corn (*Zea mays*) by heat shock // *Canad. J. Biochem.* 1982. Vol. 60. P. 569-579.
- Baszczyński C. L., Walden D. B., Atkinson G. B. Regulation of gene expression in corn (*Zea mays*) by heat shock. 2. In vitro analysis of RNA from heat-shocked seedlings // *Canad. J. Biochem. Cell Biol.* 1983. Vol. 61. P. 395-403.
- Baur H., Kasperck S., Pfaff E. Criteria of viability of isolated liver cells // *Hoppe-Seyler's Ztschr. physiol. Chem.* 1975. Bd 356. S. 827-838.
- Bechhold H. Kolloidstudien mit der Filtrationsmethode // *Ztschr. physik. Chem.* 1907. Bd 60. S. 127-139.
- Begg D. A., Rodewald R., Rebhun L. I. The visualization of actin filament polarity in thin sections // *J. Cell Biol.* 1978. Vol. 79. P. 846-852.
- Begg D. A., Salmon E. D., Hyatt A. H. The changes in structural organization of actin in the sea urchin egg cortex in response to hydrostatic pressure // *J. Cell Biol.* 1983. Vol. 97. P. 1795-1805.
- Bendayan M. Ultrastructural localization of cytoskeletal proteins in pancreatic secretory cells // *Canad. J. Biochem. Cell Biol.* 1985. Vol. 63. P. 680-690.
- Bender N., Fasold H., Kenmoku A., Middelhoff G., Volk K. E. The selective blocking of the polymerization reaction of striated muscle actin leading to a derivative suitable for crystallization modification of Tyr-53 by 5-Diazonium (1 M) tetrazole // *Europ. J. Biochem.* 1976. Vol. 64. P. 215-218.
- Bennett J. P., Laner K. S., Stossel T. P. Isolation and some properties of macrophage alpha-actinin. Evidence that it is not an actin gelling protein at physiologic temperature // *Biochemistry.* 1984. Vol. 23. P. 5081-5086.
- Bennett V., Stenbuck P. J. The membrane attachment protein for spectrin is associated with band 3 in human erythrocyte membranes // *Nature.* 1979. Vol. 280. P. 468-473.
- Bennett V., Davies J., Fowler W. E. Brain spectrin a membrane associated protein related in structure and function to erythrocyte spectrin // *Nature.* 1982. Vol. 299. P. 126-131.

- Bennett W. F., Gleen K. C.* Hypersensitivity of platelets to thrombin formation of stable thrombin-receptor complexes and the role of shape change // *Cell*. 1980. Vol. 22. P. 621—627.
- Berg T., Boman D., Steglen P. D.* Induction of tryptophan oxygenase in primary rat liver cell suspensions by glucocorticoid hormone // *Exp. Cell Res.* 1972. Vol. 72. P. 571—574.
- Berger G., May P.* Purification et proprietes d'un inhibiteur de la desoxyribonuclease pancreatique extrait du serum de rat // *Biochim. biophys. acta.* 1967. Vol. 139. P. 148—156.
- Bert S., Puszkin S., Nicklas W. J.* Actomyosin-like protein in brain // *Science*. 1973. Vol. 179. P. 441—446.
- Bernard Cl.* Introduction a l'etude de la medicine experimentale. Paris, 1865. 110 p.
- Berner P. F., Frank E., Holzer H., Somlyo A. P.* The intermediate filament proteins of rabbit vascular smooth muscle: immunofluorescent studies of desmin and vimentin // *J. Muscle Res. Cell Motility*. 1981a. Vol. 2. P. 439—452.
- Berner P. F., Somlyo A. V., Somlyo A. P.* Hypertrophy-induced increase of intermediate filaments in vascular smooth muscle // *J. Cell Biol.* 1981b. Vol. 88. P. 96—101.
- Bernstein B. W., Banburg J. R.* Tropomyosin binding to F-actin protects the F-actin from disassembly by brain actin-depolymerizing factor (ADP) // *Cell Motility*. 1982. Vol. 2. P. 1—8.
- Berridge M. J., Urvine R. F.* Inositol triphosphate a novel second messenger in cellular signal transduction // *Nature*. 1984. Vol. 312. P. 315—321.
- Berry M. N.* Metabolic properties of cells isolated from adult mouse liver // *J. Cell Biol.* 1962. Vol. 15. P. 1—8.
- Bertalanffy L. V.* Acridine orange fluorescence in cell physiology, cytochemistry and medicine // *Protoplasma*. 1963. Bd 57. S. 1—4.
- Bienz M., Gurdon J. B.* The heat shock response in *Xenopus* oocytes is controlled at the translational level // *Cell*. 1982. Vol. 29. P. 811—819.
- Bishop F. W., Horton C. G., Warren S. L.* A clinical study of artificial hyperthermia induced by high frequency currents // *Amer. J. Med. Sci.* 1932. Vol. 184. P. 515—533.
- Blikstad I., Carlsson L.* On the dynamics of the microfilament system in HeLa cells // *J. Cell Biol.* 1982. Vol. 93. P. 122—131.
- Blikstad I., Markey F., Carlsson L., Persson T., Lindberg U.* Selective assay of monomeric and filamentous actin in cell extracts using inhibition of deoxyribonuclease I // *Cell*. 1978. Vol. 15. P. 935—943.
- Bockus B. J., Stiles C. D.* Regulation of cytoskeletal architecture by platelet-derived growth factor, insulin and epidermal growth factor // *Exp. Cell Res.* 1984. Vol. 153. P. 186—197.
- Bonder E. M., Fishkind D. J., Mooseker M. S.* Direct measurement of actin filament critical concentrations // *Biophys. J.* 1983a. Vol. 41. P. 22a.
- Bonder E. M., Fishkind D. J., Mooseker M. S.* Direct measurement of critical concentrations for the two ends of an actin filament // *J. Cell Biol.* 1983b. Vol. 97. Pt 2. P. 373a.
- Bonder E. M., Fishkind D. J., Mooseker M. S.* Direct measurement of critical concentration and assembly rate constants at two ends of an actin filament // *Cell*. 1983c. Vol. 34. P. 491—501.
- Borgstrom B., Sudduth H. C., Lehninger A. L.* Phosphorylation coupled to reduction of cytochrome c by n-hydroxybutirate // *J. Biol. Chem.* 1955. Vol. 215. P. 461—467.
- Boshek C. B., Jockusch B. M., Friis R. R., Back R., Grundmann E., Bauer H.* Early changes in the distribution and organization of microfilament proteins during cell transformation // *Cell*. 1981. Vol. 24. P. 175—184.
- Boxer L. A., Stossel T. P.* Interactions of actin, myosin and an actinbinding protein of chronic myelogenous leukemia leukocytes // *J. Clin. Invest.* 1976. Vol. 57. P. 964—976.
- Boxer L. A., Richardson S., Floyd A.* Identification of actin-binding protein in membrane of polymorphonuclear leukocytes // *Nature*. 1976. Vol. 263. P. 249—251.
- Bowler K.* Heat death and cellular heat injury // *J. Therm. Biol.* 1981. Vol. 6. P. 171—178.

- Boyles J., Bainton D. F. Changing patterns of plasma membrane-associated filaments during the initial phases of polymorphonuclear leukocyte adherence // *J. Cell Biol.* 1979. Vol. 82. P. 347—368.
- Bradbury G. H., Norton R. S. Denaturation of proteins. 5. NMR of the arginine residues of lysozyme // *Intern. J. Repts Protein Res.* 1974. Vol. 6. P. 295—302.
- Branton D., Cohen C. M., Tyler J. Interaction of cytoskeletal proteins on the human erythrocyte membrane // *Cell.* 1981. Vol. 24. P. 24—32.
- Bray D., Thomas C. The actin content of fibroblasts // *Biochem. J.* 1975. Vol. 147. P. 221—228.
- Bretscher A. Fimbrin in a cytoskeletal protein that crosslinks F-actin in vitro // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1981. Vol. 78. P. 6849—6853.
- Bretscher A. Smooth muscle caldesmon: rapid purification and F-actin cross-linking properties // *J. Biol. Chem.* 1984. Vol. 259. P. 12 873—12 880.
- Bretscher A., Lynch W. Identification and localization of immunoreactive forms of caldesmon in smooth and nonmuscle cells: a comparison with the distributions of tropomyosin and  $\alpha$ -actinin // *J. Cell Biol.* 1985. Vol. 100. P. 1656—1663.
- Bretscher A., Weber K. Villin the major microfilament-associated protein of the intestinal microvillus // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1979. Vol. 76. P. 2321—2325.
- Bretscher A., Weber K. Fimbrin a new microfilament associated protein in microvilli and other cell surface structures // *J. Cell Biol.* 1980. Vol. 86. P. 335—346.
- Brett J. G., Goldman G. C. Cytoskeletal organization affects cellular responses to cytochalasins: comparison of a normal line and its transformant // *Tissue and Cell.* 1986. Vol. 18. P. 175—199.
- Brett J. G., Tannenbaum J. Cytochalasin D-induced increase in actin synthesis and content in a variety of cell types // *Cell Biol. Intern. Repts.* 1985. Vol. 9. P. 723—730.
- Brønsted I. N. Einige Bemerkungen über den Begriff der Säuren und Basen // *Recueil trav. chim.* 1923. Bd 42. S. 718—762.
- Brown S. S., Spudich J. A. Nucleation of polar actin-filament assembly by a positively charged surface // *J. Cell Biol.* 1979. Vol. 80. P. 499—504.
- Brown S. S., Yamamoto K., Spudich J. A. A 40.000-dalton protein from Dictyostelium discoideus affects assembly properties of actin in a Ca-dependent manner // *J. Cell Biol.* 1982. Vol. 93. P. 205—210.
- Bryan I., Kane R. E. Separation and interaction of the major components of sea urchin actin gel // *J. Mol. Biol.* 1978. Vol. 125. P. 207—224.
- Bryvo R., Fey S. J., Small J. V., Larsen O. M., Celis J. E. Coexistence of three major isoactins in a single sarcoma 180 cells // *Cell.* 1981. Vol. 28. P. 259—268.
- Bullough W. S. Epithelial repair // *Repair and regeneration* / Eds J. E. Dunphy, W. van Winkle. New York, 1970. P. 35—46.
- Bungenberg de Jong H. G., Bank O. Mechanismen der Farbstoffaufnahme // *Protoplasma.* 1939. Bd 33. S. 512—530.
- Bungenberg de Jong H. G., Westercamp R. F. Kolloidmodelle zur Illustration biologischer Vorgänge // *Protoplasma.* 1936. Bd 27. S. 32—51.
- Burdon R. H., Slater A., McManon M., Calo A. C. Hyperthermia and the heat shock proteins of HeLa cells // *Brit. J. Cancer.* 1982. Vol. 45. P. 953—963.
- Burn P., Rotman A., Meyer R. K., Burger M. M. Diacylglycerol in large actinin/actin complexes and in the cytoskeleton of activated platelets // *Nature.* 1985. Vol. 314. P. 469—472.
- Burridge K. Are stress fibers contractile? // *Nature.* 1981. Vol. 294. P. 691—692.
- Burridge K., Feramisko J. R. Nonmuscle  $\alpha$ -actinins calcium sensitive actin-binding proteins // *J. Cell Biol.* 1981. Vol. 91. P. 292.
- Carley W. W., Barak L. S., Webb W. W. F-actin aggregates in transformed cells // *J. Cell Biol.* 1981. Vol. 90. P. 797—802.
- Carlsson L., Lindberg U. Depolymerization of F-actin by deoxyribonuclease I // *Cell.* 1976. Vol. 7. P. 531—542.
- Carlsson L., Nystrom L. W., Sundkvist J., Markey F., Lindberg U. Actin-polymerizability is influenced by profilin a low molecular weight protein in nonmuscle cells // *J. Mol. Biol.* 1977. Vol. 115. P. 465—483.
- Carlsson L., Markey F., Blikstad I., Persson T., Lindberg U. Reorganization of actin in platelets stimulated by thrombin as measured by the DNase I inhibition assay // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1979. Vol. 76. P. 6376—6380.

- Carraway C. A., Weiss M.* Phalloidin shift on velocity sedimentation sucrose gradient centrifugation for identification of microfilament associated proteins // *Exp. Cell Res.* 1985. Vol. 161. P. 150—160.
- Castagna M., Chauveau J.* Caractéristiques chimiques et enzymatiques des hépatocytes isolés // *Arch. sci. physiol.* 1968. T. 22. P. 229—246.
- Castellani L., O'Brien E. J.* Structure of actin paracrystals induced by nerve growth factor // *J. Mol. Biol.* 1981. Vol. 147. P. 205—213.
- Cavaliere R., Ciocatto E. C., Giovanello B. C.* Selective heat sensitivity of cancer cells. Biochemical and clinical studies // *Cancer.* 1967. Vol. 20. P. 1351—1381.
- Chance B., Williams G.* Respiratory enzyme in oxidative phosphorylation // *J. Biol. Chem.* 1955. Vol. 217. P. 383—393.
- Chappel J. R., Greville G. D.* Effect of 2,4-dinitrophenol and other agents on the swelling of isolated mitochondria // *Nature.* 1959. Vol. 183. P. 1737—1738.
- Chen K. Y.* An 18 000-dalton protein metabolically labelled by polyamines in various mammalian cell lines // *Biochim. biophys. acta.* 1983. Vol. 756. P. 395—402.
- Christopherson B. O.* Effect of ethanol on mitochondrial oxidations // *Biochim. biophys. acta.* 1964. Vol. 86. P. 14—20.
- Clark T. G., Merriam R. W.* Diffusible and bound actin in nuclei of *Xenopus laevis* oocytes // *Cell.* 1977. Vol. 12. P. 883—892.
- Clarke F. M., Morton D. J.* Glycolytic enzyme binding in fetal brain—the role of actin // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1982. Vol. 109. P. 388—393.
- Cochcroft S., Comperts B. D.* Role of guanine nucleotide binding protein in the activation of polyphosphoinositide phosphodiesterase // *Nature.* 1985. Vol. 314. P. 534—536.
- Cohen C. M.* The molecular organization of red cell membrane skeleton // *Semin. Hematol.* 1983. Vol. 20. P. 141—158.
- Cohen L., Cohen C.* A tropomyosin-like protein from human platelets // *J. Mol. Biol.* 1972. Vol. 68. P. 383—387.
- Collins J. H., Korn E. D.* Purification and characterization of activatable,  $Ca^{2+}$ -sensitive myosin from *Acanthamoeba* // *J. Biol. Chem.* 1981. Vol. 256. P. 2586—2595.
- Collins P. L., Hightower L. E., Ball L. A.* Transcriptional map for Newcastle disease virus // *J. Virol.* 1980. Vol. 35. P. 682—693.
- Condeelis J. S., Vahey M. A.* A calcium and pH-regulated protein from *Dictyostelium discoideum* that cross-links actin filaments // *J. Cell Biol.* 1982. Vol. 94. P. 466—471.
- Condeelis J., Geosits S., Vahey M.* Isolation of a new actin-binding protein from *Dictyostelium discoideum* // *Cell Motility.* 1982. Vol. 2. P. 273—285.
- Connor W. G., Gerner E. M., Miller M. D., Boone M. L.* Prospects for hyperthermia in human cancer therapy // *Radiology.* 1977. Vol. 123. P. 497—503.
- Constantinides P.* Ultrastructural pathobiology. Amsterdam etc., 1984. 611 p.
- Cooke R., Murdoch L.* Interaction of actin with analogs of adenosine triphosphate // *Biochemistry.* 1973. Vol. 12. P. 3927—3932.
- Cooper P., Tuanhua D. H.* Heat shock proteins in maize // *Plant Physiol.* 1983. Vol. 71. P. 215—222.
- Corry P., Robinson Ph. D., Getz S.* Hyperthermic effects on DNA repair mechanism // *Radiology.* 1977. Vol. 123. P. 475—482.
- Corwin H. L., Hartwin J. H.* Isolation of actin-binding protein and villin from toad oocytes // *Develop. Biol.* 1983. Vol. 99. P. 61—74.
- Cote G. P., Smillie L. B.* The interaction of equine platelet tropomyosin with skeletal muscle actin // *J. Biol. Chem.* 1981. Vol. 256. P. 7257—7261.
- Craig S. W., Pollard T. D.* Actin-binding proteins // *Trends Biol. Sci.* 1982. Vol. 7. P. 88—92.
- Craig S. W., Powell L. D.* Regulation of actin polymerization by villin, a 95 000 dalton cytoskeletal component of intestinal brush border // *Cell.* 1980. Vol. 22. P. 739—746.
- Currie R. W., White F. P.* Trauma-induced protein in rat tissues: a physiological role for a «heat shock» protein // *Science.* 1981. Vol. 214. P. 72—73.
- Danher P., Löw J.* Dual effect of  $Ca^{2+}$  in ultrasonic ATPase activity and polymerization of muscle actin // *Biochim. biophys. acta.* 1977. Vol. 484. P. 169—176.

- Davies K. A., Quintanilha A. T., Brooks G. A., Packer L. Free radicals and tissue damage produced by exercise // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1982. Vol. 107. P. 1198—1205.
- Davies P., Bechtel P., Pastan I. Filamin inhibits actin activation of heavy meromyosin ATPase // *FEBS Lett.* 1977. Vol. 77. P. 228—235.
- Dawkins M. J. R. Cell injury in the newborn animal // *Cellular injury*. London, 1964. P. 117—136.
- Day W. A., Gilbert D. X-ray diffraction pattern of axoplasm // *Biochim. biophys. acta.* 1972. Vol. 285. P. 503—506.
- Dean R. I., Atkinson B. G. The acquisition of thermal tolerance in larvae of *Calpodis ethius* (Lepidoptera) and the in situ and in vitro synthesis of heat-shock proteins // *Canad. J. Biochem. Cell Biol.* 1983. Vol. 61. P. 472—479.
- De Duve Ch., Wattiaux R. Function of lysosomes // *Ann. Rev. Physiol.* 1966. Vol. 28. P. 435—492.
- De Duve Ch., de Barsy Ph., Poole B., Trouet A., Tulkens P., Van Hoof F. Lysosomotropic agents // *Biochem. Pharmacol.* 1974. Vol. 23. P. 2495—2531.
- Delpino A., Nista A., Marcante M. L., Ferrini U., Silvestrini B., Caputo A., Floridi A. Induction of stress proteins by lonidamine in human and murine melanoma cells // *Exp. Mol. Pathol.* 1986. Vol. 44. P. 197—206.
- De Rosier D. J., Censullo R. Structure of F-actin needles from extracts of sea urchin oocytes // *J. Mol. Biol.* 1981. Vol. 146. P. 77—87.
- De Rosier D. J., Edds K. T. Evidence for fascin crosslinks between the actin filaments in coelomocyte filopods // *Exp. Cell. Res.* 1980. Vol. 126. P. 490—494.
- De Rosier D. J., Mandelkow E., Silliman A., Tilwey L., Kane R. Structure of actin containing filaments from two types of nonmuscle cells // *J. Mol. Biol.* 1977. Vol. 113. P. 679—686.
- Di Guiseppi J., Fridovich I. Putative SOD-activity of iron-EDTA // *Arch. Biochem. Biophys.* 1980. Vol. 203. P. 145—150.
- Dillon L. S. Ultrastructure macromolecules and evolution. New York; London, 1981. 708 p.
- Dingle J. T., Barrett A. J. Uptake of biologically active substances by lysosomes // *Proc. Roy. Soc. London. A.* 1969. Vol. 173. P. 85—93.
- Djordjevic B. Variable interaction of heat and procaine in potentiation of radiation lethality in mammalian cells of neoplastic origin // *Intern. J. Radiat. Biol.* 1983. Vol. 43. P. 399—409.
- Drabikowski W., Lehrer S. S., Nady B., Gergely J. Loss of  $Ca^{2+}$ -binding to actin upon removal of the C-terminal phenylalanine by carboxypeptidase A // *Arch. Biochem. Biophys.* 1977. Vol. 181. P. 359—361.
- Drochman P., Wanson J., Mosselman R. Isolation and subfractionation of ficoli gradients of adult rat hepatocytes // *J. Cell Biol.* 1975. Vol. 66. P. 1—22.
- Dujardin F. Recherches sur les organismes inferieurs // *Ann. Sci. Nat. Zool. Biol. Anim.* 1835. Vol. 4. P. 343—377.
- Durica D. S., Schlass J. A., Grain W. R. Organization of actin gene sequences in the sea urchin molecular cloning of a intron-containing DNA sequence coding for a cytoplasmic actin // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1980. Vol. 77. P. 5683—5687.
- Ebashi S., Ebashi F.  $\alpha$ -Actinin, a new structural protein from skeletal muscle. I. Preparation and action on actomyosin-ATP interaction // *J. Biochem.* 1965. Vol. 58. P. 7—12.
- Ebashi S., Ebashi F., Maruyama K. A new protein factor promoting contraction of actomyosin // *Nature.* 1964. Vol. 203. P. 645—651.
- Egly J. M., Miyamoto N., Moncollin V., Chambon P. Is actin a transcription factor for RNA polymerase B? // *EMBO J.* 1984. Vol. 3. P. 2363—2371.
- Eidus L. Kh., Korystow Yu. N., Litinskaya L. L., Morosow M. A., Vexler A. M. The study of dye accumulation in granules on vital dyeing of chinese hamster fibroblasts in culture // *Stud. biophys.* 1977. Bd 62. S. 85—92.
- Elliott R. S., Morton D. L. Normal tissue and solid tumor effects of hyperthermia in animal models and clinical trials // *Cancer Res.* 1979. Vol. 39. P. 2245—2251.
- Elzinga M., Collins J. H., Kuchl W. M., Adelstein R. S. Complete aminoacid sequence of actin of rabbit skeletal muscle // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1973. Vol. 70. P. 2687—2691.

- Elzinga M., Moran B. J., Adelstein R. S.* Human heart and platelet actins are products of different genes // *Science*. 1976. Vol. 191. P. 94—95.
- Engel J., Fasold H., Hulla F. W., Waecher F., Wegner A.* The polymerization reaction of muscle actin // *Mol. Cell. Biochem.* 1977. Vol. 18. P. 3—13.
- Exton J. H.* Metabolism of rat-liver cell suspensions. I. General properties of isolated cells and occurrence of the citric acid cycle // *Biochem. J.* 1964. Vol. 92. P. 451—467.
- Farber J. L.* The role of calcium in cell death // *Life Sci.* 1982. Vol. 29. P. 1289—1295.
- Fa-Ten-Kao.* Human genome structure // *Intern. Rev. Cytol.* 1985. Vol. 29. P. 1289—1295.
- Fattoum A., Roustan C., Feinberg J., Pradel L. A.* Biochemical evidence for a low molecular weight protein (profilin-like protein) in hog thyroid gland and its involvement in actin polymerization // *FEBS Lett.* 1980. Vol. 118. P. 237—240.
- Fattoum A. J., Hartwig H., Stossel T. P.* Isolation and some functional properties of macrophage tropomyosin // *Biochemistry.* 1983. Vol. 22. P. 1187—1193.
- Fechheimer M., Brier J., Rockwell M., Luna E. J., Tayker D. I.* A calcium and pH-related actin binding protein from *D. discoideum* // *Cell Motility.* 1982. Vol. 2. P. 287—308.
- Fermein M., Bergendi I.* Biological importance of the superoxide anion and of the other reactive forms of oxygen originated during: the metabolism of aerobic-cells // *Biol. Listy.* 1984. Vol. 49. P. 1—25.
- Ferri A., Grazi E.* Mechano-chemical energy transduction in biological systems. The effect of mechanical stimulation on the polymerization of actin: a kinetic study // *Biochem. J.* 1982. Vol. 205. P. 281—284.
- Feuer A., Molnar F., Pettko E., Straub F.* Studies on the composition and polymerization of actin // *Acta physiol. Acad. sci. hung.* 1948. Vol. 2. P. 150—157.
- Field S. B., Anderson R.* Thermotolerance: a review-observations and possible mechanism // *Nat. Cancer Inst. Monogr.* 1982. Vol. 61. P. 193—201.
- Fink K., Zeuthen E.* Heat shock proteins in *Tetrahymena* studied under growth conditions // *Exp. Cell Res.* 1980. Vol. 128. P. 23—30.
- Firtel R. A.* Multigene families encoding actin and tubulin // *Cell.* 1981. Vol. 24. P. 6—7.
- Fischer A.* Die Bindung von Heparin an Eiweiss // *Biochem. J.* 1935. Bd 278. S. 135—160.
- Fisher A. I., Curmi P. M., Barden J. A., Remedios C. G. Dos.* A reinvestigation of actin monomer conformation under polymerizing conditions based on rates of enzymatic digestion and ultraviolet difference spectroscopy // *Biochim. biophys. acta.* 1983. Vol. 748. P. 220—229.
- Flanagan M. D., Lin S.* Cytochalasins block actin filament elongation by binding to high affinity sites associated with F-actin // *J. Biol. Chem.* 1980. Vol. 255. P. 835—838.
- Floridi A., Lehniger A. L.* Action of the antitumor agent lonidamine (an antispermatogenic and antitumor agent) on electron transport in Ehrlich ascites tumor mitochondria // *Arch. Biochem. Biophys.* 1983. Vol. 226. P. 73—83.
- Fox J. E., Phillips D. R.* Inhibition of actin polymerization in blood platelets by cytochalasins // *Nature.* 1981. Vol. 292. P. 650.
- Fox J. E., Bayghan A. K., Phillips D. R.* Direct linkage of GPIIb to a Mr 250 K polypeptide in platelets cytoskeleton // *Blood.* 1984a. Vol. 62. P. 255A.
- Fox J. E., Boyles J. K., Reynolds C. C., Phillips D. R.* Actin filaments contents and organization in unstimulated platelets // *J. Cell Biol.* 1984b. Vol. 98. P. 1985—1991.
- Francis D., Lin L.* Heat shock response in a cellular slime mold, *Polysphondylium pallidum* // *Develop. Biol.* 1980. Vol. 79. P. 238—242.
- Frank E. D., Warren L.* Aortic smooth muscle cells contain vimentin instead of desmin // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1981. Vol. 78. P. 3020—3024.
- Fridovich Y.* Superoxide-dismutase // *Amer. Rev. Biochem.* 1975. Vol. 44. P. 147—159.
- Frieden C., Goddetten D.* Polymerization of actin and actin-like systems: evaluation of the time course of polymerization in relation to the mechanism // *Biochemistry.* 1983. Vol. 22. P. 5836—5843.

- Frieden C., Gilbert H. R., Liberman D. A. A fluorescent probe for conformational changes in skeletal muscle G-actin // *J. Biol. Chem.* 1980. Vol. 255. P. 8991—8993.
- Fry J. R., Jones C. A., Wiebkin P. The enzymic isolation of adult rat hepatocytes in a functional and viable state // *Anal. Biochem.* 1976. Vol. 71. P. 341—350.
- Fullon A. B., Wan K. M., Penman S. The spatial distribution of polyribosomes in 3T/cells and the associated assembly of proteins into the skeletal frame work // *Cell.* 1980. Vol. 20. P. 849—857.
- Fung B. M., Eyob E. The effect of ATP concentration on the rate of actin polymerization // *Arch. Biochem. Biophys.* 1983. Vol. 220. P. 370—378.
- Füchtbauer A., Jockusch B. M., Matura K., Kilimann M. W., Isenberg G. Disruption of microfilament organization after injection of F-actin capping proteins into living tissue culture cells // *Nature.* 1983. Vol. 304. P. 361—363.
- Fürth O. Die Kolloidchemie des Muskels und ihre Beziehungen zu dem Problemen der Kontraktion und der Starre // *Ergeb. Physiol.* 1919. Bd 17. S. 363—386.
- Fyrberg E. A., Bond B. L., Hershey N. D., Mixter K. S., Davidson N. The actin genes of *Drosophila*: protein coding regions are highly conserved but intron positions are not // *Cell.* 1981. Vol. 24. P. 107—117.
- Gabbiani G. The cytoskeleton in cancer cells in animals and humans // *Meth. Achieve Exp. Pathol.* 1979. Vol. 9. P. 231—243.
- Gabbiani G., Ryan G. B. Development of contractile apparatus in epithelial cells during epidermal and liver regeneration // *J. Submicrosc. Cytol.* 1974. Vol. 6. P. 143—157.
- Gabbiani G., Chaponnier C., Hüttner I. Cytoplasmic filaments and gap junction in epithelial cells and myofibroblasts during wound healing // *J. Cell Biol.* 1978. Vol. 76. P. 561—568.
- Galdal K. S., Evensen S. A., Höglund A. S., Nilsen E. Actin pools and actin microfilament organization in cultured human endothelial cells after exposure to thrombin // *Brit. J. Haematol.* 1984. Vol. 58. P. 617—625.
- Gallwitz D., Sures I. Structure of a split yeast gene: complete nucleotide structure of the actin gene // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1980. Vol. 77. P. 3912—3916.
- Garrels J. I., Gibson W. Identification and characterization of multiple forms of actin // *Cell.* 1976. Vol. 9. P. 793—805.
- Geiger B. 130 K protein from chicken gozzard: its localization at the terminal of microfilament bundles in cultured chicken // *Cell.* 1979. Vol. 18. P. 193—197.
- Geiger B., Tokuyasu K. T., Dutton A. H., Singer S. J. Vinculin a intracellular protein localized at specialized sites where microfilament bundles terminate at cell membranes // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1980. Vol. 77. P. 4127—4131.
- Geiger B., Avnur L., Rinnerthaler H., Hinsen H., Small V. J. Microfilament-organizing centers in areas of cell contact: cytoskeletal interactions during cell attachment and locomotion // *J. Cell Biol.* 1984. Vol. 99. Pt 2. P. 83s—91s.
- Geny B., Paral A., Fedan Y., Charlemange D. Characterization of a  $\beta$ -actinin-like protein in purified non-muscle cell membrane // *Biochim. biophys. acta.* 1982. Vol. 692. P. 345—354.
- Gerner E. W., Connor W. G., Boone M. M. The potential of localized heating as an adjunct to radiation therapy // *Radiology.* 1975. Vol. 116. P. 433—439.
- Gerner E. W., Russel D. H. The relationship between polyamine accumulation and DNA replication in synchronized Chinese hamster ovary cells after heat shock // *Cancer Res.* 1977. Vol. 31. P. 482—489.
- Gerschman L. C., Selden L. A., Ester J. E., Neuman J. Evidence for a monomer activation step in actin polymerization // *Biophys. J.* 1983. Vol. 41. P. 95a.
- Gerschman L. C., Estes J. E., Selden L. A. Actin polymerization is regulated by the tightly bound divalent cation // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1984. Vol. 435. P. 150—153.
- Gerweck L. E. Effect of microenvironmental factors on the response of cells to single and fractionated heat treatments // *Nat. Cancer Inst. Monogr.* 1982. Vol. 61. P. 19—26.
- Glenney J. R., Glenney I. P. Fodrin is the general spectrin-like protein found in most cells whereas spectrin and the TW protein have a restricted distribution // *Cell.* 1983. Vol. 34. P. 503—512.

- Glenney J., Kauflus A., Weber K.* F-actin assembly modulated by villin:  $\text{Ca}^{2+}$ -dependent nucleation and capping of the barbed end // *Cell*. 1981. Vol. 24. P. 471—480.
- Glenney J. R., Glenney I. P., Weber K.* The spectrin-related molecule, TW-260/240 cross-links the actin bundles of the microvillus rootlets in the brush borders of intestinal epithelial cells // *J. Cell Biol.* 1983. Vol. 96. P. 1491—1495.
- Goldman R. D., Schloss J. A., Streiger J. M.* Organizational changes of actin-like microfilaments during animal cell movement // *Cell motility: Cold Spring Harbor Conf. Cell Proliferation*. 1976. Vol. 3. Book A. P. 217—245.
- Goldstein L., Rubin R., Ko C.* The presence of actin in nuclei: a critical appraisal // *Cell*. 1977. Vol. 12. P. 601—608.
- Goll D. E., Suzuki A., Temple I., Holmes G. R.* Studies on purified  $\alpha$ -actinin. Effect of temperature and tropomyosin on the  $\alpha$ -actinin/F-actin interaction // *J. Mol. Biol.* 1972. Vol. 67. P. 469—475.
- Gordon D. J., Eisenberg E., Korn E. D.* Characterization of cytoplasmic actin isolated from *Acanthamoeba castellanii* by new method // *J. Biol. Chem.* 1976. Vol. 251. P. 4778—4786.
- Gordon D. J., Boyer J. L., Korn E. D.* Comparative biochemistry of nonmuscle actins // *J. Biol. Chem.* 1977. Vol. 252. P. 8300—8309.
- Gowing L. R., Tellam R. L., Banyard M. R.* Microfilament organization and total actin content are decreased in hybrids derived from the fusion of HeLa cells with human fibroblasts // *J. Cell Sci.* 1984. Vol. 69. P. 137—146.
- Grant N. J., Oriol-Audit C.* Induction of actin bundles and actin paracrystals by polyamines // *Biol. Cell*. 1982. Vol. 45. P. 252.
- Grant N. J., Oriol-Audit C.* Influence of the polyamine spermine on the organization of cortical filaments in isolated cortices of *Xenopus laevis* eggs // *Europ. J. Cell Biol.* 1985. Vol. 36. P. 239—246.
- Grant N. J., Oriol-Audit C., Dickens M. J.* Supramolecular forms of actin induced by polyamines: an electron microscopic study // *Europ. J. Cell Biol.* 1983. Vol. 30. P. 67—73.
- Grant N. J., Aimar C., Oriol-Audit C.* Effects of polyamines on the first division cycle of *Xenopus laevis* eggs // *Exp. Cell Res.* 1984. Vol. 150. P. 483—487.
- Gratzer W. B.* The red cell membrane and its cytoskeleton // *Biochem. J.* 1981. Vol. 198. P. 1—8.
- Grazi E., Aleotti A., Ferri A.* Characterization of the ATP-G-actin aggregates formed at low potassium chloride concentration // *Biochem. J.* 1984. Vol. 219. P. 273—276.
- Greenberg S. G., Drake P. E., Lasek R. J.* Differential synthesis of heat shock proteins by connective cells and by neurons of *Aplysia californica* // *J. Cell Biol.* 1983. Vol. 91. P. 152.
- Griffith L. M., Pollard T. D.* Evidence for actin filament-microtubule interaction mediated by microtubule-associated proteins // *J. Cell Biol.* 1978. Vol. 78. P. 958—965.
- Gruenstein E., Rich A., Weihing R. R.* Actin associated with membranes from 3T3 mouse fibroblasts and HeLa cells // *J. Cell Biol.* 1975. Vol. 64. P. 223—234.
- Grumet M., Lin S.* Purification and characterization of an inhibitor protein with cytochalasin-like activity from bovine adrenal medulla // *Biochim. biophys. acta.* 1981. Vol. 678. P. 381—387.
- Guarnieri C., Flanigni F., Rossoni-Calderera C.* Glutathione peroxidase activity and release of glutathione from oxygen-deficient perfused rat heart // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1979. Vol. 89. P. 678—684.
- Guidice G., Roccheri M. C., Di Bernardo M. G.* Synthesis of «heat shock» proteins in sea urchin embryos // *Cell Biol. Intern. Reps.* 1980. Vol. 4. P. 69—74.
- Gunning R., Ponte P., Keder L., Eddy R., Shows T.* Chromosomal location of the co-expressed human skeletal and cardiac actin genes // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1984. Vol. 81. P. 1813—1817.
- Gutteridge J. M., Rowley D. A., Halliwell B.* Superoxide-dependent formation of hydroxyl radicals and lipid peroxidation in the presence of iron salts // *Biochem. J.* 1982. Vol. 206. P. 605—609.
- Guttman S., Glover C., Allis C., Gorovskiy M.* Heat shock deciliation and release



- from anoxia, induced the synthesis at the same set of polypeptides in starved *T. pyriformis* // *Cell*. 1980. Vol. 22. P. 299—307.
- Gwynne D. I., Brandhorst B. P.* Alterations in gene expression during heat shock of *Achlya ambisexualis* // *J. Bacteriol.* 1982. Vol. 149. P. 488—493.
- Haber F., Weiss J.* The catalytic decomposition of hydrogen peroxide by iron salts // *Proc. Roy. Soc. London A.* 1934. Vol. 147. P. 332—351.
- Haddox M. K., Russell D. H.* Differential conjugation of polyamines to calf nuclear and nucleolar proteins // *J. Cell. Physiol.* 1981. Vol. 109. P. 447—452.
- Hall E. J.* Hyperthermia: an overview // *Nat. Cancer Inst. Monogr.* 1982. Vol. 61. P. 15—16.
- Halliwell B.* Superoxide-dependent formation of hydroxyl radicals in the presence of iron chelates // *FEBS Lett.* 1978. Vol. 92. P. 321—326.
- Halliwell B.* Superoxide-dependent formation of hydroxyl radicals in the presence of iron salts is a possible source of hydroxyl radicals in vivo // *Biochem. J.* 1982. Vol. 205. P. 461—462.
- Hama H., Maruyama K., Nada H.* Natural F-actin. I. Direct isolation of F-actin from myofibrils and its physico-chemical properties // *Biochim. biophys. acta.* 1965. Vol. 102. P. 249—260.
- Hammond G. L., Lai V. R., Markert C. L.* Diverse forms of stress lead to new patterns of gene expression through a common and essential metabolic pathway // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1982. Vol. 79. P. 3485—3488.
- Hard G. C., Toh B. H.* Immunofluorescent characterization of rat kidney tumors according to the distribution of actin as revealed by specific antiactin antibody // *Cancer Res.* 1977. Vol. 37. P. 1618—1623.
- Harman J., Katiyakara A.* Studies on mitochondria. The relationship between the structure, osmotic reactivity and ATPase activity of mitochondria from pigeon skeletal muscle // *Exp. Cell Res.* 1955. Vol. 8. P. 411—435.
- Harris D. A., Schwartz J. H.* Characterization of brevin a serum protein that shortens actin filaments // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1981. Vol. 78. P. 6798—6802.
- Harris E. J.* An effect of stretch upon the sodium output from frog muscle // *J. Physiol. (Gr. Brit.).* 1954. Vol. 124. P. 242—247.
- Hartwag J. H., Stossel T. P.* Isolation and properties of actin, myosin and new actin binding protein in rabbit alveolar macrophages // *J. Biol. Chem.* 1973. Vol. 250. P. 5696—5705.
- Harwell O. D., Sweeney M. L., Kirkpatrick F. H.* Conformation changes of actin during formation of filaments and paracrystals and upon interaction with DNase I, cytochalasin B and phalloidin // *J. Biol. Chem.* 1980. Vol. 255. P. 1210—1220.
- Hasegawa T., Takahashi S., Hayashi H., Hatano S.* Fragmin: a calcium ion sensitive regulatory factor on the formation of actin filaments // *Biochemistry.* 1980. Vol. 19. P. 2677—2683.
- Hashimoto K., Kawarabayashi K., Tatsumi N.* Inhibition of platelet secretion of ATP by phalloidin // *Cell Biol. Intern. Reps.* 1986. Vol. 10. P. 41—47.
- Hatano S., Dosawa F.* Isolation and characterization of plasmodium actin // *Biochim. biophys. acta.* 1966. Vol. 127. P. 488—498.
- Hatchcock J. N., Hill C. H., Fove S. B.* Uncoupling of oxidative phosphorylation by vanadate // *Canad. J. Biochem.* 1966. Vol. 44. P. 983—988.
- Hayek D., Tipton S. R.* Respiratory activity and maintenance of cell suspensions of rat liver // *J. Cell Biol.* 1966. Vol. 29. P. 405—409.
- Heacock C. S., Brown Sh. L., Bamburg J. R.* In vitro inactivation of actin by heat // *Nat. Cancer Inst. Monograph.* 1982. Vol. 61. P. 73—75.
- Heacock C. S., Eidsvoog K. E., Bamburg J. K.* The influence of contact-inhibited growth and of agents which alter cell morphology on the levels of G- and F-actin in cultured cells // *Exp. Cell Res.* 1984. Vol. 153. P. 402—412.
- Hegyí G., Venyaminol S. Y.* Absence of growth changes in the secondary structure of actin at G-F-transition // *FEBS Lett.* 1980. Vol. 109. P. 134—136.
- Heidenhain M.* *Plasma und Zell.* Yena, 1907. 384 S.
- Heilbrunn L.* *The colloid chemistry of protoplasm.* Berlin, 1928. Bd 1. 360 S.
- Heilbrunn L.* *An outline of general physiology.* Philadelphia, 1952. 818 p.
- Heilbrunn L.* *The dynamics of living protoplasma.* New York, 1956. 327 p.

- Heilbrunn L. V. Grundzüge der allgemeinen Physiologie. Berlin, 1958. 787 S.
- Heinz R. Arbeiten aus dem pharmakologischen. Institut der Universität Breslau // Virchows Arch. 1890. Vol. 122. P. 100—124.
- Hems R., Stubbs M., Krebs H. A. Restricted permeability of rat liver for glutamate and succinate // Biochem. J. 1968. Vol. 107. P. 807—815.
- Hendricks M., Weintraub H. Tropomyosin is decreased in transformed cells // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1984. Vol. 78. P. 5633—5637.
- Henle K. J., Dethelfson L. A. Heat fractionation and thermotolerance: a review // Cancer Res. 1978. Vol. 38. P. 1843—1851.
- Henley K. S., Sorenson O. Enzyme activity in parenchymatous liver cells // Fed. Proc. 1959. Vol. 18. P. 245—246.
- Henley K. S., Winggins H. S., Pollard H. Transaminase activity in suspensions of parenchymatous liver cells // Ann. N. Y. Acad. Sci. USA. 1958. Vol. 75. P. 270—273.
- Henning R., Plattner H., Stoffel W. Nature and localization of acidic groups on lysosomal membranes // Biochim. biophys. acta. 1973. Vol. 330. P. 61—75.
- Herman B., Pledger W. J. Platelet-derived growth-factor induced alterations in vinculin and actin distribution in BALB/c-3T3 cells // J. Cell. Biol. 1985. Vol. 100. P. 1031—1040.
- Herman I. M., Grisona N. J., Pollard T. D. Relation between cell activity and the distribution of cytoplasmic actin and myosin // J. Cell Biol. 1981. Vol. 80. P. 84—91.
- Hesterberg L. K., Weber K. Demonstration of three distinct calciumbinding sites in villin, a modulator of actin assembly // J. Biol. Chem. 1983. Vol. 258. P. 365—369.
- Heuser J. E., Kirschner M. W. Filament organization revealed in platinum replicas of freeze-dried cytoskeleton // J. Cell Biol. 1980. Vol. 86. P. 212—234.
- Higashi S., Oosawa F. Conformational changes associated with polymerization and nucleotide binding in actin molecules // J. Mol. Biol. 1965. Vol. 12. P. 843—865.
- Hightower L. E. Cultured animal cells exposed to amino acid analogues or puromycin rapidly synthesize several polypeptides // J. Cell. Physiol. 1980. Vol. 102. P. 407—427.
- Hightower L. E., White F. P. Cellular responses to stress comparison of a family of 71—73 kilodalton proteins rapidly synthesized in rat tissue slices and canavanine-treated cells in culture // J. Cell. Physiol. 1981. Vol. 108. P. 261—275.
- Hikida R. S. Z-line extraction: comparative effects in avian skeletal muscle fiber types // J. Ultrastruct. Res. 1978. Vol. 65. P. 266—278.
- Hinssen H. An actin-modulating protein from Physarum polycephalum. 1. Isolation and purification // Europ. J. Cell Biol. 1981a. Vol. 23. P. 225—233.
- Hinssen H. An actin-modulating protein from Physarum polycephalum. 2.  $Ca^{2+}$ -dependence and other properties // Europ. J. Cell Biol. 1981b. Vol. 23. P. 234—240.
- Hiromi Y., Hotta Y. Actin gene mutations in Drosophila. Heat shock activation in the indirect flight muscle // EMBO J. 1985. Vol. 4. P. 1681—1687.
- Hiromi Y., Okamoto H., Gehring W., Hotta Y. Germ line transformation with drosophila mutant actin genes induced constitutive expression of heat shock genes // Cell. 1986. Vol. 44. P. 293—301.
- Hirschhorn R., Grossman J., Troll W., Weissmann G. The effect of epsilon-amino caproic acid and other inhibitors of proteolysis upon the response of human peripheral blood lymphocytes to phytohemagglutinin // J. Clin. Invest. 1971. Vol. 50. P. 1206—1217.
- Hitchcock S. E., Huxley H. E., Szent-Gyorgyi A. G. Calcium sensitive binding of troponin to actin-tropomyosin // J. Mol. Biol. 1973. Vol. 80. P. 825—840.
- Hitchcock S. E., Carlsson L., Lindberg U. Depolymerization of F-actin by deoxyribonuclease I // Cell. 1976. Vol. 7. P. 531—536.
- Hollo J., Lax H. Untersuchungen über die Schutzwirkung des Blutserums gegenüber Kongorubin // Biochem. Ztschr. 1923. Bd 139. S. 482—490.
- Hollunger G. The effect of trivalent thallium on oxidative phosphorylation // Acta pharmacol. toxicol. 1960. Vol. 16. P. 347—356.

- Holtzer H., Bennett G. S., Tapscott S. J., Croop J. M., Dlugosz A., Toyama Y. Changes in intermediate-sized filaments during myogenesis and neurogenesis // Intern. Cell Biol. 1981. Vol. 1. P. 293—305.
- Hommes F. A., Draisma M. J., Molenaar J. Preparation and some properties of isolated rat liver cells // Biochim. biophys. acta. 1970. Vol. 222. P. 361—371.
- Hopf U., Meyer R. H., Groth U. The isolation of vital rat liver cells // Res. Exp. Med. 1974. Vol. 163. P. 199—203.
- Hosoya H., Mabuchi L., Sakai H. Actin modulation proteins in the sea urchin eggs. I. Analysis of G-actin binding proteins by DNase I-affinity chromatography and purification of a 7000 molecular weight component // J. Biochem. 1982. Vol. 92. P. 1853—1862.
- Howard T. H., Meyer W. H. Chemotactic peptide modulation of actin assembly and locomotion in neutrophils // J. Cell Biol. 1984. Vol. 98. P. 1265—1271.
- Högberg J., Kristoferson A. A correlation between glutathione levels and cellular damage in isolated hepatocytes // Europ. J. Biochem. 1977. Vol. 74. P. 77—82.
- Huxley H. E. Mechanism of muscular contraction // Science. 1969. Vol. 164. P. 1356—1366.
- Hwo Sh., Bryan J. Immuno identification of  $Ca^{2+}$ -induced conformational changes in human gelsolin and brevin // J. Cell Biol. 1986. Vol. 102. P. 227—236.
- Imamura K., Kanazano T., Taba M., Tonomura V. The presteady state of the myosin-adenosine triphosphate system // J. Biochem. 1965. Vol. 57. P. 621—632.
- Isenberg G., Aebi U., Pollard T. D. A novel actin binding protein from Acanthamoeba which regulates actin filaments polymerization and interactions // Nature. 1980. Vol. 288. P. 455.
- Isenberg G., Ohnheiser R., Marura H. «Cap 90» a 90-Kda Ca-dependent F-actin capping protein from vertebrate brain // FEBS Lett. 1983. Vol. 163. P. 255—259.
- Ishiura M., Okada Y. The role of actin in temperature-dependent gel-sol transformation of extracts of Ehrlich ascites tumor cells // J. Cell Biol. 1979. Vol. 80. P. 465—480.
- Jacobs E. E., Jacobs M., Sanady D. R., Bradley L. B. Uncoupling of oxidative phosphorylation by cadmium ion // J. Biol. Chem. 1957. Vol. 233. P. 147—156.
- Jacobson G. R., Rosenbuch J. P. ATP-binding to a protease-resistant core of actin // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1976. Vol. 73, P. 2742—2746.
- Jeffrey S. W., Smith M. J. H. Some effects of salicylate on mitochondria from rat liver // Biochem. J. 1959. Vol. 72. P. 464—465.
- Jenkins R. R., Friedland R., Howald H. The relationship of oxygen uptake to superoxide dismutase and catalase activity in human skeletal muscle // Intern. J. Sports Med. 1984. Vol. 5. P. 11—14.
- Jezyk P. F., Liberti J. P. Metabolic activities of mechanically and enzymatically prepared rat liver cells // Arch. Biochem. Biophys. 1969. Vol. 134. P. 442—449.
- Jockusch B. M., Veldman H., Griffith G. W., Van Oost B. A., Jennekens F. M. Immunofluorescence microscopy of a myopathy:  $\alpha$ -actinin is a major constituent of nemaline rods // Exp. Cell Res. 1980. Vol. 127. P. 409—420.
- Johnson P., Perry S. V. Biological activity and the 3-methylhistidine content of actin and myosin // Biochem. J. 1970. Vol. 119. P. 293—300.
- Johnson P., Wester P. J., Hikida R. Protein-protein interactions of proteolytic fragments of actin // Biochim. biophys. acta. 1979. Vol. 578. P. 251—253.
- Johnston D. H., Oppermann J. J., Levinson W. Induction of four proteins in chick embryo cell by sodium arsenite // J. Biol. Chem. 1980. Vol. 255. P. 6971—6980.
- Judaha J. D., Williams-Ashman H. G. Some inhibitors of aerobic phosphorylation // Biochem. J. 1949. Vol. 44. P. 40.
- Kagaku D. Cell fixation. Tokyo, 1982. 694 p.
- Kaiser D. A., Sato M., Ebert R. F., Pollard T. D. Purification and characterization of the two isoforms of Acanthamoeba profilin // J. Cell Biol. 1986. Vol. 102. P. 221—226.
- Kalant H., Young F. G. Metabolic behavior of isolated liver and kidney cells // Nature. 1957. Vol. 179. P. 816—817.

- Kane R. E.* Preparation and purification of polymerized actin from sea urchin egg extracts // *J. Cell Biol.* 1975. Vol. 66. P. 305—315.
- Kane R. E.* Actin polymerization and interaction with other proteins in temperature-induced gelation of sea urchin egg extracts // *J. Cell Biol.* 1976. Vol. 71. P. 704—714.
- Kane R. E.* Interconversion of structural and contractile actin gels by insertion of myosin during assembly // *J. Cell Biol.* 1983. Vol. 97. P. 1745—1752.
- Kang M. S., Rhee J. M., Levitt S. H., Song C. W.* Cytocidal effect of hyperthermia on tumor cells in vivo // *Nat. Cancer Inst. Monogr.* 1982. Vol. 61. P. 157—159.
- Kapoor M.* A study of the heat-shock response in *Neurospora crassa* // *Intern. J. Biochem.* 1983. Vol. 15. P. 636—649.
- Karlik C. C., Mahaffey J. W., Contu M. D., Fyrberg E. A.* Organization of contractile protein genes within the 88 F subdivision of the *D. melanogaster* third chromosome // *Cell.* 1984. Vol. 37. P. 469—481.
- Karlsson R., Lassing I., Höglund A. S., Lindberg U.* The organization of microfilaments in spreading platelets: a comparison with fibroblasts and glial cells // *J. Cell. Physiol.* 1984. Vol. 121. P. 96—113.
- Kasai M., Asakura S., Oosawa F.* The cooperative nature of G-F-transformation of actin // *Biochim. biophys. acta.* 1962a. Vol. 57. P. 22—31.
- Kasai M., Asakura S., Oosawa W.* The C-F-equilibrium in actin solutions under various conditions // *Biochim. biophys. acta.* 1962b. Vol. 57. P. 13—21.
- Kasi K., Hahn G. M.* Differential heat response of normal and transformed human cells in tissue culture // *Nature.* 1975. Vol. 255. P. 228—230.
- Kazuya O., Noriko Sh., Takashi O.* Quantitative changes in monomer and polymer actins during development of normal and dystrophic chicken skeletal muscle // *Muscular dystrophy, biomedical aspects.* Tokyo; Berlin, 1983. P. 79—88.
- Kelley P. M., Schlesinger M. J.* The effect of amino acid analogues and heat shock on gene expression in chicken embryo fibroblasts // *Cell.* 1978. Vol. 15. P. 1277—1286.
- Kelley P., Schlesinger M.* Antibodies to two major chicken heat shock proteins cross-react with similar protein in widely divergent species // *Mol. Cell. Biol.* 1982. Vol. 2. P. 267—279.
- Kelley P. M., Aliperti G., Schlesinger M. J.* In vitro synthesis of heatshock proteins by mRNAs from chicken embryo fibroblasts // *J. Biol. Chem.* 1980. Vol. 255. P. 3230—3233.
- Ketola-Pirie C. A., Atkinson B. G.* Cold- and heat-shock induction of new gene expression in cultured amphibian cells // *Canad. J. Biochem. Cell Biol.* 1983. Vol. 61. P. 462—471.
- Key J. L., Lin C. Y., Chen Y. M.* Heat shock proteins of higher plants // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1981. Vol. 78. P. 3526—3530.
- Kilnhoffer M. C., Mely I., Gerard D.* The effect of plasma gelsolin on actin filaments  $Ca^{2+}$ -dependency of the capping and severing activities // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1985. Vol. 113. P. 1132—1138.
- Kim J. H., Hahn E. W.* Clinical and biological studies of localized hyperthermia // *Cancer Res.* 1979. Vol. 39. P. 2258—2262.
- King C. J., Holtrop M. E.* Actin-like filaments in bone cells of cultured mouse calvaria as demonstrated by binding to heavy meromyosin // *J. Cell Biol.* 1975. Vol. 66. P. 445—450.
- King D., Paulson M., Pockett B., Krebs A.* The study of cellular injury // *Amer. J. Pathol.* 1959. Vol. 35. P. 1067—1076.
- Kirschner M. W.* Implications of treadmilling for the stability and polarity of actin and tubulin polymers in vivo // *J. Cell. Biol.* 1980. Vol. 86. P. 330—334.
- Kiyono K., Sugiyama S., Amano S.* Die Lehre von der Vitalfärbung. Kyoto, 1938. 234 p.
- Klee C. B., Vanaman T. C.* Calmodulin // *Adv. Protein Chem.* 1982. Vol. 35. P. 213—321.
- Koenig H.* Vitalstaining of lysosomes by acridine orange // *J. Cell Biol.* 1963. Vol. 19. P. 87A.
- Kondo H., Ishiwata S.* Unidirectional growth of F-actin // *J. Biochem.* 1976. Vol. 79. P. 159—171.
- Kono Y., Fridovich I.* Superoxide radical inhibits catalase // *J. Biol. Chem.* 1982. Vol. 257. P. 5751—5754.

- Korn E. D.* Biochemistry of actomyosin-dependent cell motility (a review) // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1978. Vol. 75. P. 588—599.
- Korn E. D.* Actin polymerization and its regulation by proteins from nonmuscle cells // *Physiol. Revs.* 1982. Vol. 62. P. 672—737.
- Kothary R. K., Candido P. M.* Induction of a novel set of polypeptides by heat shock or sodium arsenite in cultured cells of rainbow trout *Salmo gairdnerii* // *Canad. J. Biochem.* 1982. Vol. 60. P. 347—355.
- Krebs H. A.* Inhibition of carbonic anhydrase by sulfonamids // *Biochem. J.* 1948. Vol. 43. P. 525—528.
- Krebs H. A., Connell N. W., Lund P. et al.* Isolated liver cells in experimental material // *Regulation of hepatic metabolism.* New York, 1974. P. 724—750.
- Kunitz M.* Crystalline desoxyribonuclease I. Isolation and general properties. Spectrophotometric method for the measurement of desoxyribonuclease activity // *J. Gen. Physiol.* 1950. Vol. 39. P. 349—362.
- Kuriaki K., Baba N.* Effects de la vasopressine et de la serotonine sur l'ATP-ase et la phosphorylation oxidative dans le rein de rat // *C. r. Soc. biol.* 1959. T. 153. P. 1638.
- Kuroda M., Maruyama K.*  $\alpha$ -Actinin — a new regulatory protein from rabbit skeletal muscle. I. Purification and characterization // *J. Biochem.* 1976. Vol. 80. P. 315—321.
- Kurth M. C., Wang L. L., Dingus J., Bryan J.* Purification and characterization of a gelsolin-actin complex from human platelets. Evidence for Ca-insensitive functions // *J. Biol. Chem.* 1983. Vol. 258. P. 10 895—10 903.
- Kuter M. R., Masters C. J., Walsh T. P., Winzor D. J.* Effect of ionic strength on the interaction between aldolase and actin-containing filaments // *Arch. Biochem. Biophys.* 1981. Vol. 212. P. 306—310.
- Kuter M. R., Masters C. J., Winzor D. J.* Equilibrium partition studies of the interaction between aldolase and myofibrils // *Arch. Biochem. Biophys.* 1983. Vol. 225. P. 384—389.
- Kühne W.* Untersuchungen über das Protoplasma und die Contractilität. Leipzig, 1864. 158 S.
- Labrecque D. R., Howard R. B.* The preparation and characterization of intact isolated parenchymal cells from rat liver // *Meth. Cell Biol.* 1975. Vol. 11. P. 327—340.
- Laki K., Murzbek L.* On the interaction of F-actin with fibrin // *Biochim. biophys. acta.* 1974. Vol. 371. P. 519—527.
- Landry J., Chretien P.* Relationship between hyperthermia-induced heat shock proteins and thermotolerance in Morris hepatoma cells // *Canad. J. Biochem.* 1983. Vol. 61. P. 428—437.
- Lanks K. W.* Modulators of the eukaryotic heat shock response // *Exp. Cell Res.* 1986. Vol. 165. P. 1—10.
- Lardy H. A.* Energetic coupling and regulation of metabolic rates // *Congr. intern. biochem.* Brussels, 1955. P. 287—293.
- Lazarides E.* Actin,  $\alpha$ -actinin and tropomyosin interaction in the structural organization of actin filaments in nonmuscle cell // *J. Cell Biol.* 1976. Vol. 68. P. 202—219.
- Lazarides E.* Intermediate filaments as mechanical integrators of cellular space // *Nature.* 1980. Vol. 283. P. 249—256.
- Lazarides E., Burrige K.*  $\alpha$ -Actinin immunofluorescent localization of a muscle structural protein in non-muscle cells // *Cell.* 1975. Vol. 6. P. 289—298.
- Lazarides E., Lindberg U.* Actin is the natural occurring inhibitor of deoxyribonuclease I // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1974. Vol. 71. P. 4742—4746.
- Leavitt J. G., Bucher T., Kakunaga T., Hamada H., Hiraakawa T., Goldman D., Merril C.* Variations in the expression of mutant  $\beta$ -actin accompanying incremental increases in human fibroblasts tumor genicity // *Cell.* 1982. Vol. 28. P. 259—268.
- Lehrer S. S., Elzinga M.* Fluorescence studies on  $\text{NO}_2$ -actin // *Fed. Proc.* 1972. Vol. 31. P. 502.
- Lehrer S. S., Kerwar G.* Intrinsic fluorescence of actin // *Biochemistry.* 1972. Vol. 22. P. 1211—1217.
- Lenergan T. A.* Regulation of cell shape in *Euglena gracilis*. 4. Localization of actin myosin and calmodulin // *J. Cell Sci.* 1985. Vol. 77. P. 197—208.

- Lengsfeld A. M., Low I., Wieland T., Dancher P., Hasselbach W.* Interaction of phalloidin with actin // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 1974. Vol. 71. P. 2803—2807.
- Leon H. A., Cook S. F., Hannon J. P.* Adenosinetriphosphatase activity of rat liver mitochondria following in situ anoxia // *Exp. Cell Res.* 1958. Vol. 14. P. 231—235.
- Lepeschkin W. W.* Kolloidchemie des Protoplasmas. Berlin, 1924. 228 S.
- Lepeschkin W. W.* Mechanische Koagulation der lebenden Materie und Analogie zwischen Grundstoffen derselben und Explosivstoffen // *Arch. exp. Zellforsch.* 1927. Bd 4. S. 212—219.
- Lepeschkin W. W.* Zell-nekrobiose und Protoplasma-Tod. Berlin, 1937. 198 S. (Protoplasma Monographien; Bd 12).
- Levine J., Willard M.* Fodrin: anomalously transported polypeptides associated with the internal periphery of many cells // *J. Cell Biol.* 1981. Vol. 90. P. 630—643.
- Levinson W., Oppermann H., Jackson J.* Transition series metals and sulfhydryl reagents induce the synthesis of four proteins in eukaryotic cells // *Biochim. biophys. acta.* 1980. Vol. 606. P. 170—180.
- Levitt J.* Responses of plants to environmental stress. London, 1980. Vol. 1. 497 p.
- Lewis M., Helensing P. J., Ashburner M.* Parallel changes in puffing activity and patterns of protein synthesis in salivary glands of *Drosophila* // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 1975. Vol. 72. P. 3604—3608.
- Li G. C., Hahn G. M.* Ethanol-induced tolerance to heat and to adriamycin // *Nature*. 1978. Vol. 274. P. 699—701.
- Li G. C., Werb L.* Correlation between synthesis of heat shock proteins and development of thermotolerance in Chinese hamster fibroblasts // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 1982. Vol. 79. P. 3218—3222.
- Li G. C., Shriivi D. C., Werb Z.* Correlations between synthesis of heat shock proteins and development of tolerance to heat and to adriamycin in Chinese hamster fibroblasts: heat shock and other induces // *Radiat. Res.* 1980. Vol. 82. P. 257—268.
- Li G. C., Peterson N. S., Mitchell H. K.* Induced thermal tolerance and heat shock protein synthesis in Chinese hamster ovary cells // *Intern. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1982. Vol. 8. P. 63—67.
- Lillie R. D.* Conn's biological stains. 9th. ed Baltimore, 1977. 498 p.
- Lind S. E., Yin H. L., Stossel T. P.* Human platelets contain gelsolin // *J. Clin. Invest.* 1982. Vol. 69. P. 1384—1387.
- Lindberg M. U.* Purification of an inhibitor of pancreatic deoxyribonuclease from calf spleen // *Biochim. biophys. acta.* 1964. Vol. 82. P. 237—240.
- Lindberg M. U., Skoog L.* Purification from calf thymus of an inhibitor of deoxyribonuclease I // *Europ. J. Biochem.* 1970. Vol. 13. P. 326—332.
- Lindberg U., Höglund A. S., Karlsson R.* On the ultrastructural organization of the microfilament system and the possible role of profilin // *Biochimie.* 1981. Vol. 63. P. 307—323.
- Linder E., Lehto V. P., Stenman S.* Activation of complement by cytoskeletal intermediate filaments // *Nature*. 1979. Vol. 278. P. 176—178.
- Lindquist S.* Regulation of protein synthesis during heat shock // *Nature*. 1981. Vol. 293. P. 311—314.
- Loewy A. G.* An actomyosin-like substance from the plasmodium of a myxomycete // *Cell Comp. Physiol.* 1952. Vol. 40. P. 127—156.
- Loomis W. F., Lippman F.* Inhibition of phosphorylation by azide in kidney homogenate // *J. Biol. Chem.* 1949. Vol. 179. P. 503—506.
- Loomis W. F., Wheeler S. A.* Heat shock proteins and thermal resistance in response of *Dictyostelium* // *Develop. Biol.* 1980. Vol. 79. P. 399—408.
- Loomis W. F., Wheeler S. A.* Chromatin-associated heat shock in *Dictyostelium* // *Develop. Biol.* 1982. Vol. 90. P. 412—418.
- Low R. B., Chaponnier C., Gabbiani G.* Organization of actin in epithelial cells during regenerative and neoplastic conditions: correlation of morphological immunofluorescent and biochemical findings // *Lab. Invest.* 1981. Vol. 44. P. 359—367.
- Lu R. C., Elzinga M.* Comparison of amino acid sequences of actins from bovine brain and muscle // *Cell motility* / Eds R. Goldman, T. D. Pollard, J. Rosenbaum. New York, 1976. P. 487—492.

- Lubit B., Schwartz H.* An antiactin antibody that distinguishes between cytoplasmic and skeletal muscle actins // *J. Cell Biol.* 1980. Vol. 86. P. 891—897.
- Lusty C. J., Fasold H.* Characterization of sulfhydryl groups of actin // *Biochemistry.* 1969. Vol. 8. P. 2933—2939.
- Lux S. E.* Spectrin-actin membrane skeleton of normal and abnormal red blood cells // *Semin. Hematol.* 1979. Vol. 16. P. 21—51.
- Lux S. E., Wolje L. C.* Inherited disorders of the red cell membrane skeleton // *Pediat Clin. North. Amer.* 1980. Vol. 27. P. 463—486.
- Mabuchi I.* An actin-depolymerizing protein (depactin) from star fish oocytes: properties and interactions with actin // *J. Cell Biol.* 1983. Vol. 97. P. 1612—1621.
- Maekawa S., Endo S., Sakai H.* Purification and partial characterization of a new protein in porcine brain which bundles actin filaments // *J. Biochem.* 1983. Vol. 94. P. 1329—1337.
- Maekawa Sh., Nishida E., Ohta Y., Sakai H.* Isolation of low molecular weight actin-binding proteins from porcine brain // *J. Biochem.* 1984. Vol. 95. P. 377—385.
- Mair W. P., Tome F. S.* Atlas of the ultrastructure of diseased human muscle. Edinburg, 1972. 117 p.
- Majno G.* Interaction between dead cells and living tissues // *Cellular injury.* London, 1964. P. 87—105.
- Malech H. L., Lentz T. L.* Microfilaments in epidermal cancer cells // *J. Cell Biol.* 1974. Vol. 60. P. 473—482.
- Manceal P., Burrige B.* Actin-membrane interaction in fibroblasts: what proteins are involved in this association // *J. Cell Biol.* 1984. Vol. 99. Suppl. 2. P. 95—103.
- Marchesi V. T.* The red cell membrane skeleton: recent progress // *Blood.* 1983. Vol. 61. P. 1—11.
- Mariano R., Gonzalez B., Lewis W.* Cardiac actin interactions with doxorubicin in vitro // *Exp. Mol. Pathol.* 1986. Vol. 44. P. 7—13.
- Marmor J. B., Hahn N., Hahn G. M.* Tumor cure and cell survival after localized radiofrequency heating // *Cancer Res.* 1977. Vol. 37. P. 879—883.
- Martonose A., Gourea M. A.* Studies on actin. I. The interaction of <sup>14</sup>C-labeled adenine nucleotides with actin // *J. Biol. Chem.* 1960. Vol. 235. P. 1700—1717.
- Marula H., Korn E. D.* Purification from *Acanthamoeba castellanii* of proteins that induce gelation and syneresis of F-actin // *J. Biol. Chem.* 1977. Vol. 252. P. 399—406.
- Marula H. I., Isenberg G., Schrechenbach T., Hallman R., Risse G., Shibayama T., Hesse J.* Ca-dependent actin-binding phosphoprotein in *Physarum polycephalum*. 1. Ca/actin-dependent inhibition of its phosphorylation // *J. Biol. Chem.* 1983. Vol. 258. P. 10 144—10 150.
- Maruyama K.* A new protein factor hindering network formation of F-actin in solution // *Biochim. biophys. acta.* 1965. Vol. 94. P. 208—215.
- Maruyama K.* Effect of  $\alpha$ -actinin on the particle length of F-actin // *Biochim. biophys. acta.* 1966. Vol. 126. P. 389—395.
- Maruyama K.* Sonic vibration induces the nucleation of actin in the absence of magnesium ions and cytochalasins inhibit the elongation of the nuclei // *J. Biol. Chem.* 1981. Vol. 256. P. 1060—1062.
- Maruyama K., Ebashi S.*  $\alpha$ -Actinin — a new structural protein from striated muscle. 2. Action on actin // *J. Biochem.* 1965. Vol. 58. P. 13—20.
- Maruyama K., Sakai H.* Cell beta-actinin, an accelerator of actin polymerization isolated from rat kidney cytosol // *J. Biochem.* 1981. Vol. 89. P. 1337—1340.
- Maruyama K., Tsukagoshi K.* Effect of KCl, MgCl<sub>2</sub> and CaCl<sub>2</sub> concentrations on the monomer-polymer equilibrium of actin in the presence and absence of cytochalasin D // *J. Biochem.* 1984. Vol. 96. P. 605—611.
- Maruyama K., Kunitomo S., Kimura S., Ohashi K.* I-protein, a new regulatory protein from vertebrate skeletal muscle. 3. Function. // *J. Biochem.* 1977. Vol. 81. P. 243—247.
- Maruyama K., Malimoto K., Kijama Y., Sobue K., Kakiuchi Sh.* Calcium-dependent interaction of actin filaments with actin binding protein in the presence of calmodulin and caldesmon // *J. Biochem.* 1985. Vol. 97. P. 1517—1520.
- Masaki T., Endo M., Ebashi S.* Localization of 6S component of  $\alpha$ -actinin at Z-band // *J. Biochem.* 1967. Vol. 62. P. 630—637.

- Masters C. J.* Interactions between soluble enzymes and subcellular structure // *Crit. Revs. Biochem.* 1981. Vol. 11. P. 105—144.
- Masters C. J.* Interactions between glycolytic enzymes and components of the cyto-matrix // *J. Cell Biol.* 1984. Vol. 99. Pt 2. P. 222s—225s.
- Masters C., Holmes R.* Peroxisomes: new aspects of cell physiology and biochemistry // *Physiol. Revs.* 1977. Vol. 57. P. 816—882.
- Matus A., Ackermann M., Pehling G., Byers H. B., Fujiwara H.* High actin concentrations in brain dendritic spines and postsynaptic densities // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1982. Vol. 79. P. 7590—7594.
- McAlister L., Finkelstein D. W.* Heat-shock proteins and thermal resistance of yeast // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1980. Vol. 93. P. 819—824.
- McCormick W., Penman S.* Regulation of protein synthesis in HeLa cells: translation at elevated temperatures // *J. Mol. Biol.* 1969. Vol. 39. P. 315—333.
- McCord M., Fridovich Y.* Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte (hemocuprein) // *J. Biol. Chem.* 1969. Vol. 244. P. 6049—6055.
- McKenzie S. L., Henikoff S., Meselson M.* Localization of RNA from heat induced polysomes at puff sites in *Drosophila melanogaster* // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1975. Vol. 72. P. 1117—1121.
- McLean-Fletcher S., Pollard T. D.* Mechanism of action of cytochalasin B on actin // *Cell.* 1980. Vol. 20. P. 329—342.
- McNicol G., Douglas A.* E-ACA and other inhibitors of fibrinolysis // *Brit. Med. Bull.* 1964. Vol. 20. P. 233—235.
- McNutt N. S.* Ultrastructural comparison of the interface between epithelial and stroma in basal cell carcinoma and control human skin // *Lab. Invest.* 1976. Vol. 35. P. 132—142.
- McRobbie S. J., Newell P. C.* Effects of cytochalasin B on cell movement and chemoattractant-elicited actin changes of *Dictyostelium* // *Exp. Cell Res.* 1985. Vol. 160. P. 275—286.
- Mego J. L.* The ATP-dependent proton pump in lysosome membranes. Still a valid hypothesis // *FEBS Lett.* 1979. Vol. 107. P. 113—116.
- Melhuish A. H., Greenbaum A. L.* Effect of anterior-pituitary growth hormone on oxidative phosphorylation in rat-liver mitochondria // *Biochem. J.* 1961. Vol. 78. P. 392—398.
- Merlino G. T., Water R. O., Chamberlain J. P., Jackson D. A., Gewely R. M., Klunsmith L. J.* Clones of sea urchin actin gene sequences for use in studying the regulation of actin gene transcription // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1980. Vol. 77. P. 765—769.
- Merriam B. V., Clark T. G.* Actin in *Xenopus* oocytes. 2. Intercellular distribution and polymerizability // *J. Cell Biol.* 1978. Vol. 77. P. 439—445.
- Miller M. J., Xuong N. H., Geldushek E. P.* A response of protein synthesis to temperature shift in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1979. Vol. 76. P. 5222—5225.
- Miller R. C., Connor W. G., Heusenkueld R. S., Boone M. L.* Prospects for hyperthermia in human cancer therapy // *Radiology.* 1977. Vol. 123. P. 485—495.
- Minton K. W., Karmin R., Hahn G. M., Minton A. P.* Nonspecific stabilization of stress-susceptible proteins by stress-resistant proteins a model for the biological role of heat shock proteins // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1982. Vol. 79. P. 7107—7111.
- Minura N., Asano S.* Ca-sensitive gelation of actin filaments by a new protein factor // *Nature.* 1979. Vol. 282. P. 44—48.
- Mirault M. E., Goldschmidt-Clermont M., Moran L., Arrigo A. A., Tissiers A.* The effect of heat shock on gene expression in *Drosophila melanogaster* // *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 1977. Vol. 42. P. 819—827.
- Mommerts W. F.* The molecular transformation of actin. 2. The polymerization process // *J. Biol. Chem.* 1952. Vol. 198. P. 459—467.
- Moore P. L., Bank H. L., Brissie M. T., Spicer S. S.* Phagocytosis of bacteria by polymorphonuclear leukocytes: a freeze-fracture scanning electron microscope, and thin-section investigation of membrane structure // *J. Cell Biol.* 1972. Vol. 76. P. 158—174.
- Mooseker M. S., Tilnacy L. G.* Organization of an actin filament membrane complex. Filament polarity and membrane attachment in the microvilli of intestinal epithelial cells // *J. Cell Biol.* 1975. Vol. 67. P. 725—743.



- Mooseker M. S., Bonder E. M., Conuelman K. A., Fishking D. J., Howe C. L., Keller C. S. Brush border cytoskeleton and integration of cellular functions // *J. Cell Biol.* 1984. Vol. 99. Pt 2. P. 104s—112s.
- Morgenstern E., Klaus P., Weber E. Fluorescent und phasenkontrastmikroskopische Beobachtungen an Blutplättchen nach Anfärbung mit Acridinorange und anderen Fluorochromen // *Arzneimittel-Forsch.* 1963. Bd 13. S. 118—125.
- Morton D. J., Weidemann J. F., Clarke F. M., Stephan P., Stewart M. A cytoskeletal role for glycolytic enzymes // *Micron.* 1982. Vol. 13. P. 377.
- Murphy A. J. Circular dichroism of the adenine and 6-mercaptapurine nucleotide complexes of actin // *Biochemistry.* 1971. Vol. 10. P. 3723—3728.
- Mühlrad A., Heggi G., Horonyi M. Studies on the properties of chemically modified actin. 3. Carbethoxylation // *Biochim. biophys. acta.* 1969. Vol. 181. P. 184—190.
- Nakamura K., Takohashi K., Watanabe S. Myosin and actine from *E. coli* K12 C600 // *J. Biochem.* 1978. Vol. 84. P. 1453—1458.
- Nakayasu N., Ueda K. Association of rapidly-labeled RNAs with actin in nuclear matrix from mouse 4517V cells // *Exp. Cell Res.* 1985. Vol. 160. P. 319—330.
- Nash D., Paleg L. G., Wiskich J. T. Effect of proline, betain and some other solutes on the heat stability of mitochondrial enzymes // *Austral. J. Plant Physiol.* 1982. Vol. 9. P. 47—57.
- Needham J. Chemical aspects of morphogenetic fields // *Perspectives in biochemistry.* Cambridge, 1937. P. 66—80.
- Nielsen O. S., Overgaard J. Hyperthermic radio-sensitization of thermotolerant tumour cells in vitro // *Intern. J. Radiat. Biol.* 1979. Vol. 35. P. 171—176.
- Nigg E. A., Cherry R. J. Anchorage of band 3 population at the erythrocyte cytoplasmic membrane surface: protein rotational diffusion measurements // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1980. Vol. 77. P. 4702—4706.
- Nishida E., Kuwaki T., Sakai H. Phosphorylation of microtubule-associated proteins (MAPs) and pH of the medium control interaction between MAPs and actin filaments // *J. Biochem.* 1981. Vol. 90. P. 575—578.
- Nishida E., Ohta Y., Sakai H. The regulation of actin polymerization by the 88 kD protein/actin complex and cytochalasin B // *J. Biochem.* 1983. Vol. 94. P. 1671—1683.
- Nishida E., Maekawa S., Sakai H. Characterization of the action of porcine brain profilin on actin polymerization // *J. Biochem.* 1984a. Vol. 95. P. 399—404.
- Nishida E., Maekawa S., Sakai H. Cofilin — a protein in porcine brain that binds to actin filaments and inhibits their interactions with myosin and tropomyosin // *Biochemistry.* 1984b. Vol. 23. P. 5307—5313.
- Nishida E., Maekawa S., Muneyuki E., Sakai H. Action of a 19 k protein from porcine brain on actin polymerization: new functional class of actin-binding proteins // *J. Biochem.* 1984c. Vol. 95. P. 387—398.
- Nishida E., Muneyuki E., Maekawa S., Ohta V., Sakai H. An actin-depolymerizing protein (destrin) from porcine kidney. Its action on F-actin containing or lacking utropomyosin // *Biochemistry.* 1985. Vol. 24. P. 6624—6630.
- Nishizuka Y. The role of protein kinase C in cell surface signal transduction and tumour promotion // *Nature.* 1984. Vol. 308. P. 693—698.
- Nover L., Scharf K. D. Synthesis, modification and structural binding of heat shock proteins in tomato cell cultures // *Europ. J. Biochem.* 1984. Vol. 139. P. 303—313.
- Nover L., Hellmund D., Neumann D., Sharf K. D., Serfling E. The heat-shock response of eukaryotic cells // *Biol. Zbl.* 1984. Vol. 103. P. 357—435.
- Nunnally M. H., Powell L., Craig S. W. Reconstitution and regulation of actin gel-sol transformation with purified filamin and villin // *J. Biol. Chem.* 1981. Vol. 256. P. 2083—2087.
- Nyström L. E., Lindberg U., Kindrick-Jones J., Jakes R. The amino acid sequence of profilin from calf spleen // *FEBS Lett.* 1979. Vol. 101. P. 161—166.
- Ohtsuki I. Distribution of troponin-components in the thin filament studies by immunoelectron microscopy // *J. Biochem.* 1975. Vol. 77. P. 633—642.
- Oliver J. M., Lalchandani R., Becker E. L. Actin redistribution during concanavalin A cap formation in rabbit neutrophils // *J. Reticuloendothel. Soc.* 1977. Vol. 21. P. 359—364.

- Orci L., Gabbay K. H., Maluisse W. J.* Pancreatic beta-cell wcy: its possible role in insulin secretion // *Science*. 1972. Vol. 175. P. 1128—1129.
- Oriol-Audit Ch.* Polyamine-induced actin polymerization // *Europ. J. Biochem.* 1978. Vol. 87. P. 371—376.
- Oriol-Audit C.* Actin-polyamines interaction: relationship between physicochemical properties and cytokinesis induction // *Biochem. biophys. Res. Commun.* 1982. Vol. 105. P. 1096—1101.
- Oriol-Audit C.* Actin and polyamines: a further approach to the cytokinesis mechanism // *Recent progress in polyamine research* / Eds L. Selmecci, M. E. Brosnan, N. Seiler. Budapest, 1985. P. 151—160.
- Ostlund R. E., Pastan I.* Myosin in cultured fibroblasts // *J. Biol. Chem.* 1974. Vol. 249. P. 3903—3907.
- Otto J. J., Kane R. E., Bryan J.* Formation of filopodia in coelomocytes: localization of fascin, a 58 000 dalton actin cross-linking protein // *Cell*. 1979. Vol. 17. P. 285—293.
- Overgaard K., Overgaard J.* Investigations on the possibility of a thermic tumour therapy. I. Short-wave treatment of a transplanted isologous mouse mammary carcinoma // *Europ. J. Cancer*. 1972. Vol. 8. P. 65—78.
- Owada M. K., Hakura A., Iida K., Yanara I., Sobue K., Kakiuchi Sh.* Occurrence of caldesmon (a calmodulin-binding protein) in cultured cells: comparison of normal and transformed cells // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 1984. Vol. 81. P. 3133—3135.
- Ozaki K., Sugino H., Hasegawa T., Takahachi S., Hatano S.* Isolation and characterization of Physarum profilin // *J. Biochem.* 1983. Vol. 93. P. 295—298.
- Packer L.* Vitamin E. Physical exercise and tissue damage in animals // *Med. Biol.* 1984. Vol. 62. P. 105—109.
- Palevitz B. A., Ash J. F., Hepler P. K.* Actin in green alga, *Nitella* // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 1974. Vol. 71. P. 363—370.
- Palmer E., Saborio J. L.* In vivo and in vitro synthesis of multiple forms of rat brain actin // *J. Biol. Chem.* 1978. Vol. 253. P. 7482—7489.
- Palmer E., Hernandez M., Saborio J. L.* Actin-based gelation of cytoplasmic extracts from brain tissue // *J. Neurochem.* 1984. Vol. 43. P. 994—1002.
- Papageorgiou G. C.* Stabilization of the morphology and the protosynthetic function of isolated intact chloroplasts with glutaraldehyde // *Ztschr. Pflanzenphysiol.* 1982. Bd 105. S. 201—210.
- Pardee J. D., Spudich J. A.* Mechanism of K<sup>+</sup>-induced actin polymerization // *J. Cell Biol.* 1982. Vol. 93. P. 648—654.
- Passonneau I. V., Lowry O. H.* Phosphofructokinase and the regulation of glycolysis // *Fed. Proc.* 1962a. Vol. 21. P. 87.
- Passonneau I. V., Lowry O. H.* Phosphofructokinase and Paster effect // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1962b. Vol. 7. P. 10—15.
- Pauli W., Matula J.* Untersuchungen über physikalische Zustandsänderungen den Kolloide. I. Ueber Silberproteine // *Biochem. Ztschr.* 1917. Bd 60. S. 187—210.
- Peacock E. E., Van Winkle W.* Surgery and biology of wound repair. Philadelphia, 1970. P. 17—48.
- Penttila A., Glaumann H., Trump B. F.* Studies on the modification of the cellular response to injury. 4. Protective effect of extracellular acidosis against anoxia, thermal and p-chloromercuribenzene sulfonic acid treatment of isolated rat liver cells // *Life Sci.* 1976. Vol. 18. P. 1419—1430.
- Pertman J., Feldman J. F.* Cycloheximide and heat shock induce new polypeptide synthesis in *Neurospora crassa* // *Mol. Cell. Biol.* 1982. Vol. 2. P. 1167—1173.
- Petrini M., Emerson D. L., Galbraith R. M.* Linkage between surface immunoglobulin and cytoskeleton of B lymphocytes may involve Ge protein // *Nature*. 1983. Vol. 36. P. 73—74.
- Petrussi T. C., Thomas C., Brag D.* Isolation of a Ca-dependent actin-fragmenting protein from brain, spinal cord, cultured neurones // *J. Neurochem.* 1980. Vol. 40. P. 1507—1516.
- Phillips D. R., Jennings L. K., Edwards H. H.* Identification of membrane proteins mediating the interaction of human platelets // *J. Cell Biol.* 1980. Vol. 86. P. 77—86.

- Pollack R., Rifkin D.* Actin-containing cables within anchorage-dependent rat embryo cells are dissociated by plasmin and trypsin // *Cell*. 1975. Vol. 6. P. 495—506.
- Pollack R., Osborn M., Weber K.* Patterns of organization of actin and myosin in normal and transformed cultured cells // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 1975. Vol. 72. P. 994—998.
- Pollard T. D.* The role of actin in the temperature-dependent gelation and contraction of extracts of *Acanthamoeba* // *J. Cell Biol.* 1976a. Vol. 68. P. 579—601.
- Pollard T. D.* Cytokeletal functions of cytoplasmic contractile proteins // *J. Supramol. Struct.* 1976b. Vol. 5. P. 317—334.
- Pollard T. D.* Cytoplasmic contractile proteins // *International cell biology*. New York, 1977. P. 378—387.
- Pollard T. D.* Functional implications of the biochemical and structural properties of cytoplasmic contractile proteins // *Molecules and cell movement*. Raven; New York. 1980. P. 258—286.
- Pollard T. D.* Purification of a calcium sensitive actin gelation protein from *Acanthamoeba* // *J. Biol. Chem.* 1981a. Vol. 256. P. 7666—7670.
- Pollard T. D.* Cytoplasmic contractile proteins // *J. Cell Biol.* 1981b. Vol. 91. P. 1565—1653.
- Pollard T. D.* Assembly and dynamics of the actin filament system in nonmuscle cells // *J. Cell Biochem.* 1986. Vol. 31. P. 87—95.
- Pollard T. D., Ito S.* Cytoplasmic filaments of *Amoeba* proteins. The role of filaments in consistency changes and movement // *J. Cell Biol.* 1970. Vol. 46. P. 267.
- Pollard T. D., Korn E. D.* Electron microscopic identification of actin associated with isolated plasma membranes // *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 1973. Vol. 37. P. 573.
- Pollard T. D., Mooseker M. S.* Direct measurement of actin polymerization rate constants by electron microscopy of actin filaments nucleated by isolated microvillus cores // *J. Cell Biol.* 1981. Vol. 88. P. 654—659.
- Pollard T. D., Thomas S. M.* Actin in the human platelets // *Anal. Biol.* 1974. Vol. 60. P. 258—261.
- Pollard T. D., Weihing R. R.* Actin and myosin and cell movement // *CRC Crit. Rev. Biochem.* 1974. Vol. 2. P. 1—65.
- Pollard T. D., Aebi U., Cooper J. A., Fowler W. E., Tseng P.* Actin structure polymerization and gelation // *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 1982. Vol. 66. P. 513—525.
- Pollard T. D., Selden S. Ch., Maupin P.* Interaction of actin filaments with microtubules // *J. Cell Biol.* 1984. Vol. 99. Suppl. 2. P. 33s—37s.
- Porte A., Stoeckel M. E., Sacrez A., Balzenschlager A.* Unusual familial cardiomyopathy with storage of intermediate filaments in the cardiac muscular cells // *Virchows Arch. A*. 1980. Vol. 386. P. 43—58.
- Porter K. R.* The cytomatrix: a short history of its study // *J. Cell Biol.* 1984. Vol. 99. Suppl. 2. P. 3s—12s.
- Potter J. D.* The content of troponin, tropomyosin, actin and myosin in rabbit skeletal myofibrils // *Arch. Biochem. Biophys.* 1976. Vol. 162. P. 436—441.
- Pressman B. C., Lardy H. A.* Effect of surface active agents on the latent ATPase of mitochondria // *Biochim. biophys. acta*. 1956. Vol. 21. P. 458—466.
- Prochniewicz E., Yanagida T.* Comparison of intermonomer interactions within polymers of chicken gizzard and skeletal muscle actins // *J. Biochem.* 1981. Vol. 89. P. 1215—1221.
- Quintanilha A. T., Packer L.* Vitamin E, physical exercise and tissue oxidative damage // *Biology of vitamine E: Proc. Ciba found. symp.* London, 1983. p. 194—201.
- Ralston G. B.* Physico-chemical studies of spectrin // *J. Supramol. Struct.* 1978. Vol. 8. P. 361—373.
- Ramos K., Acosta D.* Accumulation of <sup>45</sup>Ca as an index of cell injury and cytotoxicity in cultured cells // *J. Tissue Cult. Methods*. 1985. Vol. 9. P. 3—6.
- Rapoport S. I., Bidinger J. M.* Effect of stretch on contractility and ionic contents of the sartorius muscle of *Rana pipiens* // *Amer. J. Physiol.* 1974. Vol. 226. P. 452—457.
- Rechnagel R. O., Lombardy B.* Studies of biochemical changes in subcellular particles of rat liver and their relationship to a new hypothesis regarding the pathogenesis

- of carbon tetrachloride fat accumulation // *J. Biol. Chem.* 1961. Vol. 236. P. 564—567.
- Reiter T., Penman S.* «Prompt» heat shock proteins: translationally regulated synthesis of new proteins associated with the nuclear matrix — intermediate filaments as an early response to heat shock // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1983. Vol. 80. P. 4737—4741.
- Rice R. W., Roslansky P. F., Pascoe N., Houghton S. M.* Bridges between microtubules and neurofilaments visualized by stereoelectron microscopy // *J. Ultrastruct. Res.* 1980. Vol. 71. P. 303—310.
- Rich S. A., Estes J. E.* Detection of conformational changes in actin by proteolytic digestion: evidence for a new monomeric species // *J. Mol. Biol.* 1976. Vol. 104. P. 777—792.
- Richter D., Dawson R.* The ammonia and glutamine content of the brain // *J. Biol. Chem.* 1948. Vol. 176. P. 1199—1210.
- Ries E.* Untersuchungen über den Zelltod. Die Veränderungen der Färbbarkeit beim Absterben der Zellen mit besonderer Berücksichtigung der vitalen und Postvitalen Kernfärbung // *Ztschr. Zellforsch. mikrosk. Anat.* 1937. Bd 26. S. 507—519.
- Rigo A., Stevanto R., Finazzi-Argo A.* An attempt to evaluate the rate of Haber-Weiss reaction by using on radical scavengers // *FEBS Lett.* 1977. Vol. 80. P. 130—132.
- Ritossa F.* A new puffing pattern induced by heat shock and DNP in *Drosophila* // *Experientia.* 1962. Vol. 18. P. 571—573.
- Robbins E., Marcus P. J., Gonatos N. K.* Dynamic of acridine orange cell interaction. 2. Dye-induced intrastructural changes in multivesicular bodies (acridine orange particles) // *J. Cell Biol.* 1964. Vol. 21. P. 49—62.
- Robbins S. L., Contran R. S.* Pathologic basis of disease. 2th ed. Philadelphia, 1979. 601 p.
- Robson R. M., Goll D. E., Arakova N.* Purification and properties of  $\alpha$ -actinin from rabbit skeletal muscle // *Biochim. biophys. acta.* 1970. Vol. 200. P. 269—318.
- Roccheri M. C., di Bernarde M. G., Gindice G.* Synthesis of heat-shock proteins in developing sea urchins // *Develop. Biol.* 1981. Vol. 83. P. 173—177.
- Roch A. M., Quash G., Ripoll H., Mardon M.* Differences in polyamine availability and inversion into fibronectins released from normal and transformed cells // *Biochem. J.* 1983. Vol. 210. P. 137—144.
- Rodbell I. N.* Adenylate cyclase system of the cell // *Nature.* 1980. Vol. 284. P. 17—22.
- Roisen F., Inczedy-Marcsek M., Hsu L., Vorke W.* Myosin immunofluorescent in neuronal and glial cultures // *Science.* 1978. Vol. 199. P. 1445—1448.
- Rosenberg S., Stratcher A., Burr ridge K.* Isolation and characterization of calcium sensitive alpha-actinin like protein from human platelets cytoskeletons // *J. Biol. Chem.* 1981a. Vol. 256. P. 12986—12991.
- Rosenberg S., Stracher A., Lucas I.* Isolation and characterization of an  $\alpha$ -actinin-like protein from human platelet cytoskeleton // *J. Cell Biol.* 1981b. Vol. 91. P. 201—211.
- Roti-Roti J. L.* Heat induced cell death and radiosensitization: molecular mechanisms // *Nat. Cancer Inst. Monogr.* 1982. Vol. 61. P. 3—10.
- Rouayrenc J. F., Travers F.* The first step in the polymerization of actin // *Europ. J. Biochem.* 1981. Vol. 116. P. 73—77.
- Rouayrenc J. F., Falloum A., Cagrion J., Auderard E., Kassab R.* Muscle gelsolin: isolation from heart tissue and characterization as an integral myofibrillar protein // *FEBS Lett.* 1984. Vol. 167. P. 52.
- Rowley D. A., Halliwell B.* Formation of hydroxyl radicals from hydrogen peroxide and iron salts by superoxide and ascorbate dependent mechanisms: relevance to the pathology of rheumatoid disease // *Clin. Sci.* 1983. Vol. 64. P. 649—653.
- Rubin R. W., Goldstein L.* Differences between nucleus and cytoplasm in the degree of actin polymerization // *J. Cell Biol.* 1978. Vol. 77. P. 698—701.
- Rubinstein P., Spudich J. A.* Actin microheterogeneity in chick embryo fibroblasts // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1977. Vol. 74. P. 120—123.
- Rungger-Brandle E., Gabbiani G.* The role of cytoskeletal and cytocontractile elements in pathologic processes // *Amer. J. Pathol.* 1983. Vol. 110. P. 361—392.
- Russnak R. H., Jones D., Candido E. P.* Cloning and analysis of cDNA sequences coding for two 16-kilodalton heat shock proteins (hsp<sub>90</sub>) in *Caenorhabditis elegans*: homology with the small hsp<sub>90</sub> of *Drosophila* // *Nucl. Acids Res.* 1983. Vol. 11. P. 3187—3205.

- Salmony D.* The effect of oestrogens and chemically related compounds on the respiration of yeast and on oxidative phosphorylation // *Biochem. J.* 1956. Vol. 62. P. 611—616.
- Samaha F. J., Thies W. H.* Myosin light chains in Duchene distrophy and paraplegic muscle // *Neurology.* 1979. Vol. 29. P. 122—125.
- Santerre R. F., Rich A.* Actin accumulation in developing chick brain and other tissues // *Develop. Biol.* 1976. Vol. 54. P. 1—12.
- Satir P.* Cytoplasmic matrix: old and new questions // *J. Cell Biol.* 1984. Vol. 99. Suppl. 2. P. 235s—238s.
- Sato S., Yanagida M., Maruyama K., Ohnishi S.* Seeding role of spectrin in polymerization of skeletal muscle actin // *Biochim. biophys. acta.* 1979. Vol. 578. P. 436—444.
- Schenk P.* Microfilaments in human epithelial cancer cells // *Ztschr. Krebsforsch. klin. Onkol.* 1974. Vol. 84. P. 241—256.
- Schlesinger M. J., Geiger B.* Stress-fibrilles in the culture of fibroblasts at the stimulation of different factors // *Exp. Cell Res.* 1981. Vol. 134. P. 273—279.
- Schlesinger M. J., Ashburner M., Tissieres A.* Heat shock: from bacteria to man. Cold Spring Harbor; New York, 1982. 222 p.
- Schliwa M.* Proteins associated with cytoplasmic actin // *Cell.* 1981. Vol. 25. P. 587—590.
- Schliwa M.* Action of cytochalasin D on cytoskeletal networks // *J. Cell Biol.* 1982. Vol. 90. P. 222—235.
- Schliwa M., van Blerkom J., Porter K. B.* Stabilization of the cytoplasmic ground state in detergent-opened cells and a structural and biochemical analysis of its composition // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1981. Vol. 78. P. 4329—4333.
- Schliwa M., Blerkom J., Pryzwansky K. B.* Structural organization of the cytoplasm // *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 1982. Vol. 86. P. 51—61.
- Schloss J. A., Goldman R. D.* Isolation of a high molecular weight actin-binding protein from baby hamster kidney (BHK-21) cells // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1979. Vol. 76. P. 4484—4488.
- Schmid E., Osborn M., Rungger-Brandle E., Gabbiani G., Weber K., Franke W.* Distribution of vimentin and desmin filaments in smooth muscle tissue of mammalian and avian aorta // *Exp. Cell Res.* 1982. Vol. 137. P. 329—340.
- Schneider D. L.* Membranous localization and properties of ATP-ase of rat-liver lysosomes // *J. Membr. Biol.* 1977. Vol. 34. P. 247—261.
- Schneider D. L.* ATP-dependent acidification of intact and disrupted lysosomes // *J. Biol. Chem.* 1981. Vol. 256. P. 3858—3863.
- Schneider D. L.* ATP-dependent acidification on membrane vesicles isolated from purified rat liver lysosomes. Acidification activity requires phosphate // *J. Biol. Chem.* 1983. Vol. 258. P. 1833—1838.
- Schneider F., Flohe L.* Untersuchungen über die Glutathion: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Oxydoreduktase (Glutathion-Peroxydase) // *Hoppe-Seylers Ztschr. physiol. Chem.* 1967. Bd 348. S. 540—552.
- Schollmeyer J. E., Furcht L. T., Goll D. E., Robson R. M., Stromer M. H.* Localization of contractile proteins in smooth muscle cells and normal and transformed fibroblasts // *Cell motility: Cold Spring Harbor Conf., Cell Proliferation.* 1976. Vol. 3. Book A. P. 361—383.
- Schollmeyer J. V., Rao G. R., White J. G.* An actin-binding protein in human platelets. Interaction with alpha-actinin on gelation of actin and the influence of cytochalasin B // *Amer. J. Pathol.* 1978. Vol. 93. P. 433—446.
- Schormüller J.* Ueber die Adsorption von Farbstoffen an Proteine des Fleisches // *Kolloid-Ztschr.* 1937. Bd 80. S. 155—165.
- Schwartz S. M., Gaidusek C. M., Selden S. C., Selden S. C. III.* Vascular wall growth control the role of endothelium // *Arteriosclerosis.* 1981. Vol. 1. P. 107—126.
- Searle A. I., Willson R. L.* Glutathione peroxidase: effect of superoxide hydroxyl and bromine free radicals on enzyme activity // *Intern. J. Radiat. Biol.* 1980. Vol. 37. P. 213—217.
- Sefton B. M., Hunter T.* Vinculin: a cytokeletal target of the transforming protein of Rous sarcoma virus // *Cell.* 1981. Vol. 24. P. 165—174.
- Sefton B., Hunter T., Ball E. H., Singer S. J.* Vinculin: a cytoskeletal target of the transforming protein of Rous sarcoma virus // *Cell.* 1981. Vol. 24. P. 165—174.

- Seglen P. O.* Preparation of isolated rat liver cells // *Meth. Cell Biol.* 1976. Vol. 13. P. 29—84.
- Seldel D. T., van Chak D., Weber H. H.* Actin and its polymerization // *Biochem. biophys. acta.* 1966. Vol. 140. P. 93—108.
- Sekiguchi K., Hakamura S.* Functional domain structure of fibronectin // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1980. Vol. 77. P. 2661—2665.
- Selkoe D. J., Magner A. M., Shelanski M. L.* Pathology and biochemistry of the neurofilaments in experimental and human neurofibrillary degeneration // *Aging.* 1979. Vol. 8. P. 121—139.
- Selmeci L., Brosnan M. E., Seiler N.* Recent progress in polyamine research. Budapest, 1985. 634 p.
- Senda N.* The phagocytosis of leukocytes // *Tohoku J. Exp. Med.* 1962. Vol. 76. P. 119—132.
- Senda N.* The movement of leukocytes // *Contractile systems in nonmuscle tissues.* Amsterdam, 1976. P. 309—321.
- Senda N., Shibata N., Tamura H., Yoshitaki J.* Leukocytic movement and contractile proteins // *Meth. Arch. Exp. Pathol.* 1979. Vol. 9. P. 169—186.
- Senkins R. R., Friedland R., Hawald H.* The relationship of oxygen uptake to superoxide dismutase and catalase activity // *Intern. J. Sports Med.* 1984. Vol. 5. P. 11—14.
- Shah D. M., Hightower R. C., Meagher R. B.* Complete nucleotide sequence of a soybean actin gene // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1982. Vol. 79. P. 1022—1026.
- Sheer U., Hinssen H., Franke W. W., Jockusch B. M.* Microinjection of actin-binding proteins and actin antibodies demonstrates unvolvement of nuclear actin in transcription of lamp brush chromosomes // *Cell.* 1984. Vol. 39. P. 111—122.
- Sheetz M. P., Sawyer D.* Triton sheels of intact erythrocytes // *J. Supramol. Struct.* 1978. Vol. 8. P. 399—412.
- Sheetz M. P., Singer S. J.* On the mechanism of ATP-induced shape changes in human erythrocyte membranes. 1. The role of the spectrin complex // *J. Cell Biol.* 1977. Vol. 73. P. 638—646.
- Sheetz M. P., Painter R. C., Singer S. J.* Relationships of the spectrin complex of human erythrocyte membranes to the actomyosins of muscle cells // *Biochemistry.* 1976. Vol. 15. P. 4486—4492.
- Sherline P., Lee Y. C., Jacobs L. S.* Binding of microtubules to pituitary secretory granules and secretory granule membranes // *J. Cell Biol.* 1977. Vol. 72. P. 380—389.
- Shiu R. P., Pouyssegur J., Pastan I.* Glucose depletion accounts for the induction of two transformation-sensitive membrane proteins in Rous sarcoma virus-transformed chick embryo fibroblasts // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1977. Vol. 74. P. 3840—3844.
- Sickevitz P., Löw H., Ernster L., Lindberg O.* Effect of redox dyes and inhibitors on mitochondrial oxidative phosphorylation,  $P^{32}$  exchange and ATP-ase // *Proc. 32nd meeting Amer. Chem. Soc. New York,* 1957. P. 44.
- Slater E. C.* Mechanism of uncoupling of oxidative phosphorylation by nitrophenols // *Comp. Biochem. Physiol.* 1962. Vol. 4. P. 281—301.
- Slater E., Cleland K.* The effect of calcium on the respiratory and phosphorylative activities of heart muscle sarcosomes // *Biochem. J.* 1953. Vol. 55. P. 566—571.
- Slater A., Cato A. C., Sillar G., Kioussis J., Burdon R. H.* The pattern of protein synthesis induced by heat shock of HeLa cells // *Europ. J. Biochem.* 1981. Vol. 117. P. 341—346.
- Smith J. A., De Luca H. F.* Structural changes in isolated liver mitochondria of rats during essential fatty acid deficiency // *J. Cell Biol.* 1964. Vol. 21. P. 15—26.
- Smith M., Thor H., Orrenius S.* Toxic injure to isolated hepatocytes is not dependent on extracellular calcium // *Science.* 1981. Vol. 213. P. 1257—1259.
- Sobue K. Y., Muramoto Y., Fujjita M., Kakiuchi S.* Purification of calmodulin-binding protein from chicken gizzard that interacts with F-actin // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1981. Vol. 78. P. 5652—5655.
- Sobue K., Morimoto K., Kanda K., Maruyama K., Kakiuchi S.* Reconstitution of  $Ca^{2+}$ -sensitive gelation of actin filaments with filamin, caldesmon and calmodulin // *FEBS Lett.* 1982. Vol. 138. P. 289—292.

- Sodja A., Arking R., Lajar R. S. Actin gene expression during embryo genesis of *Drosophila melanogaster* // *Develop. Biol.* 1982. Vol. 90. P. 363—368.
- Southwick F. S., Hartwig J. H. Acumentin, a protein in macrophages which caps the «pointed» end of actin filaments // *Nature.* 1979. Vol. 297. P. 303—307.
- Southwick F. S., Stossel T. P. Isolation of an inhibitor of actin polymerization from human polymorphonuclear leukocytes // *J. Biol. Chem.* 1981. Vol. 256. P. 3030—3036.
- Southwick F. S., Stossel T. P. Contractile proteins in leukocyte function // *Semin. Hematol.* 1983. Vol. 2. P. 305—321.
- Southwick F. S., Tatsumi N., Stossel T. P. Acumentin, an actin-modulating protein of rabbit pulmonary macrophages // *Biochemistry.* 1982. Vol. 24. P. 6321—6326.
- Spradling A., Pardue M. L., Penman S. Messenger RNA in heat-shocked *Drosophila* cells // *J. Mol. Biol.* 1977. Vol. 109. P. 559—587.
- Spudich J. A. Biochemical and structural studies of actomyosin-like proteins from non-muscle cells // *J. Biol. Chem.* 1974. Vol. 249. P. 6013—6020.
- Spudich J. A., Huxley H. E., Finch J. T. Regulation of skeletal muscle contraction. 2. Structural studies of the interaction of the tropomyosin-troponin complex with actin // *J. Mol. Biol.* 1972. Vol. 72. P. 619—627.
- Steinbach G. B. L. V. Heilbrunn — general physiologist // *Science.* 1960. Vol. 131. P. 397—399.
- Steiner R. F., Laki K., Spicer S. Light scattering studies of some muscle proteins // *J. Polymer. Sci.* 1952. Vol. 8. P. 23—33.
- Stephan P., Morton D. J., Clarke F. M. The role of structural proteins in the organization of glycolytic enzymes // *Proc. Austral. Biochem. Soc.* 1983. Vol. 15. P. 64.
- Stephanou G., Alahiotic S. N., Marmaras V. J. Heat shock response in *Ceratitis capitata* // *Comp. Biochem. Physiol.* 1983. Vol. 74. P. 425—432.
- Storli R. V., Scott M. P., Rich A., Pardue M. L. Translational control of protein synthesis in response to heat shock in *D. melanogaster* cells // *Cell.* 1980. Vol. 22. P. 825—834.
- Stossel T. P. Contribution of actin to the structure of the cytoplasmic matrix // *J. Cell Biol.* 1984. Vol. 99. Pt 2. P. 15s—21s.
- Stossel T. P., Hartwig J. H. Interactions of actin, myosin and a new actin-binding protein of rabbit pulmonary macrophages // *J. Cell Biol.* 1976. Vol. 68. P. 602—619.
- Straub F. B. Actin // *Stud. Inst. Med. Chem. Univ. Szeged.* 1942. Vol. 2. P. 3—15.
- Straub F. B. Actin II // *Stud. Inst. Med. Chem. Univ. Szeged.* 1943. Vol. 3. P. 23—27.
- Straub F. B., Feuer G. Adenosinetriphosphate the functional group of actin // *Biochim. biophys. acta.* 1950. Vol. 4. P. 455—470.
- Streffler Ch. Aspects of biochemical effects by hyperthermia // *Nat. Cancer Inst. Monogr.* 1982. Vol. 61. P. 11—17.
- Strömquist M., Backman L., Shanbhag V. P. The role of polymerization of rabbit skeletal muscle actin is enhanced by polyethylene glycol // *J. Muscle Res. Cell Motility.* 1984. Vol. 5/4. P. 443—455.
- Subjeck J. R., Sciandra J. J., Johnson R. Heat shock proteins and thermotolerance: a comparison of induction kinetics // *Brit J. Radiol.* 1982. Vol. 55. P. 579—584.
- Suck D., Kabsch W., Mannherz H. G. Three dimensional structure of the complex of skeletal muscle actin and bovine pancreatic DNAase I at 6 Å resolution // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1981. Vol. 78. P. 4319—4323.
- Suit H. D., Phil M. D. Hyperthermic effects on animal tissues // *Radiology.* 1977. Vol. 123. P. 483—487.
- Sutoh K. Actin-fragmin interactions as revealed by chemical crosslinking // *Biochemistry.* 1986. Vol. 25. P. 435—440.
- Takeda J. A., Ichihara A., Tanioka H. The biochemistry of animal cells // *J. Biol. Chem.* 1964. Vol. 239. P. 3590—3596.
- Tanford C. The hydrophobic effect: formation of micelles and biological membranes. New York. 1980. 310 p.
- Tapley D. F., Cooper C. The effect of thyroxine and related compounds on oxidative phosphorylation // *J. Biol. Chem.* 1956. Vol. 222. P. 341—345.
- Tatsumi N., Shibata N., Okamura J. Actin and myosin from leucocytes // *Biochim. biophys. acta.* 1973. Vol. 305. P. 433—444.

- Terossian D. S., Fuller D., Stewart M., Weeds A. G.* Porcine platelet tropomyosin. Purification, characterization and paracrystal formation // *J. Mol. Biol.* 1981. Vol. 153. P. 147—167.
- Therien H. M., Gruda J., Carrier F.* Interaction of filamentous actin with isolated liver plasma membranes // *Europ. J. Cell Biol.* 1984. Vol. 35. P. 112—121.
- Thornell L. E., Edström L., Erikson A., Henrikson K. G., Anguist K. A.* The distribution of intermediate filament protein skeleton in normal and diseased human skeletal muscle. An immunohistochemical and electron microscopic study // *J. Neurol. Sci.* 1980. Vol. 47. P. 153—170.
- Thörner W.* Wärmeregung. Wärmelähmung und der Erscheinungcomplex der Gewöhnung bei der letzteren // *Ztschr. allg. Physiol.* 1919. Vol. 18. P. 226—276.
- Tilney L. C., De Rosier D. J.* Elongation of actin filaments in vivo occurs from the end associated with the membrane // *J. Cell Biol.* 1980. Vol. 87. Pt. 2. P. 217.
- Tilney L. C., Tilney M. S.* Observations on how actin filaments become organized in cells // *J. Cell Biol.* 1984. Vol. 99. Suppl. 2. P. 95—103.
- Tilney L. G.* Actin filaments in the acrosomal reaction of *Limulus* sperm: motion generated by alterations in the packing of the filaments // *J. Cell Biol.* 1975. Vol. 64. P. 289—310.
- Tilney L. G.* The polymerization of actin. 2. How nonfilamentous actin becomes nonrandomly distributed in sperm: evidence for the association of this actin with membranes // *J. Cell Biol.* 1976. Vol. 69. P. 51—63.
- Tilney L. G.* Polymerization of actin. 5. A new organelle, the actomere, that initiates the assembly of actin filaments *Thyone* sperm // *J. Cell Biol.* 1978. Vol. 77. P. 536—550.
- Tilney L. G., Detmers P.* Actin in erythrocyte ghosts and its association with spectrin. Evidence for a non-filamentous form of these two molecules in situ // *J. Cell Biol.* 1975. Vol. 66. P. 508—520.
- Tilney L. G., Kallenbach N.* Polymerization of actin. 4. The polarity of the actin filaments in the acrosomal process and how it might be determined // *J. Cell Biol.* 1979. Vol. 81. P. 608—620.
- Tinberg H. M., Regan R. J., Geiger E. A., Peterson G. E., French S. W.* Mallory bodies isolation of hepatocellular hyalin and electrophoretic resolution of polypeptide components // *Lab. Invest.* 1978. Vol. 39. P. 483—490.
- Tissieres A., Mitchell H. K., Tracy U. M.* Protein synthesis in salivary glands of *Drosophila melanogaster*: relation of chromosome puffs // *J. Mol. Biol.* 1974. Vol. 84. P. 389—398.
- Tiwari S. C., Wick S. M., Williamson H. E., Cunning B. S.* Cytokeleton and integration of cellular function in cells of higher Plants // *J. Cell Biol.* 1984. Vol. 99. Suppl. 2. P. 63s—69s.
- Tobacman L., Brenner S. L., Korn E. D.* Effect of *Acanthamoeba* profilin on the pre-steady state kinetics of actin polymerization and on the concentration of actin at steady state // *J. Biol. Chem.* 1983. Vol. 258. P. 8806—8812.
- Tolmasoff J. M., Ono T., Cutler R. G.* Superoxide dismutase: correlation with life-span and specific metabolic rate in primate species // *Proc. Nat. Acad. Sci.* 1981. Vol. 77. P. 2777—2781.
- Tomaselli M. B., John K. M., Lux S. E.* Elliptical erythrocyte membrane skeletons and heat sensitive spectrin in hereditary elliptocytosis // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1981. Vol. 78. P. 1911—1915.
- Tomasovic S. P., Koval T. M.* Relationship between cell survival and heat-stress protein synthesis in a *Drosophila* cell line // *Intern. J. Radiat. Biol.* 1985. Vol. 48. P. 635—650.
- Tomasovic S. R., Steck P. A., Heitzman D.* Heat-stress proteins and thermal resistance in rat mammary tumour cells // *Radiat. Res.* 1983. Vol. 95. P. 399—413.
- Trifaro J. M., Bader M. F., Doucet J. P.* Chromaffin cell cytokeleton: its possible role in secretion // *Canad. J. Biochem. Cell Biol.* 1985. Vol. 63. P. 661—679.
- Trinick J., Offer G.* Cross-linking of actin filaments by heavy meromyosin // *J. Mol. Biol.* 1979. Vol. 133. P. 549—556.
- Trompson C. M., Wolpert L.* Isolation of motile cytoplasm from *Amoeba proteus* // *Exp. Cell Res.* 1963. Vol. 32. P. 156—160.
- Trotter J. A., Kelley R. O.* A novel technique for high resolution analysis of the cytoskeleton // *Anat. Res.* 1979. Vol. 195. P. 7—14.



- Trump B. F., Berezesky I. K. Ion regulation the cytokeleton and cell injury // Ann. N. Y. Acad. Sci. 1984. Vol. 435. P. 506—508.
- Trump B. F., Berezesky I. K., Osornio-Vargas A. R. Cell death and the disease process. The role calcium // Cell death in biology and pathology. London, 1981a. P. 209—242.
- Trump B. F., Berezesky I. K., Phelps P. S. Sodium and calcium regulation and the role of the cytoskeleton in the pathogenesis of disease. A review and hypothesis // Scan. Electron Microsk. 1981b. Vol. 2. P. 435—454.
- Trump B. F., Berezesky I. K., Phelps P. C., Sato T. Deregulation of cytokeleton and  $Ca^{2+}$ -regulation in cell injury // J. Cell Biol. 1983. Vol. 97. P. 277a.
- Tsao Ch., Iga T., Sugiyama Y., Hanano M. Effect of chlorpromazine on isolated rat hepatocytes // Biochem. Pharmacol. 1982. Vol. 31. P. 491—497.
- Tseng P., Pollard T. D. Mechanism of action of Acanthamoeba profilin demonstration of actin species specificity and regulation by micromolar concentration of  $MgCl_2$  // J. Cell Biol. 1982. Vol. 94. P. 312—318.
- Tsukeda H., Maekawa H., Izumi S., Nitta K. Effect of heat shock on protein synthesis by normal and malignant human lung cells in tissue culture // Cancer Res. 1981. Vol. 41. P. 5188—5192.
- Tsukita S., Ishikawa H. Cytokeletal network underlying the human erythrocyte membrane. Thin section electron microscopy // J. Cell Biol. 1980. Vol. 85. P. 567—576.
- Tuler J. M., Hargreaves W. R., Branton D. Purification of two spectrin-binding proteins. Biochemical and electron microscopis evidence for site-specific reassociation between spectrin and bands 2.1. and 4.1 // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1979. Vol. 76. P. 5192—5196.
- Vacquier V. D. Activation of sea urchin spermatozoa during fertilization // Trends Biochem. Sci. (TIBS). 1986. Vol. 11. P. 77—81.
- Valerius N. H., Stendahl O., Hartwig J. H., Stossel T. P. Distribution of actin-binding protein and myosin in polymorphonuclear leukocytes during locomotion and phagocytosis // Cell. 1981. Vol. 24. P. 195—202.
- Vamada K. M., Kennedy D. W. Fibroblast cellular and plasma fibronectins are similar but not identical // J. Cell Biol. 1979. Vol. 80. P. 492—498.
- Vamada K. M., Olden K. Fibronectins: adhesive glycoproteins of cell surface and blood // Nature. 1978. Vol. 275. P. 179—184.
- Van Dam K. The inhibitory effect of uncouplers of oxidative phosphorylation on mitochondrial respiration // Biochim. biophys. acta. 1967. Vol. 131. P. 408—410.
- Vandekerckhove J., Weber K. Actin aminoacid sequences comparison of actins from calf thymus, bovine brain and SV-40 transformed mouse 3T3 cells with rabbit skeletal muscle actin // Europ. J. Biochem. 1978a. Vol. 90. P. 451—462.
- Vandekerckhove J., Weber K. At least six different actins are expressed in a higher mammal: an analysis based on the amino acid sequence of the amino terminal tryptic peptide // J. Mol. Biol. 1978b. Vol. 126. P. 783—802.
- Vassin R., Shefcyk J., White J. R., Tao W., Volpi M., Molski T. F., Naccache P. H., Feinstein M. B., Sha-Afi R. I. Effects of chemitactic factors and other agents on the amounts of actin and a 65 000 molwt protein associated with the cytoskeleton of rabbit and human neutrophils // J. Cell Biol. 1985. Vol. 100. P. 182—188.
- Verworn M. Die Biogenhypothese. Jena, 1903. 153 S.
- Vincent M., Tanguay R. M. Heat shock induced proteins present in the cell nucleus of Chironomus tentans salivary glands // Nature. 1979. Vol. 281. P. 501—503.
- Vollmar H. Über den Einfluß der Temperature auf normales Gewebe und auf Tumorgewebe // Ztschr. Krebsforsch. klin. Onkol. 1941. Bd 51. S. 71—99.
- Vrba R., Folbergrova I. Abbau der Nukleinsäure und Ammoniakbildung in Hirngewebe in vitro and in vivo // 4th Intern. Cong. Biochem. New York. 1959. Vol. 3. P. 131—140.
- Wade R., Jones H. W. Effect of progesterone on mitochondrial adenosine triphosphatase // J. Biol. Chem. 1956. Vol. 220. P. 547—553.
- Waechter F., Engel J. Nucleotide: ATP and ADP in the molecule of actin // Europ. J. Biochem. 1977. Vol. 74. P. 227—232.
- Wakabayashi T., Huxley H. E., Amos L. A., Klug A. Three-dimentional image reconstruction of actin-tropomyosin complex and actin-tropomyosin-troponin complex // J. Mol. Biol. 1973. Vol. 93. P. 477—482.

- Walsh Ch. Appearance of heat shock proteins during the induction of multiple flagella in *Naegleria gruberi* // *J. Biol. Chem.* 1980. Vol. 255. P. 2629—2632.
- Walsh T. P., Clarke F. M., Masters C. J. Modification of the kinetic parameters of aldolase on binding to the actin-containing filaments of muscle // *Biochem. J.* 1977. Vol. 165. P. 165—167.
- Walsh T. P., Winzer D. J., Clarke F. M., Masters C. J., Morton D. J. Binding of aldolase to actin containing filaments // *Biochem. J.* 1980. Vol. 186. P. 89—94.
- Wang C., Gomer R. H., Lazarides E. Heat shock proteins are methylated in avian and mammalian cells // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1981. Vol. 78. P. 3531—3535.
- Wang E., Goldberg E. R. Changes in microfilaments organization and surface topography upon transformation of chick embryo fibroblasts with Rous sarcoma virus // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1976. Vol. 73. P. 4065—4069.
- Wang K., Singer S. J. Interaction of filamin with F-actin in solution // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1977. Vol. 74. P. 2021—2029.
- Wang K., Ash J. F., Singer S. J. Filamin a new high-molecular weight protein found in smooth muscle and nonmuscle cells // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1975. Vol. 72. P. 4483—4487.
- Wang Y. L. Exchange of actin subunits at the leading edge of living fibroblasts: possible role of treadmilling // *J. Cell Biol.* 1985. Vol. 101. P. 597—602.
- Wanger M., Wegner A. Actin and its interaction with nucleotide, ATP // *FEBS Lett.* 1983. Vol. 162. P. 112—116.
- Wanger M., Keiser T., Neuhaus J. M., Wegner A. The actin treadmill // *Canad. J. Biochem. Cell Biol.* 1985. Vol. 63. P. 414—421.
- Weber E., Morgenstern E. Untersuchungen zur Energie Abhängigkeit der Anreicherung von Vitalfarbstoffen and umschriebenen Zellorten // *Arch. Pharmacol. Exp. Pathol.* 1966. Vol. 255. P. 91—102.
- Weeds A. Actin-binding proteins—regulators of cell architecture and motility // *Nature.* 1982. Vol. 296. P. 811—816.
- Wegner A. Head to tail polymerization of actin // *J. Mol. Biol.* 1976. Vol. 108. P. 139—150.
- Weihing R. R. Membrane association and polymerization of actin // *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 1976. Vol. 3. P. 671—684.
- Weihing R. R. The filamins: properties and functions // *Canad. J. Biochem. Cell Biol.* 1985. Vol. 63. P. 397—413.
- Weiss P. The influence of stretch on the length of survival of isolated muscle // *Amer. J. Physiol.* 1933. Vol. 106. P. 156—169.
- Weissmann C. Die Vitalfärbung mit Acridineorange an Amphibien larven // *Ztschr. Zellforsch.* 1953. Bd 38. S. 374—382.
- Weissmann C., Gilgen A. Die Fluorochromierung lebender Ehrlich Ascites Carcinom-Zellen mit Acridinorange und der Einfluss der Glycolyse auf den Verhalten der Zelle // *Ztschr. Zellforsch.* 1956. Bd 44. S. 292—326.
- Westra A., Dewey W. C. Variation in sensitivity to heat shock during the cell cycle of chinese-hamster cells in vitro // *Intern. J. Radiat. Biol.* 1971. Vol. 19. P. 467—477.
- Whalen R. G., Butler-Browne G. S., Gros F. Protein synthesis and actin heterogeneity in calf muscle cells in culture // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1976. Vol. 73. P. 2018—2022.
- Williams D. L., Swenson C. A. Tropomyosin stability, assignment of thermally induced conformational transitions to separate regions of the molecule // *Biochemistry.* 1981. Vol. 20. P. 3856—3864.
- Williams-Ashman H. G., Cannelakis Z. N. Transglutaminase-mediated covalent attachment of polyamines to proteins: mechanism and potential physiological significance // *Physiol. Chem. Phys.* 1980. Vol. 12. P. 457—472.
- Witt D. A., Brown D. J., Gordon J. A. Transformation sensitive isoactin in passaged chick embryo fibroblasts transformation by Rous sarcoma virus // *J. Cell. Biol.* 1983. Vol. 96. P. 1766—1775.
- Wolf M. K., Aronson S. B. Growth, fluorescence and metachromasy of cell cultured in the presence of acridine orange // *J. Histochem. Cytochem.* 1961. Vol. 9. P. 22—29.
- Wolosewich J. J., Porter K. K. Microtrabecular lattice of cytoplasmic ground substance. Artifact or reality // *J. Cell Biol.* 1979. Vol. 82. P. 114—139.

- Woodrum D. I., Rich S. A., Pollard T. D. Evidence for biased unidirectional polymerization of actin filaments, using heavy meromyosin by an improved method // *J. Cell Biol.* 1975. Vol. 67. P. 231—237.
- Wright M., Totton Y. Induction of heat shock proteins at permissive growth temperature in the plasmodium of the myxomycete *Physarum polycephalum* // *Europ. J. Biochem.* 1984. Vol. 127. P. 49—56.
- Wu R., Racker E. Regulatory mechanisms in carbohydrate metabolism // *J. Biol. Chem.* 1959. Vol. 234. P. 1029—1036.
- Yamamoto K., Pardee J. D., Reidle J., Stryer L., Spudich J. A. Mechanism of interaction of Dictyostelium severin with actin filaments // *J. Cell Biol.* 1982. Vol. 95. P. 711—719.
- Yamashiro D. J., Fluss S. R., Maxfield F. R. Acidification of endocytic vesicles by an ATP-dependent proton pump // *J. Cell Biol.* 1983. Vol. 87. P. 929—934.
- Yasagawa N., Sanada Y., Katunuma N. Susceptibilities of various myofibrillar proteins to muscle serine protease // *J. Biochem.* 1978. Vol. 83. P. 1355—1360.
- Yin H. L., Stossel T. P. Control of cytoplasmic actin gel-sol transformation by gelsolin a calcium dependent regulatory protein // *Nature.* 1979. Vol. 282. P. 583—586.
- Yin H. L., Stossel T. P. Structure and function of gelsolin // *Abstr. 2nd Intern. Cong. Cell Biol.* Berlin, 1980. P. 328.
- Yin H. L., Albrecht H., Falloum A. Identification of gelsolin a  $Ca^{2+}$ -dependent regulatory protein of gel-sol transformation and its intracellular distribution in a variety of cells and tissue // *J. Biol. Chem.* 1981a. Vol. 256. P. 9693—9697.
- Yin H. L., Hartwig Y. H., Maruyama K., Stossel T. P.  $Ca^{2+}$ -control of actin filament length. Effect of macrophage gelsolin on actin polymerization // *J. Biol. Chem.* 1981b. Vol. 256. P. 9693—9697.
- Yonezawa N., Nishida E., Sakai N. pH control of actin polymerization by cofilin // *J. Biol. Chem.* 1985. Vol. 260. P. 14410—14412.
- Zetterström R., Ernster L. Bilirubin an uncoupler of oxidative phosphorylation in isolated mitochondria // *Nature.* 1956. Vol. 178. P. 1335—1338.
- Zhang F., Schneider D. L. The bioenergetic of Golgi apparatus function: evidence for ATP-dependent proton pump // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1983. Vol. 114. P. 620—625.
- Zimmerman M., Devlin T. N., Pruss M. P. Anaerobic glycolysis of dispersed cell suspension from normal and malignant tissues // *Nature.* 1960. Vol. 185. P. 315—316.
- Zumbe A., Stähle C., Trachsel H. Association of a Mm 50 000 capping protein with the cytoskeleton in baby hamster kidney cells // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1982. Vol. 79. P. 2927—2931.

## СПИСОК ПРИНЯТЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АДФ	— аденозиндифосфат	ПК	— пальмитиновая кислота
АО	— акридиновый оранжевый	ПМЛ	— полиморфноядерные лейкоциты
АСБ	— актинсвязывающий белок	ПФ	— промежуточные филаменты
АТФ	— аденозинтрифосфат	рРНК	— рибосомальная рибонуклеиновая кислота
АЦ	— аденилатциклаза	СБ	— стрессовые белки
БТШ	— белки теплового шока	т. п. о.	— тысяч пар оснований
цГМФ	— циклический гуанозинмонофосфат	ФКФ	— п-трифторметоксикарбонилцианидфенилгидразон
ГРБ	— глюкозорегулируемые белки	Э-АКК	— эpsilon-аминокапроновая кислота
ДГ	— диацилглицерол	InsP <sub>3</sub>	— инозитолтрифосфат
ДНФ	— динитрофенол	МАР	— microtubules associating proteins (белки, связывающие микротрубочки)
КФ	— креатинфосфат	PTdInsP <sub>3</sub>	— фосфатидинозитолтрифосфат
М. м.	— молекулярная масса		
МТ	— микротрубочки		
МТР	— микротрабекулярная решетка		
МФ	— микрофиламент		
НБДФ	— нитрозобензодиазол фаллоидин		

## О Г Л А В Л Е Н И Е

	Стр.
От авторов . . . . .	3
Предисловие . . . . .	5
<b>Часть первая. Значение исследований неспецифического адаптационного синдрома клеточной системы и их истоки . . . . .</b>	<b>9</b>
Одна из фундаментальных проблем цитологии . . . . .	9
Р. Вирхов . . . . .	13
Об альтерации клетки в «Целлюлярной патологии» . . . . .	17
<b>Часть вторая. Концепции неспецифического адаптационного синдрома клеточной системы . . . . .</b>	<b>20</b>
«Главный инструмент протоплазматической гармонии» . . . . .	20
«Взрывчатое вещество» протоплазмы . . . . .	22
Л. В. Гейльбрунн . . . . .	24
«Повреждение клетки подобно повреждению кровеносного сосуда» . . . . .	27
Тормозящее действие эpsilon-аминокапроновой кислоты на распространение деструкции в мышечном волокне . . . . .	30
Э. С. Бауэр . . . . .	32
Принцип Э. С. Бауэра . . . . .	34
Увеличение устойчивости мышц к повреждающим воздействиям при их растяжении . . . . .	36
Д. Н. Насонов . . . . .	40
Денатурационная теория Д. Н. Насонова и В. Я. Александрова . . . . .	45
Пятьдесят лет спустя . . . . .	58
<b>Часть третья. Симптомы неспецифического адаптационного синдрома клеточной системы . . . . .</b>	<b>69</b>
Коллоидные изменения . . . . .	69
Увеличение сорбции красителей . . . . .	72
Нарушение гранулообразования . . . . .	74
Выход веществ . . . . .	85
Изменение метаболизма при адаптационном синдроме клеточной системы . . . . .	93
Свободные радикалы . . . . .	112
Стрессовые белки . . . . .	118
<b>Часть четвертая. Изменения актиновых компонентов цитоскелета при неспецифическом адаптационном синдроме клеточной системы . . . . .</b>	<b>127</b>
Актин в немышечных клетках . . . . .	127
Актин и его роль в организации цитоскелета . . . . .	133
Полимеризация актина и реакции его с актинсвязывающими белками . . . . .	137
Реакции актина при действии на клетку различных раздражителей . . . . .	156
Полимеризация актина и неспецифический адаптационный синдром клеточной системы . . . . .	165
Роль актина в некоторых патологических процессах . . . . .	172
Заключительные замечания . . . . .	174
Примечания . . . . .	184
Литература . . . . .	191
Список принятых сокращений . . . . .	230

**Александр Давыдович Браун,  
Тамара Павловна Моженок**

**НЕСПЕЦИФИЧЕСКИЙ  
АДАПТАЦИОННЫЙ СИНДРОМ  
КЛЕТОЧНОЙ СИСТЕМЫ**

*Утверждено к печати  
Научным советом по проблемам цитологии  
и Институтом цитологии Академии наук СССР*

Редактор издательства *Л. С. Евстигнеева*  
Художник *В. Г. Смирнов*  
Технический редактор *Р. А. Кондратьева*  
Корректоры *А. З. Лакомская, Г. А. Лебедева*  
и *А. Х. Салтанаева*

ИБ № 33016

Сдано в набор 13.04.87. Подписано к печати 19.11.87.  
М-17327. Формат 60×90<sup>1</sup>/<sub>16</sub>. Бумага офсетная № 1.  
Гарнитура литературная. Печать офсетная. Фотонабор.  
Усл. печ. л. 14.5. Усл. кр.-отт. 14.75. Уч.-изд. л. 18.45.  
Тираж 1600. Тип. зак. 1485. Цена 2 р. 90 к.

Ордена Трудового Красного Знамени  
издательство «Наука». Ленинградское отделение.  
199034, Ленинград, В-34, Менделеевская линия, 1.

Ордена Трудового Красного Знамени  
Первая типография издательства «Наука».  
199034, Ленинград, В-34, 9 линия, 12.



**ИЗДАТЕЛЬСТВО «НАУКА»**  
Ленинградское отделение

