

## О РАБОТАХ ЛАБОРАТОРИИ БИОФИЗИКИ РАЗВИТИЯ КАФЕДРЫ ЭМБРИОЛОГИИ МГУ

© 2017 г. Л. В. Белоусов

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет  
119991 Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12

E-mail: [morphogenesis@yandex.ru](mailto:morphogenesis@yandex.ru)

Поступила в редакцию 29.08.2016 г.

Лаборатория занимается морфомеханикой – изучением самоорганизации механических сил, создающих форму и структуру эмбриональных зачатков. За время существования лаборатории описаны пульсирующие режимы механических напряжений у гидроидных полипов, выявлены и картированы механические натяжения в тканях зародышей амфибий, исследованы морфогенетические перестройки, вызванные релаксацией и реориентацией натяжений. Показана роль механических натяжений в поддержании упорядоченной архитектоники зародыша. Обнаружены механозависимые гены. Описаны микродеформации эмбриональных тканей и связанные с ними градиенты напряжений. Предложена модель гипертонического восстановления механических напряжений как возможной движущей силы морфогенеза.

*Ключевые слова:* морфогенез, механические напряжения, механозависимые гены, модели морфогенеза

DOI: 10.7868/S0475145017010025

Как видно из названия, наша лаборатория занята изучением физических факторов эмбрионального развития. При этом в последние годы весь небольшой коллектив лаборатории (в настоящее время – это 4 научных сотрудника, один аспирант и один студент-магистрант) исследует, из числа этих факторов, только роль механических сил и напряжений в эмбриональных тканях. Если наша группа не называется, например, лабораторией морфомеханики или эмбриомеханики, то только потому, что в недавнем прошлом (примерно от 1992 до 2005 года) мы исследовали еще и сверхслабые оптические излучения развивающихся зародышей. Это направление разрабатывалось в тесном сотрудничестве с германским Международным институтом биофизики и было прекращено в связи с фактической ликвидацией этого института. Современное состояние данной проблемы отражено в обзоре (Volodyaev and Belousov, 2015) и в этой заметке обсуждаться не будет.

Интерес к собственно морфомеханике возник на нашей кафедре в конце 60-х–начале 70-х гг. прошлого века в связи с исследованием морфогенеза гидроидных полипов – организмов с удивительными способностями реально “лепить” весьма точные и изящные формы из пластичного материала только что выделенного перисарка благодаря согласованным усилиям нескольких десятков клеток, расположенных на верхушках зачатков. Эта тематика продолжается и поныне, она отражена в не-

скольких десятках работ (основные из них: Belousov et al., 1989; Лабас и др., 1992; Казакова и др., 1997; Belousov and Grabovsky, 2003; Никишин и др., 2015). Вкратце главные их результаты сводятся к следующему:

– растущие зачатки вегетативных поколений гидрополипов Thecata “лепят” свои формы благодаря периодическим (характерные периоды – несколько минут) ростовым пульсациям (РП) с весьма точными и видоспецифичными амплитудно-временными паттернами.

– в основе РП лежат осмо-контрактильные процессы – периодическая закачка/откачка воды из клеточных вакуолей, регулируемая через межклеточные контакты.

– наряду с РП существует и более медленная морфогенетическая динамика, проявляющаяся в неравномерных скоростях апикального продвижения экто- и энтодермы.

– как показало моделирование, такая двухуровневая динамика с выраженной периодической компонентой способна создавать из весьма простых начальных геометрий значительно более сложные и биоморфные структуры.

Полученные на гидрополипах данные продемонстрировали, таким образом, широкие морфогенетические возможности механических в своей основе факторов и побудили нас выяснить, не играет ли механика подобную роль и в других груп-

пах животных — тем более что единственно известные в то время хемо-кинетические модели (построенные на основе знаменитой модели Тьюринга) не были ориентированы на описание самого хода развития.

Впрочем, и “эмбриомеханика” находилась тогда в зачаточном состоянии: почти все гистологи и эмбриологи рассматривали биологические ткани как механически индифферентные неупругие студни, в которых главным орудием морфогенеза являются деления клеток. Для начала мы попытались узнать, так ли это, и нет ли в зародышах закономерно “привязанных” к процессам развития структур с выраженной упругостью. Для тестирования квазиупругих напряжений была выполнена обширная серия строго локализованных сепаровок на разных стадиях развития амфибий и соблюдены критерии, позволяющие отделить истинные предсуществующие упругие напряжения от таковых, вызванных самими сепаровками. В результате были построены карты линий и плоскостей наибольших натяжений, которые сохраняли свою топологию в течение достаточно длинных отрезков развития, резко меняясь в промежутках между этими периодами (Belousov et al., 1975). При этом морфогенетические движения в течение каждого периода можно было в хорошем приближении рассматривать как результат релаксации этих натяжений.

Естественным продолжением стали опыты по генерализованной релаксации натяжений или изменению их направлений (Белоусов, 1988; Belousov, 1980; Belousov et al., 1988, 1990). Оказалось, что релаксация, осуществленная на стадии бластулы или ранней гастролы, приводила к глубоким нарушениям “дальнего порядка” в расположении зачатков основных органов при том что их микроструктура (ближний порядок) сохранялась. Особенно показательными были опыты по кратковременной релаксации небольшого участка дорсальной губы бластопора ранней гастролы шпорцевой лягушки: при этом нарушался дальний порядок не только релаксированного участка, но и зародыша в целом — вплоть до воспроизведения фенотипов других систематических групп (Kornikova et al., 2009). Это говорит о том, что дорсальная губа бластопора является организатором не только как источник растворимых морфогенов, но и как узел натяжений, влияющих на архитектуру всего зародыша. Исследования в этой области продолжают (см. статьи Бредова с соавторами и Василегиной с соавторами в этом номере).

Изменяя направление доминирующих натяжений, оказалось возможным реориентировать вдоль направления навязанного натяжения один из основных процессов морфогенеза — конвергентную интеркаляцию клеток и, соответствен-

но, ориентацию зачатка хорды (Трошина и Белоусов, 2009; Мансуров и Белоусов, 2011).

Приблизительно начиная с последней декады прошлого века морфомеханика стала быстро трансформироваться из занятия для отдельных чудаков в респектабельную область знаний на стыке молекулярной и клеточной биологии. Было получено множество данных, выявивших рецепторы, сигнальные пути и внутриклеточные мишени механических сигналов. Особый интерес вызвало обнаружение механозависимых генов, необходимых для формирования эмбриональных зачатков. Наибольших результатов здесь добилась группа Фаржа (Farge, 2003; Brunet et al., 2013), но и мы смогли кое-что сюда добавить: изгибаемая двойной эксплантат материала супрабластопоральной области ранней гастролы шпорцевой лягушки, то есть растягиваемый один клеточный слой и сжимаемый другой, мы получили экспрессию нейтральных генов на сжатой стороне, генов мышечного актина — на растянутой. При этом в недеформированных (шаровидных) эксплантатах области экспрессии располагались хаотично (Kornikova et al., 2013). Исследование механозависимости генов, контролирующей развитие осевых органов зародышей амфибий, в настоящее время продолжается (статья Василегиной с соавт. в этом томе).

Недавно в сотрудничестве с Геттингенским университетом С.В. Кремнев начал работу по тестированию механических напряжений в куриных зародышах методом вживления в клеточные контакты биосенсоров и последующим FRET-анализом.

Хотя современная молекулярная и клеточная биология и создала целый ряд тонких методик, весьма полезных для морфомеханики, она не предложила ответа на главный для биологии развития вопрос — почему вообще происходит закономерная смена форм и структур в процессе индивидуального развития. Сегодня очевидно, что этот вопрос, впервые четко поставленный А.Г. Гурвичем (цит. по Гурвич, 1991) и переформулированный Гудвином (Goodwin, 1994) как задача формулировки порождающих законов развития, должен решаться в рамках теории самоорганизации. Спрашивается: можно ли понять самоорганизацию биологических структур в терминах механики?

Впервые такую возможность продемонстрировал Харрис с соавт. в изящных экспериментах по культивированию фибробластов на упругой подложке, способной растягиваться под действием сил, создаваемых отдельными клетками (Harris et al., 1984). Оказалось, что близкодистальная активация — дальнедействующая ингибция возможны и на чисто механической основе, причем роль первой играет увеличение контактных зон (анизотропное сжатие) соседних клеток, а вто-

рой – растяжение всей клеточной популяции вместе с субстратом в результате локального сжатия.

Поскольку к этому времени мы уже знали, что тело зародыша – отнюдь не аморфный студень, а механически напряженная система – естественно было исследовать, могут ли зародыши самоорганизоваться на механической основе. Еще не зная работ американской группы, присоединившийся к нам физик-теоретик Б.Н. Белинцев (безвременно скончавшийся в возрасте 36 лет) разработал модель самоорганизации одной из универсальных клеточных структур – доменов поляризованных клеток – как результата активного ответа эмбриональной ткани на упругие натяжения. Главным и совершенно оригинальным элементом этой модели явилась формализация непрерывных взаимодействий локальных элементов с целостным полем натяжений. Это позволило впервые без дополнительных допущений воспроизвести классический феномен так называемых Дришевских регуляций (масштабную инвариантность форм) (Belintzev et al., 1987; Белинцев, 1991).

Однако модель Белинцева, при всех ее достоинствах, воспроизводила лишь один, хотя и важный, отрезок морфогенеза. Как и почему он идет дальше после формирования клеточных доменов? Может ли и здесь помочь морфомеханика? Возможное решение возникло при обсуждении вопроса с д-ром Миттенталь (Mittenthal) из Иллинойского университета, США. Возникла идея, что поступательный ход морфогенеза может быть основан на том, что механические напряжения “проскакивают” очередную релаксацию как разогнанные качели (но с затратой энергии), и такие пережесты повторяются неоднократно. Уже позже мы узнали, что совершенно аналогичную гипотезу (которую мы назвали сверх- или гипертвосстановлением) высказал выдающийся физиолог И.А. Аршавский (1982). В рамках модели гипертвосстановления уравнение Белинцева может быть рассмотрено как описание реакции на механическую релаксацию. Другая, противоположная ей реакция – это ответ на растяжение ткани. Оказалось, что он состоит в генерации внутреннего давления, которое уже активно растягивает ткань в том же направлении, что и начальный внешний фактор. Таким образом, морфогенез может быть представлен как цепь активных ответов эмбрионального материала на внешние (пассивные) механические деформации. Дальнейшая работа нашей группы была в значительной мере посвящена экспериментальному воспроизведению ожидаемых связей между искусственными деформациями и активными ответами на них (Kremnyov et al., 2012; Mansurov et al., 2012). Проводилось также моделирование различных морфогенезов исходя из гипотезы гипертвосстановления (Belousov, 2008, 2012, 2013, 2015; Belousov and Grabovsky, 2005, 2007; Belousov et al., 2006). Возможное при-

кладное значение этих исследований для регенеративной медицины обсуждается в недавнем обзоре (Belousov et al., 2015).

Остановимся лишь на одном аспекте этих работ, начатому в последние годы – исследованию микродеформаций и микронапряжений в эмбриональных тканях (Трошина и др., 2011; Евстифеева и Белоусов, 2016). В них описываются неизвестные ранее относительные сдвиги эпителиальных клеток, которые по своим линейным масштабам не превышают десятков микрон, а по характерным временам. Эти сдвиги создают флуктуирующие мелкомасштабные механические напряжения, которые, как оказалось, образуют закономерно направленные стадио-специфичные градиенты. В ходе морфогенеза эпителиальные клетки мигрируют вверх по этим градиентам.

Современный обзор результатов, полученных лабораторией в контексте данных мировой науки, дан в монографии (Belousov, 2015). В монографии имеется также раздел по морфомеханике растений, написанный сотрудником СПГУ А. Липчинским.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Аршавский И.А. Физиологические механизмы и закономерности индивидуального развития. М.: Наука, 1982. 270 с.
- Белинцев Б.Н. Физические основы биологического формообразования. М.: Наука, 1991. 252 с.
- Белоусов Л.В. Контактная поляризация клеток зародышей шпорцевой лягушки в период гастрюляции. II. Морфогенетические и дифференцировочные последствия релаксационной поляризации – релаксационные морфозы // Онтогенез. 1988. Т. 19. № 4. С. 405–413.
- Белоусов Л.В., Ермаков А.С. Искусственно наложенные натяжения нормализуют развитие релаксированных зародышей шпорцевой лягушки // Онтогенез. 2001. Т. 32. С. 288–294.
- Гурвич А.Г. Принципы аналитической биологии и теории клеточных полей. М.: Наука, 1991. 288 с.
- Евстифеева А.Ю., Белоусов Л.В. Микродеформации поверхности и регуляция клеточных движений в развитии шпорцевой лягушки // Онтогенез. 2016. Т. 47. № 1. С. 3–14.
- Ермаков А.С., Белоусов Л.В. Морфогенетические и дифференцировочные последствия релаксации механических натяжений в бластуре шпорцевой лягушки // Онтогенез. 1998. Т. 29. С. 450–458.
- Казакова Н.И., Косевич И.А., Белоусов Л.В. Влияние механических деформаций и цитоскелетных ингибиторов на ростовые пульсации гидроидных полипов // Онтогенез. 1997. Т. 28. С. 293–300.
- Лабас Ю.А., Белоусов Л.В., Казакова Н.И. Кинематика, биологическая роль и цитофизиология ростовых пульсаций у гидроидных полипов // Цитология. 1992. Т. 34. С. 5–23.

- Мансуров А.Н., Белоусов Л.В. Пассивные и активные реакции эмбриональных тканей на действие дозированных механических сил // *Онтогенез*. 2011. Т. 42. № 2. С. 126–132.
- Трошина Т.Г., Глаголева Н.С., Белоусов Л.В. Статистическое исследование быстрых механозависимых клеточных движений в деформированных экплантатах эмбриональных тканей шпорцевой лягушки // *Онтогенез*. 2011. Т. 42. № 5. С. 346–356.
- Belintzev B.N., Belousov L.V., Zarskii A.G. Model of pattern formation in epithelial morphogenesis // *J. Theor. Biol.* 1987. V. 129. P. 369–394.
- Belousov L.V. The role of tensile fields and contact cell polarization in the morphogenesis of amphibian axial rudiments // *Roux' Arch. Devel. Biol.* 1980. V. 188. P. 1–7.
- Belousov L.V. Mechanically based generative laws of morphogenesis // *Physical Biology*. 2008. V. 5. № 1. 015009.
- Belousov L.V. Morphogenesis as a macroscopic self-organizing process // *BioSystems*. 2012. V. 109. P. 262–279.
- Belousov, L.V. Morphogenesis can be driven by properly parametrised mechanical feedback // *Eur. Phys. J.* 2013. E. P. 132–147.
- Belousov Lev V. *Morphomechanics of Development* (With a Contribution by Andrei Lipchinsky). Heidelberg New York Dordrecht London: Springer Cham, 2015. 195 p.
- Belousov L.V., Grabovsky V.I. A geometro-mechanical model for pulsatile morphogenesis // *Computer Methods in Biomech. Biomed. Engineering*. 2003. V. 6. P. 53–63.
- Belousov L.V., Grabovsky V.I. A common biomechanical model for the formation of stationary cell domains and propagating waves in the developing organisms // *Comp. Methods in Biomech. and Biomed. Engineering*. 2005. V. 8. P. 381–391.
- Belousov L.V., Grabovsky V.I. Information about a form (on the dynamic laws of morphogenesis) // *BioSystems*. 2007. V. 87. P. 204–214.
- Belousov, L.V., Dorfman, J.G., Cherdantzev V.G. Mechanical stresses and morphological patterns in amphibian embryos // *J. Embr. Exp. Morphol.* 1975. V. 34. P. 559–574.
- Belousov L.V., Kremnyov S.V., Luchinskaia N.N. Simple tools for structuring embryonic rudiments // *Jacobs Journal of Regenerative Medicine*. 2015. № 1 (2). P. 008.
- Belousov L.V., Labas Ju.A., Kazakova N.I. et al. Cytophysiology of growth pulsations in hydroid polyps // *J. Exp. Zool.* 1989. V. 249. P. 258–270.
- Belousov L.V., Lakirev A.V., Naumidi I.I. The role of external tensions in differentiation of *Xenopus laevis* embryonic tissues // *Cell Diff. and Devel.* 1988. V. 25. P. 165–176.
- Belousov L.V., Lakirev, A.V., Naumidi I.I. et al. Effects of relaxation of mechanical tensions upon the early morphogenesis of *Xenopus laevis* embryos // *Int. J. Dev. Biol.* 1990. V. 34. P. 409–419.
- Belousov L.V., Luchinskaia N.N., Ermakov A.S. et al. Gastrulation in amphibian embryos, regarded as a succession of biomechanical feedback events // *Int. J. Dev. Biol.* 2006. V. 50. P. 113–122.
- Brunet T. ... Farge E. (17 authors). Evolutionary conservation of early mesoderm specification by mechanotransduction in Bilateria // *Nature Communications*. 2013. V. 4. P. 2821.
- Farge E. Mechanical induction of Twist in the *Drosophila* foregut/stomodaeal primordium // *Curr. Biol.* 2003. V. 13. P. 1365–1377.
- Goodwin, B. *How the Leopard Changed Its Spots. The Evolution of Complexity*. London: Weidenfeld & Nicolson, 1994. 233 p.

## On the Work of the Developmental Biophysics Laboratory of the Embryology Department of Moscow State University

L. V. Belousov

Department of Biology, Moscow State University, 119991 Russia

e-mail: morphogenesis@yandex.ru

Received August 29, 2016

The laboratory is engaged in morphomechanics—the study of self-organization of mechanical forces that create the shape and structure of the embryonic primordia. As part of its work, the laboratory described pulsating modes of mechanical stresses in hydroids, identified and mapped mechanical stresses in the tissues of amphibian embryos, and studied morphogenetic reorganization caused by the relaxation and reorientation of tensions. The role of mechanical stresses in maintaining the orderly architectonics of the embryo is shown. Mechano-dependent genes are detected. Microstrains of embryonic tissues and stress gradients associated with them are described. A model of hyper-recovery of mechanical stresses as a possible driving force of morphogenesis is proposed.

*Keywords:* morphogenesis, mechanical stresses, mechano-dependent genes, morphogenesis models