

МОРФОГЕНЕЗ, МОРФОМЕХАНИКА И ГЕНОМ

Л.В. Белоусов

Биологический факультет Московского государственного университета, Россия,
e-mail: morphogenesis@yandex.ru

Морфогенез относится к процессам самоорганизации и поэтому должен быть основан на нелинейных обратных связях между его динамическими компонентами. Предлагается модель обратных связей между пассивными и активными механическими напряжениями в эмбриональных тканях, которые могут играть роль движущих сил морфогенеза. Обсуждается соотношение генетических факторов и морфогенетических процессов в индивидуальном развитии и эволюции.

Ключевые слова: морфогенез, механическое напряжение, модели развития, экспрессия генов.

Морфогенез в широком понимании – это образование новых форм и структур (от внутриклеточных до макроскопических) в ходе эмбрионального развития организмов. (Внутриклеточные морфогенезы обычно называют цитодифференцировками.) С морфогенезом связан буквально каждый процесс индивидуального развития, равно как и эволюционные преобразования. Бесспорно, морфогенез представляет собой наиболее подробный и в то же время упорядоченный процесс самоусложнения из всех происходящих как в живой, так и в неживой природе.

Тем не менее общепринятой теории морфогенеза до сих пор не существует. Мы не можем ответить, почему по ходу развития одни пространственные структуры сменяются строго определенными другими или почему в некоторых случаях закономерные финальные структуры возникают из переменных и даже беспорядочных, находящихся на грани хаоса. Но самое парадоксальное состоит в том, что, как правило, вопрос так и не ставится, и что подавляющее большинство исследователей вообще не рассматривает морфогенез как самостоятельную проблему. Более того, пока считается, что такой проблемы вообще не существует.

Такой взгляд достаточно традиционен. Долгое время в эмбриологии господствовал преформизм – учение, утверждающее, что морфогенез как процесс самоусложнения вообще фиктивен,

а все структуры организма пространственно размечены «изначально», в некий загадочный начальный момент развития. И хотя открытие Г. Дришем эмбриональных регуляций более 100 лет тому назад строго доказало отсутствие изначальной «разметки», отдельные фрагменты этого воззрения существуют до сих пор. К ним относятся утверждения, что сам по себе развивающийся организм не обладает самостоятельной динамикой, а лишь пассивно воспринимает предельно детализированную информацию, записанную на какой-либо другой матрице. Таковы существующие представления о том, что морфогенез и вообще все процессы развития «запрограммированы генетически». Доведение этого утверждения до его логического предела означало бы, что если мы располагаем полной информацией о структуре генома особи данного вида, мы сможем предсказать его морфогенез.

Но вся совокупность имеющихся фактов – как классических, так и недавних – показывает несостоятельность этого утверждения (впрочем, и без того экспериментально непроверяемого). Прежде всего, морфогенез лишь в малой степени видоспецифичен – его наиболее фундаментальные процессы протекают сходным образом у генетически весьма различных организмов. Еще важнее помнить, что геном и морфогенез – сущности совершенно разного порядка. При всех изменениях взглядов на гены со времен Менделя они всегда рассматриваются

как статические дискретные факторы, тогда как морфогенез – это разворачивающийся в пространстве–времени континуальный (нерасчленимый по ходу своему на отдельные признаки) процесс. Понятно, что прямая проекция одного на другой невозможна. Даже если принять, что каждый шаг морфогенеза связан с активацией или репрессией определенных генов (на самом деле это не так), то пространственно-временное расписание активации/репрессии генов должно определяться не ими самими, а вне- (эпи-) генетическими факторами, прямо или косвенно связанными с морфогенезом. Однако исследования последних десятилетий говорят о существенно большем: оказалось, что одни и те же (точнее, гомологичные) наборы генов, белковые факторы и/или сигнальные каскады обеспечивают как у разных видов, так и на разных стадиях развития одного и того же вида совершенно разные морфогенетические процессы. И, с другой стороны, гомологичные эмбриональные структуры у близких видов могут иметь негомологичное генетическое обеспечение. Это было ясно уже Н.И. Вавилову (Чайковский, 2008. С. 165) и позже было подтверждено во множестве работ (Wray, Abouheif, 1998). Следовательно, зная, какой ген экспрессируется или какой сигнальный каскад в данный момент развития и в данной локализации работает, мы ничего не можем сказать о том, какой морфогенетический процесс состоится. Очевидно, что природа располагает весьма ограниченным набором генетических факторов и сигнальных путей, которыми зародыш распоряжается согласно плану своего развития как необходимыми, но не содержащими информацию орудиями: молоток необходим, чтобы забить гвоздь, но не он определяет, где и когда гвоздь будет забит.

Таким образом, трудно избежать парадоксального на первый взгляд утверждения, что *генетические факторы при всей своей важности вовсе не содержат в себе сколько-нибудь однозначной информации о развитии*. Последняя, очевидно, имеется (а точнее – возникает по ходу дела) в самой развивающейся системе как таковой. Это вплотную подводит нас к представлению о морфогенезе как о процессе *самоорганизации*.

Данное утверждение не является чисто словесным, как иногда думают. Современная

теория самоорганизации (ТСО) – это мощная синтетическая отрасль современной науки с математической «сердцевиной» и ответвлениями в сторону физики, химии и биологии. Для первого ознакомления с ТСО можно рекомендовать работу Капра (2002). Ничего ближе к фундаментальным проблемам морфогенеза, нежели ТСО, в науке пока не создано. Какие же свойства морфогенеза могут быть адекватно описаны на языке ТСО? Прежде всего – это «самоусложнение». Данный не вполне строгий термин корректно переводится на язык ТСО как *спонтанное* (протекающее без внешних воздействий) понижение порядка симметрии объекта (диссимметризация). Многовековая тенденция считать, будто морфогенеза не существует, была связана с (часто подспудным) убеждением, что «самоусложнение» противоречит законам природы. Однако для рассматриваемых в ТСО удаленных от термодинамического равновесия нелинейных систем это не так: в определенных условиях они теряют устойчивость, и тогда возможно понижение порядка их симметрии под влиянием ничтожно малых воздействий, т. е. практически спонтанно.

Нелинейные взаимодействия подразумевают наличие обратных связей, из которых наибольшее значение для морфогенеза имеют «+, –» обратные связи между двумя переменными (первая из них стимулирует вторую, а вторая ингибирует первую). При этом возникает широкий спектр периодических временных и пространственных структур (автоколебаний и автоволн) – главных элементарных составляющих практически всех морфогенетических процессов. Важно, что такие системы непременно являются иерархиями, состоящими из структур-процессов разных характерных размеров (Sch) и времен (Tch). Факторы, управляющие их поведением, сами имеют иерархическую структуру. Факторы с малыми Sch и Tch (узколокализованные в пространстве и времени) называются динамическими, а с большими Sch и Tch («размытыми» в пространстве–времени) – параметрическими. Если динамическое управление имеет сходство с традиционным (для линейных систем) сугубо локальным пониманием причинно-следственных связей, то нелокальное параметрическое управление – принципиально новая черта нелинейных систем, причем именно

она определяет наиболее фундаментальные их особенности (например наличие и набор устойчивостей).

Уже эти самые общие понятия ТСО совершенно по-новому высвечивают отношения между генетическими факторами и морфогенезом. Если рассматривать геном как набор отдельных генов, то последние надо относить к категории динамических факторов, поскольку они действуют на малых отрезках времени и достаточно локально. Как уже говорилось выше, эта категория генетических факторов действует не самостоятельно, а в тесной связи с факторами эпигенетическими. С другой стороны, чтобы геном играл роль параметра, он должен состоять из крупных блоков, инвариантных во времени и пространстве развития. Современные системные подходы к геному (интерес к его «крупноблочной» и трехмерной структуре и к генетическим сетям (Huang, Ingber, 2000; Dahl *et al.*, 2008; Системная ..., 2008)) к этому близки.

В последнее время ТСО активно используется для построения имитационных моделей, воспроизводящих с той или иной степенью точности некоторые реальные морфогенезы. Обсудим цель подобных работ. Понятно, что если для имитации берутся относительно короткие отрезки морфогенеза и тем более, если они не сопровождаются понижением порядка симметрии, то при свободном подборе параметров имитация заранее заданной точности «обречена на успех». Таких «подгоночных» моделей типа «что вложили, то и получили» в литературе по морфогенезу, да и в других областях биологии довольно много. На наш взгляд, они мало дают для решения фундаментальных проблем. Модели, действительно важные для понимания морфогенеза, должны обладать следующими чертами:

1) они должны предлагать схему максимально универсальных для морфогенеза (т. е. действующих на максимально протяженных отрезках пространства–времени развития) обратных связей, приводящих, помимо прочего, к понижению порядка симметрии. По крайней мере, для простейших ситуаций наличие таких обратных связей должно быть эмпирически подтверждено;

2) число свободных параметров должно быть минимальным, а сами параметры биологически правдоподобными;

3) модели должны быть достаточно «грубыми», т. е. нечувствительными к малым «шевелениям» параметров и/или начальных/граничных условий;

4) они должны порождать (пусть в некотором приближении) реальные морфологические структуры, а не некоторые их «коды» или «символи», трансформация которых в реальные структуры потребовала бы дополнительных допущений.

К настоящему времени предложено два класса моделей, имеющих отношение к морфогенезу. Первый из них – это так называемые реакционно-диффузионные модели, основанные на допущении «+, –» обратных связей между химическими компонентами, диффундирующими с разными скоростями (Meinhardt, 1982). Разработка этих моделей впервые натолкнула на важный вывод о том, что в морфогенетических процессах близкое действие имеет преимущественно активирующий характер, а дальное действие – ингибирующий. Тем не менее они не удовлетворяют пункту 1 (постулируемые обратные связи не доказаны, господство свободной диффузии в многоклеточных системах проблематично, особенности клеточной структуры вообще не учитываются) и пункту 4 (на выходе – не реальные структуры, а концентрации «морфогенов», трансформация которых в морфологические структуры требует специальных *ad hoc* допущений).

Значительно ближе к реальности, на наш взгляд, класс так называемых механо-химических моделей. Их основой является утверждение о ведущей морфогенетической роли обратных связей между так называемыми пассивными и активными механическими напряжениями (МН) в эмбриональных тканях. Пассивные МН – это те, которые вызваны механическими силами, внешними относительно рассматриваемого участка эмбриональной ткани. Активные же МН генерируются (естественно, при затрате энергии) «молекулярными машинами», локализованными внутри данного участка. Экспериментальная основа этих моделей – наличие закономерных, стадиоспецифичных рисунков МН в развивающихся зародышах (Belousov, 2008) и возможность самоорганизации в группировках клеток, посеянных на эластичные субстраты, которые они сами растягивают (Harris *et al.*, 1984).

Исторически первая механохимическая модель (Odell *et al.*, 1981) постулировала, что пассивное растяжение некоторого участка (А) клеточного пласта внешней силой порождает силу активного сокращения внутри А, которая растягивает следующий за ним участок Б, и т. д. В рамках этой модели структура обратных связей решающим образом зависит от того, закреплены или нет края пласта: если они свободны или закреплены нежестко, то активное сокращение ведет к релаксации пассивного растяжения (получаем «+, -» обратные связи), но тогда растяжение не распространяется дальше по пласту. Если же края закреплены (что соответствует большинству реальных ситуаций), то растяжение распространяется, но обратные связи будут выражаться символом «+, +», что исключает возможность формирования самоограниченных в пространстве структур, т. е. самую суть морфогенеза.

Модель Б.Н. Белинцева с соавт. (Белинцев, 1988) исходит из противоположного, но экспериментально подтвержденного допущения: не растяжение, а пассивная релаксация эпителиальной клетки стимулирует ее активное

сокращение. Тогда возникают «+, -» обратные связи, работающие при закрепленных краях пласта, что соответствует реальности. Эта модель вполне соответствует требованиям (1–4). Она не только воспроизводит широко распространенные в морфогенезе процессы сегрегации эпителиальных пластов на домены распластанных и столбчатых клеток, но и обеспечивает их масштабную инвариантность (Дришевские регуляции). Тем не менее и эта модель недостаточно универсальна для интерпретации основных процессов морфогенеза. В качестве дальнейшего обобщения (включающего в себя предыдущие модели в виде частных случаев) была предложена модель гипервосстановления МН в следующей формулировке (Белоусов, Миттенталь, 1992; Belousov, 2008).

При любом изменении величины пассивного МН, приложенного извне к образцу эмбриональной ткани, в последнем возникают активные силы, направленные на восстановление исходного значения МН, но, как правило, перекрывающие его в обратную сторону («гипервосстановление», ГВ) (рис. 1, а, б). Если навязанные извне изменения МН распределены

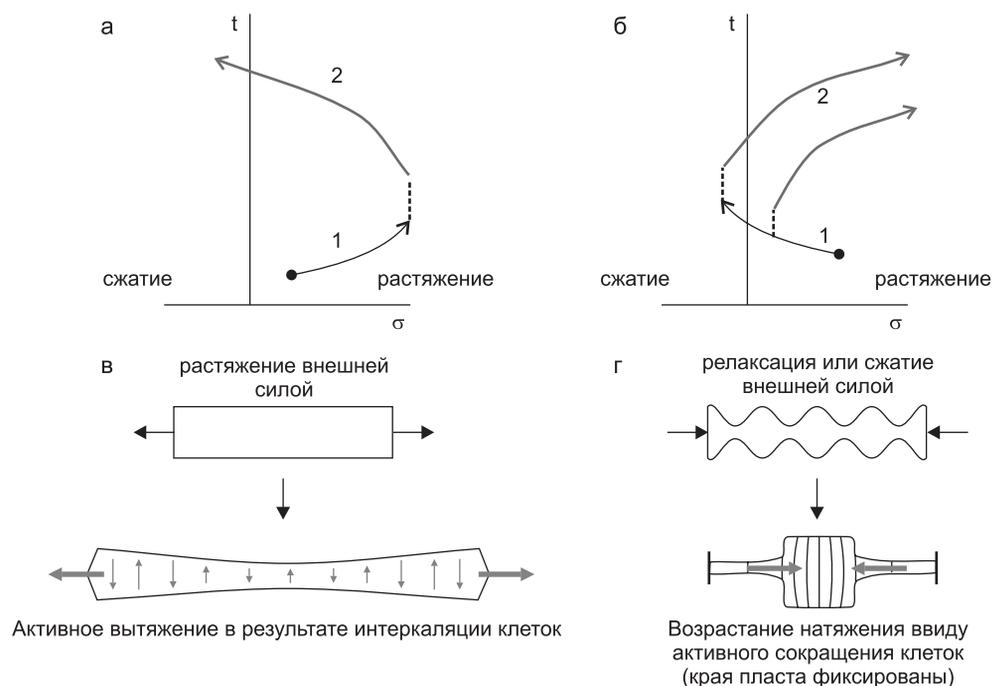


Рис. 1. Диаграммы (а, б) и схематические примеры (в, г) реакций гипервосстановления (ГВ).

а, в – ГВ-реакции на растяжение, б, г – ГВ-реакции на релаксацию/сжатие. На а, б по горизонтальной оси – механические напряжения, по вертикальной оси – время. Траектории 1 – внешние силы, вертикальный пунктир – лаг-период перед активной реакцией, траектории 2 – активные ГВ-ответы (по: Belousov, 2008).

неравномерно или анизотропно, то активные ответы будут направлены на уменьшение наибольших из навязанных МН.

Наиболее распространенные способы осуществления реакций ГВ показаны на рис. 1, в, г. Один из наиболее типичных ответов на пассивное растяжение клеточного пласта внешней силой – так называемая интеркаляция клеток, генерирующая силу внутреннего давления, и как следствие – активное вытяжение пласта (рис. 1, в). В эту же сторону направлена многократно описанная пролиферативная реакция – стимуляция клеточных делений растяжением ткани (Nelson *et al.*, 2005). Типичный ответ на релаксацию или сжатие – активное сокращение клеток (рис. 1, г) или их уход из пласта. В обоих случаях исходное натяжение восстанавливается с «перехлестом». В пассивно изогнутых клеточных пластах на растянутой выпуклой поверхности осуществляется реакция, соответствующая рис. 1, в, а на сжатой выпуклой – рис. 1, г. В результате кривизна, намеченная внешней силой, будет активно нарастать. Другим примером ГВ-реакций является увеличение площади межклеточных контактов при растяжении пласта и уменьшение при его релаксации (очевидно, что первая реакция направлена на уменьшение, а вторая – на увеличение натяжений между клетками пласта). Эти и другие ГВ-реакции многократно наблюдались (Belousov *et al.*, 2006; Belousov, 2008).

ГВ-реакции являются достаточно «грубыми» (нечувствительными к малым вариациям параметров и динамических переменных) и могут в широком диапазоне условий приводить к понижению порядка симметрии. Так, если сокращение клеток в ответ на релаксацию или интеркаляция в ответ на растяжение начнется не одновременно на всем протяжении клеточного пласта (а именно такой ответ является грубым), то в зависимости от значений параметров пласт будет расчленяться на различное число чередующихся доменов распластанных-столбчатых клеток, т. е. метамеров. При этом понизится порядок его трансляционной симметрии. Исходно сферический или цилиндрический пласт при этих же начальных условиях утратит симметрию вращения. Аналогично, если в некоторой малой области плоского или сферического клеточного пласта будет локально включен ме-

ханизм усиления кривизны, возникнет эстафета складкообразования, понижающая порядок симметрии (Belousov, Grabovsky, 2007).

Было также показано, что разные ГВ-реакции поддерживают и усиливают друг друга. Например, в клеточном пласте с закрепленными краями активное растяжение некоторого участка вызовет сначала пассивное сжатие/релаксацию, а затем и активное сокращение смежного участка. Поэтому ГВ-реакции могут играть роль движущих факторов морфогенеза. На примере гастрюляции амфибий последовательные шаги морфогенеза удастся представить как цепи взаимообусловленных ГВ-реакций (Belousov *et al.*, 2006). Основные элементы данной схемы могут быть приложены и к другим типам гастрюляции.

Действует ли предлагаемая схема обратных связей в процессах цитодифференцировки? За последнее время были получены впечатляющие данные об активации генов механическими силами (Farge, 2003) и о решающей роли механических свойств субстрата для выбора стволовыми клетками направления их дифференцировки (Engler *et al.*, 2006). Мы получили предварительные данные о связи сжатия–растяжения эмбриональных тканей с экспрессией в них либо нейральных, либо мезодермальных генов (Белоусов и др., 2007). Все эти данные согласуются с гипотезой ГВ. Они позволяют заключить, что фундаментальные закономерности морфогенеза и цитодифференцировки едины и отражают механозависимые кооперативные процессы в цитоскелете и клеточных мембранах.

В заключение вернемся к вопросу о связях морфогенеза с эволюционными преобразованиями, имея в виду, что разные виды и систематические группы отличаются друг от друга не столько по своему генетическому составу или спектру экспрессируемых генов, сколько по «характеру использования» идентичных или, по крайней мере, гомологичных генетических факторов и сигнальных путей. Это еще раз свидетельствует о наличии собственных (негенетических) законов морфогенеза, используемых как в онтогенезе, так и в эволюции (Черданцев, 2003; Шишкин, 2006). Генетические факторы могут влиять на морфогенез лишь через посредство этих законов вырожденным

и неоднозначным образом. В качестве иллюстрации к сказанному рассмотрим следующую модель (Belousov, Grabovsky, 2007). Задано кольцо из C клеток, расположенных в один слой и оказывающих друг на друга (в результате пролиферации, тургорного давления или/и радиальных сокращений) тангенциальное давление, приводящее к их центрифугальным смещениям (рис. 2, а). Клетки сгруппированы в N кинематически независимых единиц ($N \leq C$),

способных центрифугально смещаться независимо друг от друга, образуя складки. N является параметром изгибной жесткости диска, он равен числу складок и обратно пропорционален их окружной длине. Вводится также параметр упругости W (мера сопротивления радиальным смещениям клеток) (рис. 2, б). На рис. 2, в результаты моделирования представлены в пространстве параметров W и N . Видно, что это пространство подразделяется на примерно

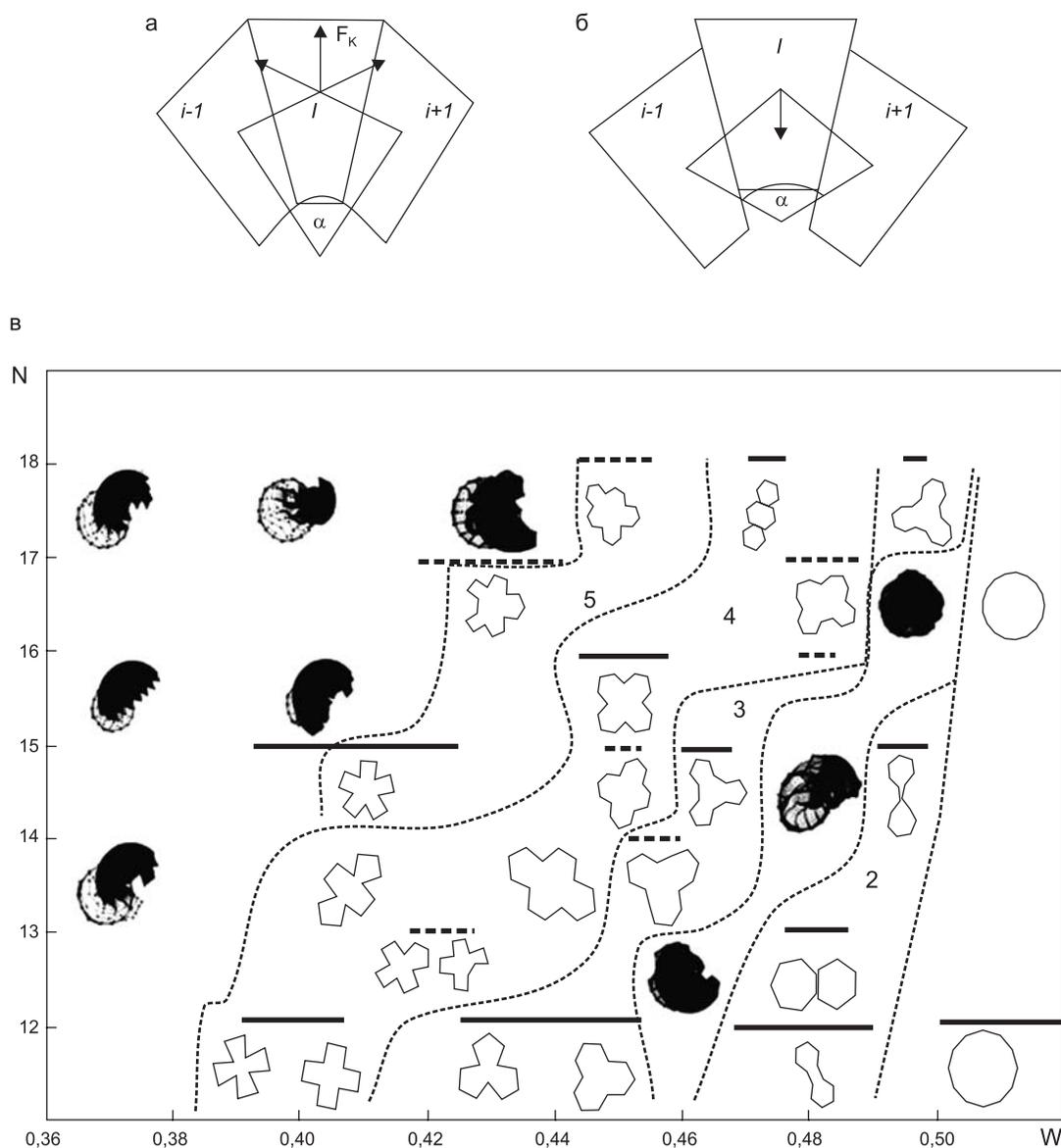


Рис. 2. Моделирование форм согласно работе (Belousov, Grabovsky, 2007).

а – схема радиального сдвига (F_k) клетки i в результате тангенциального давления на нее клеток $i-1$ и $i+1$; б – противодействующее действие упругой силы W ; в – диаграмма форм в пространстве параметров W и N . Цифры обозначают число лучей. Сплошные линии накрывают формы, устойчивые при неограниченном числе итераций, пунктир – устойчивые при ограниченном числе итераций. Зачерненные фигуры неустойчивы (непрерывно вращаются).

диагональные зоны (разделенные волнистыми линиями), занятые либо формами, выходящими после некоторого числа итераций на стационар (светлые контуры), либо не имеющими стационаров (зачерненные контуры). Разные стационарные зоны различаются между собой по порядку радиальной симметрии форм (числу лучей).

Поскольку параметры N и W принимаются постоянными для всего объекта и всего времени моделирования, их можно считать либо косвенно, либо напрямую связанными с геномом. В таком случае они могут соответствовать обширным и в целом мало специфичным группам генов, определяющим механические свойства ткани.

Данная схема – не более чем грубый набросок. Но при этом можно прийти к следующим выводам о соотношении генетических и морфогенетических факторов эволюции. Как дискретность надвидовых таксономических единиц (без чего классическая систематика была бы вообще невозможна), так и наличие закономерных рядов эволюционных преобразований (типа гомологических рядов Н.И. Вавилова) определяются в первую очередь негенетическими законами морфогенеза. С другой стороны, выбор конкретных вариантов из задаваемого этими законами множества – функция генома, действующего, скорее всего, вырожденным образом и через посредство обширных генных блоков. Дальнейшее уяснение неоднозначных и сильно нелинейных связей между морфогенезом и генетическими факторами – одна из наиболее актуальных проблем биологии ближайшего будущего.

Литература

- Белинцев Б.Н. Физические основы биологического формообразования. М.: Наука, 1988. 254 с.
- Белоусов Л.В., Корвин-Павловская Е.Г., Лучинская Н.Н., Корникова Е.С. Роль коллективных клеточных движений и механо-геометрических условий в разметке осевых зачатков у зародышей шпорцевой лягушки // *Онтогенез*. 2007. Т. 38. № 3. С. 192–204.
- Белоусов Л.В., Миттенталь Дж. Гипервосстановление механических напряжений как возможный движущий механизм морфогенеза // *Журн. общ. биологии*. 1992. Т. 53. С. 797–807.
- Капра Ф. Паутина жизни. Новое научное понимание живых систем. «София» ИД «Гелиос». 2002. 336 с.
- Системная компьютерная биология / Под ред. Н.А. Колчанов, С.С. Гончаров, В.А. Лихошвай, В.А. Иванисенко. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2008. 762 с.
- Чайковский Ю.В. Активный связанный мир. Опыт теории эволюции жизни. М.: КМК, 2008. 726 с.
- Черданцев В.Г. Морфогенез и эволюция. М.: КМК, 2003. 360 с.
- Шишкин М.А. Индивидуальное развитие и уроки эволюционизма // *Онтогенез*. 2006. Т. 37. С. 179–198.
- Belousov L.V. Mechanically based generative laws of morphogenesis // *Physical Biol.* 2008. V. 5. 015009.
- Belousov L.V., Grabovsky V.I. Information about a form // *BioSystems*. 2007. V. 87. P. 204–214.
- Belousov L.V., Louchinskaia N.N., Ermakov A.S., Glagoleva N.S. Gastrulation in amphibian embryos, regarded as a succession of biomechanical feedback events // *Int. J. Dev. Biol.* 2006. V. 50. P. 113–122.
- Dahl K.N., Ribeiro A.J.S., Lammerding J.N. Nuclear shape, mechanics and mechanotransduction // *Circ. Res.* 2008. V. 102. P. 1307–1318.
- Engler A.J., Sen S., Sweeney H.L., Discher D.E. Matrix elasticity directs stem cell lineage specification // *Cell*. 2006. V. 126. P. 677–689.
- Farge E. Mechanical induction of Twist in the *Drosophila* foregut/stomodaeal primordium // *Curr. Biol.* 2003. V. 13. P. 1365–1377.
- Harris A.K., Stopak D., Warner P. Generation of spatially periodic patterns by a mechanical instability: a mechanical alternative to the Turing model // *J. Embryol. Exptl Morphol.* 1984. V. 80. P. 1–20.
- Huang S., Ingber D.E. Shape-dependent control of cell growth, differentiation, and apoptosis: switching between attractors in cell regulatory networks // *Exptl Cell Res.* 2000. V. 261. P. 91–103.
- Meinhardt H. Models of biological pattern formation. N.Y., L.: Academic Press, 1982.
- Nelson C.M., Jean R.P., Tan J.L. *et al.* Emergent patterns of growth controlled by multicellular form and mechanics // *PNAS*. 2005. V. 102. P. 11594–11599.
- Odell G.M., Oster G., Alberch P., Burnside B. The mechanical basis of morphogenesis. I. Epithelial folding and invagination // *Developm. Biol.* 1981. V. 85. P. 446–462.
- Wray G.A., Abouheif E. When is homology not homology? // *Curr. Opin. Genet. Devel.* 1998. V. 8. P. 675–680.

MORPHOGENESIS AND MORPHOMECHANICS

L.V. Belousov

Faculty of Biology, Moscow State University, Moscow, Russia,
e-mail: morphogenesis@yandex.ru

Summary

So far as morphogenesis belongs to self-organizing processes, it should be based upon non-linear feedbacks between its dynamic components. We suggest a scheme of the feedbacks between the passive (imposed outside) and active (generated within given parts) mechanical stresses in embryonic tissues, which may play a role of the driving forces of development. We discuss the relations between genetic factors and morphogenetic processes both during individual development and evolution.