

Морфомеханика и интегральность живого.

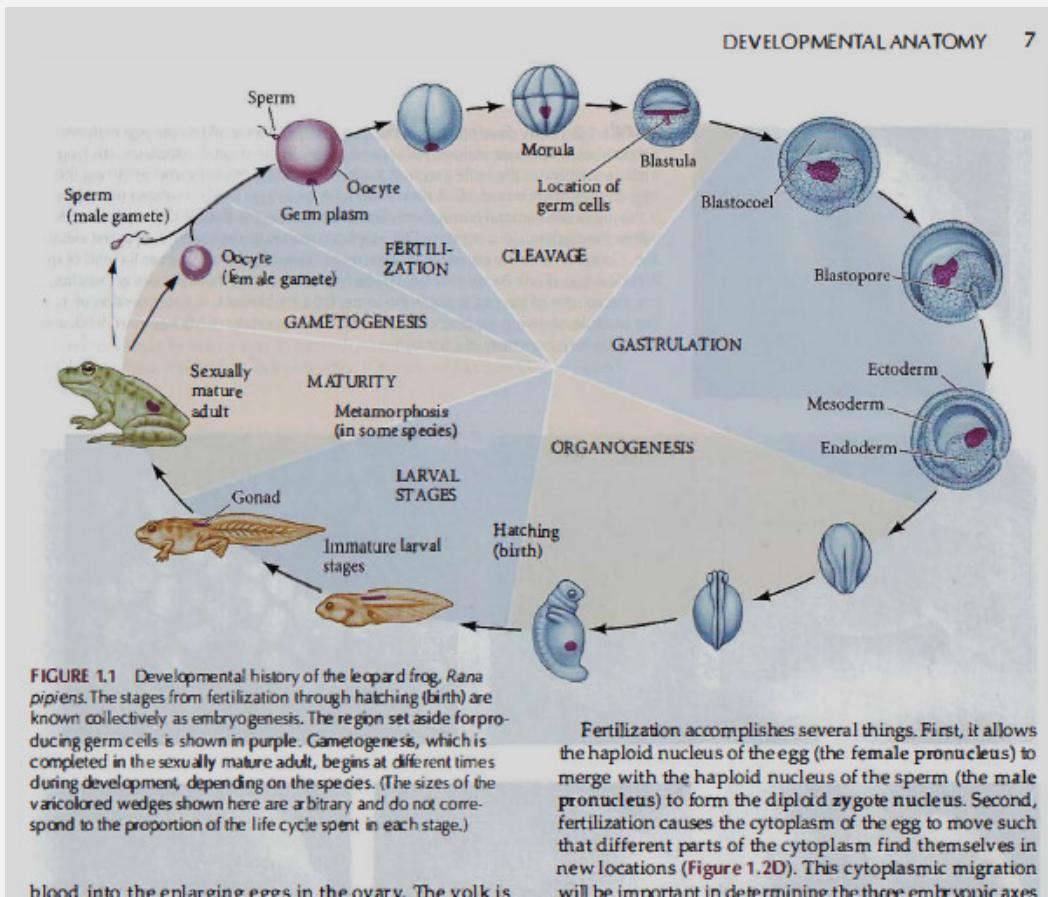
Александр Сергеевич Ермаков, с.н.с, Биологический
Факультет МГУ им М.В. Ломоносова

Морфосеминар А. Кузнецова, МГУ, Москва, 2019 г



Понятие Жизненного Цикла. Морфогенез и Дифференцировка.

Жизненный цикл леопардовой лягушки.



Включает стадии:

- Слияние гамет
- Дробление.
- Гаструляция.
- Органогенез.
- Личиночное развитие.
- Взрослый организм и репродукция.

Биологический морфогенез и Клеточная Дифференцировка

Морфогенез (*morphogenesis* по-английски), от др.-греч μορφή ‘форма’ и γένεσις ‘возникновение’.

Буквально означает «порождение формы», «формообразование».

Данный термин применяют как по отношению к целому организму, так и к отдельным органам и системам органов.

Клеточная дифференцировка .

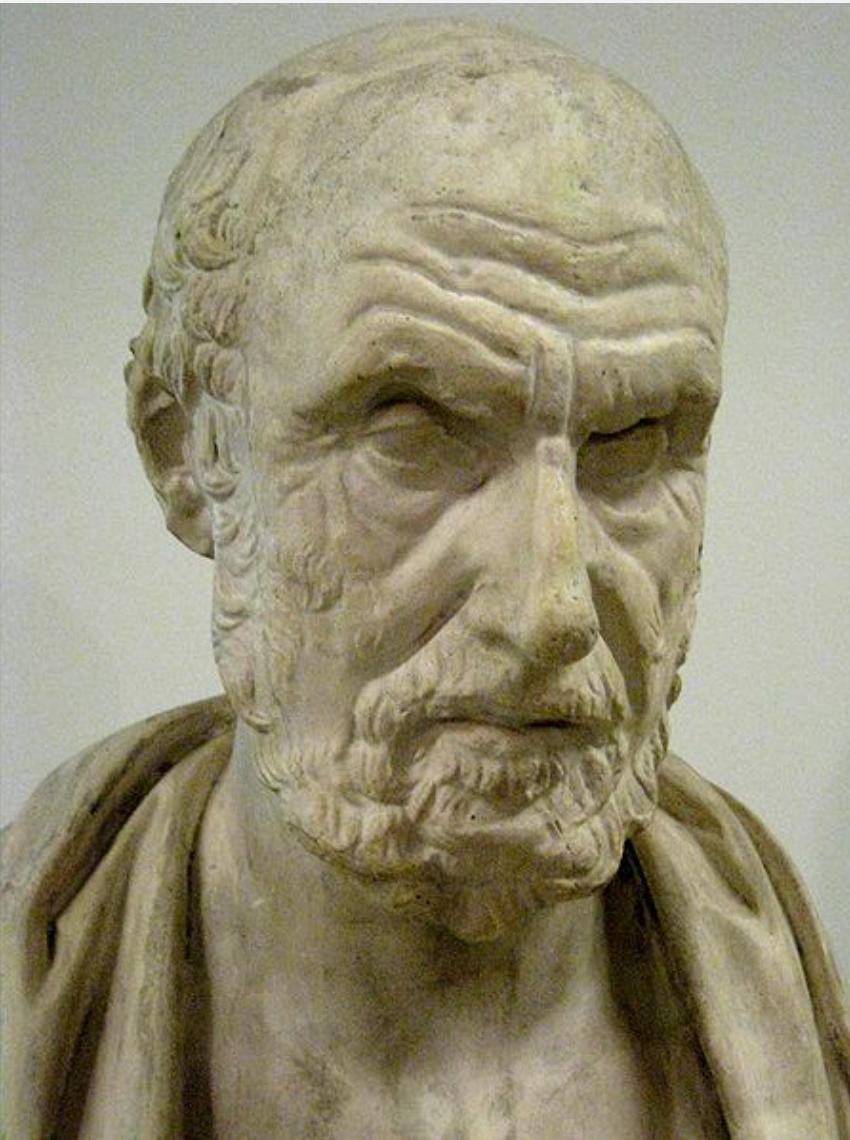
Клеточная дифференцировка – процесс, в результате которого клетки зародыша приобретают стойкие и, как правило, необратимые различия между собой, основанные на способности к преимущественному синтезу специфических белков.

При дифференцировке клеток изменяется не только их химический состав, но и внутренняя структура.

В ходе индивидуального развития, **онтогенеза**, возникает организм, имеющий форму. Многоклеточные организмы состоят из большого числа клеток, которые при этом упорядочены. .

Возникает вопрос о том, а как регулируется целостность организма?

Проблема интегральности живого.



Гиппократ (460 – 370 гг до н.э.) считал, что зародыш строится под действием «внутреннего огня». Более податливые огню части выгорают, менее податливые уплотняются и формируют системы органов будущего организма. Примечательно в этой теории то, что Гиппократ признавал изначальные различия в строении зародыша (разная степень подверженности внутреннему огню), и что принципиально все органы формируются в одно и то же время, а затем лишь происходит их рост.



Аристотель (384-322 гг до н.э.), в отличие от Гиппократа, считал, что органы зародыша формируются постепенно из бесструктурной поначалу массы и что в ходе индивидуального развития происходит усложнение организации.

Таким образом, должны существовать механизмы, интегрирующие развитие организма как единого целого.

Проблема интегральности живого.



Рис. 1. Эпигенетические взгляды Аристотеля в представлении итальянского автора конца XVI в. (по J. Rueff, 1554).

Из беспорядочных завитков постепенно вычленяется скорченный человечек. При всей фантастичности данных изображений поражает сходство левой картинки с современными моделями самоорганизации (см. гл. 11)

Гиппократ стоял на позиции возможной пре-детерминированности строения организма .

Аристотель признавал возможность возникновения структур заново.

Вопрос о предeterminированности структур либо возможности возникновения структур заново -- один из центральных вопросов, красной нитью проходящий через всю историю биологической науки.

Проблема интегральности живого.

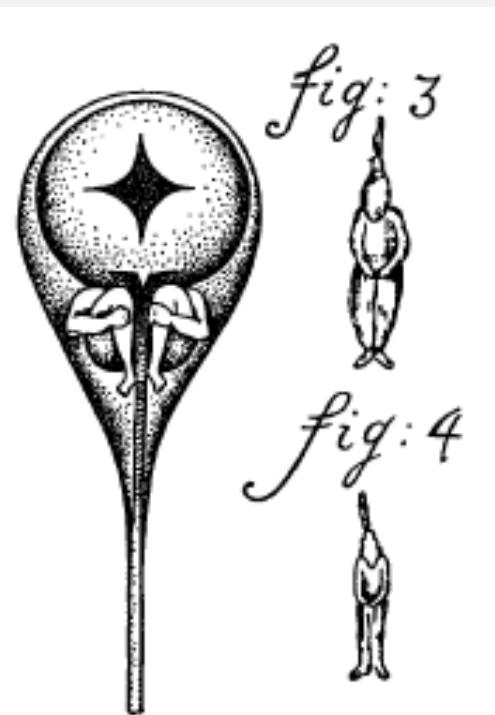


Рис. 2. Иллюстрация взглядов преформистов-анималькулистов: фантастические изображения сперматозоидов человека (из книги XVII в.: цит. по Дж. Нидхому, 1947)

Сторонники преформизма считали, что структуры уже существуют (преформированы) и в ходе развития зародыша происходит лишь уже оформившихся частей.

Анималькулисты считали, что таким оформленвшимся зародышем является сперматозоид, **овисты** полагали, что все структуры преформированы уже в яйцеклетке. Одним из ярких представителей преформистов (овистов) был Г Лейбниц.

Сторонники **эпигенеза** признавали возможность новообразования структур

Уильям Гарвей (1578-1657) занимал промежуточную позицию. С одной стороны, ему принадлежит знаменитый тезис «Все живое – из яйца», но ему также принадлежит высказывание «Ни одна часть будущего плода не существует в яйце актуально, но все части находятся в нем потенциально. »

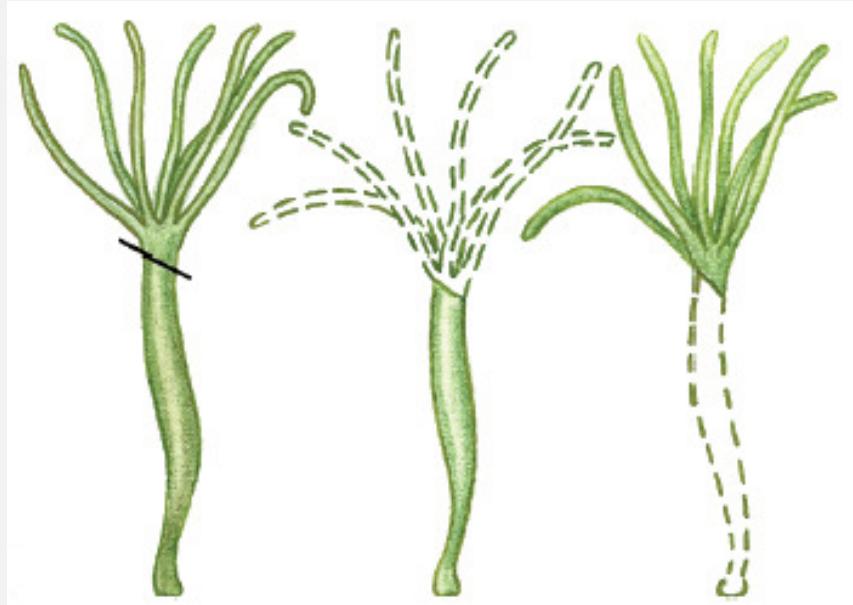
Проблема интегральности живого.



Каспар Фридрих Вольф (1734-1794) открыл, что в ходе индивидуального развития цыпленка кишечник и зародыш нервной системы сначала представляют собой пластины, а затем скручиваются в трубки. По сути дела, было доказано, что в ходе развития позвоночных образуются новые формы. Это был неопровергимый аргумент в поддержку эпигенеза!

Во второй половине XVIII века ряд остроумных аргументов в пользу эпигенеза выдвинул немецкий профессор **Блюменбах** (1752-1840): во-первых, преформизм не может объяснить новообразования, например, галлы на листьях растений; во-вторых, -- факт регенерации гидры даже из небольшого участка тела.

Проблема интегральности живого.



XVIII век. Абрахам Трамблे (1710-1784) открывает удивительные способности гидры к регенерации. Это серьезный аргумент в пользу эпигенеза.

Несмотря на это, преформизм продолжает доминировать в биологии. Одним из ярких его представителей был (1720-1793). **Лациаро Спалланцани** (1729-1799) описывает развитие яйца лягушки, истолковывает этот феномен преформистки.

Проблема интегральности живого.

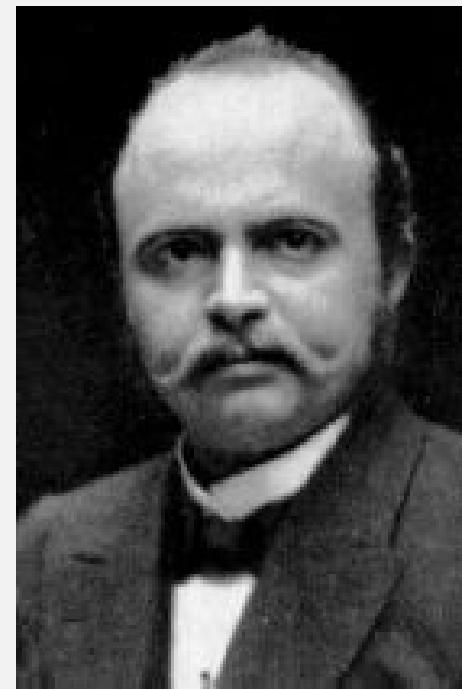
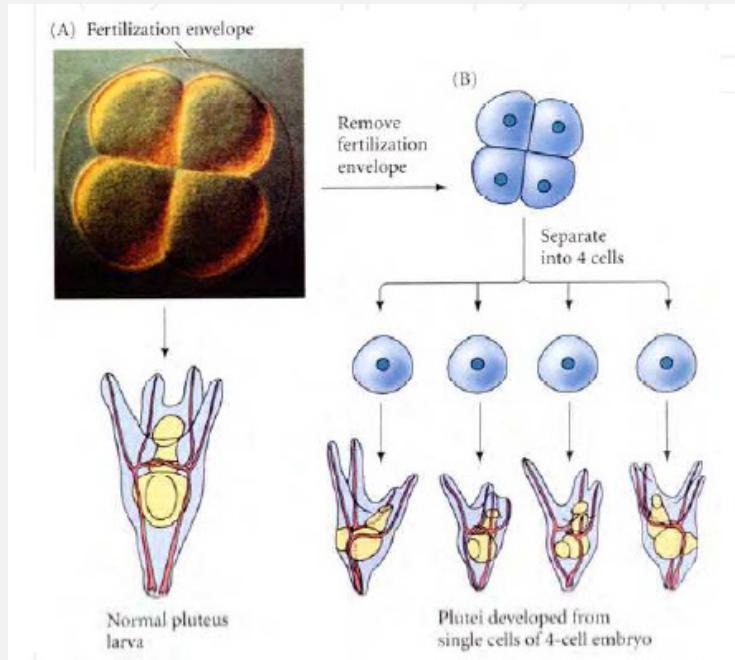
Вильгельм Ру (1850-1924)
призвал внедрить в
эмбриологию казуально-
аналитический метод,
основатель механики
развития.



Вильгельм Ру

1887 год. Зарождение
экспериментальной
эмбриологии. Ру выжег
раскаленной иглой один
из бластомеров лягушки.
Из оставшегося
blastomera развилась
половинка лягушки.

Проблема интегральности живого.



Ганс Дриш

Открытие эмбриональных регуляций.

Ганс Дриш (1867-1941) был не согласен с интерпретацией эксперимента Ру, так как мертвый бластомер мог влиять на оставшийся в живых.

1892 год. Дриш проводит эксперимент на ранних стадиях зародышей морского ежа, разделяя его на отдельные бластомеры. Из каждого бластомера развивалась маленькая личинка. Таким образом, организм развивается как целое и способен регуляции развития.

Основные интегральные подходы в биологии XX века

Теория Морфогенетического поля А.Г. Гурвича.

Теория эпигенетического ландшафта и креодов в развитии К. Уоддингтона.

Приложения кибернетики и теории систем к биологии (Эшби, Винер).

Приложения синэрgetики и неравновесной термодинамики к биологии (И. Пригожин, А. Тьюринг, Майнхард и Гирер).

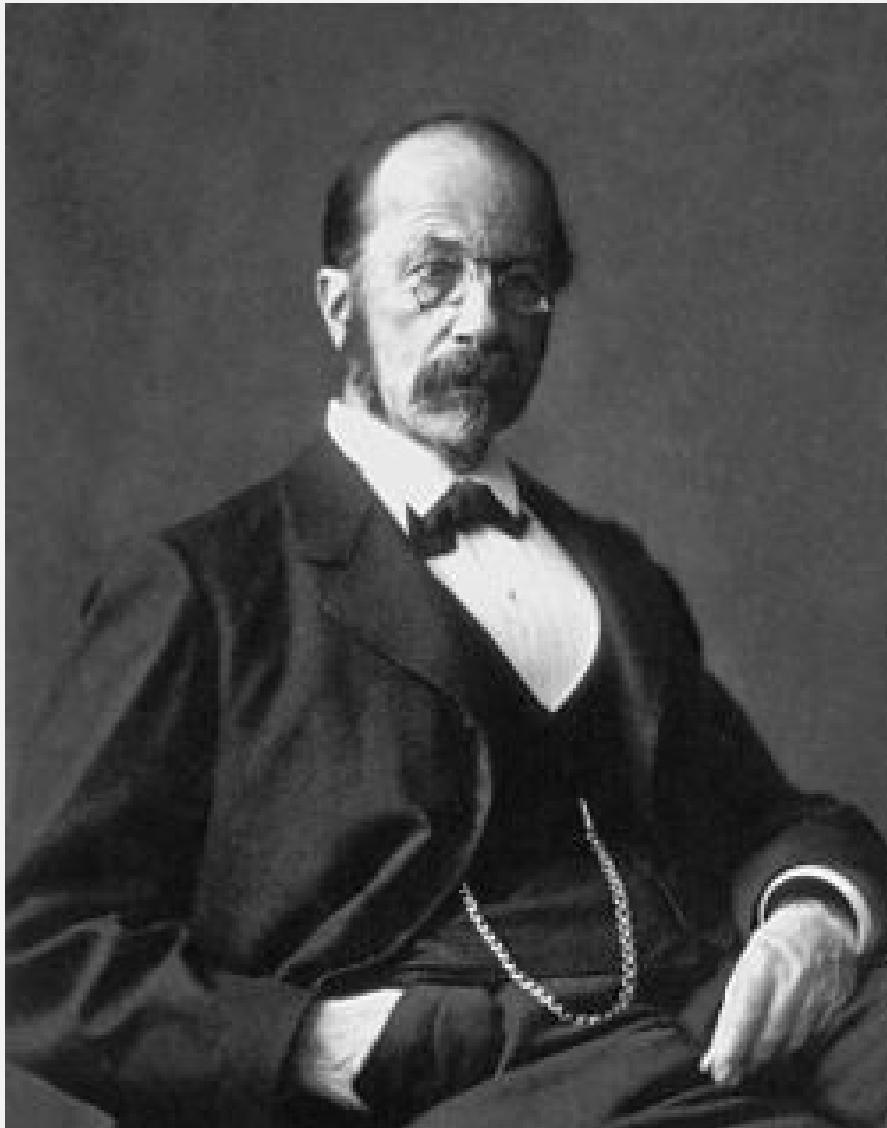
Теория позиционной информации (Л. Вольперт).

Ca²⁺ волны, ионные и электр. потенциалы как организующие факторы морфогенеза (Л. Яффе, М. Левин, Б. Гудвин)

Механические напряжения как интегрирующие факторы морфогенеза (В. Гис, А. Харрис, Д. Ингбер, Л.В. Белоусов, В.Г. Черданцев)

Предшественники Морфомеханики.

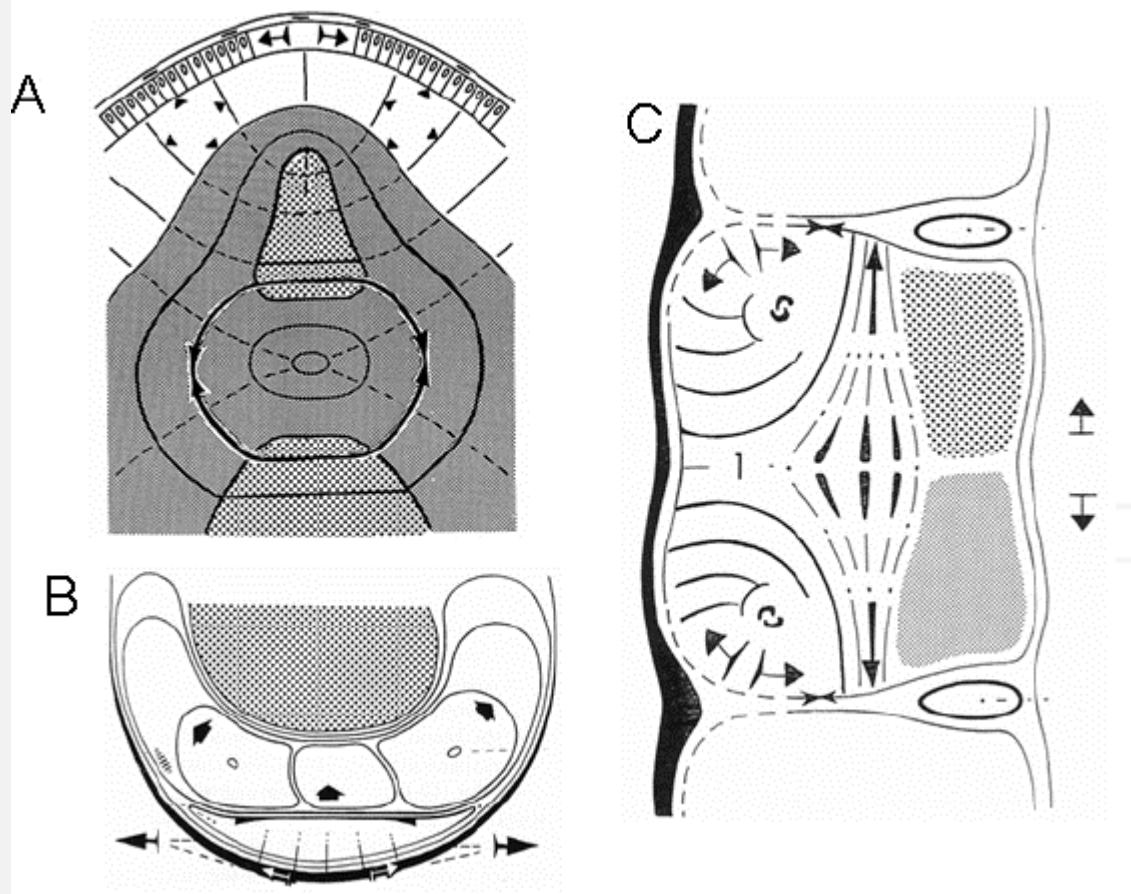
Предшественники Морфомеханики.



Вильгельм Гис

1870-1880-е анатом **Вильгельм Гис (1831-1904)** выдвинул гипотезу о том, что механические силы вызывают формообразовательные процессы (например, изгибы клеточных пластов). Эти идеи не получили поддержки современников.

В 1970е годы немецкий анатом **Блешмидт** описал паттерны механических напряжений в развитии человека, назвав их «общими правилами». Он описал различные типы паттернов механических напряжений и предположил, что они могут играть роль в регуляции развития органов



Работы Проф. А. Харриса.



Professor Albert Harris with his children in 1980, about the time when he, David Stopak and Pat Greenwell began to realize the true significance of their observations on silicone rubber substrata and the mechanical reorganization of collagen gels.

Профессор Альберт Харрис и его дети, около 1980 года

Альберт Харрис –
американский профессор.
Учился в 1960-е гг в
Норфолкской Академии
(Виргиния) и в Колледже
Свартмор (Пенсильвания).
Получил степень Ph D по
биологии в Йельском
Университете (1971), где
работал под руководством
Тринкауса.

Затем работал пост-доком в
Кембридже (Великобритания).

С конца 1970-х много лет
работал в Университете
Северной Каролины.

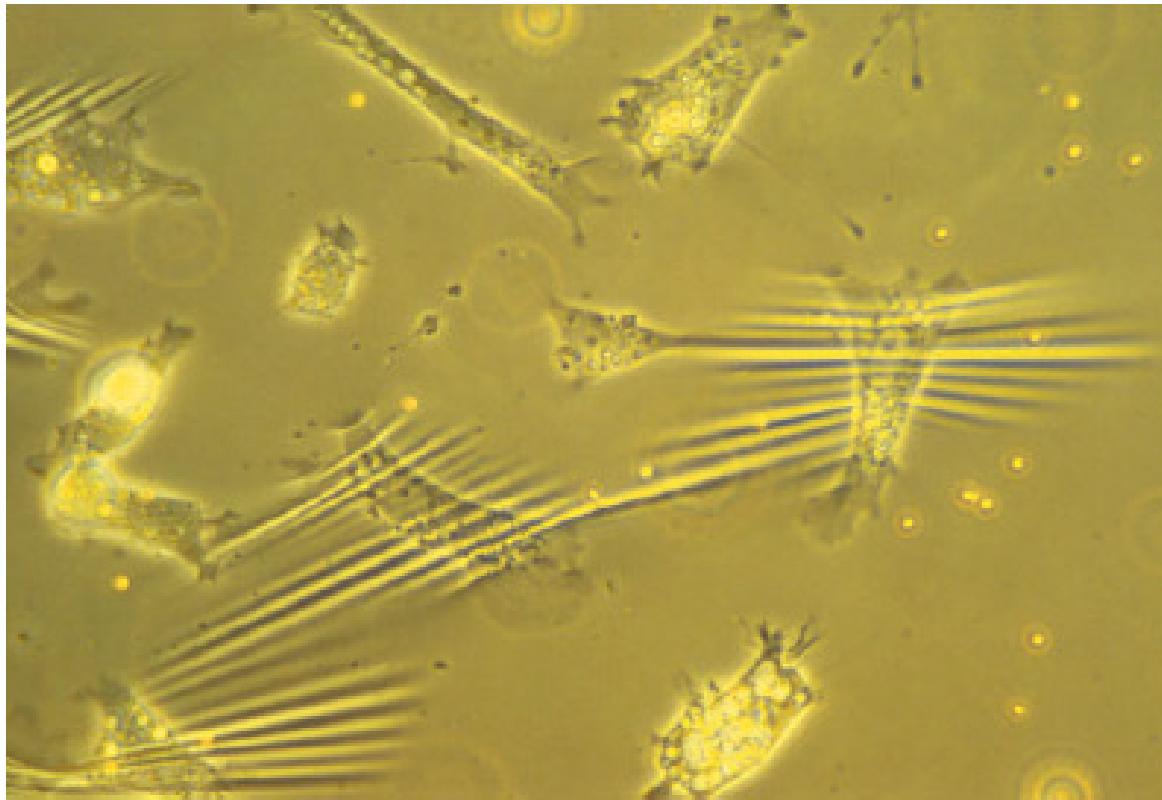


Fig. 4. Silicone rubber substrata, being wrinkled by fibroblasts. The tiny spheres are polystyrene latex particles, used to measure the amounts and directions of displacement of the rubber. (1978).

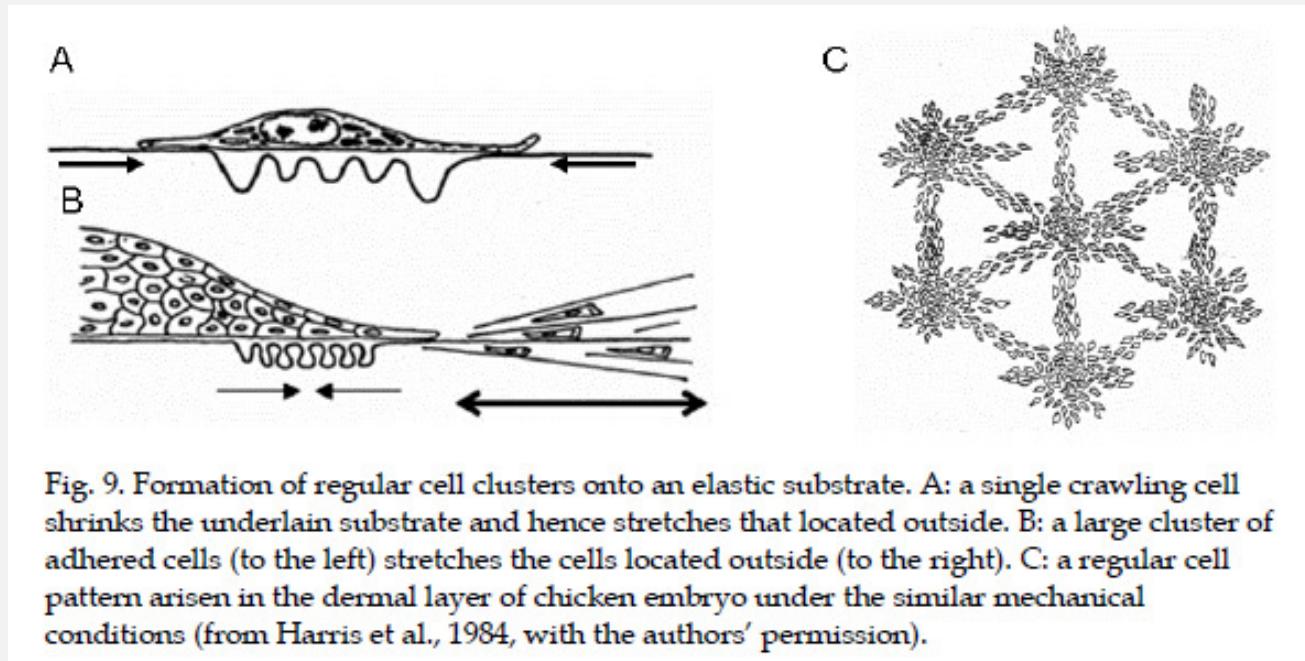
Харрис и его коллеги заинтересовались поведением клеток на эластичном субстрате. Они высевали клетки на полиакриламиде, силиконе, резине, изучая при этом поведение клеток.

К началу 1980х Харрис и его коллеги оказали, что высеванные на эластичный субстрат, клетки способны активно подтягивать субстрат под себя.

Между клетками образовывались обратные связи, и они влияли друга на друга на расстоянии с помощью натяжения эластичного субстрата.

Гомогенная популяция клеток организовывалась в организованные паттерны, похожие на шестиугольники.

Механические силы как факторы самоорганизации клеточных культур.



Эксперимент А. Харриса. Фибробlastы, посаженные на упругий субстрат, образуют шестигранные структуры.

Harris A.K., Stopak D. and Warner P. (1984) Generation of spatially periodic patterns by a mechanical instability: a mechanical alternative to the Turing model. *J. Embryol. Exp. Morphol.* 80: 1-20.

В 1970е начинают формироваться две основные концепции, на основе которых сформировался «теоритический костяк» современной механобиологии – **Теория Био-Тенсегрити** Профессора Гарварда Дональда Ингбера и **Динамическая Морфомеханика** Профессора МГУ Льва Владимировича Белоусова.

Предтечами этих теорий были энциклопедисты начала-середины XX века.

В основу Био-Тенсегрити легли представления о Тенсегрити (напряженной интегральности) Ричарда Фулера, Дэвида Эммериша и Кеннета Снельсона.

На формирование взглядов Льва Владимировича Белоусова оказал влияние его дед и Учитель А.Г. Гурвич.

Самонапряженные Конструкции и Теория Тенсегрити.

Самонапряженные конструкции и Теория Тенсегрити.

Тенсегрити (от английского tensegrity, tensional integrity, то есть напряженная интегральность) – система взглядов, описывающих самонапряженные конструкции, возникла в архитектуре, механике и искусстве примерно в середине XX века, более 50 лет назад

Возникновение представлений о самонапряженных конструкциях связано с именами Ричарда Букминстера Фуллера (Fuller), Дэвида Джорджа Эммериша (Emmerich) и Кеннета Снельсона (Snelson).

- Fuller, R.B. *Tensile-Integrity Structures*, U.S. Patent No. 3,063,521, November 13, 1962.
- Snelson, K. *Continuous tension, discontinuous compression structures*, U.S. Patent No. 3,169,611, February 16, 1965
- Emmerich, D.G. *Construction de réseaux autotendants*, French Patent No. 1,377,290, September 28, 1964

Самонапряженные конструкции и Теория Тенсегрити.

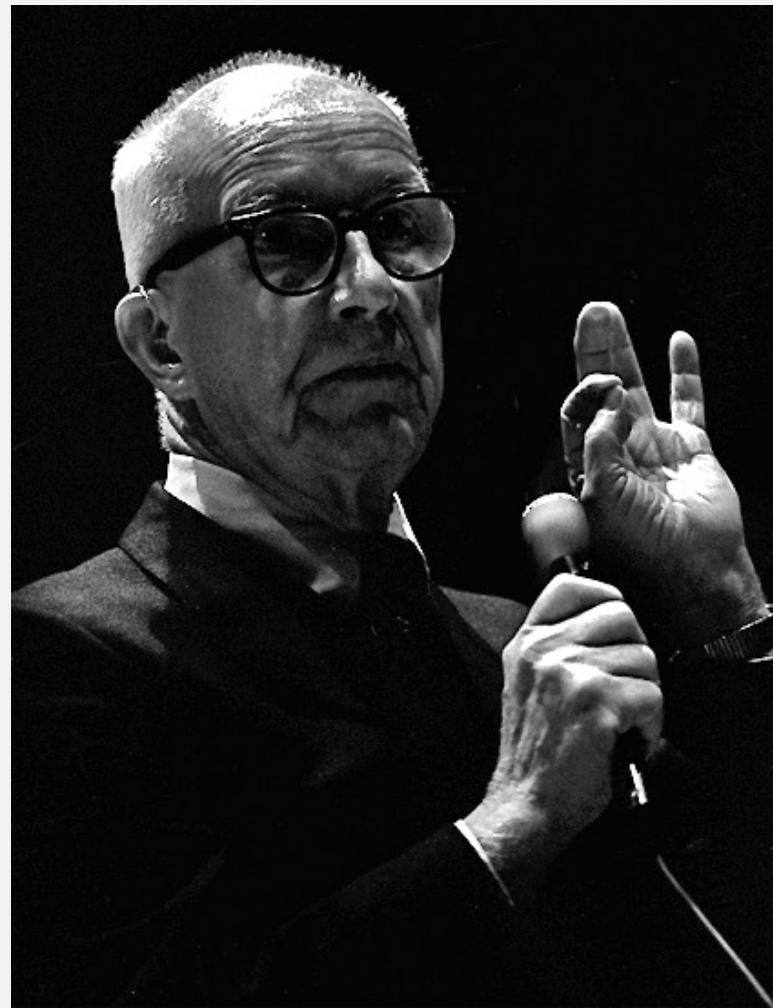
Ричард Букминстер Фуллер –
самобытная фигура в истории
человечества, исследователь с широким
кругом исследовательских интересов, что
сближает его с мыслителями эпохи
Возрождения.

Помимо того, что Фуллер был
харизматичным инженером и
архитектором-неконформистом, он
занимался математикой, космологией,
поэзией, эволюцией технологий.

Фуллер был также изобретателем и
конструктором и за свою жизнь
официально зарегистрировал 25 патентов.

Ричард Букминстер
Фуллер (1895-1983)

.



Самонапряженные конструкции и Теория Тенсегрити.



Всемирную известность Тенсегрити получила в связи со скульптурными композициями Кеннета Снельсона.

Летом 1948 года Букминстер Фуллер начал работать профессором в колледже Black Mountain College (Северная Каролина, США), и Снельсон, будучи тогда еще студентом, посетил курс его лекций по геометрическим моделям.

Вдохновленный этими лекциями, он создал свою первую скульптурную композицию, основанную на принципе самонапряженных конструкций. Система из твердых стержней и стягивающих их нитей вполне устойчива. Стержни испытывают сжатие, нити – растяжение, а сама конструкция при этом держит форму .

Самонапряженные конструкции и Теория Тенсегрити.

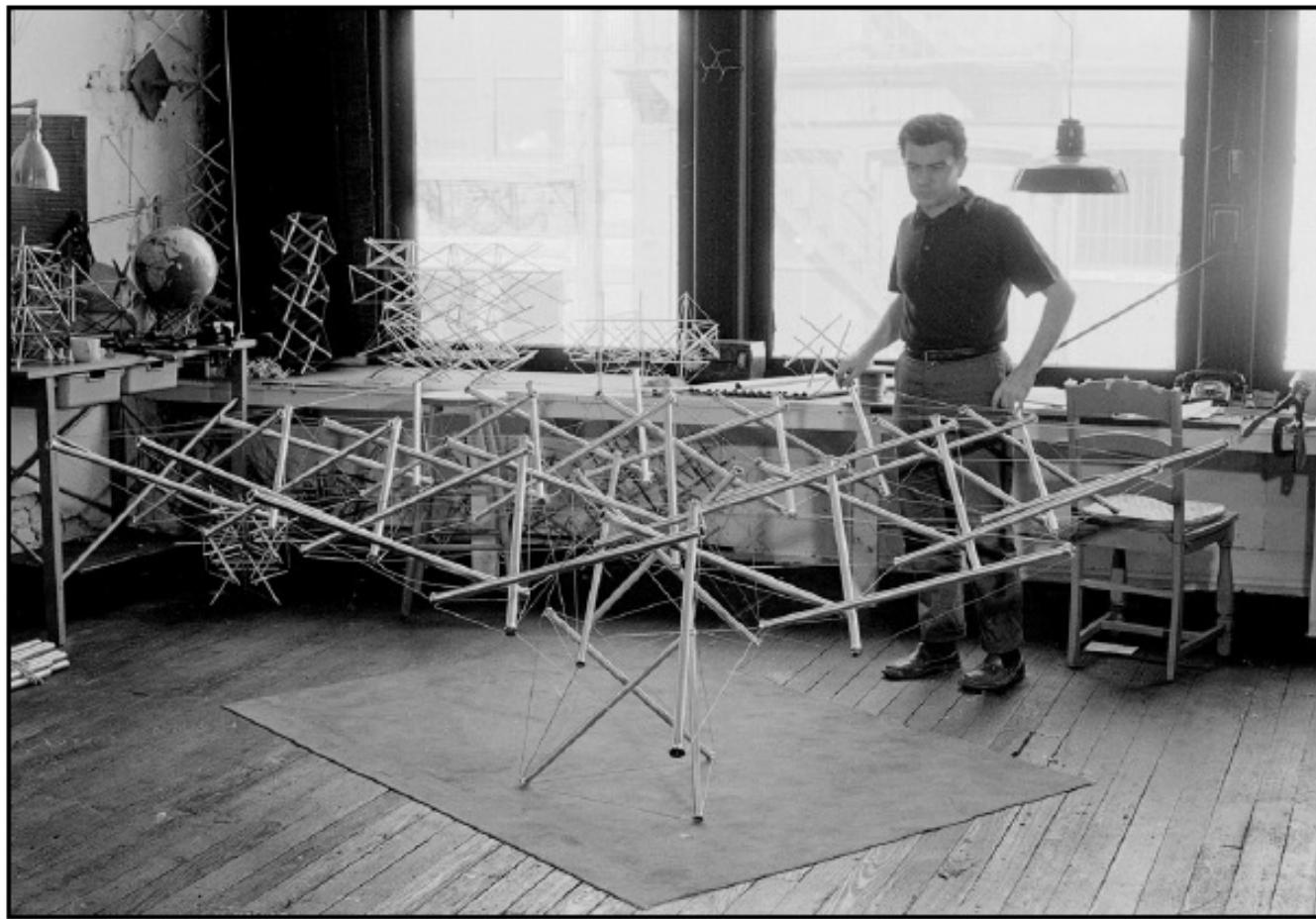


Figure 4: Kenneth Snelson working in his studio in 1961. Illustration donated by the artist.

Кеннет Снельсон работает над созданием самонапряженных конструкций, 1961 год.

Био-Тенсегрити.

Био-Тенсегрити.



Donald E Ingber

Дональд Ингбер (р 1956)

В начале 1970-х Дональд Ингбер (в настоящее время – профессор Гарвардского Университета) применяет принципы Теории Тенсегрити к биологическим системам.

Данное направление называют еще Био-Тенсегрити. Ингбер задумался о том, что цитоскелетные структуры клетки могут образовывать конструкции, подобные самонапряженным конструкциям Фулера и Снельсона.

Био-Тенсегрити.

В середине 1970-х Дональд Ингбер был студентом, изучая молекулярную биофизику и биохимию в Йельском Университете.

Однажды, в 1975 году, он посетил занятие по трехмерному дизайну и скульптуре. Это занятие определило не только его личную судьбу, но и положило начало применению идей Тенсегрити в биологии и биотехнологии.

История эта поистине легендарная, так что ее стоит изложить поподробнее. Однажды Ингбера заинтересовало, что по университетскому кампусу бродят студенты со странными скульптурами, похожими на «геодезические вирусы»

Био-Тенсегрити.

В ответ на расспросы они объяснили, что изучают курс под названием «Трехмерный дизайн». Попытка записаться на курс закончилась неудачей -- слишком уж много было желающих! Но юноша не сдался!

В то время он встречался с девушкой, изучающей скульптуру, и она уговорила преподавателя, которого звали Эрвин Хауэр, выслушать Ингбера.

На недоуменный вопрос, зачем ученому изучать скульптуру, юный Ингбер ответил, что биология, по сути дела, основана на «трехмерном дизайне», привел в пример двойную спираль ДНК и получил разрешение на посещение.

Био-Тенсегрити.

На первом же занятии студенты получили задание изготовить конструкцию из стержней и веревок с условием, чтобы стержни друг друга не касались.

Когда к концу занятия такая конструкция, имеющая шаровидную форму, была изготовлена, лектор толкнул ее. Конструкция потеряла форму и почти распласталась по полу, но через мгновенье шаровидная форма восстановилась!

В этот момент юного Дональда Ингбера осенило! Он понял, что живая клетка представляет собой самонапряженную конструкцию! Как раз тогда он работал с культурами раковых клеток и знал, что в прикрепленном состоянии клетки плоские, а при откреплении от субстрата принимают шаровидную форму.

Био-Тенсегрити.

Когда он вернулся в лабораторию и попытался изложить свои взгляды, то столкнулся с полным непониманием со стороны коллег.

Несмотря на неприятие со стороны научного сообщества, Дональд Ингбер продолжил развивать идею о биологических системах как о самонапряженных конструкциях, став основателем нового научного направления – Био-тенсегрити.

В конце 1970-х большинство биологов представляло себе клетку как эластичную мембрану, в которую заключена вязкая цитоплазма, а изучение клеток виделось прежде всего как изучение свойств веществ, из которых они состоят.

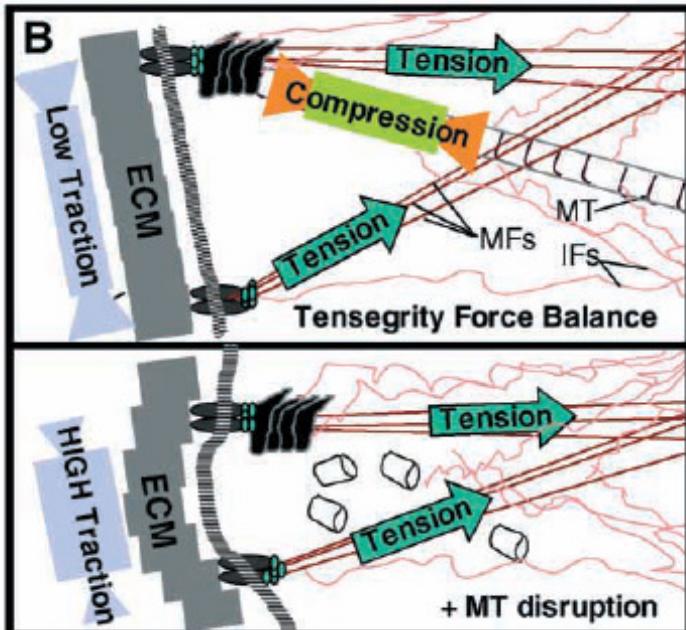
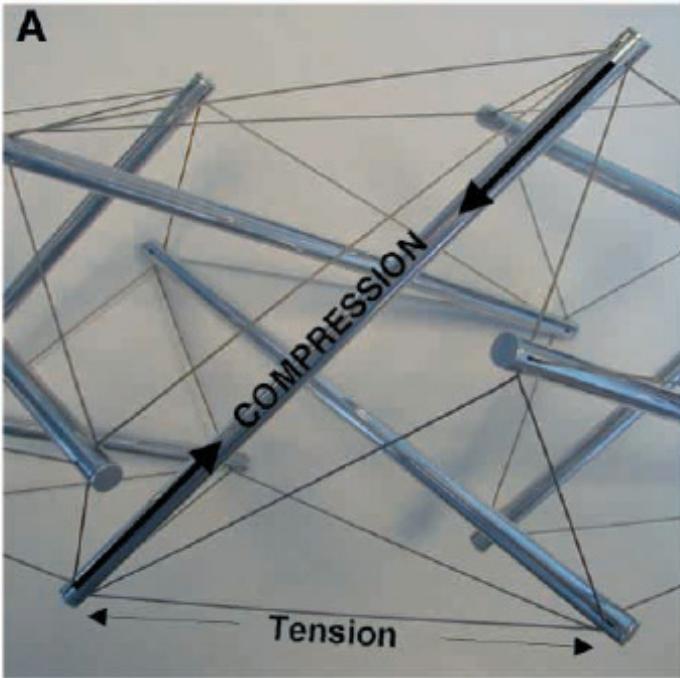
Самонапряженные конструкции и Теория Тенсегрити.

Уже в студенческие годы Ингбер вместо представления о клетке как о «шарике с цитоплазмой» стал развивать представление о клетке как о самонапряженной конструкции

Ингбер рассматривает клетку не как шарик, но скорее, как «палатку», для стабилизации формы которой используются металлические стержни и нейлоновые веревки.

Как раз примерно в те же годы активно изучался цитоскелет, и Ингбер предположил, что в качестве «стержней и веревок», стабилизирующих форму «палатки», могут выступать элементы «цитоскелета» .

Самонапряженные конструкции и Теория Тенсегрити.



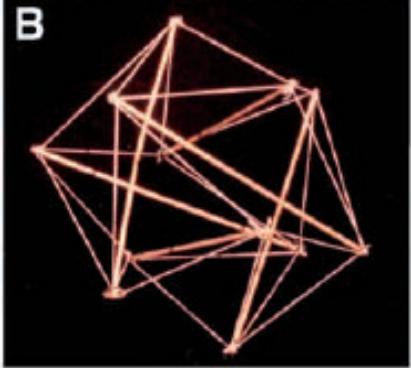
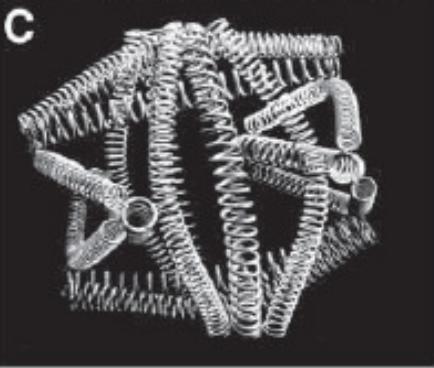
Тенсегрити рассматривает часть клетки как самонапряженную конструкцию.

Микротрубочки подобны упругим стержням, а микрофиламенты и промежуточные филаменты – растягивающим нитям.

Рис А. Часть скульптурной композиции Снельсона. В данной части скульптурной композиции наблюдается баланс между силами напряжения и сжатия, поэтому форма скульптурной композиции стабильна.

Рис В. Схематическая диаграмма, показывающая баланс сил между напряженными микрофиламентами (microfilaments (MFs), промежуточными филаментами (intermediate filaments (IFs), подвергающимися сжатию микротрубочками (microtubules (MTs)) и внеклеточным матриксом (extracellular matrix (ECM)). Сила упругости, порождаемая микротрубочками, частично компенсирует силы натяжения и формирует баланс сил (верхняя часть схемы); при исчезновении микротрубочки возрастают силы натяжения, действующие на клеточные контакты и через них – на внеклеточный матрикс (нижняя часть схемы).

Источник: Ingber D. E. Tensegrity I. Cell structure and hierarchical systems biology. J Cell Sci. 2003 Apr 1;116(Pt 7): 1157-73.

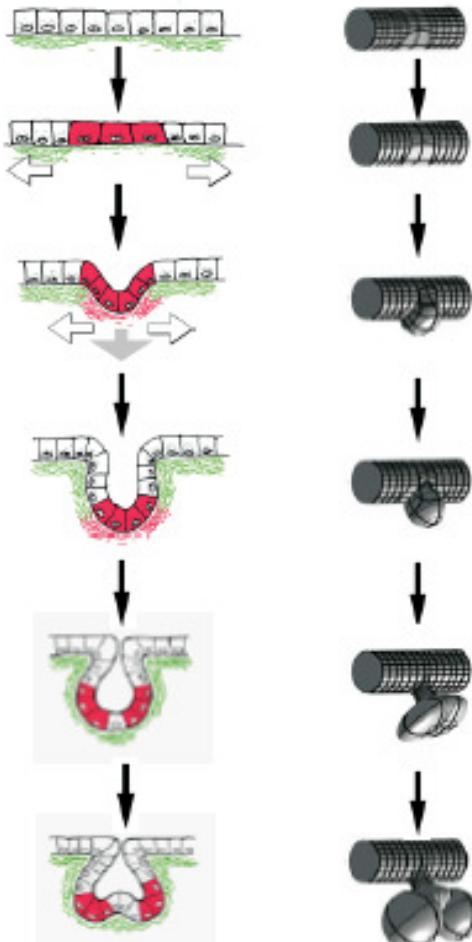
A**B****C**

Еще примеры самонапряженных конструкций и модель клетки как самонапряженной конструкции. Рис. А: Одна из более поздних художественных композиций Кеннета Снельсона, так называемая «Тройная Корона».

Рис. В: конструкция из 6 деревянных стержней и 24 эластичных нитей способна держать форму. Стержни испытывают сжатие, а нити – растяжение. С помощью этой конструкции Дональд Ингбер продемонстрировал, каким образом клетка может поддерживать либо менять свою форму в зависимости от того, как она крепится к субстрату.

Рис. С: Самонапряженная конструкция, целиком составленная из пружин с разными механическими параметрами. Некоторые пружины при этом испытывают сжатие (то есть «работают» как стержни), некоторые – растяжение (то есть выступают в качестве эластичных нитей).

Теория Тенсегрити объясняет морфогенез почкования эпителиальной железы.



Слева: Локальные изменения в структуре внеклеточного матрикса под эпителием приводят к утончению базальной мембраны (зеленым цветом). Она натягивается и продолжает утончаться под воздействием сокращения клеток эпителия соседних участков (показано белыми стрелками) и подлежащей мезенхимой, которая преднатянута (серая стрелка), участок прилежащего эпителия выпячивается (показано красным), так как он связан с мезенхимой через внеклеточный матрикс. Выпячивание связано с еще большим растяжением эпителия, параллельно базальной мемbrane идет деление клеток, и это приводит к повторению почкования железы.

Справа: теоритически предсказанное распределение механических напряжений в базальной мемbrane в ходе морфогенеза эпителиальной железы. Увеличенное расстояние между линиями указывает на участки базальной мембраны, которые утончены и подвергаются растяжению, именно с такими участками связано образование новых выпячиваний.

Многоуровневая организация живого с точки зрения теории Тенсегрити.

Уровень организации	Структуры, испытывающие сжатие	Структуры, испытывающие напряжение	Структуры, отвечающие за передачу механического воздействия на смежные уровни	Источник информации
Биомолекулы (на примере белков и ДНК)	α -спиралы, β -укладки более жесткие участки ДНК	Гибкие области белковых молекул; более гибкие участки ДНК	Элементы цитоскелета, связывающиеся с белковыми молекулами и ДНК.	Zanotti, Guerra, 2003; Liedl et al. 2010; Zheng et al., 2009; Ingber, 2010
Ядро	Жестко упакованные участки хромосом	Менее упакованные участки хромосом,	Элементы ядерного цитоскелета связывают с уровнем биомолекул. Промежуточные филаменты связывают с уровнем целой клетки.	Ingber, 1993
Клетка	Микротрубочки	Микрофиламенты	Промежуточные филаменты связывают с уровнем клеточного ядра. Элементы внеклеточного матрикса связывают с тканевым уровнем.	Ingber, Jamieson, 1985; Ingber, 1993; Ingber, 2003;
Ткань (на примере костной ткани)	Элементы костной ткани, особенно ориентированные в медианном аспекте	Элементы костной ткани, особенно ориентированные в латеральном аспекте.	Элементы внеклеточного матрикса.	Chen, Ingber, 1999; Swanson, 2013
Орган (на примере легких)	Ребра	Система соединительно-тканых волокон.	Соединительная ткань, мышцы.	Maina, 2007; Weibel, 2009; Swanson, 2013
Система органов (на примере опорно-двигательного аппарата)	Кости.	Мышцы и связки.	Мышцы, связки и элементы соединительной ткани.	Swanson, 2013
Целый организм (на примере организма человека)	Кости	Мышцы, связки и элементы соединительной ткани.	Мышцы, связки и элементы соединительной ткани.	Swanson, 2013

Основная критика Теории Тенсегрити:

- Все многообразие живых форм Ингбер сводит к самонапряженным фуллеровским конструкциям.
- Представление о микротрубочках как твердых стержнях, а об актиновых и промежуточных филаментах как об эластичных нитях – довольно грубая аналогия, ведь в реальности крупные биологические молекулы очень динамичны, а их физические свойства сложно описать в терминах классической механики.

Тем не менее, Теория Тенсегрити имеет несколько очень сильных сторон:

- Универсальность. Тенсегрити объясняет поддержание формы биологических структур на разных уровнях (од субклеточных до целого организма), причем как в статике, так в динамике.
- Общий принцип, лежащий в основе биологических структур. Теория объясняет и предсказывает сложное поведение различных биологических структур, исходя из общего принципа (живая система как самонапряженная конструкция).
- Модульность и самоподобие. Тенсегрити показывает модульность организации живого организма. Модульность лежит в основе иерархии структур в строении организма.
- Принцип обратной связи. Механические напряжения порождаются внутри клеток, но являются также внешними регуляторами идущих внутри клеток процессов.

Несмотря на несколько упрощенный подход к объяснению феномена живого, теория Тенсегрити – интереснейшая попытка современных биологов объяснить загадку биологического морфогенеза и поддержания биологической формы, исходя из простых принципов самоорганизации.

Динамическая Морфомеханика.

Теория Морфогенетического Поля А.Г. Гурвича



Fig. 4. Alexander Gavrilovich Gurwitsch (1874-1954). (From archives of L. Belousov.)

Теория Морфогенетического поля (Теория Биополя).

Была выдвинута в начале XX века А. Г. Гурвичем (1874-1954 гг.)

Гурвич считал, что клетки в организме объединяются в единую целостную систему, и судьба клетки зависит от ее положения в целом организме.

Теория Морфогенетического Поля А.Г. Гурвича и Л.В. Белоусов.

У А.Г. Гурвича была нелегкая судьба. То его признавали, то он попадал в опалу.

В конце жизни, после 1948 года, Александр Гаврилович попал в опалу, и уже не занимал никаких официальных постов в науке.

Он работал в домашней лаборатории и организовывал домашние семинары.

Последним его учеником был внук Лев Владимирович Белоусов (сын дочери Натальи Александровны Гурвич).

Динамическая Морфомеханика.

Если Легенда об озарении Дональда Ингбера и рождении Био-Тенсегрити хорошо задокументирована и уже описана в научной литературе, в том числе в интервью Д. Ингбера 2014 года, то Легендарная История про зарождение морфомеханики в Московском Университете ждет еще историков науки.

Как рассказывал сам Лев Владимирович, мысль о ведущей роли механических напряжений в организации морфогенеза зародилась во время беседы с Яковом Дорфманом в буфете с креслами, оплетенными кожаными ремешками. Дорфман дергал за ремешки, и кожаные ремни извивались и деформировались.

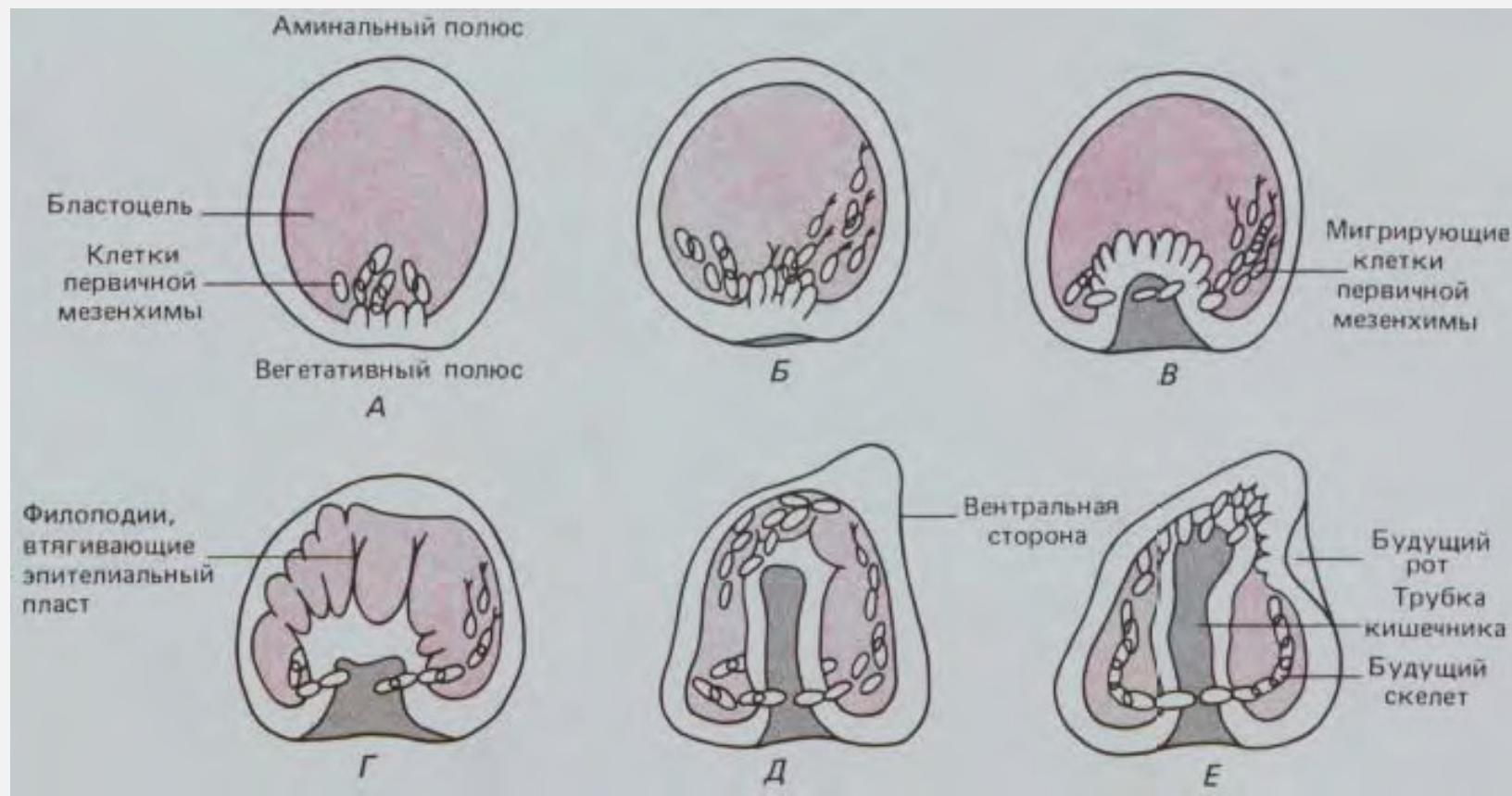
Эти деформирующиеся ремешки демонстрировали реакцию биологических объектов на механические напряжения.

Публикации по морфомеханике прослеживаются с 1976 года (в соавторстве с В.Г. Черданцевым и Я. Дорфманом).

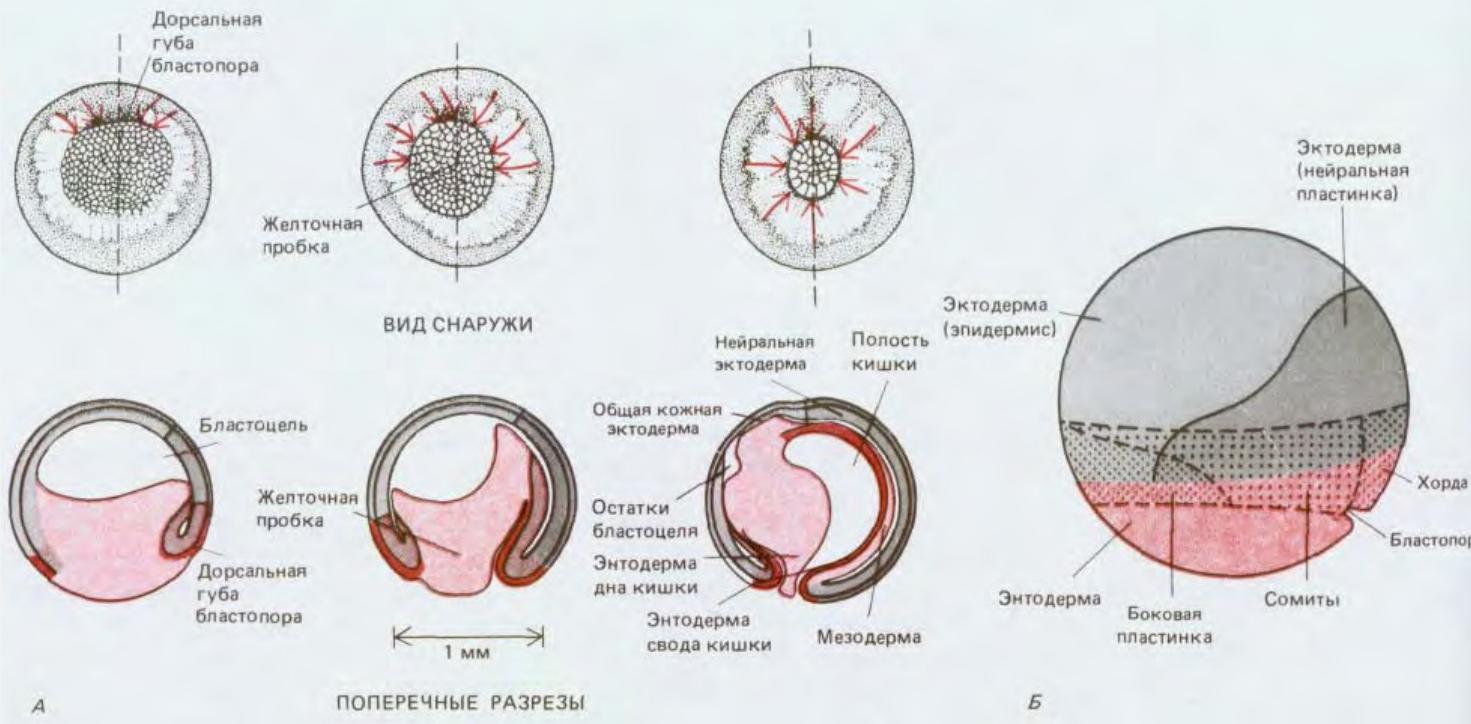
Дополнительная Информация: Краткое описание раннего развития у амфибий.

На уровне массового сознания бластулу обычно представляют как однослойный полый шарик, а гаструляцию - как вворачивание одной из половинок внутрь шарика и образование двуслойного зародыша.

Это верно лишь отчасти. Рассмотрим подробнее процесс гаструляции у иглокожих (морской еж) и амфибий.

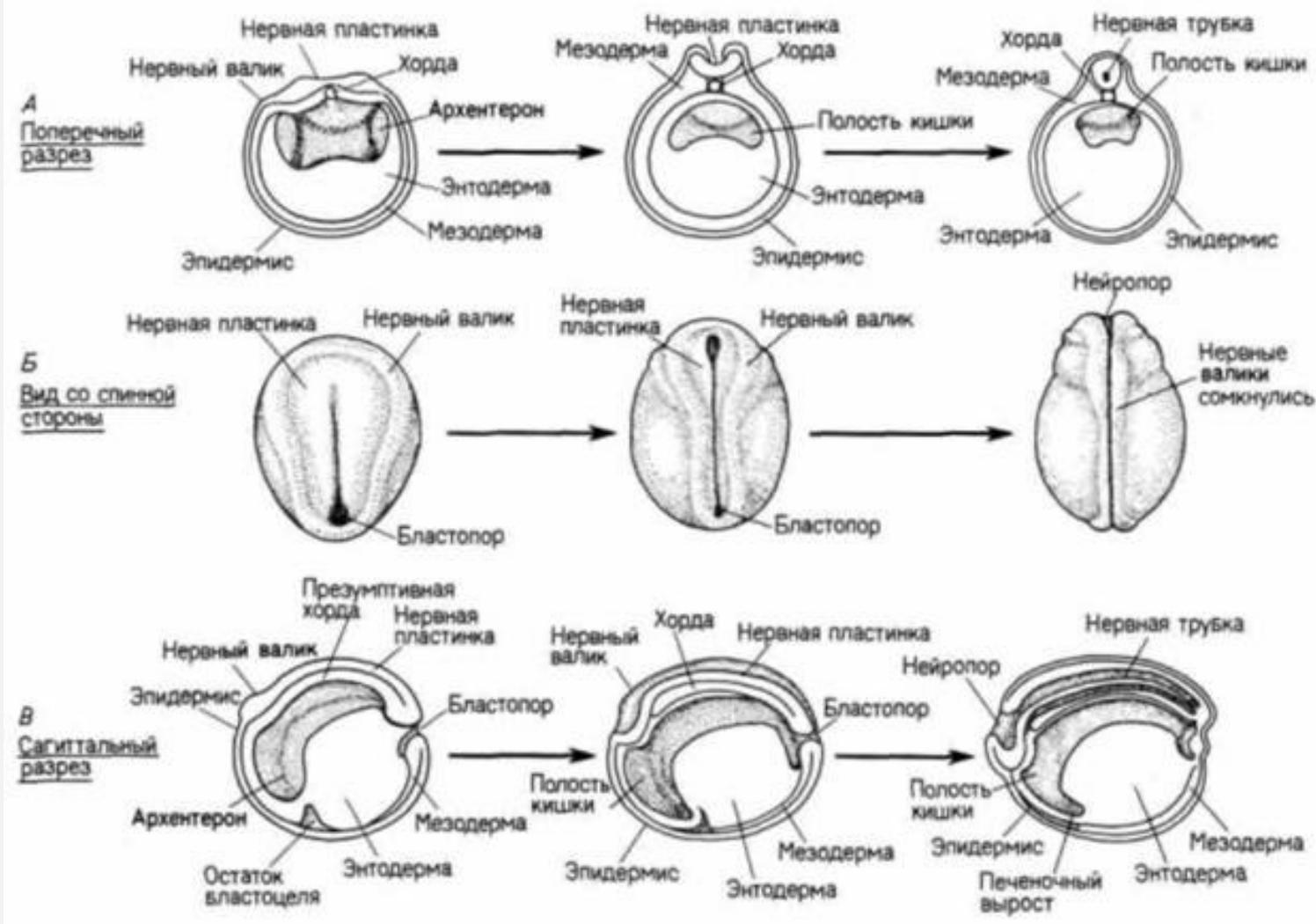


Гастроуляция у морского ежа. На вегетативном полюсе бластулы от ее стенки отделяются клетки первичной мезенхимы (А). Эти клетки «ползут» вверх по внутренней поверхности стенки бластулы (Б). В это время стенка бластулы в области вегетативного полюса (вегетативная пластина) начинает впячиваться внутрь (В). Клетки на верхушке инвагинирующей вегетативной пластины образуют филоподии, прикрепляющиеся к поверхности внутренней стенки бластоцеля и подтягивающие ее дальше в глубь бластоцеля, образуя полость первичной кишки (Г, Д). Конец кишечной трубы вступает в контакт со стенкой бластулы; в этом месте впоследствии возникает ротовое отверстие (Е).



А. Гастроуляция у *Xenopus*. Внешний вид эмбриона (вверху) представлен со стороны вегетативного полюса; поперечные разрезы (внизу) проходят в плоскости, показанной штриховой линией. Направление движения клеток указано стрелками.

Б. Карта презумптивных зачатков раннего эмбриона *Xenopus* (вид сбоку) с начала гастроуляции указывает на происхождение клеток, которые вследствие гастроуляционных движений примут участие в формировании трех зародышевых листков. Различные части мезодермы (боковая пластинка, сомиты, хорда) происходят из более глубоко расположенных клеток области, обозначенной точками; другие клетки этой области, в том числе наиболее поверхностные, дадут начало эктодерме (серый цвет, вверху) или энтодерме (различные оттенки красного цвета, внизу)



Процесс нейруляции у амфибий, изображенный в трех проекциях (А. Б. В) на стадиях ранней (слева), средней (в центре) и поздней (справа) нейрулы.

А Поперечные разрезы через середину зародыша.

Б. Вид на целый зародыш со спинной стороны.

В. Сагиттальные разрезы через медианную плоскость зародыша.

Динамическая Морфомеханика.

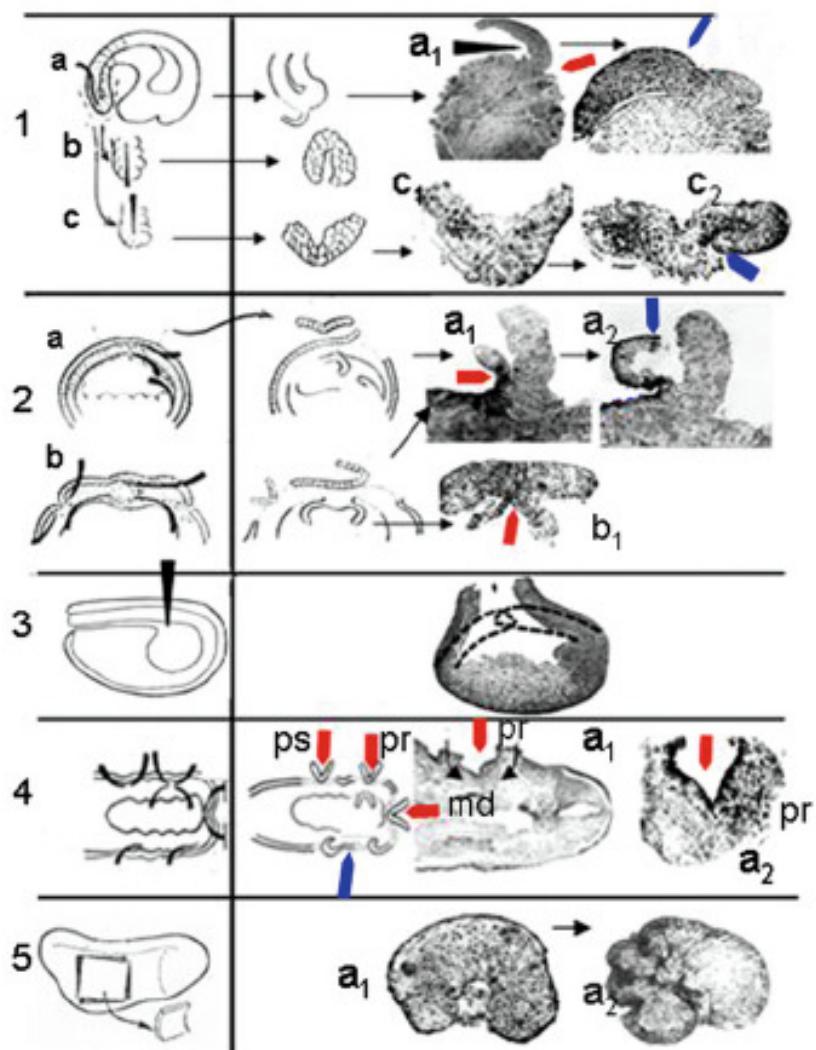


Fig. 3.1 Localizing main mechanical stresses in early gastrula—tail bud stages of *Rana temporaria* embryos (rows 1–4) by local incisions (black wedges). Left column schemes of operations. Next frames to the right, in succession: sketches and shots of fast deformations (red pointers); shots of the delayed (active) deformations (blue pointers). Successive steps of deformations are connected by arrows. Row 5 active delayed deformations of extirpated fragments of lateral ectoderm with underlined mesoderm. From Belousov et al. (1975), modified

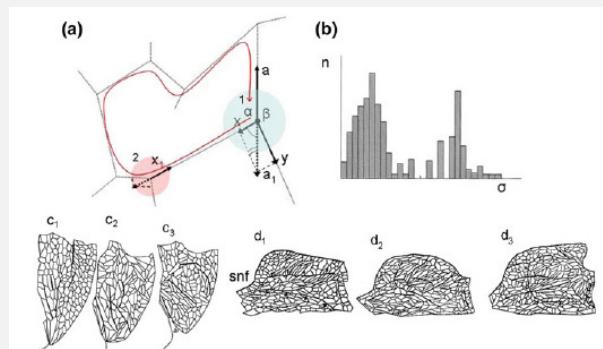


Fig. 3.2 Some results of the mechanical inverse methods. a Scheme of measurements. Colored are cell nodules 1, 2 measured in succession. Red line depicts measurements pathways ending in the initial point. B A markedly bimodal tensions distribution in a representative area of embryonic tissue. c_1-c_3 Evolution of tensile patterns in the dorsal blastoporal lip during gastrulation. d_1-d_3 Same in the left part of neural plate during neurulation. Dense lines are those of maximal tensions. Subneurula fold *Snf*. b-d Are from Belousov and Lakirev (1988)

Используя очень простые методы (микрохирургические надрезы на зародышах и анализ гистологических срезов, Лев Владимирович и его коллеги показали наличие механических напряжений в эмбрионах, более того, для разных стадий раннего развития были характерны определенные паттерны).

Belousov. Morphomechanics of Development. Springer. – 2015. – 195 p.

Динамическая Морфомеханика.

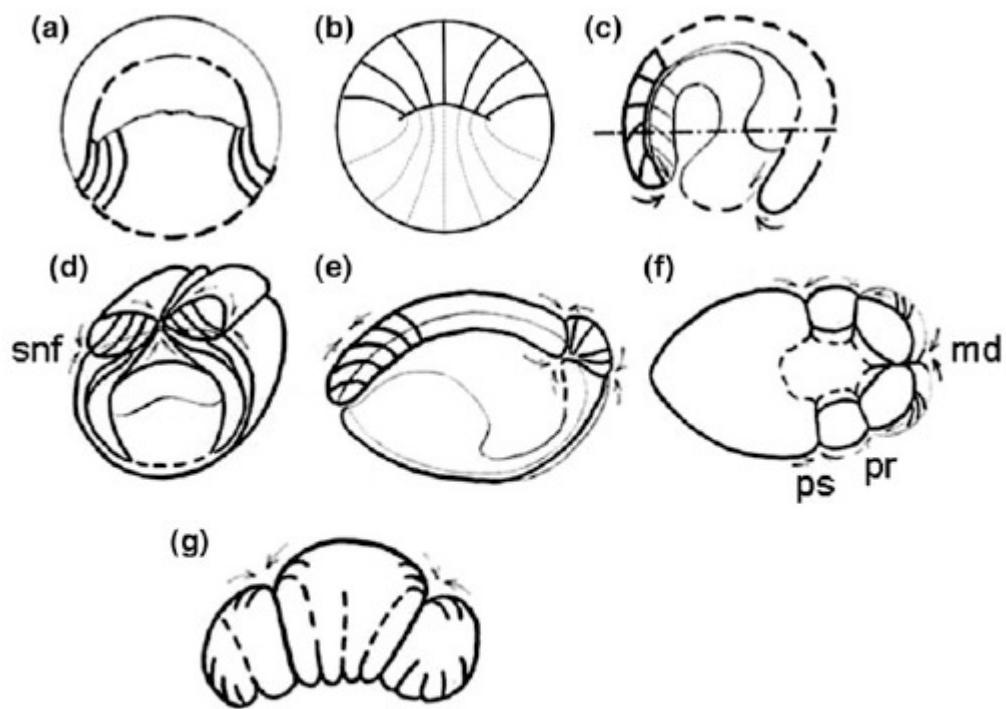


Fig. 3.3 Maps of mechanical stresses at successive developmental periods of amphibian embryos. a Late blastula stage, cross section. b Early gastrula stage, surface view from vegetal pole. Dotted curves display largely dispersed parts of tension lines. c Mid-blastula stage, cross section. d Early neurula stage, cross section of the trunk part. e Early tail bud, saggital section. f Advanced tail bud stage, frontal section. g Ectomesodermal fragment, 15 min after extirpation from a tail bud stage embryo. Dense contours depict lines of extensive tensions. Arrows are converging toward tension nodules

Примечательно, что механические напряжения не были изоморфными, для разных стадий раннего развития были характерны определенные паттерны).

Belousov.
Morphomechanics of
Development. Springer. –
2015. – 195 p.

Динамическая Морфомеханика.

В первой половине 1980-х Лев Владимирович активной сотрудничает с Борисом Белинцевым. Начинаются работы по моделированию роли механических напряжений в раннем морфогенезе амфибий.

Очень простой и удачной моделью была модель разбиения закрепленного пласта на 2 домена.

Белинцев Б. Н. (Под редакцией М.В. Волькенштейна). Физические Основы Биологического Формообразования. М.: Наука. 1991. – 253 с.

Динамическая Морфомеханика.

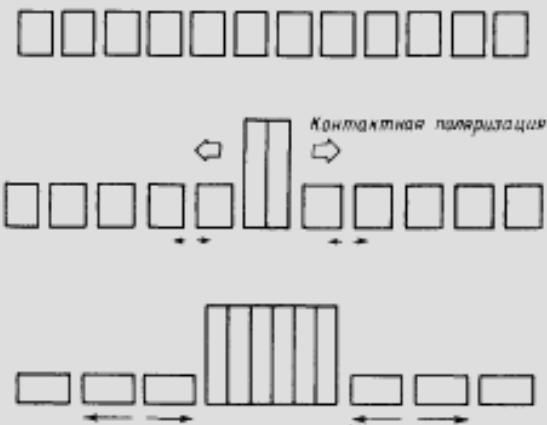
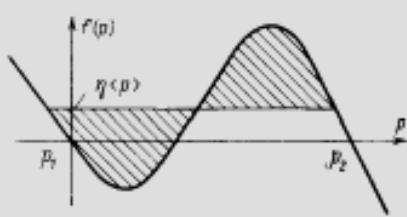


Рис. 37. Иллюстрация к механизму самоограничения расширяющейся зоны клеточной поляризации за счет нарастающих упругих напряжений

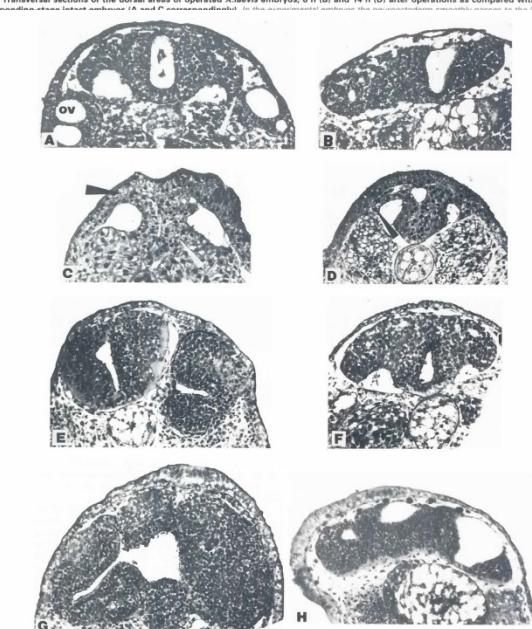
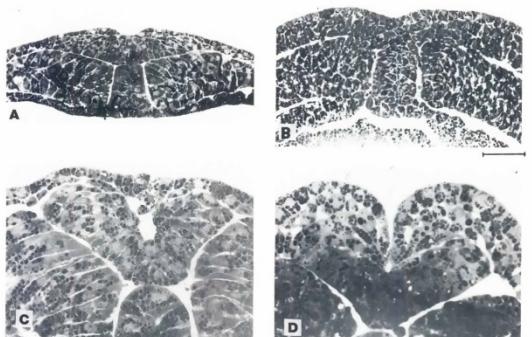
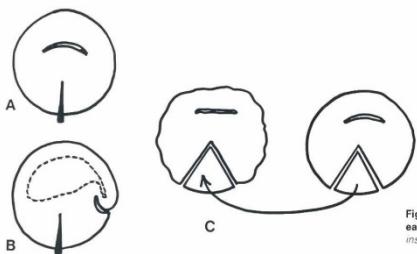
Рис. 38. Графическое определение параметров p_1 , p_2 , $\langle p \rangle$ доменной структуры клеточной поляризации $\bar{p}(x)$ для стационарного решения уравнения (8)



1. Клетки способны к поляризации, при этом они вытягиваются в высоту и уменьшаются в ширину.
2. После того, как клетка поляризована, она может стимулировать поляризацию в соседней клетке.
3. За счет того, что клетки уменьшаются в ширину, пласт натягивается.
4. Существует определенный критический уровень натяжения клетки, выше которого контактная поляризация тормозится.

Экспериментальные данные подтвердили эту модель.

Динамическая Морфомеханика.



Релаксация механических напряжений на стадии ранней гаструлы приводила к расширению нейрального домена, увеличению количества нервной ткани, аномалиям в строении зародышевой нервной системы (удвоению и даже утроению нервной трубки).

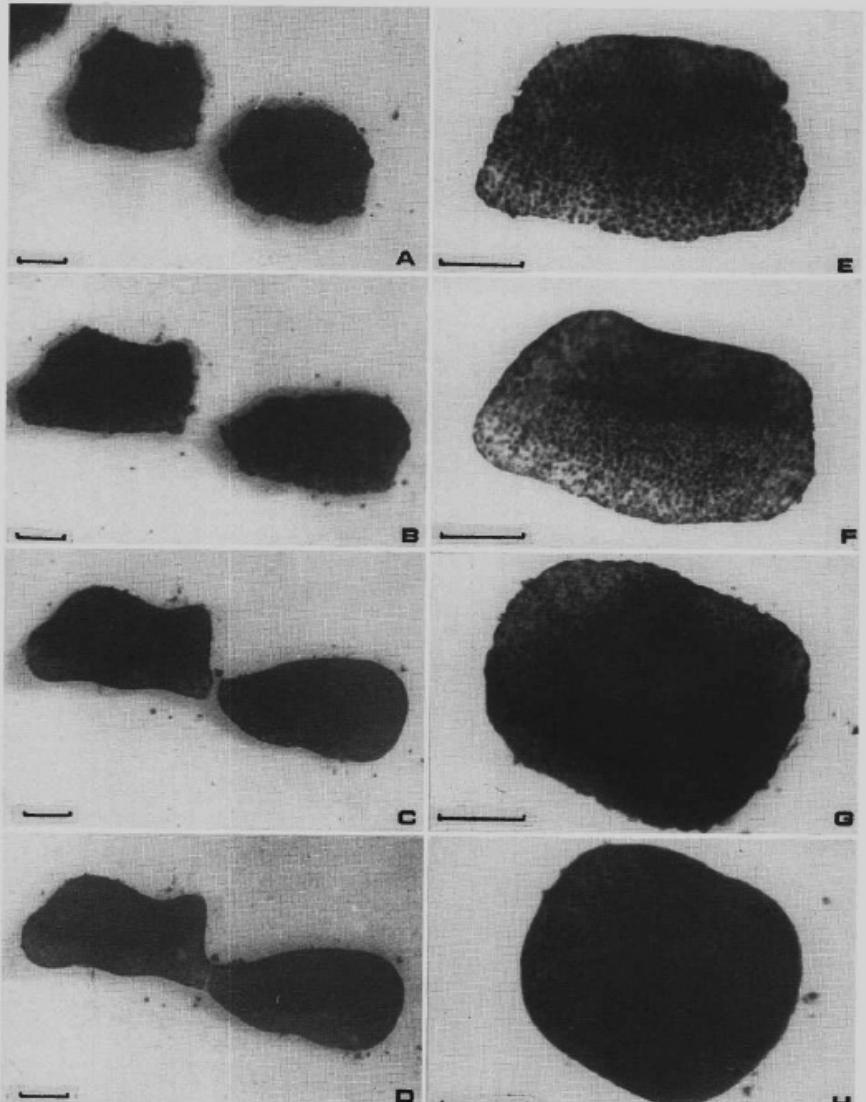
Belousov LV, Lakirev AV, Naumidi II, Novoselov VV. Effects of relaxation of mechanical tensions upon the early morphogenesis of *Xenopus laevis* embryos. Int J Dev Biol. 1990. 34(4):409-19.

Динамическая Морфомеханика.

В 1988 году в совместной работе с А. Лакиревым и И. Наумиди, Львом Владимировичем было показано, что искусственно приложенные натяжения могут ре-ориентировать направление латеромедиальной интеркаляции в эксплантатах дорсальной губы бластопора.

В серии экспериментов по искусственно механическому воздействию на прикрепленные к субстрату эксплантаты было показано, механические силы вызывают клеточные перестройки, приводящие к изменению формы эксплантата, в том числе и в материале боковых и центральной губ бластопора.

Fig. 3. In vivo photomicrographs of the shape changes in the latex-adhered explant. Stretching direction is horizontal. (A–D) The same pair of explants before stretching (A), immediately after the cessation of 0.5 h stretching (B), 2 h later (C), and 4 h later (D). (E) An explant immediately after cessation of 0.5 h stretching (F) the same explant 2 h later. (G) An explant immediately after placement on a latex film and (D) the same explant, nonstretched, 2 h later. Note a substantial spontaneous contraction of the nonstretched explant. Bar is 200 μ m.



Теория Белоусова-Миттенталя.

Накапливается большой фактический материал.

В начале 1990-х Лев Владимирович обсуждает свои идеи в США с американским пост-доком Миттенталем, и в 1992м году в первой редакции были опубликованы тезисно основы Теории Белоусова-Миттенталя.

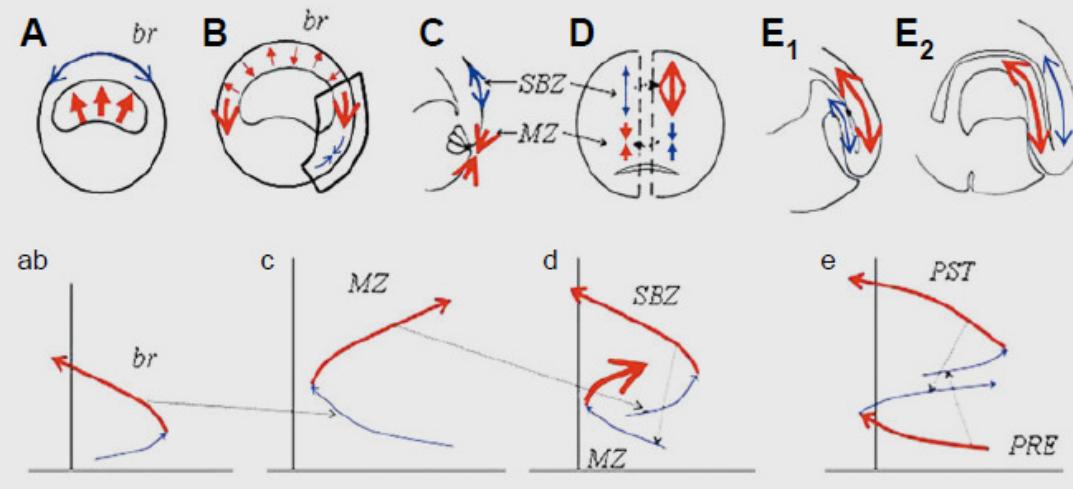
Можно назвать эту теорию динамической морфомеханикой. Сам Лев Владимирович в конце жизни применял термины «морфодинамика», «гипервосстановление механических напряжений» и «качели».

Теория Белоусова-Миттенталя (динамическая морфомеханика)

- Механические напряжения влияют на живые ткани.
- Живые клетки и ткани могут порождать механические напряжения.
- Пассивные и активные напряжения взаимодействуют через живые структуры в ходе развития.
- Порождаемые тканями активные механические напряжения направлены на компенсацию механического воздействия на ткани.
- В ходе развития живые системы могут «проскаакивать» через точку равновесия

Объяснение раннего морфогенеза амфибий с точки зрения Теории Белоусова-Миттенталя.

Fig. 1. Biomechanical interpretation of gastrulation events in amphibian embryos. (A-D, E₁, E₂) Biomechanical "maps" of successive stages and most important regions of embryos. Active forces are displayed by red arrows, while passive stresses are indicated by blue arrows. (A) Stretching of the blastocoel (br) roof by turgor pressure in the blastocoel. (B) RCI in the blastocoel roof producing pressure forces onto vegetal regions. (C) A detailed scheme of the region framed in (B). (D) Two alternating phases of biomechanical interactions between the marginal zone (MZ) and the suprablastoporal zone (SBZ). (E₁, E₂) Successive stages of the involution in sagittal section.



Frames (ab, c, d, e) display suggested hyper-restoration responses that correspond to the upper row frames indicated by the same capital letters (ab corresponds to A and B together). Dotted arrows connect the active branches of preceding hyper-restoration responses with the shifts of stress values which they produce in the neighboring parts of embryos triggering the latter's active responses. Pre, preinvolved; pst, postinvolved layer.

«Активные механические силы» изображены красным.

«Пассивные механические силы» изображены синим.

Порождаемые зародышевыми тканями «активные силы» стремятся скомпенсировать действие «пассивных сил»

Система «проскаивает» точку равновесия.

Belousov LV, Luchinskaya NN, Ermakov AS, Glagoleva NS. Gastrulation in amphibian embryos, regarded as a succession of biomechanical feedback events. Int J Dev Biol. 2006;50(2-3):113-22.



Лев Владимирович
Белоусов
(1935-2017)

Лев Владимирович Белоусов будет служить для нас и для будущих поколений эталоном ученого, интеллектуальным и нравственным идеалом. Почти всю жизнь ему приходилось выдерживать шквал жестокой критики.

-«Борьба с идеализмом»

-Критика холистического подхода редукционистами.

-Критика А.Г. Гурвича, в том числе концепции «биополя»

-Критика по типу «у живых объектов нет механических свойств»

-Критика за простоту и дешевизну методов.

Большую часть жизни Лев Владимирович проработал в условиях неприятия его идей.

Активный интерес к роли механических факторов в регуляции биологических систем начинается на Западе с конца 1990-х.

Начинают активно изучаться механочувствительные каналы и механотрансдукцию -- сигнальные механизмы, отвечающие за рецепцию механических воздействий и перепрограммирование свойств клеток, называется «механотрансдукцией». В

В последние годы становится понятным, что центральную роль в механотрансдукции в ходе индивидуального развития и поддержания тканей играют регуляторы транскрипции YAP (YES-associated protein) и транскрипционный ко-активатор TAZ (transcriptional coactivator with PDZ-binding motif), которые являются своего рода сенсорами физического состояния клеток и внешних механических сигналов.

Связь между механикой ткани и экспрессией генов было показана еще начале 2000-х. Эммануэля Фарж и его коллеги открыли, что экспрессия гена *twist* запускалась в клетках зародышей дрозофилы на ранних стадиях при механическом воздействии на эмбрионы.

Позже исследователи из той же лаборатории показали, что и в нормальном развитии эмбрионов дрозофилы необходимо сжатие определенных областей зародыша (формирующийся кишечник) для запуска экспрессии гена *twist*.

Основные выводы.

1. Трудно быть гением. Трудно быть первооткрывателем.
2. Признание новых идей в науке может занимать десятилетия.
3. Нужно беречь здоровье и стараться долго жить.
4. Можно говорить о формировании в последние годы новой науки на стыке биологии и физики – морфомеханики. В ее основу легли 2 концепции, одна из которых больше ориентирована на статику, а вторая – на динамику.
5. Применяются экспериментальные исследовательские подходы, касающиеся механических аспектов существования и динамики разных уровней организации живого – от молекулярного до организменного.
6. Можно говорить, что исследования в области механики живого, в том числе на молекулярном уровне, только начинаются, в ближайшее столетие мы увидим впечатляющее развитие этой области знаний!

Дополнительные Слайды:

Некоторые доказательства объяснение раннего морфогенеза амфибий с точки зрения Теории Белоусова-Миттенталя.

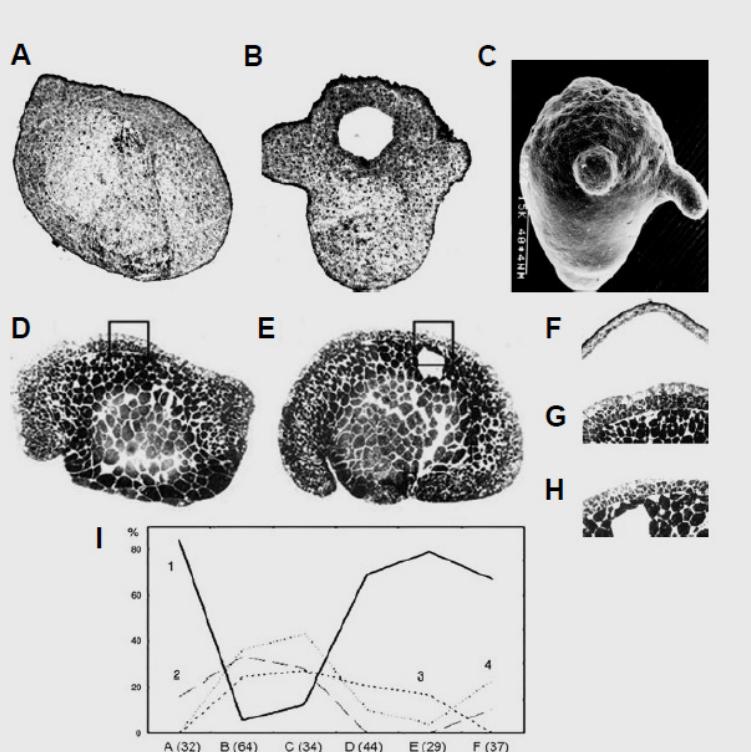


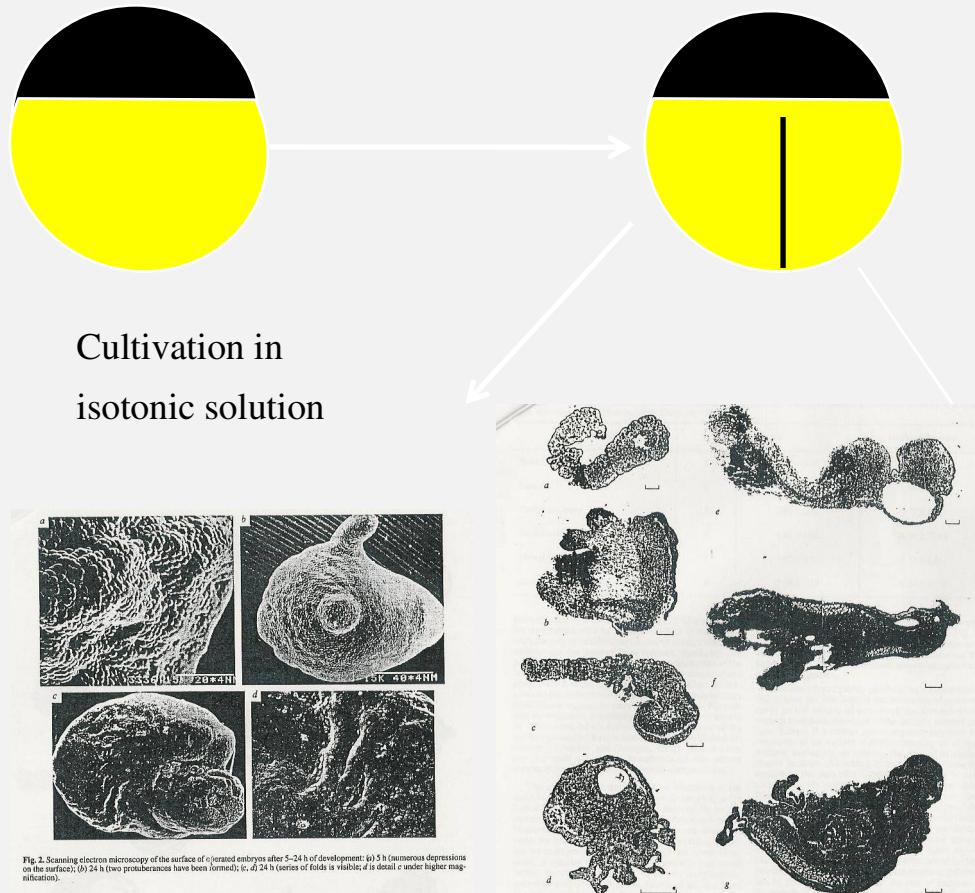
Fig. 3. Results of relaxation of tensile stresses at the surface of the late blastula stage of *X. laevis* embryos. (A) An embryo with a wedge-shaped implant causing relaxation, 1 h after operation. (B) A similar embryo, 5 h after operation. (C) Scanning electron microscopy view of a relaxed embryo, 1 day after operation. Note two extensive protrusions which stretch the surrounding tissue areas. (D) A sagittal semi-thin section of a relaxed embryo maintained for 5 h in 50% MMR solution. (E) A similarly treated embryo maintained for the same time period in 25-fold diluted MMR, tensions being considerably restored. (F) Fragment of the blastocoel roof of an intact embryo of the same age as (B). (G,H) Similar fragments from (D,E) embryos, respectively. Note the reduction of the number of cell layers in (F) as compared with (B) and in (H) as compared with (G), indicating the renewal of RCI after incubation in hypotonic solution. (I) A diagram summarizing the results of "stress therapy" of the relaxed embryos. (A) Control group; (B) relaxation by a frontally oriented radial cut through a vegetal embryo region; (C) a similar relaxation by a sagittally oriented radial cut; (D) embryos incubated in a hypotonical (25-fold diluted) MMR after frontally oriented cut; (E) similarly treated embryos after sagittally oriented cut; (F) frontally oriented cut followed by stretching of the embryos. Figures in brackets give the number of samples in the corresponding series. Vertical axis, percent of normalized and abnormal embryos 24 h after operations. Graph 1, normal embryos; 2, exogastrulation; 3, incomplete gastrulation; 4, other anomalies. Note a substantial recovery after tension renewal. From Belousov and Ermakov (2001).

Релаксация механических напряжений на стадии поздней бластулы приводит к уменьшению числа слоев крыши бластоцеля в течение нескольких часов после операции и к появлению микроинвагинаций и аномальных хоботообразных структур через стики после операции.

Эти феномены могут интерпретированы как попытка восстановления механических напряжений.

Инкубация зародышей в гипотонической среде приводила к нормализации развития.

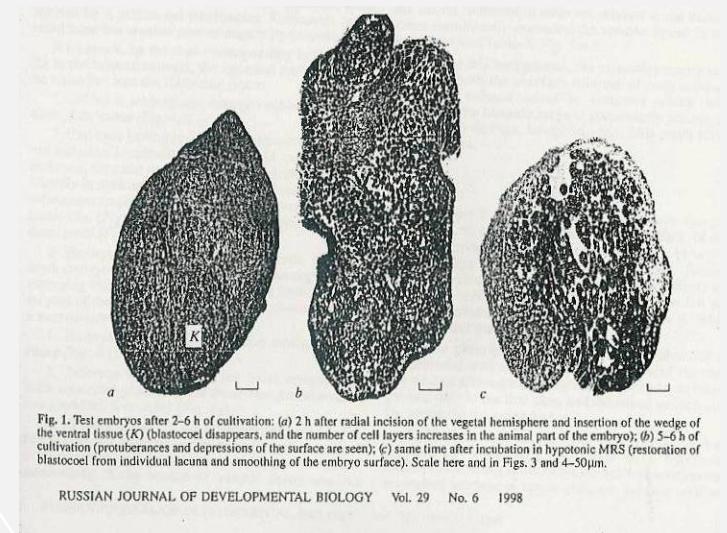
Relaxation of mechanical stresses by the radial cut of the Veg. hemisphere of the late blastula of *X. laevis*



1 day of cultivation, SEM

1.5 days of cultivation,

In isotonic conditions 2 h	In hypotonic conditions 5-6 h	5-6 h
-------------------------------	----------------------------------	-------



cultivation in hypotonic solution leads to normalization of development

Благодарность

Профессор Л.В. Белоусов

Профессор В.Г. Черданцев

Prof Steve Brown

Dr Dominic Norris

Jonathan Stevens

Joan Robson

Dr Ruth Arkel

Dr Jenny Murdoch

Sir I. Wilmut

Dr Paul De Sousa

Prof. Shoumo

Bhattacharya,

Dr Jose Braganca,

Dr Guido Pieles,

Dr Shankar Srinivas

Рекомендуемая Литература:

- 1.Belousov LV, Luchinskaya NN, Ermakov AS, Glagoleva NS. Gastrulation in amphibian embryos, regarded as a succession of biomechanical feedback events. *Int J Dev Biol.* 2006. V.50. № 2-3. P. 113-22.
- 2.Belousov L.V. Self-Organization, Symmetry and Morphomechanics in Prof. Luis Violin Pereira (Ed.). *Development of Organisms, Embryology - Updates and Highlights on Classic Topics.* In Tech, 2012. P. 189-210
- 3.Belousov L.V.,Grabovsky VI Morphomechanics: goals, basic experiments and models// *Int J Dev Biol.* 2006. V. 50. №2-3. P. 81-92.
- 4.Ермаков А. С. Тенсегрити – интегральная теория в современной биологии развития // *Биология в школе.* – 2008.– № 7. – С. 6–9.
- 5.Ермаков А.С. Тенсегрити – механика живого и неживого. *Химия и Жизнь.* - 2015. - .№ 10. – С 32-35.
6. Ермаков А.С. Теория Тенсегрити и Пространственная Организация Живого. *ОНТОГЕНЕЗ,* 2018, том 49, № 2, с. 35–49
- 7.Ingber D.E. Tensegrity I. Cell structure and hierarchical systems Biology// *Journal of Cell Science.* 2003a. V. 116. №7. P. 1157-1173
- 8.Ingber D.E. Tensegrity II. How structural networks influence cellular information processing networks// *Journal of Cell Science.* 2003b. V. 116. № 8. P. 1397-1408.
9. Ingber D.E. Mechanical control of tissue morphogenesis during embryological development// *Int. J. Dev. Biol.* 2006. V. 50. № 2-3. P. 255-266

Контактная Информация:

Александр Сергеевич Ермаков,
кандидат биологических наук,

Старший научный сотрудник Биофака МГУ им М.В.
Ломоносова

ermakov99@mail.ru

asermakov1971@gmail.com

<https://vk.com/id309478492>

<https://www.facebook.com/sasha.ermakov.16>

<https://zhivoi.livejournal.com>