

В. Г. Борхвардт

МЕХАНИЧЕСКИЕ
ПРЕОБРАЗОВАНИЯ
ЖИВЫХ ПОЛОСТНЫХ ТЕЛ

Санкт-Петербург
Издательство РГПУ им. А. И. Герцена
2016

УДК 573.7
ББК 28.63
Б 83

Б 83 **Борхвардт В.Г.** Механические преобразования живых полостных тел. – Изд. 3-е, перераб. – СПб.: Издательство РГПУ им. А. И. Герцена, 2016. –140 с. с ил.

ISBN 978–5–8064–2197–6

Рост растительных клеток и деление животных клеток, движение клеток, образование конечностей, гастрюляция у морского ежа и амфибий, ветвление капилляров, сокращение мышц... Согласно предлагаемой модели в основе всех этих процессов лежит один и тот же механизм.

ББК 28.63

ISBN 978–5–8064–2197–6

© Борхвардт В. Г.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПОЛОСТНЫХ ТЕЛ	5
ВЫПЯЧИВАНИЯ	8
Клетки	8
<i>Клетки, имеющие стенку</i>	9
<i>Клетки, не имеющие стенки</i>	14
Эмбрионы и личинки позвоночных	32
<i>Выпячивания внутренних органов</i>	32
<i>Наружные выпячивания</i>	34
<i>Стяжки</i>	37
Заключение	39
ВПЯЧИВАНИЯ	39
Животные	39
<i>Гаструляция у иглокожих</i>	41
<i>Наружные выпячивания у эмбрионов и личинок позвоночных</i>	47
<i>Внедрение производных внутренних органов в полость тела</i>	50
Клетки	52
<i>Эндоцитоз</i>	52
<i>Деление</i>	55
Заключение	61
ПОЛЗАНИЕ КЛЕТОК	61
ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЙ ТРАНСПОРТ	72

МЫШЕЧНОЕ СОКРАЩЕНИЕ	74
ОБЩЕЕ ЗАКЛЮЧЕНИЕ	90
Универсальная модель	90
Механические факторы в раннем онтогенезе позвоночных	91
Механические факторы в эволюции живых организмов	94
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	96
ИЛЛЮСТРАЦИИ	129

В чем же Коперник видел основное *преимущество* своего астрономического учения? Главным образом в том, что оно гораздо *проще и понятнее* всех прежних теорий объясняет движение планет, а выводы из него лучше согласуются с наблюдениями. “На размышление о другом способе вычисления движения небесных тел, – писал он, – меня навело исключительно разногласие математиков по этому вопросу. [... – ВГ] при установке движений как Солнца, так и пяти планет, они не применяют ни одних и тех же законов, ни одних и тех же предположений, ни одинаковых доказательств”.

Гурев Г.А. 1950. Системы мира. с. 137.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПОЛОСТНЫХ ТЕЛ

Среди живых организмов наибольшей изменчивостью отличаются клетки и протисты, форма которых может меняться в течение всей их жизни. У животных основные формообразовательные процессы совершаются на ранних этапах онтогенеза, когда определяется их внешний вид, появляются, растут и усложняются разные органы. Преобразование клеток, одноклеточных организмов, зародышей (личинок) животных и станет темой нашего обсуждения.

Формообразовательные процессы, протекающие у столь несхожих существ, нередко и сами воспринимаются как совершенно разные. Кажется, что общего может быть, например, в развитии клеточных отростков, почек конечностей, делении клеток, мышечном сокращении? Часто общего и не видят и рассматривают отдельные процессы порознь, создавая для каждого свои модели. Между тем, широкий сравнительный анализ приводит к заключению, что в основе всех процессов, определяющих изменение формы названных выше

объектов, лежит один и тот же механизм, все они протекают по одной схеме.

Почему такое возможно? Такое возможно потому, что все живые организмы и многие их части при всем их разнообразии в принципе устроены одинаково – они являются *замкнутыми полостными телами*, чем кардинально отличаются от природных неорганических образований. Сложные многоклеточные организмы представляют собой настоящую иерархическую систему полостных тел, с которой удобно ознакомиться на примере эмбрионов позвоночных животных. Первичная полость зародышей содержит целом, кишку, нервную трубку, кровеносные сосуды, почечные каналцы. Клетки, входящие в состав этих полостных органов или заполняющие пространство между ними, тоже являются замкнутыми полостными телами. Они, в свою очередь, содержат полостные органеллы – митохондрии, комплексы Гольджи, эндоплазматические сети.

Каждое полостное тело состоит из двух частей: 1) *внутренней массы* и 2) *оболочки*, которая механически отграничивает внутреннюю массу от внешней среды (от *наружной массы*). Оболочка грамотрицательных бактерий представлена одной плазмалеммой, у грамположительных к ней снаружи прилегает стенка, построенная пептидогликанами. У эукариотических клеток плазмалемму подстилает кортекс, составленный в большой мере актиновыми филаментами; его можно считать внутренним слоем оболочки. Клетки растений и грибов добавляют к этим слоям третий – наружную стенку, составленную в основном полисахаридами. Оболочка целых зародышей и личинок животных, а также их полостных органов, состоит из двух слоев. Один из них сложен эпителиальными клетками, второй, базальная мембрана, составлен преимущественно коллагеновыми волокнами.

Что ж такое особенное есть в полостных телах, что заставляет специально подчеркивать их подобное устройство? Особенным является, прежде всего, способ, которым они меняют свои размеры и которым резко отличаются от плотных тел, как органических (например, рог), так и неорганических. На это важно обратить внимание, поскольку различные новообразования появляются как раз при изменении объема тел, особенно при их росте. Плотные тела увели-

чиваются путем присоединения (наслаивания) строительного материала к их поверхности, которая при этом замуровывается в общей массе (рис. 1А). Организмы и их полостные части растут иначе. Их замкнутость не является абсолютной, так как сквозь оболочку могут проходить разные ионы и молекулы; среди них сразу же выделю молекулы воды, поскольку именно на воду приходится основная доля массы клеток и эмбрионов. Пройдя оболочку, строительные материалы добавляются к внутренней массе и увеличивают ее объем. Часть материалов встраивается также в оболочку, которая в результате получает возможность увеличивать свою площадь. Под давлением растущей внутренней массы оболочка удаляется от ее центра (рис. 1Б), так что рост живого тела можно описать как центробежное смещение оболочки. Двигая оболочку, внутренняя масса вынуждена преодолевать сопротивление наружной массы, а чаще всего и самой оболочки. Подобным образом растут и полостные неорганические тела, скажем, надуваемый воздушный шарик; его оболочка, однако, увеличивает свою площадь только за счет растяжения одного и того же материала.

Уменьшение (разрушение) плотных тел, например горных пород, тоже идет с поверхности. Уменьшение полостных тел (сдувание шарика, похудание животного...) затрагивает в основном их внутреннюю массу, при этом оболочка смещается центростремительно.

Природные тела редко представляют собой правильные фигуры, показанные на схематических рисунках 1А (левый) и 1Б. Их форма обычно бывает более сложной и к тому же меняется. Изменение формы плотных тел часто происходит в ходе их неравномерного роста, который, в свою очередь, определяется неравномерным поступлением строительного материала к поверхности (рис. 1А). Так растут кристаллы и сталактиты, так могут расти и плотные части живых организмов, например, роговые.

Действия, в ходе которых меняют форму живые полостные тела, в общем виде обычно называют выпячиваниями или эвагинациями (развитие клеточных отростков, развитие почек конечностей...) и впячиваниями или инвагинациями (развитие эндоцитозных пузырьков, гастрюляция у иглокожих и амфибий...); этими же словами именуют и уже возникшие части (рис. 2Б, В). Специальных определений понятий “выпячивание” и “впячивание” в литературе

нет, они кажутся вполне очевидными. Следующий пример показывает, что не все так просто. Например, в ходе нормальных морфогенезов позвоночных животных дериваты кишки внедряются в первичную полость тела эмбрионов (личинок), и потому их именуют выпячиваниями. Но те же самые выросты кишки, культивируемой *in vitro*, в одной лишь жидкости, воспринимаются, естественно, как выпячивания.

Строго говоря, любое выпячивание одновременно является и впячиванием, поскольку оно *всегда* внедряется в какую-либо массу (см. рис. 2Б). Одним из итогов предстоящей дискуссии как раз должно стать понимание того, что принципиальных различий между выпячиваниями и впячиваниями нет. Выбор этих терминов в значительной мере условен, и сейчас нужно просто оговорить, как они будут использованы в этой книге. Все дериваты, выходящие за границы материнского тела (например, кишки) и заполненные частью его внутренней массы, будем именовать выпячиваниями (эвагинациями), вне зависимости от того, куда они растут (рис. 2Б). Впячиваниями (инвагинациями) будем называть углубления материнского тела, чья оболочка является частью оболочки этого тела, а наполнение – частью наружной массы (рис. 2В).

Итак, вопрос о механизмах трансформации живых полостных тел предстает в следующем виде: *какие силы определяют появление и дальнейшее развитие выпячиваний и впячиваний?* Разговор об этом начнем с выпячиваний, а именно с выпячиваний растительных и им подобных клеток, в отношении которых в научном мире царит почти полное согласие.

ВЫПЯЧИВАНИЯ

Клетки

В англоязычной литературе для краткого определения клеток, обладающих стенкой, употребляют слово “walled”. Соответственно, для клеток, не имеющих стенки, – “unwalled” или “naked”. Подобные термины в русскоязычных трудах мне не известны. К клеткам, у которых стенка есть, я буду применять слово “стеночные“, у которых стенки нет – “бесстеночные“.

Клетки, имеющие стенку

Клеточная стенка представляет собой слой внеклеточного матрикса, плотно прилегающий к плазмалемме. Стенка придает оболочке большую прочность, что позволяет клетке иметь высокое внутреннее давление (тургорное), значительно превышающее наружное. “In general, the process of plant cell growth is driven by the relationship between turgor pressure, controlled water uptake and mechanical cell wall resistance.” (Chebli, Geitmann, 2007, p. 235). Для случая, когда клетка находится внутри однородной жидкой массы, ее механику можно представить в следующем виде. Жидкая внутренняя масса (цитозоль) давит на оболочку клетки *равномерно* по всей ее площади, так же *равномерно* на нее давит наружная масса (см. рис. 2А). Наружная масса и оболочка, главным образом стенка, противостоят тургорному давлению. Если суммарное сопротивление оболочки и наружной массы уравнивает внутреннее давление – размер и форма клетки не меняются. Разбухая, в основном за счет поглощения воды, внутренняя масса растягивает клеточную стенку и двигает ее центробежно – клетка растет. Если стенка механически однородна, клетка растет, но формы не меняет (см. рис. 1Б). Если стенка механически *неоднородна*, клетка растет *неравномерно*, форма ее меняется.

Примером неравномерного роста могут служить растительные клетки, удлиняющиеся на двух противоположных полюсах (см. Harold, 1990; Baluška et al., 2003). Целлюлозные микрофибриллы стенки, окружающие клетку подобно обручам, препятствуют утолщению ее средней части, но позволяют тургорному давлению раздвигать полюса; одновременно в оболочке средней зоны происходит отложение нового материала. Еще больший интерес, в плане нашей общей темы, представляет однонаправленный – верхушечный – рост, который по существу представляет собой продолжительное выпячивание. Посмотрим сначала, как это происходит у пыльцевой трубки высших растений.

Пыльцевое зерно, родоначальник пыльцевой трубки, имеет прочную оболочку – спородерму. Ее внутренний слой, интина, является сплошным, а наружный, экзина, имеет несколько пор, т.е. он механически неоднороден. Поглощая воду, внутренняя масса пыльцы набухает и вместе с интиной выпячивается сквозь экзину в месте, где

ту пронизывает пора; этим выпячиванием начинается развитие (рост) пыльцевой трубки. Продолжая набирать воду, трубка увеличивает свою внутреннюю массу и удлиняется. Секреторные пузырьки приносят к ее верхушке строительный материал, за счет которого здесь формируются новые участки плазмалеммы и клеточной стенки. Эта верхушечная часть имеет форму полусферического купола.

Для более подробного ознакомления с процессом преобразования клеточной стенки воспользуемся картиной роста пыльцевой трубки картофеля (см. Parre, Geitmann, 2005). Стенка на ее верхушке первоначально складывается в основном пектинами. По мере удлинения трубки участки апикальной оболочки пассивно смещаются назад. При этом пектины подвергаются деэтерификации, в результате чего стенка становится более жесткой. На определенном удалении от верхушки к стенке добавляются новые слои, состоящие из целлюлозы и каллозы, что еще более увеличивает ее прочность и, соответственно, сопротивление внутреннему давлению. Искусственное размягчение пектиновой стенки с помощью пектиназы приводило к шаровидному разбуханию верхушки, а при увеличении дозы фермента – к ее разрушению. Разрушить верхушку пыльцевой трубки можно не только ослаблением ее стенки, но и увеличением тургорного давления (Benkert et al., 1997).

Таким образом, растущая внутренняя масса проталкивает (выпячивает) стенку пыльцевой трубки и продвигается сама только на вершине – там, где новообразующаяся мягкая стенка оказывает наименьшее сопротивление давлению цитозоля. Нормальный рост трубки поддерживается определенным соотношением величины тургорного давления и прочности боковых и верхушечной стенок. С такой моделью вполне согласуются результаты экспериментов, когда пыльцевые трубки выращивали в анизотонических растворах. В гипертонической среде тургор падал и рост пыльцевых трубок замедлялся, в гипотонической – тургор увеличивался и рост ускорялся (Pierson et al., 1994; Messerli, Robinson, 2003; Zonia et al., 2006). Весьма демонстративны опыты с культивированием пыльцевых трубок в растворе, приготовленном на тяжелой воде (D_2O). По химическим свойствам эта вода не отличается от обычной (H_2O), но ее более крупные молекулы гораздо хуже проходят через клеточную мембрану. Пыльцевые трубки, культивируемые в тяжелой воде, росли намного медленнее, чем в обычной (Zonia et al., 2006).

Пыльцевые трубки удлиняются неравномерно, их рост то ускоряется, то замедляется. Эти изменения являются вполне упорядоченными, причем их рисунок оказывается разным у разных представителей. У *Lilium longiflorum*, например, скорость роста периодически менялась от 0,1 до 0,4 мкм в секунду (Messerli et al., 1999), а смена периодов быстрого и медленного роста происходила через 20-50 секунд (Pierson et al., 1996). У других растений наблюдали долгие (3-8 минут) фазы медленного роста, которые сменялись короткими (несколько секунд) фазами бурного роста (Chebli, Geitmann, 2007). На крупные колебания могут накладываться более мелкие (Moreno et al., 2007). Причину ростовых колебаний видят в чередующихся изменениях величины тургорного давления и/или прочности надстраиваемой апикальной стенки (см. Holdaway-Clarke et al., 1997; Messerli et al., 2000; Messerli, Robinson, 2003; Chebli, Geitmann, 2007; Moreno et al., 2007). Если причиной упорядоченных изменений темпов роста являются изменения тургора, последние должны быть столь же упорядоченными. Отсюда следует, что растущие пыльцевые трубки способны регулировать внутреннее давление. Это осуществляется, в частности, за счет *контролируемого* ввода воды (см. выше цитату из работы Chebli, Geitmann, 2007).

Строение и способ роста еще одного популярного объекта морфогенетических исследований – корневого волоска (Hepler et al., 2001; Cole, Fowler, 2006) – в основных чертах соответствует описанию, приведенному для пыльцевой трубки. Не отличается принципиально и рост гифы – жизненной формы грибов и оомицетов. Гифа тоже представляет собой трубку, часто ветвящуюся. Каждая ветвь растет на верхушке, имеющей вид полусферического купола. Секреторные пузырьки приносят к верхушке строительный материал; новая стенка оказывается более пластичной, чем старые участки; тургорное давление продвигает верхушечную стенку, удлиняя таким путем трубку; гифы растут неравномерно – то быстрее, то медленнее (Saunders, Trinci, 1979; Gray et al., 1990; Harold, 1990, 2002; Wessels, 1993; Lopéz-Franco et al., 1994; Money, 2001; Ma et al., 2005; Taheri-Taless et al., 2008). В местах формирования (выпячивания) новых ветвей стенка материнской гифы размягчается (Saunders, Trinci, 1979) или истончается (Mullins, Ellis, 1974).

Для полноты картины, иллюстрирующей однотипность механизма поляризованного роста стеночных клеток, приведу еще не-

сколько примеров. Первый касается развития ризоидов водоросли *Fucus*. На верхушке ризоида, выпячивающегося из зиготы, "...the cell wall is weakest" (Taylor et al., 1996, Fig. 10, подпись); эта слабость определяется истончением апикальной клеточной стенки (Brawley, Robinson, 1985, Figs. 3-6; Harold, 1990). Второй пример добавляет к списку еще одну группу – почкующиеся дрожжи; в месте образования почки (выпячивания) стенка клетки размягчается (Cabib et al., 1989). Последний пример дают грамположительные бактерии: "Since bacteria have no internal skeleton or muscle-like organs to create [разные и нередко сложные – ВБ] forms, the shapes must somewhat result from turgor pressure and from the restraining forces supplied by the cell wall. Any shape other than a sphere implies asymmetries or nonuniformities in the properties of the wall." (Koch, 1990, p. 327).

Итак, по современным представлениям "...turgor pressure and the non-uniform biochemical composition of the cell wall." (Chebli, Geitmann, 2007, p. 235) определяют неравномерный, в том числе поляризованный, рост стеночных клеток. Про плазмалемму обычно не говорят, хотя и она оказывает какое-то сопротивление внутреннему давлению. На выпячивающихся участках клеток это сопротивление тоже должно быть меньше, чем в других местах, хотя бы потому, что здесь в плазмалемму (как и в стенку) встраивается новый материал, который позволяет увеличивать ее площадь. Графически модель изображена на рисунке 2Б.

Всеобщее признание модели в немалой степени, я думаю, определяется тем, что она вполне очевидна и подкрепляется, в частности, примерами из нашей повседневной жизни. Один такой пример дает мяч, обладающий двухслойной оболочкой, где внутреннюю резиновую камеру окружает покрышка, составленная сшитыми кусочками кожи. В надутом мяче камера плотно прилегает к покрышке (как плазмалемма к клеточной стенке). Давление внутреннего воздуха равномерно распределяется по всей площади камеры и покрышки и придает мячу сферическую форму. В месте, где покрышка разрывается, камера выпячивается сквозь образовавшееся отверстие. Рост выпячивания здесь, конечно, ограничен, т.к. он не сопровождается добавлением нового материала ни к внутренней массе (воздуху), ни к резиновой камере. Внешне пыльную трубку или гифу больше напоминает ружейный ствол. Внутреннее давление, возрастающее вследствие сгорания порохового заряда, не деформи-

рует стальной корпус, но двигает заряд – аналог слабой верхушки пыльцевой трубки или гифы. Процессы, похожие на неравномерный, в частности, верхушечный рост стеночных клеток можно было бы вспоминать и далее.

Несмотря на солидную обоснованность и очевидность модели апикального роста, по поводу нее высказывают и некоторые сомнения. Это делают даже авторы, ранее всецело поддерживавшие главные положения теории (сравн. Harold, 1990 и 2002). Основанием послужили сведения о том, что гифы оомицетов (*Saprolegnia*, *Achlya*) способны расти при очень низком или даже нулевом тургорном давлении (Money, Harold, 1993; Harold et al., 1996). Но если не давление жидкой внутренней массы, то что иное может двигать верхушку клеток? Согласно модели, принятой многими для животных клеток, оболочку толкают сложенные в пучки актиновые филаменты (см. ниже). У оомицетов актиновые филаменты действительно достигают самой вершины (Jackson, Heath, 1990, текст и Fig. 6), но авторы считали, что актиновый колпачок служит лишь укреплению слабой апикальной стенки. В пыльцевых трубках пучки актиновых филаментов (cables) до вершины вообще не доходят (Miller et al., 1996; Taylor, Hepler, 1997; Vidali, Hepler, 2001; Cai, Cresti, 2009). Остается еще один вариант – боковые стенки трубки удлиняются сами, без влияния внутренней массы (понятно, что эта масса должна увеличиваться пропорционально, иначе внутри возникнет разреженное пространство). Но Hepler et al. (2001, p. 161) специально подчеркнули, что “Growth is restricted to the tip of the dome, with no elongation occurring along the sidewalls.” Вообще, трудно вообразить, что самостоятельный рост стенок может создать правильный полусферический купол, каким является вершина пыльцевой трубки и грибной гифы или нарождающаяся почка дрожжей. Зато легко представить, что такая форма является результатом *равномерного* давления пластичной (жидкой) внутренней массы.

Модель, описывающую формообразовательные процессы у стеночных клеток, я буду называть *гидромеханической* (см. Борхвардт, 2002а,б, 2009, 2010). Все дальнейшее изложение нацелено на утверждение этой модели в качестве универсальной схемы, способной объяснить самые разные механические преобразования у самых разных живых полостных тел.

Клетки, не имеющие стенки

Переходя к животным клеткам и протистам, приведу еще одну цитату, характеризующую современные представления о формообразовательных способностях стеночных клеток: “In physical terms, cell shape and size are governed by the mechanics of the cell wall...” (Cosgrove, 1997, p. 1031). Убеждение, что именно прочная стенка играет первостепенную роль в механических преобразованиях растительных и им подобных клеток, укрепляет, в частности, тот факт, что после удаления стенки “оголенные” клетки – протопласты – принимают сферическую форму, т.е. не сохраняют в отсутствие стенки вид, присущий нормальной клетке. В тех случаях, когда протопласты создают сложные формы, это происходит, как полагают, под действием особых факторов. Так, Steinberg (2007) описал голых мутантных *Neurospora* (грибы), которые давали выросты, подобные псевдоподиям. При этом автор был уверен, что развитие отростков не может быть вызвано силами, обычно действующими в стеночных клетках: “The formation of cellular extensions in the absence of a cell wall indicates that internal cytoplasmic forces are generated that might involve the cytoskeleton.” (Steinberg, 2007, Fig. 5, подпись). В отношении изначально голых животных клеток и одноклеточных организмов подобное мнение считают еще более оправданным. Цитируя авторов, допустивших участие гидростатических сил в формировании выростов животных клеток, Harold (1990, p. 413) писал: “If it is true, as Oster and Perelson (208) have recently argued, that motive power is supplied by a gradient of hydrostatic pressure, the *gulf* [курсив мой – ВБ] that apparently separates morphogenesis in walled and unwalled cells will narrow still further.” Пропась между стеночными и бесстеночными клетками! Во многих умах до сих пор сохраняется убеждение в том, что она действительно существует. Так ли это?

Бесстеночные клетки, как и стеночные, являются тургорными телами. Отличие бесстеночных клеток состоит лишь в том, что у них тургор слабый, т.е. отличие не качественное, а количественное. В норме плазмалемма бесстеночных клеток тоже находится в напряженном состоянии, при ее разрушении цитоплазма вытекает наружу. Сходство со стеночными клетками обнаруживается и в других отношениях. Подобно клеткам растений и грибов животные

клетки постоянно обмениваются водой с окружающей средой, и этот обмен они регулируют.

Еще Trinkaus (1969) писал, что обычным состоянием животных клеток является их пульсация (ритмичное изменение объема). Позднее было заявлено, что "...volume regulation is a fundamental cellular process ..." (Cala, 1980, p. 684). Для описания процессов регулирования приняты даже специальные словосочетания с установившейся аббревиатурой: регуляторное уменьшение объема (regulatory volume decrease – RVD) и регуляторное увеличение объема (regulatory volume increase – RVI). Регуляторные способности показаны в опытах, когда клетки, деформированные в гипо- или гипертоническом растворе, активно восстанавливали свой объем и форму (Mast, Hopkins, 1941; Grinstein et al., 1984; Eveloff, Warnock, 1987). Но и в обычных условиях объем клеток не является постоянным, и может меняться, например, в ответ на различные стимулы (Hoffmann et al., 2009). O'Neill (1999) специально подчеркнул, что клетки млекопитающих меняют объем именно в изотонической среде, и назвал эту способность их фундаментальным свойством.

Регуляция объема происходит путем перемещения воды через мембрану (Wehner et al., 2003; Papadopoulos et al., 2008; Hoffmann et al., 2009). Особенно большое влияние на водный транспорт оказывают специализированные мембранные каналы, аквапорины, которые многократно ускоряют прохождение воды сквозь плазмалемму (Verkman, 2005; Verkman et al., 2006; Papadopoulos et al., 2008). Аквапорины найдены у всех живых организмов, начиная с прокариот (Engel et al., 2000; King et al., 2000; Maurel, Chrispeels, 2001). Они есть даже в оболочке органелл, например в тонопласте вакуолей растительных клеток (Chrispeels, Maurel, 1994; Chaumont et al., 1998).

Открытие аквапоринов повысило интерес к изучению роли воды в механических преобразованиях бесстеночных клеток. Тем не менее, заметно большее внимание здесь уделяют цитоскелету, прежде всего актиновым филаментам. При этом речь идет чаще всего об *активных* действиях последних, которые они выполняют самостоятельно или в кооперации с миозиновыми филаментами. Общее настроение коротко и ясно отразил Pollard (2000), поставив в заголовок одного из разделов своей обзорной статьи, посвященной сократительным системам, слова "Actin everywhere". Насколько оп-

равдано представление об активной механической роли цитоскелета в жизни бесстеночных клеток?

Чаще всего и в разных моделях используют фактор актомиозинового сокращения. Уже в давние времена “Practically all of the investigators... held that movement in all animals is due to contraction similar to that found in muscle fibers.” (Mast, 1926, p. 348). Поскольку в те времена к животным относили и протистов, представления о “мышечной” основе движения охватывали чрезвычайно широкий круг организмов. Сам Mast (1926), например, считал, что в локомоции амебы важнейшую роль играет сжатие периферического слоя цитоплазмы в ее заднем отделе. Мышечное сокращение давно связали с актиновыми и миозиновыми филаментами, а теория скользящих нитей объяснила, как они действуют в поперечнополосатом мышечном волокне. Актиновые и миозиновые филаменты были найдены и в неммышечных клетках, и тогда старая мысль получила конкретное выражение: “The main force-generating mechanism in both muscle and non-muscle cells seems to be actomyosin contraction...” (Strohmeier, Bereiter-Hahn, 1987, p. 631). Какие есть аргументы в пользу актомиозиновой природы сократительных действий неммышечных клеток, кроме примера мускульных волокон?

Начну с опытов, показавших, что цитоплазма фибробластов, лишенная плазмалеммы, способна сжиматься при добавлении к раствору ионов кальция; сферические демембранизированные клетки сжимались симметрично, а предварительно растянутые – укорачивались вдоль линии растяжения (Izzard, Izzard, 1975). Авторы сравнили эти превращения с превращениями мускульных волокон, полагая, что их основой служат актиновые и миозиновые филаменты; характер расположения и взаимодействия этих филаментов установлен не был. Теперь устройство цитоскелета неммышечных клеток известно лучше, и приходится констатировать, что оно мало похоже на его устройство в мышцах.

Сократительные блоки поперечнополосатых волокон – саркомеры – представляют собой высоко упорядоченные системы. Актиновые и миозиновые филаменты лежат в них параллельно и при сокращении мышцы скользят относительно друг друга, что зафиксировано прямыми наблюдениями. Из-за этого вся современная теория мышечного сокращения получила название теории скользящих нитей. Актиномиозиновые комплексы неммышечных клеток, по мне-

нию большинства авторов, саркомерной организации не имеют; в кортексе, например, они обычно показывают сетевое расположение. Скольжения филаментов здесь не наблюдали. Verkhovsky et al. (1995) обнаружили похожие на саркомер объединения актиновых и миозиновых филаментов в выростах фибробластов (Figure 8d авторов) и допустили, что они могут участвовать во втягивании ламеллиподий; специальных наблюдений за поведением комплексов проведено не было. В исследованиях саркомеров очень строго учитывают размерные показатели, чуть ли не до нанометра выверяя расстояние между миофиламентами, длину миозиновых головок, величину их рабочего хода и т.д. В описаниях актомиозина немышечных клеток никаких размерных характеристик нет. Наконец, в отличие от филаментов саркомера, актиновые филаменты немышечных клеток не являются стабильными элементами, они все время распадаются и полимеризуются вновь.

Сходство с саркомерами видят в так называемых стресс-волоконках (stress fibers), особых пучках актиновых и миозиновых филаментов (Sanger et al., 1983). Филаменты стресс-волокон не располагаются строго параллельно друг другу (например, Katoh et al., 1998, Fig. 11a), но извлеченные из клеток пучки могут укорачиваться и сужаться в присутствии АТФ (Katoh et al., 1998, 2001). Согласно крайней точке зрения, “Stress fibers play a central role in adhesion, motility, and morphogenesis of eukaryotic cells...” (Hotulainen, Lappalainen, 2006, p. 383). Мнение об их “центральной роли”, однако, есть явное преувеличение, более того, эта роль вообще не очень ясна. Сами Hotulainen, Lappalainen (2006) признали, что стресс-волокна у неподвижных клеток развиты лучше, чем у подвижных. Isenberg et al. (1976) не увидели прямой связи между укорочением стресс-волокон и целой клетки и решили, что эти пучки не являются единственными структурами, определяющими ее сокращение. Стресс-волокна отсутствуют у *Dictyostelium* и нейтрофилов, что не мешает им двигаться и активно менять форму (Friedl et al., 2001). Фибробласты с искусственно разрушенными стресс-волоконками даже увеличивали локомоторную и формообразовательную активность по сравнению с контрольными (Höner et al., 1988). Burrige (1981) отрицал наличия сократительных способностей у стресс-волокон, но считал, что эти способности не реализуются во время локомоции. С таким мнением был согласен Stossel (1993).

Убеждение в том, что актомиозин немышечных клеток обладает сократительными свойствами, выглядит просто как вера. Chagas et al. (2006), скажем, признавали, что кортекс не имеет саркомерной организации, и как в нем взаимодействуют актиновые и миозиновые филаменты – не ясно, однако в сократительных способностях кортекса не сомневались. Способность актомиозина сокращаться не ставили под сомнение и Brown, Bridgman (2003, p. 425), но, описывая развитие конуса роста нейрита, отметили: “...a model that explains the site of force generation or molecular details of the actin–myosin interaction has been lacking.” Подобные заявления мы ниже встретим не раз.

В общем, никто не знает, как сокращается актомиозин немышечных клеток, но все (или многие) убеждены, что сокращается. Эта вера, уходящая корнями в девятнадцатый век, очень удобна, поскольку позволяет “актомиозиновым” фактором объяснить многие трансформации клеток. Ее поддерживает пример мышечного сокращения, в том виде, как его понимает современная теория скользящих нитей. Вместе с тем, идея, что актиновые филаменты, сами или в актомиозиновых комплексах, совершают механические действия, имеет, как будто, и более прочную опору. Ее видят в результатах экспериментов, в которых клетки подвергают действию ингибиторов филаментозного актина, прежде всего цитохалазинов. Цитохалазин не позволяет актиновым мономерам присоединяться к оперенным концам филаментов, т.е. не дает им расти. Поскольку на противоположном конце филаментов происходит их деполимеризация, содержание в клетке филаментозного актина уменьшается. Одновременно меняется форма клеток, снижается их двигательная или ростовая активность, блокируется цитокинез...

Результаты опытов, применявших цитохалазины, довольно противоречивы, разные авторы приходили порой к прямо противоположным выводам; это касается, прежде всего, последствий обработки клеток цитохалазином В (см. Holtzer, Sanger, 1972; Burgess, Grey, 1974; Miranda et al., 1974; Isenberg et al., 1976; Bliokh et al., 1980; Marsh, Letourneau, 1984). Уже в первые годы применения цитохалазина В обнаружилось его широкое (неспецифическое) действие (см. Burnside, Manasek, 1972). Постепенно выяснялось, что, помимо прочего, цитохалазин воздействует непосредственно на плазмалемму (см. Sanger, Holtzer, 1972; Burgess, Grey, 1974; Everhart,

Rubin, 1974; Miranda et al., 1974), в частности на каналы, проводящие глюкозу (Holtzer, Sanger, 1972; Loike et al., 1993), натрий, калий и хлор (Janmey, 1998; Mazzochi et al., 2006). Цитохалазин D тоже может влиять на работу хлорных каналов (Suzuki et al., 1993; Schwiebert et al., 1994) и транспорт глюкозы (Tsakiridis et al., 1994). Глюкоза и одновалентные ионы управляют осмотическим перемещением воды через клеточную мембрану, и влияние цитохалазинов на транспорт воды через плазмалемму действительно зарегистрировано (Loike et al., 1993; Mills et al., 2000). Это обстоятельство ставит под сомнение надежность цитохалазинового метода в изучении механической роли актиновых филаментов, поскольку вход и выход воды сказывается на объеме клеток и, как показывает пример стеночных клеток, может влиять на их форму. В самом деле, клетки, подвергнутые действию цитохалазина В, уменьшали объем (Hsu, Becker, 1975; Koshy et al., 1996) или теряли способность его регулировать (Cornet et al., 1993; Pedersen et al., 2001). Цитохалазин D останавливал процесс регуляторного уменьшения (RVD) и увеличения (RVI) объема клетки (Lang et al., 1998; Petrunkina et al., 2004; Hoffmann et al., 2009). Наличие цитохалазина D в воде, окружающей эмбрионы морского ежа, заметно ускоряло процесс уменьшения их объема, происходившего под действием компрессии (Davidson et al., 1999); объем уменьшался, конечно, в результате потери воды.

Подводя итог первым двум десятилетиям “цитохалазиновой эры”, Cooper (1987, p. 1475) писал: “To understand the role of actin in cell motility, one would like probes that are specific for actin and affect only one aspect of actin's polymerization or interaction with other proteins. Although cytochalasins are the best available probes, they do not satisfy these criteria fully.” Цитохалазин В, по мнению этого автора, не следует использовать, например, при изучении клеточной подвижности. Слова, прозвучавшие позднее (Mills et al., 2000, p. 209), имеют еще более широкое звучание: “...caution must be exercised in the use of cytochalasins to probe the role of F-actin in cellular function.” Mills et al. (2000) полагали, что разные цитохалазины (В, D и Е) могут менять форму клеток и без воздействия на актиновые филаменты.

В восьмидесятые годы прошлого века в практику изучения механической роли актиновых филаментов вошли латрункулины (А и В) (Schatten et al., 1986; Spector et al., 1989). Как и цитохалазин, латрункулин препятствует полимеризации актина, но делает это иначе

– связывая глобулярный актин. Действие латрункулина представляется более специфичным (Morton et al., 2000; Baluška et al., 2001), однако и он влияет на транспорт натрия и хлора через плазмалемму, а также на внутриклеточное перемещение аквапоринов, которые облегчают прохождение воды через клеточную мембрану (Mazzochi et al., 2006). Есть данные, что латрункулин меняет проницаемость эндотелия роговицы (Peterson et al., 2000). Подобно цитохалазину, он нарушает регуляцию клеточного объема (Hoffmann et al., 2009).

Применение цитохалазинов далеко не всегда кажется удачным методом исследования механических функций актина, и нет больших оснований думать, что применение латрункулинов дает намного лучшие результаты. Но допустим, что найден абсолютно специфичный ингибитор, который действует только на актин. И в этом случае пока не может быть уверенности, что опыты с применением такого идеального инструмента вскрывают именно *механические* функции актиновых филаментов. Существуют данные, что эти филаменты оказывают влияние на распределение мембранных белков (Paller, 1994) и работу ионных каналов (Cantiello et al., 1993; Schwiebert et al., 1994; Wang et al., 1998; Koch, Korbmacher, 2000; Schwab et al., 2007; Hoffmann et al., 2009). Ahmed et al. (2000) полагали, что цитохалазин D и латрункулин активизируют работу хлорных каналов именно через разрушение актинового цитоскелета, который в норме эту работу тормозит (см. также Lang et al., 1998; Mazzochi et al., 2006). По словам Mills, Mandel (1994, p. 1164), “The cytoskeleton, so named because of its role in cell shape and morphological organization, may also play a key role as a regulator of membrane transport events.” Активизация или торможение работы ионных каналов может влиять на водный обмен клеток и, далее, на их объем и форму. Именно в таком плане Baluška et al. (2001), например, рассматривали участие актинового цитоскелета в удлинении растительных клеток. Допускают, что кортикальный F-актин контролирует слияние секреторных пузырьков с клеточной мембраной (Vachewich, Heath, 1998), т.е. влияет на поступление строительного материала к ее растущим участкам. Papadopoulos et al. (2008) обратили внимание на то, что полимеризация или деполимеризация актина соответственно уменьшает или увеличивает осмотическую концентрацию цитозоля и таким путем влияет на перемещение воды через плазмалемму. Замечу, наконец, что мнения о роли актиновых фила-

ментов в регулировании работы ионных каналов во многом формировались в ходе экспериментов с применением все тех же цитохалазинов, которые, по мнению ряда авторов (см. выше), могут влиять на клеточную мембрану и непосредственно.

Как видим, результаты, полученные с помощью цитохалазинов и латрункулинов, можно интерпретировать по-разному, в том числе и в пользу гидромеханической модели. Здесь важно подчеркнуть, что сам факт разрушительного воздействия ингибиторов на актиновый цитоскелет сомнений не вызывает. Напомню, при этом, что актиновые филаменты дают основу кортекса, и их состояние вполне может сказываться на механических свойствах клеточной оболочки. А пример стеночных клеток показывает, как эти свойства влияют на формообразовательные процессы. В этом плане результаты, полученные при обработке клеток цитохалазином и латрункулином, нам, безусловно, интересны.

Несмотря на выраженное скептическое отношение к активному участию цитоскелета в механических преобразованиях клеток, полностью отвергать такую возможность я пока не намерен. Гипотезы, привлекающие “актиновый” и “актомиозиновый” факторы к объяснению тех или иных процессов, будут рассматриваться далее наравне с другими.

После предварительных замечаний обратимся, наконец, к выпячиваниям бесстеночных клеток. Выросты этих клеток весьма разнообразны, о чем свидетельствует большое число названий, применяемых для их описания. Ниже речь пойдет в основном о структурах четырех типов. Это: 1) цилиндрические микроворсинки, покрывающие поверхность стационарных клеток; 2) плоские и часто очень широкие ламеллиподии, особенно характерные для растущих (нейрон) или ползущих клеток; 3) выступающие из ламеллиподий цилиндрические или слабо конические филоподии; 4) пузыревидные выступы (“blebs”, “vesicles” в англоязычной литературе, дальше – “пузыри”), возникающие на поверхности самых разных клеток, пребывающих в самом разном состоянии. Этими пузыревидными выпячиваниями и начнем подробное рассмотрение клеточных отростков.

“The formation of blebs can be assumed to result from the internal pressure of the cells and local weakenings in the cortical complex, caused either by loosening of the connection between the plasma mem-

brane and the cortical fibrillar net, or by weakening of the net structure itself.” (Bereiter-Hahn et al., 1990, p. 185). Добавлю, что “internal pressure” (давление жидкого цитозоля на плазмалемму) является, конечно, равномерным. С разной степенью четкости и с разными нюансами такую схему предлагали многие авторы (Godman et al., 1975; Tickle, Trinkaus, 1977; Shimizu, 1990; Fedier, Keller, 1997; Keller, Egli, 1998; Yoshida, Inouye, 2001; Charras et al., 2005, 2006; Langridge, Kay, 2006; Paluch et al., 2006; Yoshida, Soldati, 2006; Fackler, Grosse, 2008). Схема вполне соответствует модели (гидромеханической), выработанной для стеночных клеток – *равное* давление внутренней массы на оболочку и *неравное* сопротивление последней. В отсутствие клеточной стенки роль регулятора механического состояния оболочки “берет на себя” кортикальный слой, в большой мере состоящий из актиновых филаментов. Локальное разрушение или отслоение кортекса приводит к ослаблению тех или иных участков оболочки и образованию там выпячиваний. У новообразованных пузырей кортикальный слой почти отсутствует (Keller, Egli, 1998; Charras et al., 2006; Fackler, Grosse, 2008), оболочка, представленная одной мембраной, является гомогенной, и потому пузыри принимают сферическую форму. Появляющийся позднее кортекс равномерно распределяется под мембраной и гомогенности оболочки не нарушает. Цитоскелет, как видим, играет здесь важную механическую роль, но *пассивную*.

Форма пузырей, надо думать, служит наиболее сильным аргументом в пользу идеи, что они растут под равномерным давлением жидкой цитозольной массы. Пузыри начинают выпячиваться как полусферы и позднее могут становиться почти идеальными шариками (см., например, Cunningham, 1995, Fig. 4; Shi et al., 2005, Fig. 1). Ниже мы познакомимся с гипотезой, принимающей, что клеточную мембрану выпячивают пучки актиновых филаментов. В пузырях, однако, подобных пучков нет (Keller, Egli, 1998; Torgerson, McNiven, 1998; Shi et al., 2005), так что гидростатическое давление остается тут единственной причиной их роста.

Необходимым условием развития выпячиваний является повышение внутриклеточного давления. В стеночных клетках давление поднимается преимущественно за счет поглощения воды. Причину повышения тургора бесстеночных клеток часто видят в сокращении кортекса, сжимающего клетку. Так думали, например,

Yoshida, Inouye (2001), наблюдавшие формирование пузыревидных отростков у *Dictyostelium*. Однако сокращения кортекса там быть не могло, т.к. клетки в опыте подвергались воздействию цитохалазина и должны были терять актиновые филаменты. Авторы, похоже, допускали, что кортекс способен сжиматься при наличии одного миозина, но современная теория мышечного сокращения требует совместного действия миозина и актина. В другом исследовании было показано, что разные выпячивания, в том числе пузыревидные, формировались у клеток мутантных *Dictyostelium*, лишенных миозиновых нитей (Fukui et al., 1990), т.е. тоже лишенных актомиозиновых комплексов; на этом основании авторы сделали вывод, что для развития отростков силы, генерируемые миозином, не нужны. С другой стороны, выращивая карциносаркомные клетки в гипертонической среде, Fedier, Keller (1997, p. 335) решили, что "...the reduction of free water within the cells... is the direct cause for inhibition of blebbing and locomotion." В опыте Brette et al. (2000) волокна сердечной мышцы крысы, помещенные в гипотоническую среду, увеличивали свой объем (разбухали), и на их поверхности возникали крупные пузыри. Таким образом, ввод воды в клетку представляется наиболее реальной причиной повышения внутриклеточного давления и, далее, развития пузыревидных выпячиваний.

Идея, что гидростатическое давление определяет формирование клеточных отростков, высказывалась не только по поводу пузырей, но и относительно выростов иной конфигурации. Наблюдая за поведением сперматозоидов иглокожих в воде разной тоничности, Tilney, Inoué (1985) обнаружили, что в гипотонической среде их акросомальные отростки удлинялись быстрее, а в гипертонической – медленнее; при высокой осмолярности окружающего раствора отростки вовсе прекращали рост. Основываясь на таких данных, Oster, Perelson (1987) решили, что силой, удлиняющей акросомальный отросток, является гидростатическое давление, поднимающееся вследствие поступления воды в клетку. Авторы учитывали, что это давление должно распространяться одинаково во все стороны. Поддерживать цилиндрическую форму отростков помогали, по их мнению, продольно расположенные актиновые филаменты. Авторы, таким образом, соглашались с тем, что цитоскелет играет важную роль в формообразовании, но лишь пассивную.

Oster, Perelson (1987) придали своей гипотезе широкое звучание, распространив ее на выросты разного типа, и они не были в этом одиноки. Не делали различий между разного рода выпячиваниями Fedier, Keller (1997, p. 326): "...hydrostatic pressure rather than actin polymerization at the front is the direct force driving the membrane forward during bleb formation. Cells with lamellipodia show a similar response to hypertonic media, suggesting that basically similar mechanisms may operate in both forms of protrusions." Так же оценивали рост ламеллиподий Bereiter-Hahn et al. (1981) и Strohmeier, Bereiter-Hahn (1987).

Опытов, в которых гипертоническая среда тормозила формирование выпячиваний, а гипотоническая, напротив, его стимулировала, проведено немало. Есть сведения, что гипотоническая среда способствует образованию выростов фибробластов (Carton et al., 2003). Forscher et al. (1987, Fig. 10, подпись) видели как "Filopodia [конуса роста – ВБ] rapidly extend and swell immediately after K^+ treatment...". Наблюдая рост нейритов в анизотонических растворах, Bray et al. (1991, p. 507), напротив, решили, что полученные ими данные "...argue against an osmotic mechanism for growth cone extension and show that the growth of filopodia, in particular, is unlikely to be driven by osmotically generated hydrostatic pressure." В целом, результаты опытов, проведенных Bray et al. (1991), неоднозначны. В гипертонической среде росли только филоподии, да и то лишь какое-то время. Позднее они уменьшались, а ламеллиподии сжимались уже в самом начале. В гипотонической же среде наблюдался не только ускоренный рост целых нейритов, но также их ветвление, причем на каждой ветви развивался новый конус роста, снабженный ламеллиподиями и филоподиями. Сами авторы признали, что "It is possible that under normal conditions the elongation of the axonal cylinder may be derived in part from a small positive internal pressure." (Bray et al., 1991, p. 515).

В пользу того, что давление цитозоля формирует не только пузыри, но и другие выпячивания, говорит их облик. Микроворсинки подобно пыльцевым трубкам или грибным гифам имеют вид правильного цилиндра, а их верхушка – вид полусферического купола (см. электронограммы: Mooseker, Tilney, 1975; Chambers, Grey, 1979; Hirokawa et al., 1982). Такими же бывают и филоподии (см. Bridgman, Dailey, 1989, Fig. 2; Lewis, Bridgman, 1992). Из цилиндрического

ствола и вздутой верхушки состоят акросомальные отростки сперматозоидов иглокожих, локальные вздутия появляются и на их стволе (Tilney, Inoué, 1982, 1985). Подобные вздутия возникают на стволе нейрита (Aletta, Greene, 1988), а также на микроворсинках, придавая последним четковидную форму (Chandler, Heuser, 1981). Вздуваться может и вершина микроворсинок, и тогда они становятся булавовидными (Godman et al., 1975). Вздутия наблюдали также на вершине филоподий конуса роста нейрона (Yamada et al., 1971). Даже в строении широких и плоских ламеллиподий есть элементы, позволяющие предполагать, что и они формируются под равномерным давлением жидкого цитозоля – на вертикальном срезе (Radice, 1980, Fig. 6; Bereiter-Hahn et al., 1981, Figs. 7-9) их передний край своей округлой формой весьма похож на верхушку микроворсинок.

Местоположение пузырей определяется локальным ослаблением оболочки, которое происходит за счет разрушения кортекса и/или за счет ослабления его связи с клеточной мембраной (см. выше). Только что сформированные пузыри имеют мало субмембранного актина (Keller, Egglі, 1998; Charras et al., 2006; Fackler, Grosse, 2008); электронограммы показывают, что их оболочка значительно тоньше, чем на других участках (Fay, Delise, 1973, Fig. 6; Kargacin, Fay, 1987, Fig. 9). Подобное наблюдали и у выпячиваний других типов. Bereiter-Hahn, Lüers (1998) обнаружили ослабление связей кортикальных филаментов с краевой плазмалеммой ламеллиподий кератоцитов. Разрушение или отслоение кортекса наблюдали на переднем крае движущихся клеток (Stossel, 1993), при формировании выпячиваний амёб (Stockem, Клопова, 1988; Grębecki, 1990), *Dictyostelium* (Merkel et al., 2000; Yoshida, Inouye, 2001), макрофагов, астроцитов, клеток щитовидной железы (см. Grębecki, 1994), протиста *Vampyrella lateritia* (Hülsmann, Grębecki, 1995). Пожалуй, лишь Keller, Egglі (1998) противопоставляли ламеллиподии пузырям, указывая, что на краю ламеллиподий клеток карциносаркомы плазмалемма не отслаивается от кортекса.

Отчетливое конструктивное сходство с пальцевыми трубками или гифами демонстрируют растущие отростки *Dictyostelium*, описанные Yoshida, Inouye (2001); вот как эти отростки ведут себя на стадиях 4 и 5 (Fig. 13, подпись): “(4) Contraction of the cortical layer continues to force the cytosol into the protrusion. The protrusion expands because of the low tension of its membrane which lacks a cortical layer

of F-actin. (5) A cortical layer of F-actin ... extends from the cell body into the protrusion along its lateral membrane, but the absence of F-actin cortex at its distal region allows its further elongation.” На стадии 4 отросток, лишенный кортекса, имеет пузыревидную форму, на стадии 5 (и при последующем удлинении), после укрепления боковых стенок отростка актиновым кортексом – цилиндрическую. Как видим, цитоскелет и здесь играет важную роль, но опять-таки пассивную. Напомню, что в опыте, когда Yoshida, Inouye (2001) применяли цитохалазин, отростки клеток *Dictyostelium*, лишенные актинового кортекса, имели вид пузырей. Как и в случае со стеночными клетками, секреторные пузырьки приносят к вершине выростов *Dictyostelium* материал, необходимый для строительства новой плазмалеммы. Подобное снабжение растущей верхушки происходит и в выпячиваниях животных клеток (Bray, 1970; Bergmann et al., 1983; Bretscher, 1983; Pfenninger, Johnson, 1983; DeBiasio et al., 1988; Keller, Eggl, 1998; Charras et al., 2006; Fackler, Grosse, 2008).

Итак, схема, выработанная для стеночных клеток (см. рис. 2Б), находит, как будто, весомую поддержку и в отношении бесстеночных. Большинство авторов, однако, не готовы применить такую модель к цилиндрическим и плоским выростам, хотя и не объясняют, почему. Возможно, им просто трудно представить, что равномерное давление жидкого цитозоля способно создавать несферические фигуры. Аргументы, приводимые сторонниками “гидростатического” решения, например идею пассивной (укрепляющей) роли центральных или периферических актиновых филаментов, в расчет не принимают. Как бы то ни было, в последние годы доминирует мнение, что основную работу при развитии микроворсинок, филоподий и ламеллоподий выполняют сложенные в пучки актиновые филаменты. Удлиняясь за счет присоединения мономеров на своих дистальных концах, они толкают плазмалемму (см. Abraham et al., 1999; Borisy, Svitkina, 2000; Sheetz, 2001; Fenteany, Zhu, 2003; Grimm et al., 2003; Pollard, 2003; Pollard, Borisy, 2003; Ridley et al., 2003; Ponti et al., 2004; Small, Resch, 2005; Yamazaki et al., 2005; Mogilner, 2006; Conti, Adelstein, 2008; Iwadate, Yumura, 2008; Le Clainche, Carlier, 2008).

Получается, таким образом, что, в мире стеночных клеток действует всего один формообразовательный механизм, а в мире бесстеночных клеток выпячивания создаются по крайней мере двумя различными способами. Здесь следует обратить внимание на то, что

разные отростки нередко появляются на одних и тех же клетках, к тому же они весьма изменчивы. Таковы, например, небольшие выступы (spines), находящиеся на концах развивающихся дендритов и принимающие порой весьма причудливую форму, скажем, грибовидную (Parnass et al., 2000; Hering, Sheng, 2001). Пузыри нередко возникают рядом с микроворсинками (Sheetz, 2001), а также на переднем крае движущихся клеток, где могут обратимо преобразовываться в ламеллиподии (Keller, Eggli, 1998; см. также Flanagan et al., 2001). Авторы это не смущает. Borisov, Svitkina (2000, p. 109), например, допускали, что “It is not at all unreasonable to suppose that multiple mechanisms for cellular protrusion exist, with certain ones being dominant in particular cellular contexts.” Подобным образом высказывались Heidemann et al. (1990), Munevar et al. (2001), Yoshida, Inouye (2001), Langridge, Kay (2006). Между тем, пока не видно особых резонов для принятия идеи множественных механизмов, и конкретно – для принятия гипотезы “толкающих филаментов”.

Мнение о прямом воздействии актиновых филаментов на вершину клеточных отростков поддерживается общими современными представлениями об активной механической роли цитоскелета в жизни клеток, но к этим представлениям, вернее к их доказательной базе, надо относиться как минимум с большой осторожностью. Специальную поддержку идея толкающих филаментов нашла (см. Borisov, Svitkina, 2000; Mogilner, 2006), казалось бы, в исследованиях, посвященных передвижению бактерии *Listeria* внутри клеток. Актиновые филаменты, соседствующие с бактерией, формируют длинный “хвост”, направленный в сторону, противоположную ее движению, и Tilney, Portnoy (1989) предположили, что он толкает бактерию. Свою догадку они проверили, обработав клетки, содержащие бактерии, цитохалазином D, т.е. применив традиционный, но мало надежный метод. Авторы, кстати, никак не комментировали тот факт, что на некоторых отрезках бактерия двигалась внутри клетки и без актинового “хвоста” (см. Tilney, Portnoy, 1989, Fig. 23).

Не имея, по существу, строгих доказательств, модель толкающих филаментов вызывает, вместе с тем, ряд вопросов. Есть немало свидетельств того, что актиновые филаменты в отростках не имеют строгой упорядоченности. Так, если в зрелых микроворсинках центральные филаменты действительно складываются в продольные пучки, то на ранних стадиях развития отростков они, как правило,

образуют беспорядочную сеть (Chambers, Grey, 1979; Tilney, Jaffe, 1981). Пучки филаментов могут отсутствовать и в тонких выростах (Savion, Selinger, 1978), и в выпячиваниях складчатого типа (Andrews, 1976). Schroeder (1972) почти не видел филаментов в микроворсинках, покрывавших зиготу морского ежа. "In untensed, forward-moving lamellar protrusions [эпителиальных клеток – ВБ], microfilaments appear disorganized and anisotropically oriented." (Kolega, 1986, p. 1400). Begg et al., (1982, p. 24) полагали, что "...formation of actin filament bundles is not necessary for MV [микроворсинки на поверхности зиготы морского ежа – ВБ] elongation but is required to provide rigid support for MV." Действительно, микроворсинки, не обладавшие продольными пучками филаментов, переставали быть правильными цилиндрами (Savion, Selinger, 1978; Chambers, Grey, 1979). В опытах Marsh, Letourneau (1984) нейриты, обработанные цитохалазином В, не давали ламеллиподий и филоподий, но росли и ветвились; никаких организованных актиновых филаментов в их верхушечных отделах не было. У амёб (Sarcodina) актиновые филаменты сосредоточены в кортексе, в эндоплазме их нет. Между тем амёбы легко производят псевдоподии, а флотирующие амёбы развивают длинные тонкие выросты; у близких к амёбам фораминифер подобные выросты, достигающие особенно большой длины, получили специальное название ризоподий.

В тех случаях, когда актиновые филаменты действительно складываются в центральные пучки, тянущиеся к вершине отростков, нет уверенности в том, что они упираются в апикальную мембрану. Тщательнее всего пространственные отношения филаментов с плазмалеммой исследованы, наверное, в микроворсинках. О результатах можно судить по следующей цитате: "Although electron microscopy is perhaps the best assay for identifying specific interactions of filaments with membranes, there is no evidence, as yet, which demonstrates a physical connection between core filaments and the membrane [апикальной мембраной микроворсинок – ВБ]. We can only say that the barbed ends of core filaments are embedded in a densely staining region of cytoplasm which in turn is very close to the plasma membrane." (Mooseker et al., 1982, p. 233). По данным Lewis, Bridgman (1992), актиновые филаменты в ламеллиподии конуса роста нейрита контактировали с апикальной плазмалеммой посредством какого-то аморфного или глобулярного материала. Но вот вопрос, способен

ли даже электронный микроскоп выявить *абсолютный* контакт? Между тем, промежутки хотя бы в один актиновый мономер, и даже меньше, уже не позволят филаменту давить на мембрану.

Проблема контакта имеет и еще один аспект. Если контакт есть, каким образом мономеры актина встраиваются между филаментами и клеточной мембраной? Было высказано мнение, что плазмалемма все время испытывает броуновские движения, и когда она отходит центробежно, актиновые мономеры присоединяются к дистальным концам филаментов (см. Mogilner, Oster, 1996). В результате получалось, что клеточная мембрана двигается “сама”, а филаменты только поддерживают ее на новом месте. В более поздней модели (Mogilner, Oster, 1996) броуновское движение было передано концам самих филаментов, которые в ламеллиподиях (Small et al., 1995, 2002; Borisy, Svitkina, 2000) подходят к мембране не перпендикулярно, а косо. Loitto et al. (2002, 2007), обнаружив обилие аквапориновых каналов в мембране филоподий, предложили еще один механизм, вызывающий колебания плазмалеммы. В их варианте интенсивное поступление воды через аквапорины поднимает гидростатическое давление в филоподиях движущихся фибробластов, и это разрывает контакт филаментов с мембраной. Авторы постулировали такой механизм для поддержки модели толкающих филаментов, но по существу они передали роль движущей силы давлению цитозоля.

Ползающие сперматозоиды нематод (*Ascaris*, *Caenorhabditis*), практически не имеющие актина, двигаются, выпуская крупную псевдоподию, а на ее поверхности образуют многочисленные выпячивания (Nelson et al., 1982; Roberts, Streitmatter, 1984). Sepsenwol et al. (1989) называли мелкие выступы “villipodia” и определили их как finger-like projections; на некоторых фотографиях они имеют вид пузырей (Nelson et al., 1982, Fig. 1). Псевдоподию заполняют очень тонкие, 2-3 нанометра толщиной, филаменты, составленные особым белком (major sperm protein – MSP). Эти филаменты складываются в fiber complexes, которые заходят в villipodia и каким-то образом участвуют в движении сперматозоидов (Sepsenwol et al., 1989). Fiber complexes могут удлиняться *in vitro*, и было высказано мнение, что они толкают и выпячивают плазмалемму сперматозоидов, т.е. функционально заменяют здесь актиновые пучки (Roberts, Stewart, 2000; Bottino et al., 2002). Эта гипотеза расширила область приме-

нения идеи о толкающей роли филаментов, но не добавила никаких новых аргументов в ее пользу и не решила связанных с ней проблем, перечисленных выше.

Вспомним, наконец, что форму меняют не только целые клетки, но и их полостные органеллы. Большую изменчивость демонстрируют митохондрии, которые могут принимать, в частности, вид ветвящихся трубочек (Hermann, Shaw, 1998; Yaffe, 1999), а также вакуоли растительных клеток (Chaumont et al., 1998). Ovečka et al. (2005) описали и зафиксировали на фотографии (Fig. 2d) вакуоль корневого волоска, которая длинными пальцевидными отростками вдавалась в субапикальную зону; отростки не были стабильны, а все время меняли форму (см. также Cole, Fowler, 2006, Fig. 1b). Актиновых филаментов внутри митохондрий и вакуолей нет (а аквапорины в тонопласте есть!).

Сравнивая две модели – “толкающего цитозоля” и “толкающих филаментов” – можно констатировать, что аргументация в пользу первой схемы представляется более солидной. Эта схема сама по себе вполне очевидна и, кроме того, может опереться на общепринятые представления о морфогенезе стеночных клеток. Пример пузырьрей показывает, что гидравлический механизм работает и у бесстеночных клеток. В отношении толкания филаментами никаких аналогий не существует. Твердой опорой этой модели казались результаты опытов, применявших цитохалазины и латрункулины, но мы видели, что эти результаты могут быть истолкованы и в пользу гидростатического механизма. При этом гидромеханическая модель (рис. 2Б) не встречает тех трудностей, которые стоят на пути “филаментовой”. Пучки актиновых филаментов могут отсутствовать – цитозоль есть всегда. Не совсем ясно, упираются ли филаменты в плазмалемму – жидкий цитозоль “упирается” всегда.

Неверие в широкое действие гидростатического механизма во многом, наверное, определяется убеждением, что равномерное давление жидкого цитозоля должно создавать сферические формы. Действительно, почему многие выпячивания имеют вид цилиндров или пластин, а не вздуваются подобно пузырям? Некоторые авторы, как мы помним, предполагали, что удержанию трубочатой формы отростков могут помогать центральные пучки филаментов (Begg et al., 1982; Oster, Perelson, 1987). Эта идея не была поддержана специальными аргументами, теперь я попробую это сделать.

В микроворсинках клеток кишечного эпителия центральные актиновые филаменты, сложенные в пучки, имеют поперечные связи друг с другом и с плазмалеммой; связующие элементы называют поперечными мостиками (cross-bridges) (Mooseker, Tilney, 1975; Matsudaira, Burgess, 1979; Hirokawa, Heuser, 1981; Burgess, Prum, 1982). Думается, что эти связи вполне могут предотвращать вздувание клеточных отростков. Такое мнение поддерживает пример нейронов. В трубчатых отростках (нейритах) нервных клеток разных позвоночных тоже имеется центральный осевой комплекс, в состав которого, кроме актиновых филаментов, входят и микротрубочки; этот комплекс соединяется с плазмалеммой поперечными мостиками (Yamada et al., 1970, 1971; Hirokawa, 1982; Schnapp, Reese, 1982). В округлом теле нейрона филаменты располагаются беспорядочно, поперечных соединений меньше (Hirokawa et al., 1984). Еще нагляднее в пользу стабилизирующей функции цитоскелета свидетельствуют параллельно происходящие изменения внешнего вида и внутреннего строения растущего нейрона (см. Jacobs, Stevens, 1986). В теле нейрона связи между филаментами и плазмалеммой не развиваются, и оно до конца сохраняет форму мешочка; молодые отростки, чей цитоскелет еще не получил строгой организации, имеют неправильную форму; зрелые нейриты, обладающие осевым цитоскелетным комплексом и поперечными мостиками, становятся правильными цилиндрами.

В пузырьках, где актиновые филаменты имеются только в кортексе, связей подобных поперечным мостикам нет. Зато они есть в пластинчатых ламеллиподиях, богатых актиновыми филаментами. В ламеллиподиях конуса роста нейрона Tosney, Wessells (1983) видели филаменты, протягивающиеся между верхней и нижней плазмалеммами, и схематически изобразили их на рисунке; в отсутствие таких филаментов верхняя мембрана далеко отходила от нижней, ламеллиподия в этих местах вздувалась (Tosney, Wessells, 1983, Fig. 17). Lewis, Bridgman (1992) нашли в тех же ламеллиподиях две группы актиновых филаментов. Одни, длинные, тянулись вдоль нижней и верхней мембраны, другие, короткие, располагались косо между верхней и нижней плазмалеммой. “The shorter meshwork filaments may act as scaffolding, maintaining the volume of the lamellipodia.” (Lewis, Bridgman, 1992, p. 1241). В ламеллиподиях эпидермальных клеток шпорцевой лягушки (*Xenopus*) “A fibrillar meshwork

connects the 'dorsal' and the 'ventral' cell membranes.” (Bereiter-Hahn et al., 1981, Fig. 8, подпись). На рисунке 9 авторы показали ламеллиподию, имеющую вздутие недалеко от края, и отметили в подписи, что на краю “... the membranes *are held together* by a fibrillar meshwork. In the swollen region the filaments *are less dense* [курсив мой – ВБ].” В тексте авторы выразились еще более определенно: “... formation of a flat cytoplasmic lamella requires interconnection of the membranes by filaments (Fig. 8). Weakening of this interconnection would lead to the formation of bulges or blebs due to internal hydrostatic pressure.” (Bereiter-Hahn et al., 1981, p. 301). Связям верхней и нижней мембран ламеллиподии соответствуют, по-видимому, вертикальные черточки, изображенные на схематическом рисунке (Bereiter-Hahn et al., 1981, Fig. 27a).

Итак, цитоскелет, похоже, действительно выполняет важную роль в возникновении клеточных отростков и в определении их формы, но лишь *пассивную*. В сочетании с ним гидростатические силы могут создавать выпячивания любой конфигурации.

Эмбрионы и личинки позвоночных

Выпячивания внутренних органов

Структуры, о которых пойдет речь, – это кишка, почечные канальцы, кровеносные сосуды. Особенно богата производными кишка, выпячивания которой дают начало железам, плавательному пузырю, легким. Усложнение этих органов часто рассматривают как превращение эпителия. Следующая цитата очень хорошо иллюстрирует такой подход: “The mammalian lung, like many other organs, develops by branching morphogenesis of an epithelium.” (Pepicelli et al., 1998, p. 1083). Но как раз при изучении морфогенеза легких были получены данные, показавшие, что в этом процессе активно участвует их внутренняя масса. В опытах Sorokin (1961) фрагменты легочных зачатков млекопитающих, извлеченные из тела эмбрионов и помещенные в раствор, переставали ветвиться. Их почкование возобновлялось только после заживления (закупоривания) открытых концов, т.е. после того, как фрагменты становились *замкнутыми полостными телами*. Понятно, что гидростатическое давление внутри открытых фрагментов не могло отличаться от наружного, их

жидкое содержимое не могло давить на оболочку сильнее, чем наружная жидкость. После замыкания фрагменты получали возможность за счет секреции воды в свою полость увеличивать объем внутренней массы и ее давление на оболочку. И поскольку эпителий открытых фрагментов свою форму не усложнял, остается принять, что именно воздействие на оболочку растущей внутренней массы определяет развитие выпячиваний (легочных почек). То, что в ходе естественного морфогенеза внутренняя масса кишки и ее дивертикул увеличивает свой объем, в доказательствах не нуждается.

Устройство оболочки внутренних полостных органов зародышей позволяет думать, что они являются тургорными телами? За счет пролиферации слой эпителиальных клеток в принципе мог бы расширяться пропорционально увеличению внутренней массы и тогда не оказывать ей сопротивления. Но другой слой оболочки, базальная мембрана, является структурой инертной, которая активных действий не ведет. Она может утолщаться (и утолщается) путем прибавления нового материала к открытой поверхности, но расширяться (увеличивать свою площадь) самостоятельно не способна. В этом отношении базальная мембрана подобна стенке клеток растений и грибов, которая увеличивает площадь пассивно, в результате растягивающего действия разбухающей внутренней массы. Как и клеточная стенка, инертная мембрана несомненно оказывает при росте внутренней массы сопротивление ее давлению. Встречая сопротивление, жидкая внутренняя масса распределяет давление равномерно по всей площади оболочки.

Двигаясь под давлением внутренней массы центробежно, оболочка зачатков встречает сопротивление наружной массы, которой для нее в это время служит мезенхима. Главным объемным компонентом мезенхимы является аморфный внеклеточный матрикс. Этот матрикс представляет собой сильно обводненное вещество, которое называют (Newman, Frisch, 1979) разжиженным гиалуриновым гелем. Такая наружная масса, как и внутренняя, оказывает на оболочку растущих органов равномерное давление по всей ее площади. Равномерное сопротивление, конечно, встречает оболочка органов, культивируемых в растворе.

Полостные тела, оболочка которых испытывает равномерное давление и изнутри, и снаружи (см. рис. 2А), могут менять размер, но не форму. Согласно гидромеханической модели, для изменения формы необходимо еще одно условие – механическая гетерогенность оболочки, конкретнее – ее ослабление в местах выпячиваний.

Факты свидетельствуют, что в отношении эмбриональных органов это условие соблюдается. Неравномерное развитие базальной мембраны (коллагенового слоя) не раз отмечали на стенках зачатков легких (Wessells, 1970; Brody et al., 1982; Gallagher, 1986; Moore et al., 2005) и слюнных желез (Grobstein, Cohen, 1965; Nakanishi et al., 1986, 1988) млекопитающих – толщина мембраны в местах выпячиваний оказывалась меньше, чем на соседних участках эпителия. В ходе ангиогенеза, происходящего путем ветвления кровеносных сосудов, базальная мембрана их стенок разрушается в местах появления выростов (Patan, 2000). Клеточный слой выпячиваний растет, конечно, сам, увеличивая свою площадь за счет пролиферации. Давление внутренней массы направляет, организует этот рост, но, возможно, и стимулирует.

На то, что выпячивания внутренних органов растут под давлением наполняющей их жидкости, указывает форма дериватов. В начале своего развития они часто бывают пузырчатыми. Одни, например плавательный пузырь рыб, остаются такими на всю жизнь. Другие – почечные каналцы, кровеносные сосуды – являются правильными трубками, которые тоже вряд ли могут формироваться иначе, как под равномерным давлением внутренней жидкости.

Наружные выпячивания

Наиболее известными наружными выпячиваниями эмбрионов (личинок) являются почки конечностей, развитию которых посвящено немало как описательных, так и экспериментальных работ. Много внимания, в частности, уделено стимулирующей роли так называемого апикального эктодермального гребня (AER), но о механике процессов роста и формообразования практически не говорят. Неявно принимают, похоже, что эти процессы определяет внутренняя мезенхимная масса. Так, Ede, Low (1969), проводя компьютерное моделирование развития почки конечностей курицы, учитывали только пролиферацию и миграцию заполняющих ее мезенхимных клеток. Авторы сознавали, что эктодерма создает поверхностное натяжение, но в свою модель ее не включили и даже не изобразили на схематических рисунках, где почки представлены “толými”. Любопытно, что при изучении эвагинаций внутренних органов позвоночных животных основное внимание уделяют как

раз эпителиальной оболочке (см. выше), а в развитии наружных выпячиваний ее активной роли не видят.

В наших схемах всегда присутствуют три компонента: внутренняя масса, наружная масса и разделяющая их оболочка. Оболочка тела зародышей (эктодерма) устроена так же, как оболочка внутренних органов. Но в отличие от гомогенной жидкой массы, заполняющей внутренние органы, масса, занимающая первичную полость эмбриона, имеет сложный состав. Ее отдельные периферические компоненты, скажем миомеры, в принципе могли бы производить локальное давление на эктодерму и выпячивать ее (подобно актиновым пучкам в гипотезе толкающих филаментов – см. выше). На выпячивающую роль миомеров указывает, как будто, волнистость поверхности тела личинок хвостатых амфибий (рис. 4Г) и рыб. На самом деле ни один эмбриональный (личиночный) орган прямо с эктодермой не контактирует, что легко видеть на самых разных гистологических срезах (см. рис. 3Г, 4Г). Электронограммы показывают, что к эктодерме тесно не прилегают даже клетки, вернее их тела. Так, в почке конечностей курицы, плотно заполненной мезенхимными клетками (см. для примера рис. 4А), лишь их тонкие отростки достигают базальной мембраны (Singley, Solursh, 1981); “...there is a region about 0.3 μm thick from which the main body of the cells is always excluded.” (Gould et al., 1972, p. 328). О том, что клетки не оказывают прямого механического влияния на процессы эвагинации, говорят примеры, когда их в выростах тела вообще практически нет (рис. 3А, В; 4Б). Так бывает даже в почках конечностей тетрапод, обычно наполненных клетками. Например, дистальный сегмент (“плавничок”) конечностей личинок сибирского углозуба (*Salamandrella*) клеток почти не содержит, но растет очень быстро (Борхвардт, 1994, 2000).

Таким образом, только аморфный внеклеточный матрикс прилегает к эктодерме и может оказывать на нее давление. Это значит, что гетерогенная внутренняя масса целого эмбриона (личинки) взаимодействует с оболочкой (эктодермой), окружающей первичную полость тела, как единая высокопластичная масса. Встречая при своем росте сопротивление оболочки (прежде всего базальной мембраны), эта масса, как и жидкость внутренних органов, должна равномерно распределять давление по всей ее площади, а форма тела должна стремиться к шарообразной. Действительно, хотя весь эмбрион (ли-

чинка) не выглядит простым правильным телом, его части нередко бывают такими. Туловище и хвост ранних эмбрионов могут быть округлыми в поперечном сечении, а почки конечностей амфибий возникают как полусферы. Плавные, ровные изгибы эктодермы, часто видимые на препаратах (рис. 4Г), тоже создают впечатление, что стенки тела испытывают равномерное давление внутренней массы. Равномерно давит на зародыши (личинки) и наружная, жидкая, масса. Почему же тело эмбрионов растет неравномерно и принимает неправильную форму? Почему какие-то его части растут быстрее, выпячиваются? Гидромеханическая модель отвечает – потому, что оболочка, в данном случае эктодерма, механически гетерогенна и ее части оказывают давлению внутренней массы неодинаковое сопротивление. Так ли это на практике?

Самые разные наружные выпячивания эмбрионов (личинки) демонстрируют относительно слабо развитую базальную мембрану. Особенно полно это документировано на примере почек конечностей, чья базальная мембрана всегда значительно тоньше, чем на соседних участках кожи. В самих почках она особенно тонка в их дистальной части, а на самой верхушке иногда даже прерывается (Balinsky, 1957; Jurand, 1965; Ede et al., 1974; Kelley, Bluemink, 1974; Raynaud et al., 1974; Борхвардт, 2002б). Salpeter, Singer (1960) наблюдали истончение базальной мембраны также на вершине регенерирующих конечностей тритона. Иногда слабость мембраны может быть следствием ее недоразвития (Smith et al., 1975). Обычно же она первое время не показывает явных отличий (рис. 3А), но уже в самом начале формирования почки конечности оказывается сильно разрушенной (рис. 3Б; 4А). Став относительно тонкой, апикальная базальная мембрана долго поддерживает такое состояние; я наблюдал его в конечности амфибий вплоть до полного формирования там хрящевого скелета. В конечностях хвостатых земноводных ослабление базальной мембраны было обнаружено не только в их дистальной части, но и на быстро растущих пре- и постаксиальном краях (Borkhvardt, 2001). Кроме того, относительно слабая базальная мембрана была найдена на конце хвоста эмбрионов севрюги (Борхвардт, 2002б), на вершине непарных плавниковых складок личинок рыб (Nadol et al., 1969; рис. 3А) и амфибий, на вершине оперкулярных крышек (рис. 4Б) и наружных жабр личинок земноводных, балансеров хвостатых амфибий (рис. 4В).

Стяжки

Сравнение разных выпячиваний у эмбрионов (личинок) позвоночных животных обнаруживает определенную закономерность. Выпячивания, заполненные жидкостью, всегда имеют округлую форму, тогда как органы, содержащие мезенхиму, бывают также и плоскими (рис. 3А, В). Строева (1950) полагала, что треугольную (в поперечном сечении – см. рис. 3В) форму плавниковой складки личинок амфибий поддерживают мезенхимные клетки, которые с помощью отростков соединяют противоположные стенки и препятствуют их расхождению. Похожее мнение высказывал Løvtrup (1983). Вообще, клеток в плавниковых складках очень мало, зато много коллагеновых волокон, которые протягиваются между стенками (рис. 3В, 4Д) и действительно могли бы их скреплять. Показательно, что на переднем конце спинной плавниковой складки головастика жабы, где таких волокон обнаружено не было, складка шарообразно разбухала (Борхвардт, 2000, рис. 1б). Следующий пример не менее выразителен. Волокна, видимые на рисунке 4Д, расположены часто и равномерно, и стенки плавниковой складки здесь ровные. В парных плавниках личинок севриги такой равномерности нет. Там к стенкам складок прилегают радиальные мускулы, и волокна проходят только между ними. В местах, где пучки волокон крепятся на стенках складок, последние образуют углубления, так что поверхность плавника оказывается волнистой (Борхвардт, 2000, рис. 2б). Это сравнение показывает, что коллагеновые волокна, связывающие противоположные стенки плавниковых складок, на самом деле ограничивают их расхождение и таким способом влияют на форму выпячиваний. То же самое происходит и с целым телом эмбрионов (личинок).

Органы, занимающие первичную полость тела, не имеют прямого контакта с эктодермой (см. выше), но они не “плавают” свободно в мезенхимной массе. Коллагеновые волокна, пронизывающие полость, связывают внутренние органы друг с другом и с эктодермой (Lipton, Jacobson, 1974; Bellairs, 1979; Schoenwolf, 1979; Борхвардт, Коваленко, 1985, 1986). Органы, таким образом, оказываются “подвешенными” к коже, а противолежащие участки стенки тела через эти органы, играющие роль промежуточных звеньев, вступают в связь друг с другом. Распределение связующих волокон меняется по ходу онтогенеза. На стадии несегментированной мезо-

дермы и цельных сомитов волокна размещаются равномерно (рис. 5А, сравн. рис. 4Д), и в это время их механическое действие обнаружить трудно. После распада сомитов и образования миомеров волокна концентрируются (остаются) в районе поперечных мио-септ, и тогда их влияние становится очевидным. В местах прикрепления к ним волокон стенки тела формируют борозды, и поверхность эмбрионов (личинок) оказывается волнистой (рис. 4Г, 5Б). Там, где внутренние концы тех же септальных волокон крепятся на хорде и нервной трубке, последние, соответственно, дают выступы (Борхвардт, Коваленко, 1985, рис. 1в, 1986, рис. 1; на схематическом рисунке 5Б выступы хорды не показаны). У эмбрионов акулы коллагеновые волокна складываются, кроме того, в горизонтальные “пластинки”, которые соединяют эктодерму с наружной стенкой целомической полости; в местах присоединения пластинок эктодерма образует продольные углубления (рис. 3Г).

Волокна и клетки, скрепляющие противлежащие стенки полостей и препятствующие их расхождению, были названы стяжками (Борхвардт, 2000). Роль стяжек, конечно, пассивная – она проявляется только в процессе роста внутренней массы и вызванного им центробежного смещения оболочки. Стяжки нарушают плавное расширение внутренней массы и препятствуют формированию ровных округлых тел; уплощенные плавники рыб (рис. 3А,В) дают этому хороший пример. Кишка и ее дериваты, кровеносные сосуды, почечные канальцы заполнены не мезенхимой, а жидкостью, лишенной коллагеновых волокон. Никаких стяжек там нет, и эти тела всегда являются цилиндрическими или пузырчатыми.

Стяжки, возможно, принимают участие не только в чисто формообразовательных, но и в других морфогенетических процессах. Не исключено, например, что они играют важную роль в разрушении эпителиальных стенок сомитов, причины которого пока не поняты. Смещаясь центробежно, эктодерма тянет за собой сомиты, прикрепленные к ней стяжками (см. рис. 5А). Поскольку через центральные осевые органы (хорда на рисунке 5) сомиты каждой стороны тела связываются и друг с другом, возникают силы, которые просто разрывают мезодермальные блоки (Борхвардт, 2002а). Новые факты укрепляют и расширяют эту идею. На рисунках 3Д и 3Е видно, что именно те клетки париетальной целомической стенки, которые крепятся на эктодерме, выходят из эпителиального слоя;

создается впечатление, чтодвигающаяся центробежно эктодерма с помощью стяжек буквально вырывает их оттуда.

В отростках клеток, как мы видели выше, тоже есть структуры, которые так или иначе связывают между собой противоположащие участки оболочки (плазмалеммы). Некоторые авторы (Bereiter-Hahn et al., 1981; Lewis, Bridgman, 1992) полагали, что эти структуры поддерживают плоскую форму ламеллиподий. Я распространил это мнение и на цилиндрические отростки, в которых связующие структуры известны под именем “поперечные мостики”. Сходство всех этих образований с коллагеновыми волокнами-стяжками вполне очевидно, что придает феномену стяжек универсальный характер.

Заключение

Гидростатическая модель (рис. 2Б), описывающая механизм развития выпячиваний у стеночных клеток, вполне применима к выпячиваниям и других живых тел.

ВПЯЧИВАНИЯ

Животные

“Invagination of epithelial tissue occurs during gastrulation, neurulation, and organogenesis in many organisms. However, the underlying morphogenetic mechanisms of invagination are not understood.” (Kimberly, Hardin, 1998, p. 235). Подобно авторам этих слов большинство исследователей, занимающихся процессами инвагинации у животных, концентрируют внимание на эпителиальном слое; впячивание обычно рассматривают как его изгибание. Важным методом изучения впячиваний считают наблюдения за фрагментами эпителия, извлеченными из тела зародышей. Но в природе просто эпителия не бывает, он всегда существует в виде оболочки полостных тел. При инвагинации эпителий не просто изгибается – он *погружается*. И погружается в *замкнутую* полость, наполненную *несжимаемым* веществом. Как он может это сделать? Этот вопрос относится ко всем полостным телам, как многоклеточным, так и одноклеточным, и каждая инвагинационная модель обязана дать на него ответ.

Odell et al. (1981) – единственные известные мне авторы, которые такой вопрос задали. Они на него и ответили. Обсуждая гастрюляцию у морского ежа, авторы решили, что впячивание (архентерон) само устраняет сопротивление внутренней массы, *механически* вытесняя жидкость бластулы наружу. При гастрюляции у разных животных жидкость действительно покидает полость бластулы. Наглядный пример дают амфибии и особенно ланцетник, эмбрион которого к концу гастрюляции превращается в двухслойную чашу, почти лишенную полости. Но способны ли организмы (их впячивания) именно *вытеснять* жидкость? По образному выражению Карлсона (1983), фигуру, подобную чашевидной гастрюле ланцетника, можно получить, надавив пальцем на проколотый резиновый мячик. Живые полостные тела, однако, дырявыми мячиками не являются. Как раз про морского ежа известно, что проницаемость его бластодермы ко времени гастрюляции становится очень низкой (Moore, Vurt, 1939). Более понятный и реальный способ уменьшения внутренней массы полостных тел – это вывод воды по осмотическому градиенту, что, как мы знаем, легко делают отдельные клетки.

Еще в 19 веке было высказано мнение (Rhumbler (1902) приписывал его Bütschli), что впячивание бластодермы при гастрюляции происходит из-за снижения давления внутри бластулы. Идея выглядит вполне привлекательной. Если внутреннее давление станет меньше наружного, внешняя масса обязательно будет стремиться в область низкого давления. Если она сумеет преодолеть сопротивление оболочки, то двинется вместе с ней к центру. В такой схеме уменьшение объема внутренней массы явится не следствием впячивания, как думали Odell et al. (1981), а, напротив, его *причиной*. Вопрос о внедрении оболочки в несжимаемую массу при этом вообще не возникает, острая проблема решается “сама собой”.

Обсуждая гипотезу разницы давлений, Rhumbler (1902) отметил, что уменьшение бластоцеля во время гастрюляции – явление довольно обычное, но при этом высказал ряд критических замечаний (об одном из них см. ниже). Вместе с тем, специальное внимание он уделил превращениям клеток инвагинирующей части бластодермы (Entodermplatte немецких авторов). В дальнейшем исследовательская мысль пошла именно по этому пути.

Гастрюляция у иглокожих

Гастрюляция у иглокожих является, быть может, наиболее полно изученным процессом инвагинации у животных. Тем не менее, Davidson et al. (1999, p. 221) имели основания заявить, что “... despite a century of work... there is still no answer to the question: How do sea urchins invaginate?”

Гастрюляция у иглокожих начинается с изгибания (прогибания) так называемой вегетативной пластинки – участка бластодермы, составленного высокими, столбчатыми, клетками. Moore, Burt (1939) культивировали пластинку *in vitro* и показали, что она способна инвагинировать даже после извлечения ее из зародыша. После подтверждения этих результатов (Ettensohn, 1984) практически не осталось сомнений в том, что “...the forces responsible for invagination must reside in the vegetal plate itself.” (Davidson et al., 1995, p. 2005).

Чаще всего причину изгибания вегетативной пластинки видят в сужении апикальных (наружных) концов составляющих ее клеток (см. Davidson et al., 1995, 1999; Nakajima, Burke, 1996; Kimberly, Hardin, 1998). Из-за этого клетки становятся грушевидными (их называют также бутылковидными или клиновидными), а вся пластинка принимает, на срезах, вид веера, раскрытого внутрь. Полагают, что апикальные отделы клеток сжимаются за счет сокращения кортикальных актомиозиновых колец. Допускают также (см. Davidson, 2012), что сокращение актомиозина затрагивает не отдельные клетки, а сразу целый пласт; результат этих действий тот же – изгибание вегетативной пластинки. Напомню, что способность актомиозина немышечных клеток сокращаться далеко не очевидна. Никаких специальных доказательств его действий не приводят и здесь.

Изгибанием вегетативной пластинки гастрюляция только начинается. Далее происходит удлинение зачаточного архентерона (первичной кишки), и этот процесс объяснить сокращением клеток уже не удастся, надо искать другой механизм. Исследователи поделили процесс гастрюляции на два этапа, и изучением каждого занимались особо. Описывая изменения второго этапа, Dan, Okazaki (1956) предположили, что удлинение архентерона происходит за счет тянущих усилий псевдоподий (филоподий) вторичных мезенхимных клеток, связывающих верхушку первичной кишки с бластодермой анимального полюса. Эта идея встретила возражения

(Hardin, Cheng, 1986; Hardin, 1988), было указано, что архентерон благополучно удлинняется как при изначальном отсутствии филоподий, так и при их искусственном удалении. Позднее рост архентерона связали с изменением формы (удлинением по его продольной оси и уплощением) и перегруппировкой клеток, составляющих стенку первичной кишки (Ettensohn, 1985a; Hardin, 1988, 1989). О причинах клеточных превращений авторы ничего не сказали, а Kominami, Takata (2004) отметили, что перегруппировка клеток бывает не у всех представителей группы.

Вопрос о том, как архентерон преодолевает сопротивление внутренней массы бластулы, перечисленные гипотезы не рассматривают и состояние бластоцеля не учитывают (исключение – Odell et al., 1981, см. выше). У многих животных бластоцель при гастрюляции уменьшается, об этом знали уже давно (см. Rhumbler, 1902). Как обстоит дело у иглокожих? Авторы, работавшие до тридцатых годов прошлого века, принимали, в основном, что эмбрионы морского ежа в ходе гастрюляции не увеличиваются, и лишь Hörstadius имел иное мнение (см. Dan, Okazaki, 1956). Ettensohn (1984) наблюдал увеличение эмбрионов, но в другой статье (Ettensohn, 1985a) он констатировал, что их объем не менялся. Dan, Okazaki (1956) тоже говорили о постоянстве объема. Постоянство общего размера (бластоцель плюс архентерон) ясно указывает на то, что первичная полость тела при росте архентерона уменьшается.

Kominami, Takata (2004, текст и Fig. 2) констатировали увеличение эмбрионов лишь на втором этапе гастрюляции, на стадии первичного впячивания размеры практически не менялись. Вместе с тем, авторы обнаружили периодическое изменение величины тургорного давления эмбрионов. Оно являлось довольно высоким на стадии бластулы и понижалось *до начала* гастрюляции. По завершении первого этапа гастрюляции внутреннее давление опять поднималось, и архентерон примерно на два часа прекращал рост; затем давление немного понижалось, и первичная кишка быстро удлинялась. Искусственное повышение давления внутри бластулы тормозило впячивание вегетативной пластинки.

Первое падение величины гидростатического давления внутри эмбриона, по словам Kominami, Takata (2004), происходит до появления впячивания, т.е. по крайней мере в это время ничто жидкость вытеснять не может. Единственным механизмом здесь следует при-

знать выход воды осмотическим путем. Это означает, что в принципе зародыши могли бы опускать внутреннее давление ниже внешнего и провоцировать этим инвагинацию. Kominami, Takata (2004) о таком сильном падении прямо не говорили, но на рисунке (Fig. 2A), отображающем начало гастрюляции, символы (стрелки), показывающие тургорное давление, не поместили; на всех остальных рисунках серии (B-F) они есть. Приводя данные авторов о внутреннем давлении, обратим внимание еще на то, что его величина периодически менялась (колебалась). Этим эмбрионы морского ежа напоминают пульсирующие клетки.

Kominami, Takata (2004) знали старую идею о ведущей роли в инвагинации низкого внутреннего давления. Их собственные данные призывали отнестись к ней сочувственно, но авторы этого не сделали. Они признали, что понижение тургорного давления при нормальном развитии облегчает прогибание (впячивание) вегетативной пластинки, а в другой статье написали, что “...change in the level of osmotic pressure of blastocoel would be necessary for the progress of gastrulation.” (Takata, Kominami, 2001, p. 1097). Но дальше этого авторы не пошли, будучи уверены в том, что гипотеза разницы давлений была отвергнута результатами экспериментов по выращиванию вегетативной пластинки (см. выше). Посмотрим на эти результаты более внимательно.

Moore, Burt (1939) вырезали вегетативную пластинку на стадии ранней гастрюлы, когда впячивание уже сформировалось, и важным считали то, что ранний архентерон не регрессирует, а продолжает расти. Вообще, на представленном ими рисунке (Fig. 1) видно, что после изоляции вегетативной пластинки впячивание увеличивалось мало. Основные изменения претерпевали края пластинки, которые разрастались, смыкались и восстанавливали *замкнутую* сферу; дальнейший рост архентерона происходил уже в ней. Как и за счет чего он рос, сказано не было. Ettensohn (1984), в отличие от Moore, Burt (1939), извлекал вегетативную пластинку до начала гастрюляции и тоже наблюдал образование архентерона. Из текста, однако, не ясно в какое время формировалась первичная кишка, до замыкания полости или после, а единственная фотография, показывающая архентерон (Fig. 2), сделана автором на стадии, когда эмбрион уже вернул себе вид замкнутого тела. Бесспорным выводом из экспериментов Moore, Burt (1939) и Ettensohn (1984) является то, что извле-

ченная из зародыша вегетативная пластинка способна разрастаться и свертываться. Однако ее способность давать архентерон *до* превращения в замкнутое полостное тело требует подтверждения. Но допустим, что в опыте *открытая* вегетативная пластинка действительно изгибается и появившееся “впячивание” потом растет. Эти факты проблему гастрюляции все равно не решат, поскольку в норме архентерон развивается в совершенно других условиях, где он должен внедряться в несжимаемую массу.

Moore, Burt (1939) в своих опытах не ограничились наблюдениями за отдельной вегетативной пластинкой. Они культивировали также целые эмбрионы морского ежа, в частности помещали их в гипертонический раствор. Удаляя осмотическим путем воду из ранней бластулы, авторы добивались инвагинации ее стенки и получали в результате конструкцию, которую назвали ложной гастрюлой. Если воду удаляли из поздней бластулы, происходило ускорение нормального гастрюляционного процесса. Эти результаты отчетливо свидетельствовали в пользу гипотезы разницы давлений, но ни сами авторы, ни их читатели такого вывода не сделали. Я же полагаю, что и конкретные факты, и общие соображения (см. начало главы) вполне согласуются со старой идеей, видевшей причину инвагинации бластодермы в падении давления внутри бластулы, когда оно становится ниже внешнего.

К числу аргументов за то, что именно давление наружной жидкой массы определяет возникновение и рост архентерона, можно привлечь, наверное, наблюдения Dan, Okazaki (1956) за процессом экзогастрюляции. Авторам удавалось спровоцировать образование экзогастрюлы на стадии довольно протяженного архентерона. Последний укорачивался, эпителий, окружающий бластопор, выпячивался, и, наконец, архентерон выворачивался из полости эмбриона (Dan, Okazaki, 1956, Fig. 6). Процесс очень похож на выворачивание пальцев резиновой перчатки, что многие наверняка наблюдали в быту. Чтобы вывернуть пальцы, наполняют перчатку воздухом, зажимают отверстие (создают замкнутую полость) и нажимают на надутую часть. Пальцы буквально выскакивают наружу. Механизм выворачивания пальцев перчатки понятен (выталкивание внутренней воздушной массой), и никаких иных способов выворачивания архентерона при экзогастрюляции не видно. Dan, Okazaki (1956) так и описали этот процесс – как *выталкивание* архентерона. Но если

архентерон можно вытолкнуть внутренней жидкостью, то его можно и втолкнуть – наружной. Надо только, чтобы внутреннее давление упало ниже внешнего.

Если бластодерму действительно впячивает (“вталкивает”) наружная жидкость, то почему это происходит в области вегетативной пластинки? И внутренняя, и наружная жидкости, естественно, давят равномерно на *всю* бластодерму, значит, разгадку надо искать в свойствах пластинки. Rhumbler (1902) справедливо полагал, что, если впячивание происходит под давлением внешней массы, оно должно совершаться там, где бластодерма оказывает давлению наименьшее сопротивление. Инвагинирующая Entodermplatte, по мнению автора, напротив, должна сопротивляться даже более других частей бластодермы, поскольку превосходит их толщиной. Это обстоятельство, среди прочих, определило его скептическое отношение ко всей идее разницы давлений.

Вегетативная пластинка бластулы морского ежа, построенная столбчатыми клетками, тоже является толстой, однако в ее строении есть и слабые места. Так, базальная мембрана, покрывающая внутреннюю поверхность бластодермы, на стенках впячивания отсутствует (Ettensohn, 1984). Мало того, здесь имеется еще одна структурная особенность, способствующая локальному ослаблению бластодермы. В области изгиба она является *плоской*, что и отражено в названии “вегетативная *пластинка*” (и в немецком термине Entodermplatte, применяемом к бластулам разных животных). Роль свода в увеличении прочности строительных конструкций всем известна, и понятно, что уплощенная бластодерма будет противостоять наружному давлению не так успешно, как выпуклая. Позволительно думать, что уплощение бластодермы, в свою очередь, есть следствие изменения формы клеток, которые в определенном месте становятся столбчатыми.

Новая, вернее, возрожденная модель (рис. 2В) не требует разделения процесса гастрюляции морского ежа на разные этапы, т.е. значительно “упрощает” его. Одного давления наружной жидкости вполне достаточно, чтобы провести развитие архентерона от начала до конца, от изгиба вегетативной пластинки до достижения первичной кишкой анимального полюса. На более поздних стадиях развития архентерон дает новое, чаще непарное, выпячивание – целомический карман. Его появление легко объяснить давлением все

той же наружной жидкости, наполняющей первичную кишку. Конечно, рост архентерона и его производных во многом осуществляется за счет размножения эпителиальных клеток. Давление наружной массы больше направляет их рост и придает им определенную форму, хотя возможно и некоторое “принудительное” вворачивание участков бластодермы, соседствующих с вегетативной пластинкой.

В современных моделях инвагинационной гастрულიции особое значение придают превращениям клеток изгибающейся бластодермы, которые становятся бутылковидными. Так происходит не только у иглокожих, но и у других животных – у ланцетника (см. Rhumbler, 1902), у амфибий (см. Keller et al., 2003; Lee, Harland, 2007). Полагают, что клетки меняют свою форму активно, за счет сокращения актомиозинового кортекса в их апикальной части. Преобразование клеток, в свою очередь, приводит к прогибанию (впячиванию) бластодермы. В отношении иглокожих я принял иную гипотезу, согласно которой развитие архентерона происходит под давлением наружной массы. Если так, то нужно искать другое объяснение и для превращений клеток инвагинирующей бластодермы.

Начну с того, что клиновидные клетки встречаются не только в месте впячивания. Еще Rhumbler (1902) обратил внимание на то, что у разных животных *все* клетки бластодермы имеют форму клина, только повернутого узкой частью не наружу, а внутрь. Значит ли это, что клетки активно сжимают свои внутренние отделы? Никто так не говорит. Тогда что определяет здесь форму клеток? Ответ, я думаю, прост. Наружные и внутренние отделы клеток сферически изогнутой бластодермы находятся в разных условиях: первые лежат в районе большой кривизны, вторые – в районе малой. В таких условиях плотно упакованные клетки неизбежно будут расширенными снаружи и суженными внутри. Такая клиновидность клеток особенно хорошо заметна в толстой бластодерме, где протяженность ее внутренней и наружной поверхности сильно различается; в качестве примера приведу бластодерму актинии *Nematostella vectensis*, сложенную очень высокими клетками (см. Kraus, Technau, 2006). При впячивании бластодермы отношения меняются. Теперь уже внутренняя часть клеток оказывается в зоне большой кривизны, а наружная – в зоне малой. И клетки вполне ожидаемо меняют свою форму на “обратную” – становятся узкими в апикальной части и широкими в базальной. При этом не имеет значения, какая сила со-

гнула, скажем, вегетативную пластинку. Ею вполне может быть давление наружной массы, и в таком случае изменение формы клеток явится просто побочным эффектом инвагинации.

Наружные впячивания у эмбрионов и личинок позвоночных

Путем впячивания в первичную полость тела ранних эмбрионов формируются зачатки центральной нервной системы, внутреннего уха, органов обоняния, хрусталика. Значительно позднее таким же способом закладываются кожные железы тетрапод. Процессы развития нервной трубки и органов чувств исследованы очень тщательно, но единства в понимании движущих факторов достигнуто не было (сравн. Burnside 1973; Schroeder, 1973; Zwaan, Hendrix, 1973; Karfunkel, 1974; Schoenwolf, 1979; Brun, Garson, 1983; Ettensohn, 1985b; Schoenwolf, Smith, 1990). Еще не так давно автор широкого обзора (Gordon, 1985, p. 229) заявлял, что “Neurulation is an unsolved process...”. Более всего популярна идея, что эпителиальный слой прогибается благодаря изменению формы его клеток, которые становятся грушевидными – суженными у вершины и расширенными в основании. Трансформация клеток, в свою очередь, есть результат сокращения субмембранных актомиозиновых колец в апикальной части (Bernfield et al., 1973; Burnside, 1973; Schroeder, 1973; Spooner, 1973; Odell et al., 1981). С такой гипотезой мы уже познакомились при обсуждении гастрюляции, теперь к сделанным там критическим замечаниям добавим новые.

Представляется, что верхушечные отделы клеток, сжатые сократительными кольцами, должны быть округлыми в поперечном сечении, и клеткам действительно придают такую форму на схематических рисунках (например, Burnside, 1973, Fig. 15). Между тем Schroeder (1973) не нашел правильных колец на поперечных гистологических срезах клеток инвагинирующей нервной пластинки курицы. Все субмембранные филаменты были организованы в полигональные фигуры, сами клетки имели на срезах ту же полигональную форму (Schroeder, 1973, Fig. 8). Автор был удивлен такой картиной, но не нашел ей удовлетворительного объяснения. Ybot-Gonzalez, Copp (1999, p. 273) пришли к выводу, что “...contraction of actin microfilaments is not obligatory for epithelial bending during embryonic morphogenesis.” По мнению Colas, Schoenwolf (2001), апи-

кальные сократительные кольца скорее стабилизируют форму клеток, чем меняют ее. Наконец, нелишне еще раз повторить, что способность клеточного кортекса производить сокращения надо специально доказывать. Пока этого никто не сделал.

Условия, в которых находится оболочка (эктодерма) зародышей и личинок, нам знакомы. Снаружи она омывается жидкостью. Внутренней массой на самых ранних стадиях тоже является жидкость, позднее с эктодермой контактирует полужидкий внеклеточный матрикс. Таким образом, эктодерма подвергается равномерному давлению как снаружи, так и изнутри. Нельзя ли и тут применить гидромеханическую модель? С этим возникает трудность. В приложении к инвагинациям модель предусматривает, что внутреннее давление является меньше наружного (рис. 2В). Между тем, после гастрюляции эмбрионы и личинки растут, а это может происходить только тогда, когда внутреннее давление *превышает* внешнее. С другой стороны, без принятия фактора “низкого внутреннего давления” трудно понять, как эпителиальные закладки могут погрузиться в первичную полость, содержащую несжимаемое вещество (жидкость или внеклеточный матрикс). Здесь идея Odell et al. (1981), предусматривающая, что впячивания сами вытесняют “излишки” внутренней массы наружу (см. выше), кажется еще менее вероятной. Просто невозможно представить, как закладки, скажем, внутреннего уха или хрусталика выдавливают что-то через базальную мембрану.

Где же выход? Мы найдем его, если примем, что развитие эмбрионов есть процесс прерывистый, колебательный, когда рост сменяется периодами “застоя” или даже временно становится отрицательным. Подобные примеры в живой природе нам известны. Это ростовые колебания пыльцевых трубок и гифов, пульсация животных клеток, изменения давления внутри нарождающейся гастрюлы морского ежа. Такое бывает и в раннем онтогенезе позвоночных, о чем можно судить по сокращению объема тела эмбрионов и личинок. Первый пример – это заметное уменьшение поперечного сечения хвостового отдела у зародышей рыб и земноводных. Оно происходит на определенной стадии (когда рыхлая мезодерма упаковывается в плотные сомиты – Борхвардт, 1991б), и этот факт даже используют в таблицах нормального развития (см. Гинзбург, Детлаф, 1975; Дабаган, Слепцова, 1975). Второй пример – это хорошо

известный феномен уменьшения тела личинок амфибий в ходе метаморфоза, когда могут уменьшаться и его отдельные части; последнее ярко демонстрирует лежащая под позвоночником хорда жерлянки (*Anura*) (Борхвардт, 1982, рис. 17б, в). И как раз во время метаморфоза начинают инвагинировать участки эктодермы, дающие кожные железы, т.е. наблюдается четкая временная корреляция двух процессов – уменьшения полости тела и впячивания покровов.

О другой составляющей гидромеханической модели – локальном ослаблении оболочки – можно говорить еще более определенно. Базальная мембрана отсутствует в закладках обонятельных мешков *Ambystoma* (Balinsky, 1957) и интенсивно разрушается при инвагинации эпителиального слоя, формирующего кожные железы амфибий (собственные наблюдения). Есть и еще одно структурное изменение, ослабляющее сопротивление инвагинирующих участков эктодермы давлению внешней массы. Подобно архентерону морского ежа нервная трубка, обонятельные мешки, слуховые пузырьки и хрусталики у *всех* позвоночных закладываются как впячивания относительно плоских участков эктодермы, сложенных столбчатыми клетками. Эти участки имеют и соответствующие названия. Зачаток нервной трубки именуют нервной пластинкой, а зачатки других органов – плакодами. Термин “плакода” происходит от греческого слова, означающего “плоскость”, “пластинка”. Выше мы уже говорили о том, что участки оболочки с меньшей кривизной должны оказывать и меньшее сопротивление давящей массе.

Наконец, сам вид эктодермальных впячиваний наводит на мысль, что они развиваются под *равномерным* давлением (наружной жидкости). Эти инвагинации имеют вполне округлую форму, и не случайно зачатки внутреннего уха, например, получили название слуховых пузырьков.

Удивительное (или как раз *не* удивительное?) конструктивное и даже чисто внешнее сходство с пыльцевыми трубками, грибными гифами, отростками *Dictyostelium* (см. Yoshida, Inouye, 2001) демонстрируют растающие в тело эмбрионов мыши каналцы млечных желез (см. Williams, Daniel, 1983). Апикальные отделы каналцев увенчаны овальными концевыми почками; зону, переходную к трубчатому каналцу, авторы именуют шейкой. Базальная пластинка, подстилающая слой верхушечных эпителиальных клеток, на порядок тоньше, чем в области шейки; стенка шейки, к тому же, уси-

лена слоем соединительной ткани, которого на самой верхушке нет. Податливость апикальной оболочки канальцев давлению наружной жидкости несомненно увеличивает, также, отмеченное Williams, Daniel (1983) активное размножение составляющих ее клеток.

Внедрение производных внутренних органов в полость тела

Производные внутренних органов мы уже рассматривали – как выпячивания. Вместе с тем, они сходны с архентероном или нервной пластинкой в том плане, что погружаются в несжимаемую массу, заполняющую первичную полость тела. Эти выпячивания встречаются с теми же трудностями, что и впячивания, поэтому мы уделим им место и в этой главе.

Решая проблему погружения бластодермы и эктодермы в несжимаемую массу, я отверг вариант, предусматривающий, что впячивание механически вытесняет часть внутренней массы из первичной полости тела. Теоретически впячивание может “прокладывать себе путь” еще одним способом. Через внутреннюю массу оно может передавать давление на оболочку и сдвигать ее центробежно. Инвагинация в одном месте, таким образом, будет компенсирована эвагинацией в другом (других); все тело при этом увеличится, что у развитых эмбрионов и личинок и происходит. В случае со впячиванием эктодермы, однако, очень трудно представить, что эпителий инвагинирующих зачатков, скажем слуховых пузырьков, способен развивать силу, позволяющую смещать оболочку целого эмбриона. Выпячивания внутренних полостных органов такую силу развивать *могут*, поскольку за счет секреции жидкости в свою *замкнутую* полость эти органы могут наращивать “всесильное” гидростатическое давление. Каким это давление бывает у живых тел, показывают растительные клетки, у которых оно достигает многих атмосфер. Увеличиваясь, в том числе производя выпячивания, внутренние органы вполне могут смещать эктодерму эмбриона (личинки) от центра. Собственно говоря, именно рост и умножение отдельных составляющих в сумме и дает рост целого организма.

Среди внутренних полостных органов наиболее “понятной” в этом плане кажется кровеносная сеть, замкнутая на протяжении всего своего существования. Первые элементы выделительной системы – канальцы предпочки – связаны с целомом и вместе с ним

представляют собой замкнутое полостное тело. Первичнопочечный проток, формирующийся на основе первых канальцев, по существу является выпячиванием целомической полости и удлиняется сначала как его слепой вырост. В дальнейшем мочеточники получают выход наружу, но эта открытость не становится постоянной.

Развитие кишки и ее производных более сложное, мы рассмотрим его в основном на примере кишки амфибий. До конца гастрულიации кишка (архентерон) открыта во внешнюю среду. Разница внутреннего и наружного давлений, определяющая рост архентерона, достигается его падением в полости бластулы. После закрытия бластопора ситуация меняется. Секретируя жидкость в свою полость, замкнутая кишка получает возможность повышать внутреннее давление относительно давления в полости тела. Преодолевая его, а также (вместе с другими растущими частями организма) сопротивление эктодермы, кишка растет сама и производит разные выпячивания. Но вскоре ситуация опять меняется – прорывается рот, и кишка вместе с производными снова становится открытой системой. Тем не менее, рост и усложнение ее частей не прекращаются. Как теперь создается разность давлений между полостью кишки и полостью тела? Возможно, опять за счет периодического понижения давления в последней. Такой вариант был выдвинут в предыдущем разделе и подкреплен некоторыми фактами. Теперь картину можно обогатить данными, касающимися развития дериватов кишки – легких.

Всем известный пример понижения давления в полости тела относительного легочного дает способ воздушного дыхания амниот. У них давление в полости тела (или в плевральной полости) падает при работе так называемого всасывающего насоса, когда движение ребер и (у млекопитающих) диафрагмы расширяет грудную полость. У земноводных, в том числе у их личинок, всасывающего механизма нет, тем не менее легкие растут и дифференцируются. Дальше, говоря об этих животных, воспользуемся данными Машковцева (1935), наблюдавшего в норме и в опыте развитие легких у личинок разных амфибий.

Личинки аксолотля и лягушки начинают дышать атмосферным кислородом уже в воде, всплывая и заглатывая воздух. Личинки, которым перекрывали доступ к поверхности, не могли использовать воздух, и легкие у них почти не усложнялись; у аксолотля, напри-

мер, они до выхода на сушу оставались гладкостенными мешками. Машковцев решил, что для усложнения легких необходимо воздействие на них воздуха. У головастиков жабы ситуация другая. У них рано происходит зарастание гортанной щели, легкие теряют связь с ротовой полостью, а значит и с наружной средой, и становятся замкнутыми полостями; как и все ранние дериваты кишки, они заполнены жидкостью. На основе своих опытов Машковцев сделал вывод, что "...у всех нами исследованных амфибий фактором развития легкого является механическое растягивание легкого у низших форм [аксолотля и лягушки – ВБ] вдыхаемым воздухом, а у высших (жабы) – серозной жидкостью..." (Машковцев, 1935, с. 45). Давление в закрытых и наполненных жидкостью легких головастиков жабы может подниматься легко и значительно, и не удивительно, что эти легкие развиваются интенсивнее, чем у дышащих воздухом личинок лягушки и аксолотля. Менее понятно, каким образом давление в легких этих последних может быть выше давления в полости тела. В этих случаях (как и во многих других) может действовать "универсальный" механизм создания разницы давления – его падение в полости тела за счет ухода оттуда воды. Вспомним, что как раз у амфибий во время метаморфоза наблюдается сильное уменьшение размеров тела, т.е. внутриполостного давления. В это время наблюдается центростремительное смещение оболочки (покровов), образование кожных желез. Вполне возможно, что тогда же происходит интенсивное развитие легких.

Клетки

Эндоцитоз

Впячивания постоянно возникают на теле самых разных клеток. Иногда на их внутренней поверхности концентрируются клатриновые белки, и полагают, что именно их слой может играть активную роль в инвагинации (Heuser, 1989; Rupaert et al., 1991; Qualmann, Mellor, 2003). Наблюдения за клатриновыми решетками вскрытых клеток показали, что они действительно могут изгибаться в присутствии АТФ (Heuser, 1989), но клатриновая обкладка на эндоцитозных впячиваниях бывает далеко не всегда. Важную роль в организации эндоцитоза отводят также актиновым филаментам. Об

участии филаментов судят по их присутствию в зоне впячиваний, а также по реакции клеток на обработку цитохалазинами и латрункулинами. Такие методы в лучшем случае могут указать на *возможную* роль актиновых филаментов, но не способны определить, в чем она состоит. В самом деле, эта роль до сих пор не расшифрована (см. Engqvist-Goldstein, Drubin, 2003; Yazar et al., 2005; Kaksonen et al., 2006). Одна из гипотез (см. Kaksonen et al., 2006) исходит из того, что актиновые филаменты упираются в клеточную мембрану. При их удлинении, за счет добавления на наружном краю новых мономеров, старые участки сдвигаются внутрь. Эти участки связаны с мембраной и тянут ее за собой. Grębecki (1991) и Kłopotka et al. (1996) полагали, что при формировании пиноцитозных каналов амебы плазмалемму втягивает внутрь сокращающийся кортекс. У сперматозоидов *Ascaris*, однако, нет ни актиновых, ни миозиновых филаментов, тем не менее, на их теле возникают многочисленные ямки (см. Sepsenwol et al., 1989).

Вопрос о том, как оболочка (плазмалемма) погружается в закрытую полость, занятую несжимаемым веществом, в общем виде не ставят и при обсуждении эндоцитозных впячиваний. Все-таки, хоть и несколько по-другому, на факторы, препятствующие инвагинации, здесь внимание обращают. Например, указывают на то, что изгибанию клеточной мембраны противодействует ее натяжение (Raucher, Sheetz, 1999). Говоря о факторах, затрудняющих эндоцитоз у стеночных клеток, вспоминают о тургорном давлении. Действительно, в тургорных клетках эпидермиса лука Oparka et al. (1990) эндоцитозных пузырьков не видели. В отношении растительных клеток Gradmann, Robinson (1989) рассчитали, что окаймленные (одетые клатрином) пузырьки могут формироваться только при внутреннем давлении менее одной атмосферы.

В принципе проблема погружения плазмалеммы внутрь клетки имеет вполне простое решение, которое только что было предложено для объяснения механизма впячивания оболочки многоклеточных полостных тел. В отношении клеток его можно подкрепить некоторыми экспериментальными данными. Здесь инвагинацию легко спровоцировать искусственно, поместив клетки в гипертонический раствор, который осмотическим путем вытягивает из них воду. (Вспомним похожие опыты Moore, Burt (1939) с эмбрионами морского ежа). В такой среде животные клетки и протисты уменьшают

размеры и на их поверхности появляются углубления (Mast, Hopkins, 1941; Bereiter-Hahn, Strohmeier, 1987). Dai et al. (1998) позволяли нейронам *Lymnaea* (Gastropoda) набухать в гипотонической среде, а затем перемещали их в изотоническую; там клетки сжимались, и на их обращенной к субстрату стороне формировались глубокие впячивания. Обращаю специальное внимание на то, что впячивания появлялись на *плоской* поверхности клеток (Dai et al., 1998, Fig. 2; см. также Morris et al., 1997, Fig. 1b). Пузыревидные впячивания наблюдали у поперечнополосатых мышечных волокон, сжимавшихся в гипертоническом растворе (Dydyńska, Wilkie, 1963). По наблюдениям Zonia, Munnik (2008, p. 861) над пыльцевыми трубками табака “Hypotonic treatment and cell swelling stimulated exocytosis and attenuated endocytosis, while hypertonic treatment and cell shrinking stimulated endocytosis and inhibited exocytosis.”

Впячивание при пониженном внутреннем давлении (рис. 2В) столь же очевидно, как и выпячивание при повышенном (рис. 2Б), и эксперименты это подтверждают. Пульсация природных клеток свидетельствует, что они регулярно опускают свое внутреннее давление ниже внешнего. Но приводит ли это к развитию впячиваний? Пока я могу привести лишь один пример таких трансформаций. Он касается изменений *Acanthamoeba* во время инцистирования (см. Bowers, Korn, 1969). На первой стадии *Acanthamoeba* округлялась, затем начинала терять воду и сильно уменьшала размеры; одновременно клеточная мембрана впячивалась в разных местах и в теле клетки возникали открытые наружу микрощели.

Предположим, что движущей силой при эндоцитозе, как и при впячиваниях эпителия, действительно выступает давление наружной массы. Эта масса представляет собой либо жидкость, либо обводненный высоко пластичный матрикс. Давление такой массы будет стремиться создавать сферические фигуры. Эндоцитозные впячивания во многих случаях таковыми и являются, не случайно их называют и изображают пузырьками. Представить, как столь правильные фигуры создают, скажем, тянущие усилия актиновых филаментов (см. выше), довольно трудно.

Поскольку наружная масса высоко пластична, ее давление распределяется равномерно по всей поверхности клеток. В этом случае локализация инвагинаций должна определяться механической гетерогенностью оболочки, наличием в ней слабых участков. В отно-

шении выпячиваний разных тел, а также впячиваний эпителия таких фактов было приведено немало, в отношении эндоцитозных пузырьков информация очень скудная. Пока единственные известные мне клеточные впячивания, чья оболочка явно уступает по толщине соседним участкам, – это пузырьки (surface vesicles) у покоящихся гладких мускульных клеток (Devine et al., 1972, текст и Figs. 9, 22). Напомню, кроме того, что в опытах Dai et al. (1998) и Morris et al. (1997) впячивания возникали на *плоской* поверхности клеток, которая и должна была в первую очередь поддаваться давлению наружной массы (раствора).

Деление

В этом разделе речь пойдет о делении, главным образом, бессточных клеток, которое является, по сути, разновидностью впячивания. В отношении сил, совершающих этот процесс, царит почти полное согласие. Полагают, что клетку сжимает и делит сократительное кольцо, составленное актиновыми и миозиновыми филаментами. Идея сократительного кольца появилась давно (Marsland, Landau, 1954), и получила всеобщее признание (см. Sanger, Sanger, 2000; Yumura, 2001; Pollard, 2003; Albertson et al., 2005) после того, как под плазмалеммой борозды деления были найдены актиновые и миозиновые филаменты.

Каковы аргументы в пользу идеи сократительного кольца, кроме наличия в нем актиновых и миозиновых филаментов? На связь кольца с делением указывает, как будто, тот факт, что оно появляется к началу процесса деления и исчезает сразу по его окончании. Но эта временная связь не абсолютна, Schroeder (1972), например, наблюдал как зигота морского ежа заканчивала деление (при диаметре в области борозды от 2,5 мкм до нуля) *без* сократительного кольца. Деление не происходит после обработки клеток цитохалазинами, но есть и противоположные данные (Krishan, 1972). Безусловно, большое влияние на умы оказывает всеобщая вера в сократительные способности актомиозинового кортекса мышечных клеток, которая сама поддерживается примером мышечного сокращения. Продвигая идею актомиозинового сократительного кольца, Schroeder (1973, p. 1688) был уверен, что “The contractile

machinery in cells is often, if not universally, fibrillar in nature.” Однако в мышцах, вернее в поперечнополосатых волокнах, актиновые и миозиновые нити складываются в строго упорядоченные саркомерные решетки, и есть прямые наблюдения за их движением (скольжением). Иногда указывают, что расположение актиновых и миозиновых филаментов в сократительном кольце напоминает таковое в саркомере (Sanger, Sanger, 1980, 2000), однако большее число свидетельств говорят об обратном. Fishkind, Wang (1993), проведя специальное исследование делящихся клеток почек крысы, сделали вывод, что в сократительном кольце “...the actin scaffolding of dividing cells is composed of a complex three-dimensional network of filaments, rather than a simple circumferential ring (Fig. 9).”; размещение актиновых филаментов кольца, изображенных на схематическом рисунке 9d, я бы оценил как беспорядочное. Сетевое расположение актиновые филаменты демонстрируют и на рисунке 3g в статье Mabuchi et al. (1988), к тому же они соединяются друг с другом перемычками; непонятно, как в таком состоянии может происходить их скольжение относительно миозиновых филаментов (которые, кстати, не показаны). Скольжения филаментов в сократительном кольце никогда и не наблюдали.

Трудности концепции сократительного кольца на этом не заканчиваются, и Schroeder (1990) составил их целый список. Приведу лишь один заданный им вопрос. Как сокращение субмембранного актомиозинового комплекса производит унилатеральное (например, у кишечнополостных) или дискоидальное (например, у птиц) дробление? Для объяснения унилатерального дробления предложен механизм сократительной дуги (Salmon, Wolniak, 1990), но его действие не расшифровано. Sanger, Sanger (2000) считали, что для деления клетки на две дочерние необходимо именно полное кольцо. Относительно дискоидального дробления, насколько мне известно, вообще нет никаких идей. До сих пор не известно, как сократительные усилия передаются на клеточную мембрану, которую кольцо тянет к центру клетки.

Наиболее значимым фактом, поддерживающим скептическое отношение к модели сократительного кольца, является то, что клетки могут делиться *без* миозина. Так поступают мутантные представители *Dictyostelium*. Иногда их лишённые миозина клетки образу-

ют глубокие и широкие борозды (pseudo-cleavage furrows – Fukui et al., 1990), в других случаях деление доходит до конца (Knecht, Loomis, 1987; Neujahr et al., 1997; Zang et al., 1997). Так же вели себя клетки почек крысы и клетки фибросаркомы, обработанные ингибитором миозиновой активности – блеббистатином (Kanada et al., 2005), и авторы посчитали это прямым свидетельством в пользу “...contractile ring-independent equatorial furrowing in mammalian cells.” (p. 3865). Грамотрицательные бактерии не имеют стенки и делятся, как и животные клетки, перетяжкой (Koch, 1990). Между тем у них нет ни актина, ни миозина. Полагают, что здесь функциональным аналогом сократительного кольца эукариотических клеток служит тубулиновое кольцо (Lutkenhaus, Addinall, 1997), но как оно действует – не ясно. Напомню, что главное в теории мышечного сокращения – это взаимодействие нитей двух разных типов. Миозиновые головки, кстати, выполняют не только механическую функцию, но участвуют в выработке энергии.

Обозревая тридцатилетнюю историю концепции актомиозинового сократительного кольца, Uyeda, Nagasaki (2004, p. 4) взяли на себя смелость заявить, что “...there is surprisingly little compelling evidence in the literature that myosin II, or the purse-string mechanism, is essential for cytokinesis of adherent somatic cells. Evidence taken to support the essential role of myosin II in cytokinesis is mostly ambiguous, if not negative.”

Завершая критический обзор, следует вспомнить еще один известный факт, который совсем не привлекает внимания ученых. Делятся ведь не только целые клетки, но и их мембранные полостные органеллы – митохондрии, аппараты Гольджи, вакуоли стеночных клеток, пластиды растений. И это может происходить не обязательно в ходе цитокинеза. Аппарат Гольджи, например, постоянно отшнуровывает (отпочковывает) секреторные пузырьки. Никаких сократительных колец у органелл не видели.

Способность клеток делиться без актомиозинового кольца не отрицает, конечно, его участия в цитокинезе тех клеток (большинства), где оно есть. Но эти примеры отчетливо указывают на существование иного или даже иных механизмов деления полостных тел. А в таком случае традиционная схема требует особенно серьезных обоснований. Кроме всего прочего, она, как и любая другая

инвагинационная модель, должна объяснить, за счет каких особых действий оболочка *погружается внутрь замкнутой полости, наполненной несжимаемым веществом*. Иначе говоря, способно ли сократительное кольцо делящейся клетки втянуть ее мембрану в несжимаемый цитозоль?

Каковы могут быть иные механизмы деления клеток? Одного примера будет достаточно, чтобы понять, о чем может идти речь. Растительные клетки, как известно, имеют особый способ деления, не похожий на способ деления бесстеночных клеток. Однако, подвергаясь плазмолизу, они могут его изменить. В слабом гипертоническом растворе протопласт постепенно уменьшает объем, отслаивается от клеточной стенки и принимает сферическую или эллипсоидную форму; *отслоившийся протопласт может делиться путем перетяжки* (Комаров, 1949, рис. 32). Поскольку уменьшение объема протопласта и, значит, уменьшение его внутреннего давления происходит первым, можно с основанием предполагать, что именно падение давления внутри протопласта является причиной его деления. Wordeman, Cande (1990, Fig. 1) представили серию фотографий, иллюстрирующих деление диатомовой водоросли путем перетяжки. На ней ясно видно, что сразу после деления две дочерние клетки в сумме оказывались меньше одной материнской, т.е. при делении происходило уменьшение объема. Эти примеры показывают, что деление клеток тоже подчиняется правилам гидромеханической модели. Другие наблюдения, однако, ставят такой вывод под сомнение.

На схематических изображениях делящихся бесстеночных клеток часто показывают не уменьшение их, а увеличение (например, Hiramoto, 1981, Fig. 1). Быстро делившиеся клетки *Dictyostelium*, судя по фотографиям, сделанным на средних и завершающих стадиях (Neujahr et al., 1997, Fig. 8B), сохраняли длину и уменьшали объем; при медленном делении они совершенно отчетливо увеличивали длину (Fig. 8C, полная серия). Вообще, удлинение клеток при делении является вполне обычным явлением, и я сам наблюдал его при просмотре фильмов. Koch (1990) даже предлагал механизм деления грамтрицательных бактерий, когда расходящиеся полюса клетки “разрывают” ее.

Увеличение размеров, как объемных, так и линейных, несовместимо с моделью, принимающей в качестве причины инвагина-

ции падение внутреннего давления. Это затруднение снимается, если допустить, что изменение объема внутренней массы (величины внутреннего давления) делящихся клеток есть процесс *волнообразный* – масса (давление) то уменьшается, то увеличивается. Такое допущение вполне реалистично. Мы уже не раз говорили о пульсации клеток, как растущих, так и не растущих. Теперь добавлю еще один факт подобного рода, касающийся как раз процесса деления бесстеночных клеток. Dan, Dan (1947) описали дробящееся яйцо медузы на трех стадиях первого деления и отметили: “When the blastomeres round up *again* in later stages, the contour becomes smaller *once more*.” (р. 171; курсив мой – ВБ); колебания объема были зафиксированы на рисунке (Fig. 4).

Если внутреннее давление делящейся клетки действительно колеблется, того же следовало бы ожидать и от состояния борозды. Ее углубление при падении внутреннего давления должно было бы сменяться возвращением к прежнему состоянию при его повышении. Для совершения цитокинеза, однако, необходимо, чтобы возвратных смещений dna борозды не было вообще или они были бы меньше поступательных. Вот тут и может сказаться влияние “сократительного” кольца, которое подобно обручу опоясывает клетку и препятствует увеличению ее диаметра. Полюса не имеют такого усиления и под давлением разбухающей цитоплазмы расходятся. Именно так во время роста меняют свои пропорции опоясанные целлюлозными микрофибриллами растительные клетки – удлиняются на концах, но сохраняют толщину (см. выше). Понятно, что *ограничительное*, а не сократительное кольцо вполне может действовать без миозиновых филаментов – для выполнения пассивной, сдерживающей, роли вполне достаточно одних актиновых. А они в кольцах эукариотических клеток есть всегда. Сдерживающую роль вполне может играть и тубулиновое кольцо бактерий.

Второе условие гидромеханической модели – это слабость оболочки в месте эва- (рис. 2Б) или инвагинации (рис. 2В). При развитии отростков бесстеночных клеток ослабление их оболочки происходит вследствие разрушения или отслоения кортекса. В случае с делящимися клетками этого, как будто, не происходит, более того, наличие “сократительного” кольца, возможно, даже усиливает сопротивление оболочки давлению наружной массы. Все-таки ослаб-

ляющий фактор есть и тут. Перед началом деления клетка, даже бывшая до этого сферической, превращается в эллипсоид, кривизна поверхности которого в средней части, месте будущей борозды, становится меньше, чем на полюсах. О значении кривизны поверхности в плане сопротивляемости давлению мы уже говорили. Показательно, что перед началом деления равномерно дробящаяся зигота морского ежа уплощается, в зоне будущей борозды, одинаково по всему экватору (Mabuchi, 1994, текст и Fig. 2d), а неравномерно дробящаяся зигота *Xenopus* – только сверху (Bluemink, de Laat, 1973, текст и Fig. 1a).

При углублении борозды дробления зиготы *Xenopus* в ее стенки встраиваются новые участки мембраны (Bluemink, de Laat, 1973; Byers, Armstrong, 1986; Danilchik et al., 2003), что вообще характерно для процесса деления животных клеток: "...targeted membrane addition during cleavage furrow formation is a fundamental and widely conserved mechanism of animal cytokinesis." (Albertson et al., 2005 p. 92). Byers, Armstrong (1986) полагали, что добавление нового материала к плазмалемме совершается в районе боковых стенок борозды дробления. Danilchik et al. (2003) обнаружили большое число экзоцитозных пор на дне борозды и решили, что новый материал откладывается именно там. Встраивание в плазмалемму нового материала увеличивает ее способность к расширению, и это тоже должно уменьшать сопротивляемость мембраны давлению наружной среды.

Приведу в конце еще один, казалось бы, незначительный факт, который, на мой взгляд, служит вполне серьезным аргументом в пользу роли внешнего давления в делении клеток. Если сократительное кольцо действительно сокращается и тянет плазмалемму внутрь, борозда деления должна иметь вид прямой или сужающейся впадины, щели; схематические изображения и ряд оригинальных фотографий вполне соответствуют такому прогнозу. Однако борозда дробления зиготы разных амфибий (Selman, Perry, 1970; Byers, Armstrong, 1986), а также медузы (Dan, Dan, 1947, Fig. 4) заметно расширяется и округляется в своей глубокой части. Мало сомнений, что расширение происходит под давлением внеклеточной среды, а встраивание нового материала в плазмалемму этому способствует. Такое же расширяющее, вернее, углубляющее воздействие наружная масса должна оказывать и на дно борозды.

Заключение

Причиной выпячиваний, как и выпячиваний, я признаю разницу давлений внутри полостного тела и снаружи от него. Модель “выпячивание гомогенной наружной массы в зоне слабой оболочки” (рис. 2В) по существу повторяет модель “выпячивание гомогенной внутренней массы в зоне слабой оболочки” (рис. 2Б), но, так сказать, с обратным знаком. Гидромеханическая модель получает новое наполнение и расширяет область своего применения.

ПОЛЗАНИЕ КЛЕТОК

Ползание клеток нередко рассматривают как сумму (последовательность) операций и перемещение переднего и заднего отделов исследуют вне связи друг с другом. Отчасти так поступили и мы, обсудив ранее выпячивание переднего края движущихся клеток. Теперь, не выпуская из виду целую клетку, поговорим специально о движении ее тела и хвоста. Этим отделам в литературе уделено меньше внимания, а разнообразия во взглядах здесь даже больше. Множество мнений не привело к ясности в понимании проблемы, о чем говорят нередкие сетования. В качестве примера приведу слова Fukui et al. (1999, p. 877): “... little is known about the mechanism that brings the posterior cell body forward.” Со своей стороны признаюсь, что гипотезы, выдвинутые именно в этой области, были особенно трудны для анализа и вообще для понимания.

Bretscher (1988) сравнил клетку с танком. Основываясь на опытах, проведенных с использованием мембранных маркеров, Anderson et al. (1996, p. 1209) решили, что “...ellipsoidal cell body [кератоцитов – ВБ] rotates during translocation.”, тело клетки как бы катится за ламеллиподией. Iwate, Yumura (2008) постулировали наличие “elastic transition zone”, соединяющей передний и задний концы клетки и обеспечивающей, видимо, медленное подтягивание заднего края при выпячивании переднего. Как устроена эта зона, авторы не сказали. Chen (1981) предположил, что силы, выпячивающие передний край фибробластов, растягивают боковую плазмалемму (как резину), а потом она сокращается (как резина) и подтягивает хвост клетки вперед.

Движение клетки часто связывают с сократительными действиями актомиозиновых комплексов. В понимании того, как и где это происходит, ясности нет. Вот что писали Lo et al. (2004, p. 982) относительно роли миозина в двигательной активности клеток: “Although myosin II is known to play an important role in cell migration, little is known about its specific functions.” Munevar et al. (2001, p. 1755) были уверены, что силы, определяющие движение фибробластов “...are generated predominantly by actin-myosin-II-based contractions...”, но “Where the forces are generated and how the contractions are regulated remains unclear.” Вот еще одно высказывание по поводу участия сократительных комплексов в клеточной локомоции: “Myosin II is believed to play an important role in organizing protrusive activity and traction forces in migrating cells, but precisely how it produces its effects on cell locomotion remains unclear.” (Kolega, 2006, p. 4435). Svitkina et al. (1997), изучавшие локомоцию кератоцитов, полагали, что тело клетки движется за счет сокращения актомиозинового комплекса, расположенного в переходной зоне от ламеллиподии к телу клетки. Как это сокращение двигает тело клетки, мне осталось неясным. Wittmann, Waterman-Storer (2001) заметили, что сокращение происходит в теле клетки, но никаких дальнейших разъяснений не сделали. Сократительные действия приписывают и самому заднему отделу клетки (Jay et al., 1995; Iwate, Yumura, 2008).

Весомым аргументом в пользу связи локомоции с сокращениями актомиозина считают замедление движения клетки или ретракции ее псевдоподий у мутантных *Dictyostelium*, лишенных миозина (Jay et al., 1995; Iwate, Yumura, 2008). Замедление, однако, не есть прекращение, и я, в отличие от авторов, воспринимаю эти данные, как указание на то, что клетки *могут* двигаться без миозина, то есть без актомиозинового сокращения. Другие наблюдения говорят об этом еще яснее. Так, нейтрофилы, обработанные ингибитором миозина (2,3-butanedione monoxime), замедляли ретракцию хвостового отдела, но это происходило только “...on adhesive substrates... and not on poorly adhesive substrates...” (Eddy et al., 2000, p. 1287). Фибробласты, обработанные блеббистатином, ингибирующим деятельность миозина, даже увеличивали скорость локомоции (Even-Ram et al., 2007) и так же вели себя эпителиальные клетки почки с искусственно деформированными миозиновыми филаментами (Zurek et al., 1990). Lo et al. (2004, p. 988) были удивлены, обнаружив,

что “...myosin II B null fibroblasts were not only capable of migration but also migrated at a higher raw speed than did control cells.” Как видим, клетки вполне успешно двигаются без участия актомиозиновых комплексов.

То, что клетки могут ползать без привлечения актомиозина, демонстрируют сперматозоиды нематод, у которых актин и миозин практически отсутствуют (см. Nelson et al., 1982; Roberts, Streitmatter, 1984). Полагают, что при движении их функционально заменяют филаменты, составленные специфическим белком (major sperm protein – MSP). В передней части клетки эти филаменты складываются в пучки и образуют гель. “...elastic energy stored during bundle formation generates tension in the cytoskeleton to pull the cell body forward when the gel solates.” (Bottino et al., 2002, p. 375). Модель более понятна мне в другом изложении (см. Roberts, Stewart, 2000; Miao et al., 2003). По наблюдениям *in vitro* волокна, составленные MSP, могут как удлиняться, так и укорачиваться; при укорочении закрепленные на концах волокон частицы двигаются вместе с ними. Авторы предположили, что за счет укорочения этих волокон в основании псевдоподии и происходит подтягивание тела клетки вперед. К каким частям тела клетки крепятся волокна и как они передают усилия, сказано не было.

В последнее время немало говорят об участии в локомоции животных клеток воды. В статье под названием “Cells move when ions and water flow” Schwab et al. (2007, p. 428) констатировали: “...work from the last 10–15 years provides compelling evidence that ion channels and aquaporins are indispensable for efficient cell migration.” Loitto et al. (2002), хотя и соглашались с гипотезой о ведущей роли актиновых филаментов в формировании выпячиваний (см. также Loitto et al., 2007), полагали, что “...water-selective aquaporin channels regulate lamellipodium formation and neutrophil motility.” (p. 212). Мнение, что аквапорины повышают формообразовательную и двигательную активность клеток, опирается на экспериментальные данные. Только что приведенное заключение Loitto et al. (2002) было поддержано результатами опытов по блокированию аквапоринов у нейтрофилов. По данным Nara-Chikuma, Verkman (2006) клетки почечного эпителия мутантных мышей, лишенные аквапоринов, хуже, чем клетки нормальных животных, формировали ламеллиподии и наполовину уменьшали двигательную активность; искусст-

венное введение аквапоринов в мембрану мутантных клеток восстанавливало их двигательные реакции. Авторы специально отметили, что формообразовательные и двигательные различия нормальных и мутантных клеток были связаны не с различиями актинового аппарата, а с разной интенсивностью трансмембранного перемещения воды. Подобным образом вели себя клетки астроглии (Saadoun et al., 2005), более того, авторы высказали мнение, что "...the ability of water channels to accelerate cell migration may be a general phenomenon in mammalian cells." (p. 5696). Schneider et al. (2000) и Schwab (2001) основную роль в локомоции отводили цитоскелету, но полагали, что ретракция заднего отдела движущейся клетки происходит путем его сжатия после ухода оттуда воды.

Особых успехов в локомоции достигла обыкновенная амeba, *Amoeba proteus*, которая давно служит модельным объектом для изучения двигательной активности ползающих клеток. К этой амebe мы теперь и обратимся.

A. proteus обладает по крайней мере двумя важными для нас особенностями. Во-первых, в ее эндоплазме нет актиновых филаментов, способных толкать (выпячивать) апикальную плазмалемму при движении клетки или росте псевдоподий. Согласно общему мнению, эту роль выполняет цитозоль. Иными словами, здесь точно известно, каким образом механические усилия передаются на клеточную мембрану и выпячивают ее. Во-вторых, при движении амebe или при росте ее псевдоподий обнаруживается мощный ток эндоплазмы, направленный от заднего края (от уроида) к переднему или к вершине псевдоподий. За счет интенсивного эндоцитоза (пиноцитоза) участки хвостовой оболочки попадают внутрь клетки. Ток эндоплазмы транспортирует этот материал к выпячивающимся краям, где он используется на построение новых участков оболочки (Stockem, Кюроска, 1988). Таким образом, цитоплазматический ток играет ключевую роль в движении амebe и росте ее псевдоподий, осуществляя механическое воздействие на плазмалемму и доставку строительного материала. Не случайно авторы, изучавшие локомоцию амebe, "...concentrated mainly on the mechanisms generating and controlling the endoplasm stream." (Grębecki, 1984, p. 116).

Казалось бы, амeba легко раскрывает секреты, выставляя напоказ свою внутреннюю жизнь. Эта "прозрачность", однако, является обманчивой. По словам Allen (1961, p. 212), "There are very few bio-

logical problems in which so many theories have been proposed to explain so few data, as has been the case of amoeboid movement.” Прошло 30 лет, и Dembo (1989, p. 1053) признал, что “Debate about the mechanism of amoeboid motions has gone on since the last century..., but as yet the dynamical laws that govern these phenomena are largely unknown.”

В своей классической работе Mast (1926) следующим образом представил механизм локомоции амебы. Mast принимал, что покоящаяся амеба находится в тургорном состоянии. Ее “...internal osmotic pressure counterbalances the elastic tension of the plasmagel [плотный периферический слой цитоплазмы], and the beginning of movement in such a specimen is due to local solution and consequent *weakening* in the plasmagel, resulting, owing to contraction elsewhere [и последующему увеличению внутреннего давления], in local stretching and the formation of a protuberance.” (Mast, 1926, p. 410). “...locomotion [амебы] may be looked upon as being essentially due to contraction of the *thick* sheet [плазмагеля] covering the posterior end, forcing the column of fluid, the plasmasol, in the [плазмагелевой] tube forward against the *thin* sheet [плазмагеля] at the anterior end, stretching it and pushing it forward together with the surface membrane...” (Mast, 1926, p. 412; слова в квадратных скобках и курсив мои – ВБ). Плазмазоль (эндоплазма), течет вперед, густеет и надстраивает трубку плазмагеля (эктоплазмы). Новые части трубки неподвижны относительно точки в пространстве. Двигающийся вперед хвост приближается к ним и включает в свой состав. Включенная эктоплазма разжижается и опять течет вперед.

Схема Mast – равномерное внутреннее давление плюс локальное ослабление оболочки – в который уже раз повторяет знакомую нам гидромеханическую модель. Эта схема сохранила значение до наших дней, получив дополнения и уточнения. Теперь указывают, что ослабление эвагинирующей апикальной оболочки происходит в результате разрушения кортекса или отслоения от него плазмалеммы (Stockem, Кюроска, 1988; Grębecki, 1990). Стало известно, также, что кортекс движущейся амебы периодически разрушается не только на переднем конце, но и на заднем (Stockem, Кюроска, 1988). Но природа цитоплазматического тока во многом остается загадочной. Большинство вслед за Mast считают, что цитозоль перемещается вперед сокращением кортикального слоя хвостового

отдела. На сокращение уроида указывает, как полагают, его морщинистость у движущейся амёбы (Mast, 1926; Wehland et al., 1979). Кроме того, идея сокращения хвостового отдела объясняет движение вперед заднего конца клетки. Grębecka, Grębecki (1975), правда, не считали такое объяснение удовлетворительным и предположили, что "...uroid, undergoing its own contraction, is simultaneously dragged forwards by the contraction in the trunk" (p. 359). Stockem, Кюроска (1988, текст и Fig 18) поместили сократительную зону ползущей *A. proteus* тоже не в хвосте, а в средней (по длине) части клетки. Главным основанием думать, что сокращение происходит именно в области уроида, является, наверное, убеждение, что только так можно объяснить, почему эндоплазма течет от заднего конца к переднему.

Изложенные представления о двигательной активности амёбы вызывают ряд вопросов. Первый вопрос традиционный: каким образом может осуществляться эндоцитоз в хвостовом отделе, т.е. как впячивающаяся плазмалемма преодолевает сопротивление несжимаемого цитозоля? Уже покоящаяся амёба находится в тургорном состоянии, а при сжатии хвоста внутреннее давление должно еще повышаться. Далее: как сочетается сокращение кортекса хвоста с его периодическим разрушением? И, наконец, главное сомнение: действительно ли причиной существования эндоплазматического тока является сокращение хвостового кортекса?

Почему мы видим ток? Потому, что цитоплазма движется *быстрее*, чем вся клетка, чем ее задний и передний края. Но по модели Mast этого быть не должно. При своем сокращении уرويد толкает *столб* цитоплазмы (Mast так и писал – *column of fluid*). Этот столб спереди упирается в плазмалемму и движется вместе с ней, т.е. относительно нее он *неподвижен*. Плазмалемма хвоста тоже прямо упирается в эндоплазму и тоже должна двигаться вместе с нею. Вообще, в замкнутом пространстве жидкость не может течь в одном направлении – она может только циркулировать. Есть мнение, что циркуляция действительно происходит – в то время, как центральная часть цитоплазмы (эндоплазма) течет вперед, ее периферический слой (эктоплазма) движется назад; это явление получило название "фонтанного" течения (*fountain streaming*) (Stockem, Кюроска, 1988). Я сознательно сказал "мнение", а не наблюдение. Если движение эндоплазмы вперед выглядит как мощный поток, то обратное движение эктоплазмы в лучшем случае распознается лишь

с применением специальных методик, фиксирующих движение отдельных частиц (см., например, Grębecki, 1984). Mast (1926) видел обратное смещение эктоплазмы только у покоящейся амебы, но специально подчеркивал, что эктоплазма ползущей амебы *неподвижна* относительно точки в пространстве. Я просматривал фильмы, показывающие локомоцию разных амеб, и ни разу не видел даже намека на обратное смещение наружного слоя. Да этого у амебы, движущейся за счет сокращения хвостового отдела, не следует и ожидать. Как жидкость потечет в зону более высокого давления, откуда ее сокращение уроида как раз выталкивает?

Недавно Rogers et al. (2008) подтвердили наличие циркуляции цитоплазмы в псевдоподиях (лобоподиях) *A. proteus* и назвали причину существования обратного движения. “Particles embedded in the endoplasm are forced by the cytoplasmic pressure in the direction of the lobopod, whereas particles embedded in the cortex tend to have a small velocity in the opposite direction. This well-known but counterintuitive phenomenon, known as the fountain effect... is due to the cortex of the lobopod being connected directly to the cortex of the entire cell: since the cortex is contracting everywhere, it draws the lobopodial cortex back toward the cell body.” (Rogers et al., 2008, p. 3317). Общий объем кортикальных частиц,двигающихся от вершины псевдоподии, был *намного* меньше объема плотных включений, направляющихся к вершине; движущийся периферический слой даже не был сплошным (Rogers et al., 2008, Fig. 6a). Кроме того, кортикальные частицы смещались значительно медленнее. Иначе говоря, прямой (эндоплазматический) ток по мощности *намного* превосходил обратный (эктоплазматический). Масса возвращающейся цитоплазмы должна быть, конечно, меньше, той, что притекает к переднему краю, т.к. какая-то ее часть идет на строительство новой вершины. Тем не менее, вряд ли остатки мощного задне-переднего тока могут быть столь малы, что для их обнаружения надо применять специальные технологии. Замечу, что циркуляция цитоплазмы, в виде “обратного фонтана”, легко распознается в пыльцевых трубках и грибных гифах.

Rogers et al. (2008, Fig. 6a) показали обратное движение частиц только в лобоподиях. Если движение периферической цитоплазмы отростка производится сокращением кортекса “everywhere”, то как кортекс ведет себя в теле амебы, куда двигается там? И как именно он сокращается, чтобы тянуть кортекс псевдоподии? Авторы ничего

об этом не говорят. Но допустим, что часть твердого материала действительно возвращается назад, к самому уроду. А куда девается “лишняя” (не вошедшая в новое выпячивание) жидкость? Ведь именно она составляет основную массу эндоплазматического тока. Ее тоже тянет назад сокращающийся кортекс?

Завершая обзор, в очередной раз обращаю внимание на то, как легко авторы оперируют представлением о сокращении кортекса, кортикального актомиозина. Основывают свои гипотезы на положении, которое само по себе является гипотезой, к тому же не имеющей строгого обоснования (говоря откровенно – никакого).

Так как же ползет амeba? Я согласен с тем, что для ответа на этот вопрос надо прежде всего решить загадку эндоплазматического тока. Мне решение видится таким: амeba *вводит воду на заднем конце и выводит ее на переднем*. Мы уже знаем, что клетки способны активно регулировать свой объем за счет ввода и вывода воды. Это способна делать и амeba (см. Mast, Hopkins, 1941). Предлагаемая гипотеза допускает лишь, что она транспортирует воду через мембрану чрезвычайно быстро и в определенных местах. Если допущение верно, локомоторный цикл амeбы будет выглядеть следующим образом (рис. 6).

В цикле есть две чередующиеся динамические фазы. В первой (рис. 6Б, Б₁) вода входит в клетку на ее заднем конце, увеличивает объем цитоплазмы и поднимает внутреннее давление. Эктоплазма уроида насыщается водой, “разжижается” и “превращается” в эндоплазму. Одновременно кортекс переднего края разрушается (или отслаивается), эндоплазма проталкивает ослабленную апикальную оболочку (плазмалемму) вперед и двигается (выпячивается) вместе с ней – клетка удлиняется. Эндоплазма в этой фазе оттекает от заднего края, но неподвижна относительно переднего. После этого вход воды прекращается, апикальная оболочка (кортекс) восстанавливает целостность; амeba имеет максимальную длину (рис. 6В, В₁). Во второй фазе (рис. 6Г, Г₁) вода выходит из клетки на ее переднем конце, внутреннее давление опускается ниже внешнего. Кортекс уроида разрушается, оболочка здесь ослабевает, и наружная вода вдавливает (впячивает) оболочку хвоста – амeba укорачивается. Эндоплазма в этой фазе течет к переднему краю, но неподвижна относительно заднего. Когда истечение воды прекращается, амeba возвращается к начальному состоянию (рис. 6А, А₁, А₂). Суммарное

смещение эндоплазмы за две динамические фазы (рис. 6: Б + Г, Б₁ + Г₁) превышает смещение целой клетки, т.е. эндоплазма движется быстрее всей амебы (что все и видят). Я буду называть эту модель “проточной”.

Решая загадку эндоплазматического тока, проточная модель одновременно показывает: 1) как внутреннее давление увеличивается без всякого кортикального сокращения; 2) как оно падает, вызывая эндоцитоз в хвостовой области; 3) как смещаются передний и задний концы клетки. Модель предполагает, что амеба при движении периодически меняет размеры (длину), и размерные колебания действительно обнаружены у *A. proteus* (Sato et al., 1985). По-другому теперь выглядят и причины, вызывающие морщинистость уроида у ползущей амебы. Сморщивание хвоста рассматривают как результат сжатия кортекса (Mast, 1926; Wehland et al., 1979). Такой вывод является всего лишь предположением, зато достоверно известно, что сморщивание клеток происходит, когда они теряют воду, например, при помещении их в гипертонический раствор (см. Mast, Hopkins, 1941; Bereiter-Hahn, Strohmeier, 1987; Dai et al., 1998). Мы знаем, также, что кортекс уроида периодически разрушается, т.е. его оболочка периодически ослабляется. При падении внутреннего давления именно ее в первую очередь должно деформировать (“сморщивать”) давление наружной воды. Таким образом, углубления на конце движущейся амебы или на верхушке ретрактирующей псевдоподии (Cameron et al., 2007) могут быть интерпретированы как впячивания наружной жидкости.

Кроме довольно хорошо видимых вдавлений, поверхность уроида движущейся амебы несет микроскопические эндоцитозные (пиноцитозные) углубления. Эти углубления тоже рассматривают как результат сократительных действий кортекса (Grębecki, 1991; Кюроска et al., 1996; отчасти Stockem, Кюроска, 1988), но ничто не мешает и в них видеть впячивания, возникающие под давлением наружной воды. Подобные микрощели появляются на теле *Acanthamoeba*, когда она теряет воду при инцистировании (см. выше). Таким образом, все впячивания уроида или убирающихся псевдоподий амебы представляются однотипными образованиями, которые различаются лишь размерами. Вместе эти впячивания двигают заднюю оболочку внутрь, т.е. вперед. Движение амебы – это выпячивание (под давлением цитозоля) переднего края и впячива-

ние (под давлением внешней жидкости) заднего. Лучше сказать даже так: *спереди амеба двигает себя сама (выпячивается), а сзади ее двигает внешняя жидкость (впячивает)*.

Амебоидной подвижностью обладает еще один широко известный протист, *Dictyostelium*, которого часто амебой и называют. Выше мы не раз обращались к опытам Yoshida, Inouye (2001), в которых авторы наблюдали формирование отростков клетками *Dictyostelium*. Теперь пришла пора продолжить рассказ о достижениях авторов. В ходе формирования цилиндрических отростков тело клетки уменьшалось и уравнивало свой диаметр с диаметром отростка; после этого клетка начинала двигаться. Авторы думали, что уменьшение тела было следствием сокращения его кортекса. Но они же провели и другой опыт, в котором клетки *Dictyostelium* подвергали действию цитохалазина, который, как мы знаем, блокирует формирование актиновых филаментов. В дефиците филаментозного актина отросток принимал форму пузыря. Параллельно с его увеличением происходило уменьшение тела клетки, которое в конце концов совсем исчезало – оно как бы переливалось в отросток (серия фотографий на Fig. 11). Без актиновых филаментов кортекс тела клетки сокращаться не мог. Остается принять, что тело сдавливалось наружной жидкостью, а для этого оно должно было понижать свое внутреннее давление относительно внешнего. Позднее Yoshida, Soldati (2006) к такой точке зрения, как будто, и пришли. Обсуждая механизм движения клетки *Dictyostelium*, они написали: “The decrease in cytoplasmic pressure allows the opposite [задний – ВГ] end of the cell to retract resulting in net centroid translocation.” (Fig. 8, подпись). Это вступает в противоречие с условиями, при которых выпячивается передний отдел – его увеличение должно происходить как раз при повышении внутреннего давления. Теоретически выход из такой ситуации мы уже знаем – давление внутри клетки должно периодически то увеличиваться (и тогда увеличивается отросток), то уменьшаться (и тогда уменьшается тело клетки). Клетки *Dictyostelium* это как раз и демонстрируют. Langridge, Kay (2006) наблюдали за формированием у протиста пузырьвидных отростков и отметили, что объем клетки в ходе их развития был “approximately constant”. На представленном ими графике (Fig. 3) видно, что объем действительно был лишь “примерно” постоянным, поскольку он слабо колебался.

Причиной периодического уменьшения объема клетки *Dictyostelium* и ее внутреннего давления был, конечно, уход воды. Если вода покидала клетку в зоне отростка, должен был возникать направленный вперед ток цитоплазмы, обеспечивавший доставку строительного материала к растущей апикальной плазмалемме. Такого тока авторы не зафиксировали, но во всем остальном превращения *Dictyostelium* очень похожи на превращения амебы, как они только что были описаны проточной моделью. У *Amoeba* хорошо виден цитоплазматический ток, но факт сжатия хвоста наружной массой остается на уровне гипотезы. У *Dictyostelium* не описан ток, зато нет сомнений (благодаря экспериментам), что заднюю часть клетки сжимает (двигает) давление наружной массы. Если “сложить” данные по *Amoeba* и *Dictyostelium*, то как раз получается полноценная проточная модель.

Можно ли применить проточную модель и к животным клеткам? Никаких особых препятствий этому не видно. Фактор воды в представлениях о локомоции животных клеток в последнее время становится все популярнее, так что почва для переноса проточной модели на другие клетки кажется вполне подготовленной. Напомню некоторые факты, говорящие о такой готовности, и добавлю новые.

- 1) Животные клетки легко меняют свой объем, пульсируют, что происходит за счет ввода и вывода воды. Увеличение объема – это *центробежное* смещение оболочки под давлением *внутренней* массы, а уменьшение – *центростремительное* смещение оболочки под давлением *наружной*. Центростремительное смещение оболочки под давлением наружной массы есть вполне обычный элемент жизнедеятельности клеток.
- 2) Клетки способны локально ослаблять оболочку за счет разрушения (отслоения) кортикального слоя, и выше была поддержана идея, что эти операции лежат в основе развития разных выпячиваний и впячиваний.
- 3) На заднем (но не на переднем!) конце движущейся амебы возникают многочисленные мелкие и мельчайшие впячивания, “разрушающие” хвост; подобные впячивания описаны на вершине уменьшающихся отростков *Dictyostelium* (Merkel et al., 2000). Их видели и у животных клеток – на спадающихся пузырях (Cunningham, 1995; Charras et al., 2006) и, что сейчас особенно важно, ямки и морщины были описаны на хвосте фибробластов (Chen, 1981, Fig. 9 C-E). Часто думают, что все эти углубления появляются в результате сокращения кортекса, но не объясняют, как именно он дол-

жен сокращаться, чтобы их создать. Вспомним, что на теле (но не на псевдоподии!) ползающих сперматозоидов нематод, не имеющих актомиозинового комплекса, тоже возникают многочисленные ямки. Этот пример был использован в разделе “Эндоцитоз”, и там я склонился к выводу, что мелкие впячивания развиваются из-за уменьшения внутриклеточного давления (см. рис. 2В). 4) Проточная модель предусматривает попеременное изменение объема и длины клетки. Повторяющееся удлинение и укорочение наблюдали у движущихся клеток эндотелия (Kolega, 2006).

Для полноценного применения проточной модели к животным клеткам не хватает данных о наличии у них направленного тока цитоплазмы. Причиной может быть то, что у медленно передвигающихся клеток этот ток очень слабый, и его просто трудно заметить. А то, что ток слабый, вполне можно понять. Важным элементом локомоции является надстройка переднего отдела клетки. Если строительный материал плывет вместе с цитозолем, интенсивность движения и цитоплазматического тока должны быть связаны прямыми отношениями.

Строительный материал нужно доставлять не только к переднему концу движущихся клеток, но и к любым другим растущим частям (выпячиваниям). Как это происходит? Пока мы таким вопросом не задавались и сделаем это в следующей главе.

ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЙ ТРАНСПОРТ

В настоящее время преобладает мнение, что различные частицы, “...as large as nuclei and as small as RNA molecules.” (Pollard, 2003, p. 741), разносятся по клетке молекулярными моторами, которые активно двигаются вдоль микротрубочек (динеины и кинезины) или вдоль актиновых филаментов (немышечные миозины) (Vale, 1999; Reese, Haimo, 2000; Mehta, 2001; Gross et al., 2002; Schliwa, Woehlke, 2003; Hirokawa, Takemura, 2005; Hollenbeck, Saxto, 2005; Müller et al., 2008). Иные способы переноса называют реже, но они есть.

Ни у кого не вызывает сомнений, что по телу амебы все включения перемещает ток цитозоля. В токе эндоплазмы плывут пищеварительные вакуоли инфузории. Harold (2002) допускал, что транспорт внутри стеночных клеток тоже может осуществляться токами

жидкости. Lew (2005) наблюдал движение масляных капель в грибной гифе и решил, что они двигаются без участия молекулярных моторов, а плывут вместе с цитозолем. В пузырьчатых выпячиваниях животных клеток отсутствуют микротрубочки и пучки актиновых филаментов, которые могли бы участвовать в транспортных процессах, и Torgerson, McNiven (1998) были уверены, что органеллы проникали в пузыри ацинозных клеток поджелудочной железы с током цитозоля. Таким же путем, скорее всего, следуют к мембране пузырь актиновые мономеры, которые создают первоначально почти отсутствующие там филаменты кортекса. Во всяком случае трудно представить, что молекулярные моторы индивидуально переносят столь малые частицы. Правда, тут возможна диффузия. Mitchison, Kirschner (1988), говоря о движении актиновых мономеров к верхушке конуса роста нейрита, именно о ней и думали. Zicha et al. (2003), однако, рассчитали, что скорость поступления глобулярного актина (к верхушке фибробластов) не может быть достигнута простой диффузией, для этого необходим активный транспорт. При этом они отвергли участие транспортных моторов в доставке G-актина и полагали, что его переносит ток цитоплазмы, направляемый вперед сжатием тела клетки. Есть и другие примеры внутриклеточного транспорта, когда молекулярные моторы вряд ли работают.

У сперматозоидов нематод (*Ascaris Caenorhabditi*) нет ни актиновых филаментов, ни микротрубочек (Nelson et al., 1982), но материал как-то перемещается по клетке, в частности вперед, к новообразующимся участкам апикальной плазмалеммы. Общепринято, что секреторные (экзоцитозные) пузырьки, доставляющие строительный материал к растущей верхушке стеночных клеток, переносят молекулярные моторы (Fischer-Parton et al., 2000; Vidali, Hepler, 2001; Taheri-Talesh et al., 2008; Cai, Cresti, 2009). Но так же единодушно все указывают, что продольные актиновые филаменты в суб-апикальную область не заходят; протяженность свободной от филаментов зоны в пыльцевой трубке *Lilium*, например, достигает 20 μm (Miller et al., 1996). Это вызывало недоумение, и Zonia, Munnik (2008) уделили проблеме специальное внимание. Авторы нашли, что в пыльцевой трубке табака экзоцитоз совершается несколько отступя от вершины. Taheri-Talesh et al. (2008), однако, специально подчеркнули, что экзоцитоз в гифе гриба *Aspergillus* проходит на самом переднем крае. Кроме того, эндоцитозные пузырьки и по

данным Zonia, Munnik (2008) двигаются внутрь трубки от самой верхушки, т.е. как-то проходят зону, свободную от осевых актиновых филаментов.

Ток цитозоля безусловно является одним из способов перемещения веществ внутри самых разных клеток. Как создается этот ток? В тех случаях, когда его признают, считают, что цитоплазму двигает сокращение кортекса, но после всего изложенного выше можно почти наверняка сказать, что в немышечных клетках сокращения кортекса (актомиозина) вообще не бывает. Проточная модель (рис 6) предполагает, что ток цитоплазмы возникает, когда клетка активно вводит воду в одном месте и выводит в другом. Если модель верна, надо будет признать, что клетки способны создавать “специализированные” токи цитозоля и с их помощью “целенаправленно” перемещать разные материалы. Организовывать локальный ввод и вывод воды клетки могли бы путем встраивания аквапоринов в определенные участки своей мембраны. Неравномерное распределение аквапоринов в плазмалемме действительно наблюдали (Loitto et al., 2002).

МЫШЕЧНОЕ СОКРАЩЕНИЕ

Теорию мышечного сокращения разрабатывали в основном на примере поперечнополосатого мускульного волокна, которое показывает очень строгую внутреннюю организацию. Сократительной единицей здесь является саркомер. Он представляет собой трехмерную решетку, составленную толстыми миозиновыми и тонкими актиновыми филаментами, тянущимися параллельно друг другу. Переднюю и заднюю стенки саркомера образуют Z-диски, на которых крепятся актиновые филаменты соседних саркомеров.

Сократительный процесс уже давно связывали с актином и миозином – основными белками мышц. Первоначально полагали, что укорачиваются сами миофиламенты, позднее выяснилось, что они при работе мышцы своей длины не меняют. Возникшая в середине прошлого века модель скользящих нитей постулировала, что сокращение есть результат взаимодействия актиновых и миозиновых филаментов. Моторами, превращающими химическую энергию в механическую, были признаны головки миозиновых молекул. Эти головки в виде поперечных мостиков протягиваются к актиновым

филаментам и периодически присоединяются и отсоединяются от них в ходе сокращения. Присоединившись, поперечные мостики поворачиваются и тянут актиновые нити к середине саркомера. За нитями следуют Z-диски, саркомер укорачивается. Работа поперечных мостиков осуществляется за счет конформационных изменений миозиновых головок, связанных с фосфорилированием АДФ и дефосфорилированием АТФ (Rayment et al., 1993а,б).

Модель скользящих нитей, которую будем называть также моделью поперечных мостиков или моделью молекулярных моторов, быстро заняла доминирующее положение в представлениях о мышечном сокращении. “In 1972 the field of actomyosin interactions was summarized in a conference at Cold Spring Harbor... After this meeting many participants thought that the problem of muscle contraction was solved “in principle.”” (Cooke, 2004, p. 643). Однако окончательное решение так и не пришло, сетования на несовершенство знаний о природе мышечного сокращения не прерываются: “Over a century has passed since Kühne first extracted the proteins actin and myosin from muscle..., yet the molecular origin of the force produced between these two components remains one of the outstanding puzzles in biology”. (Block, 1996, p. 151); “And perhaps it is only when molecular and integrative perspectives are taken together that we can suddenly appreciate just how far we are from understanding the contractile event.” (Gunst, Fredberg, 2003, p. 415); “...although there is a general consensus that tension generation is produced by a swing of the lever arm in myosin heads attached to actin, many uncertainties remain.” (Offer, 2006, p. 205). Особенно любопытны высказывания основателей теории скользящих нитей, оценивших ее состояние по прошествии полувека. В словах Н. Е. Huxley (2004, p. 1413) преобладает оптимизм: “...I really do believe that, altogether, there is now incontrovertible evidence for the correctness of the tilting lever-arm model, although of course many important details still remain to be worked out.” А. F. Huxley (2000, p. 1194) делает акцент на трудностях теории: “The preceding paragraph mentions three recent observations that have not yet been incorporated into current theory, but there are many other unanswered questions that have been with us for many years.” И добавляет: “Apart from these recognized uncertainties, there is always the possibility that something *totally unexpected* [курсив мой – ВБ] will turn up, as hap-

pened with the disproof of the lactic acid theory and the discovery of sliding filaments.”

Надо признать, что современные дискуссии по поводу сокращения поперечнополосатых мышц касаются прежде всего способа работы миозиновых моторов, основ теории они не захватывают (см., например, Harrington, 1979; Baños et al., 1996; Houdusse, Sweeney, 2001; Tesi et al., 2002; Masuda, 2003; Lampinen, Noponen, 2005). В том, что именно миозиновые головки совершают механические действия, большинство авторов не сомневаются. Возражения встречаются редко, одно из них таково. Важным обоснованием теории поперечных мостиков выступили прямые наблюдения, показавшие, что эти мостики могут находиться под разным углом к актиновым филаментам. Однако Martin-Fernandez et al. (1994) обнаружили, что поперечные мостики не всегда меняют свою ориентацию при сокращении мышц. Они предположили, что “...in isometric contractions the change in axial orientation is not the cause of active tension production, but rather the result of it.”, и допустили возможность появления “an alternative hypothesis for contraction” (p. 319).

В применении к гладким мышцам модель скользящих нитей встречает гораздо больше преград. Структурно гладкие мускульные клетки сходны с поперечнополосатыми волокнами лишь тем, что содержат много актиновых и миозиновых филаментов, и лежат эти филаменты параллельно длинной оси клеток. Однако правильной организации они не показывают (Tyreman, Molloy, 2003), “...the sarcomeric structure akin to that in striated muscle, which allows the sliding of contractile filaments to be translated into cell shortening has yet to be elucidated.” (Herrera et al., 2005, p. 2381). Скольжения филаментов относительно друг друга в гладких мускульных клетках не наблюдали. Не наблюдали и закономерного продольного смещения так называемых плотных тел – предполагаемых аналогов Z-дисков саркомеров. Относительную протяженность миозиновых и актиновых филаментов, характер их размещения, способ работы поперечных мостиков оценивают по-разному (см. Kargacin et al., 1989; Small et al., 1990; Xu et al., 1996; Herrera et al., 2005). В целом, обсуждая организацию сократительного аппарата гладких мышц, признают, что “The intracellular organization of contractile filaments... is still poorly understood.” (Kuo, Seow, 2004, p. 1503). Добавлю еще, что в отличие от миофиламентов поперечнополосатых мышц актиновые (Gunst, Fredberg, 2003), а,

возможно, и миозиновые (Seow et al., 2000) филаменты гладких мышц нестабильны – они частично деполимеризуются во время релаксации клетки и полимеризуются (восстанавливаются) при ее активации.

Среди структурных и функциональных различий гладких и поперечнополосатых мышц некоторые привлекают особое внимание. Гладкая мускульная клетка содержит относительно намного меньше миозина и, соответственно, миозиновых головок, чем поперечнополосатое волокно; разница может быть пятикратная (Иванов, 1950; Murphy et al., 1974; Dillon, Murphy, 1982; Warshaw et al., 1987). Несмотря на это гладкая мышца порой развивает, на единицу сечения, такую же или даже большую силу, чем поперечнополосатая (Murphy et al., 1974; Dillon, Murphy, 1982). Некоторые наблюдения *in vitro* показали, что миозиновая головка гладкой мышцы работает гораздо эффективнее, чем миозиновая головка скелетной мышцы (VanBuren et al., 1994). Чаще феномен объясняют тем, что поперечные мостики гладких мышечных клеток дольше сохраняют рабочую связь с активными филаментами (Siegman et al., 1980; Dillon, Murphy, 1982; Murphy, 1994; Guilford et al., 1997; Butler et al., 2001).

Еще одно различие гладких и поперечнополосатых мышц касается их способности к укорочению. Поперечнополосатые мышцы позвоночных животных в норме укорачиваются на 25-60 процентов, поперечнополосатые мышцы насекомых – значительно меньше (Edwards et al., 1956). Гладкие мускульные клетки позвоночных укорачиваются в четыре (вычислено мною по: Fay, Delise, 1973, Fig. 1) и даже в пять (Draeger et al., 1990) раз. Структурная основа способности к такому масштабному укорочению мало понятна (Xu et al., 1996). Эту особенность гладких мышечных клеток объясняют тем, что их актиновые нити по длине значительно превосходят актиновые нити саркомеров (Small et al., 1990). Другую причину видят в том, что актиновые филаменты гладкой мышцы скользят с каждой стороны миозиновых нитей только в одном направлении; они не наталкиваются на встречные нити (как это может происходить в саркомере) и не тормозят движение (Xu et al., 1996).

Самым удивительным свойством гладких мышц является то, что они тратят на свою работу очень мало энергии. При тоническом напряжении гладкой мышцы расход химической энергии оказывается в десятки и даже сотни (300-400) раз меньшим, чем при тетаническом сокращении скелетной мышцы той же силы; величина

энергопотребления не коррелирует прямо с силой тонуса, а напряженная мышца *практически не утомляется* (Иванов, 1950; Glück, Paul, 1977; Siegman et al., 1980; Somlyo, Somlyo, 1994). Внутренний сфинктер ануса человека, например, почти все время находится в состоянии максимального сокращения, расслабляясь только на время прохождения каловых масс.

После всего сказанного мнение, что “Smooth muscle exhibits biophysical characteristics and physiological behaviors that are not readily explained by present paradigms of cytoskeletal and cross-bridge mechanics.” (Gunst, Fredberg, 2003, p. 413), кажется слишком мягким. Мало того, в работе как гладких, так и поперечнополосатых мышц есть особенность, которая *все* мышцы ставит в конфронтацию с теорией поперечных мостиков.

Если силу мышцы создают молекулярные моторы, то величина силы должна быть прямо пропорциональна числу этих моторов, а значит – размерам мышцы, ее толщине и длине. В действительности величина силы с длиной мышцы не связана, т.е. от числа молекулярных моторов *не зависит*. Величина силы коррелирует лишь с толщиной мышцы. Говоря точнее, она прямо пропорциональна площади физиологического сечения мышцы, проходящего перпендикулярно длинной оси мускульных волокон или гладких мускульных клеток. Силу мышц рассчитывают как раз на единицу площади такого сечения, например, кг-сила/см². Эти факты не просто вступают в противоречие с теорией молекулярных моторов, но по существу отвергают ее, т.е. отвергают всю современную теорию мышечного сокращения. В то же время они указывают новый путь к решению проблемы. “Biological forces from muscle are proportional to the cross-section of the muscle, and scale as [s²]. Pneumatic and hydraulic forces are caused by pressures (P) and also scale as [s²]” (Trimmer, 1989, p. 274). Как видим, этот путь ведет в зону действия гидростатических сил. Ряд особенностей в поведении гладких мускульных клеток показывают, что они в своей работе вполне могли бы использовать гидростатический механизм.

Сокращаясь изотонически в условиях эксперимента, гладкие мышечные клетки уменьшают свой объем (примерно на 20% в опытах Fay, Delise, 1973). Понятно, что это может происходить только за счет потери воды. Kargacin, Fay (1987) думали, что вода вытесняется механически при сокращении клетки. Скептическое отношение к идее механического вытеснения уже было проявлено выше при

обсуждении разных впячиваний. В случае с гладкими мышечными клетками есть возможность протестировать гипотезу данными следующего эксперимента. При изометрическом (не меняющем длину) сокращении гладких мускульных клеток происходило уменьшение их поперечного сечения (Gillis et al., 1988), а, значит, объема и водного содержания. Сокращение актомиозинового комплекса не могло быть этому причиной, так как миофиламенты гладких мускульных клеток тянутся вдоль их длинной оси, а не поперек, и авторы это специально подтвердили. Остается принять, что по крайней мере в этом случае клетки уменьшали объем за счет *активного* выведения воды осмотическим путем. На то, что гладкие мускульные клетки действительно могут активно выводить воду и даже опускать внутреннее давление ниже внешнего, косвенно указывает их способность производить многочисленные пузыревидные впячивания, называемые *surface vesicles* (Devine et al., 1972) или *caveolae* (Bond et al., 1984).

Расслабляясь после сокращения, гладкие мышечные клетки возвращают прежнюю длину и объем (Fay, Delise, 1973; Ives et al., 1978). Одно из объяснений этого феномена состоит в том, что при сокращении клетки какие-то структуры внутри нее сжимаются, а когда активное сократительное действие прекращается, накопленные силы раздвигают концы клетки (Warshaw et al., 1987); как устроена такая “пружина”, авторы не сказали. Теоретически можно говорить о расталкивании концов клетки актиновыми волокнами. Такое объяснение приводят в отношении немышечных клеток (см. выше), но в данном случае оно представляется еще менее вероятным хотя бы потому, что актиновые волокна как раз при релаксации распадаются (см. Gunst, Fredberg, 2003). Главное же заключается в том, что клетки, расслабляясь и удлиняясь, восстанавливают объем, а это может происходить только за счет возвращения воды, покинувшей их при сокращении. Kargacin, Fay (1987) решили, что увеличение гладкой мускульной клетки при релаксации происходит за счет осмотического поглощения воды, и это объяснение кажется единственно возможным.

Итак, практически не вызывает сомнений, что гладкие мускульные клетки активно выводят и вводят воду, уменьшают или увеличивают этим объем цитоплазмы и внутреннее давление и, по крайней мере частично, используют эти процессы для укорочения

(сокращения) или удлинения своего тела. По существу гладкие мускульные клетки совершают действия, которые в применении к немuscularным клеткам получили названия “регуляторное уменьшение объема” (RVD) и “регуляторное увеличение объема” (RVI). Как и другие клетки, мускульные клетки пульсируют, только эта пульсация оказывается намного масштабнее, и здесь ее фазы мы именуем сокращением и расслаблением.

Принятие гидростатического механизма сокращения гладких мышечных клеток легко объясняет перечисленные выше особенности их работы, прежде всего – малую энергоёмкость сократительного процесса и неустойчивость мышц. При сокращении клетка тратит энергию лишь на выведение воды (создание осмотического градиента), а механическую работу выполняет *давление внешней среды*. Потеряв часть воды и сократившись, мускульная клетка переходит в новое состояние, в котором ее поддерживает все то же внешнее давление. Сокращенное состояние принципиально ничем не отличается от расслабленного, и энергии для его сохранения требуется ничуть не больше. Некоторым подобием сократившейся гладкой мускульной клетки могут служить знаменитые магдебургские полушария, поддерживаемые в сомкнутом состоянии атмосферным давлением.

Если гладкие мускульные клетки уменьшают длину путем удаления воды, их способность сильно укорачиваться тоже не вызывает удивления. Удивление вызывает другой факт. Сокращаясь изотонически, клетки не только укорачиваются, но и утолщаются в своей средней (по длине) части; удлиняясь при релаксации, они опять утончаются (Fay, Delise, 1973; Fisher, Bagby, 1977; Warshaw et al., 1987; Kargacin et al., 1989). Полостное тело не может уменьшать внутреннее давление и одновременно увеличивать свои линейные размеры; точно так же размеры не могут уменьшаться при увеличении давления. Мы уже встречались с такой проблемой при обсуждении разных процессов у немuscularных клеток и тогда делали допущение, что изменение внутреннего давления (объема внутренней массы) является волнообразным процессом, где фазы уменьшения и увеличения периодически сменяют друг друга. Теперь это решение перенесем на гладкие мускульные клетки. Можно предположить, что при сокращении (укорочении) их объем уменьшается не все время; периодически он увеличивается, и в эти моменты клетка

утолщается. Подобным образом увеличение объема клетки, происходящее при ее расслаблении (удлинении), временами сменяется его уменьшением, и тогда клетка утончается (и производит попутно эндоцитозные пузырьки – см. выше). Ритмичность сокращения действительно обнаружена у разных гладких мышц как *in vivo*, так и *in vitro* (Kasai et al., 1994; Haddock, Hill, 2005). Были отмечены, также, небольшие колебания напряженности клеток, которые накладывались на общее тоническое сокращение (Bond et al., 1984).

В гладких мускульных клетках обнаружен еще один волнообразный процесс, а именно колебания концентрации внутриклеточного кальция. Ca^{2+} то выбрасывается из полостей саркоплазматического ретикулума, то возвращается назад; часть ионов входит также снаружи (Hamada et al., 1997; Savineau, Marthan, 2000; Pabelick et al., 2001; Bergner, Sanderson, 2002; Koenigsberger et al., 2004; Jude et al., 2008). Полагают, что сократительный ритм мышечных клеток зависит от колебаний концентрации Ca^{2+} (Haddock, Hill, 2005). Такие же колебания обнаружены и в немышечных клетках (Meldolesi, 1998), о пульсации которых мы говорили не раз. Ионы кальция, как и моновалентные ионы, принимают участие в перемещении воды через клеточную мембрану. Если водное содержимое гладких мускульных клеток действительно колеблется при их укорочении или удлинении, эти изменения могут быть тесно связаны с колебаниями тонуса клеток и концентрации Ca^{2+} . В ходе поляризованного роста стеночных клеток темп этого роста и концентрация Ca^{2+} в апикальной зоне меняются как раз в унисон (Harold, 2002). А мы помним, что одной из причин ростовых колебаний пыльцевых трубок и гифов называют периодическое изменение тургорного давления.

Характеризуя работу гладких мускульных клеток, обычно говорят об их укорочении. Mullins, Guntherroth (1965, p. 594) предположили, что “Cell expansion rather than shortening is seen as the prime mover of muscle contraction.” Авторы продемонстрировали это на примере длинного баллона, согнутого в петлю; петля имитировала стенку трубчатого органа, например кровеносного сосуда. При наполнении его водой, баллон утолщался, и при этом происходило уменьшение просвета петли (“сосуда”). Гладкие мускульные клетки, как мы видели, при сокращении не только укорачиваются, но и утолщаются, и оба изменения могут быть важны для выполнения их механических функций.

Весьма существенно, что гидростатическая модель работы гладкой мускульной клетки может опереться на примеры хорошо известных моторов, в частности на пример промышленных двигателей. Именно за счет разницы внутреннего (в закрытой камере) и наружного давлений совершается рабочий ход поршня в паровой машине и двигателе внутреннего сгорания. Среди индустриальных моторов особенно примечательны первые в истории паровые машины, созданные в конце 17-го – начале 18-го веков. Они работали не просто по принципу разницы давлений, но именно так, как это предусматривает новая гипотеза работы гладких мускульных клеток. Поршень этих машин совершал рабочий ход под действием наружного (атмосферного) давления, когда после конденсации пара при его охлаждении в цилиндре создавалось разреженное пространство. Эти двигатели так и называют – атмосферными паровыми машинами.

Особенно важно, что гидростатический механизм используют и живые машины, а именно растительные клетки, приводящие в движение части целого организма. В эволюции растений “... все в большей степени развивается способность к обратимым движениям на основе *изменяющегося тургорного давления* [курсив мой – ВБ]. Такой механизм возник при формировании устьиц уже у первых высших наземных растений. Затем медленные тургорные движения (настии) начинают использоваться для движения листьев, закрывания и открывания цветков. Наконец, появляются быстрые обратимые тургорные движения – сейсмонастии.” (Полевой, Саламатова, 1985, с. 191). Примером развитого двигательного аппарата растений может служить система специализированных образований – подушечек, – обеспечивающая ритмичное складывание и расправление сложных листьев бобовых. Подушечки расположены в сочленениях между стеблем и черешком, между черешком и пластинкой листа и между листочками. Они содержат моторные клетки, которые, меняя свое тургорное давление (объем), вызывают движение всего листа или листочков. Быстрые тургорные движения (сейсмонастии), как и мышечные сокращения, запускаются потенциалом действия (Полевой, Саламатова, 1985). При описании двигательных растительных клеток даже используют специальные термины, принятые для обозначения мышц, – “сгибатели” и “разгибатели”. Если бы не убеждение в том,

что растительная и животная клетка в механическом плане “разделены пропастью”, исследователи мышечного сокращения могли бы давно обратить внимание на сокращения растительных клеток.

Разница давлений определяет движение масс и во многих других процессах, как природных, так и созданных человеком. Высокое давление выбрасывает снаряды из стволов орудий, лаву вулканов, воду и пар гейзеров; разница давлений создает подъемную силу летящего самолета или плывущей акулы; ветры и морские течения в большой степени рождаются разницей давления в соседних частях воздушного или водного океанов. Можно констатировать, что, наряду с тяготением, именно *разница давлений* является важнейшим первичным фактором, вызывающим прямолинейные перемещения масс в неорганической природе и в промышленных моторах, работающих на химическом топливе. В эту схему легко укладываются все рассмотренные выше преобразования живых полостных тел, к ним можно присоединить и сокращение гладких мускульных клеток.

Поперечнополосатые мышцы сходны с гладкими в том, что величина развиваемой ими силы прямо пропорциональна их поперечному (физиологическому) сечению. Естественно ожидать, что способ выработки силы тоже одинаков. Между тем, по строению сократительных единиц мышцы существенно различаются. Гладкая мускульная клетка является замкнутым полостным телом, саркомер же представляет собой *открытую* трехмерную решетку. Условием действия гидростатического механизма является наличие разницы давлений между полостью живого тела и окружающей средой. Может ли давление внутри открытого саркомера отличаться от давления в окружающей его саркоплазме? В принципе да, разница давлений в открытых средах вполне обычна, например, между соседними участками атмосферы. Специфика замкнутых живых полостных тел состоит не в том, что их внутреннее давление может отличаться от наружного, а в том, что они эту разницу активно создают и поддерживают. Клетки, в том числе и мускульные, делают это, перемещая воду через полупроницаемую мембрану по осмотическому градиенту. При сокращении мышечной клетки вода из нее уходит. Из саркомеров в норме она тоже уходит (Carlsen et al., 1961), и, можно думать, тем же путем.

В эксперименте обмен водой между саркомерами и окружающей их средой наблюдали не раз. Частично или полностью демембранизированное (вскрытое) мышечное волокно, помещенное в релаксационный раствор сразу после разрушения сарколеммы, набирало воду и набухало (Matsubara, Elliott, 1972; Gordon et al., 1973). При этом происходило увеличение расстояния между миофиламентами, саркомеры утолщались (Godt, Maughan, 1977; Goldman, Simmons, 1986). После перевода волокон в гипертонический раствор они сжимались и принимали прежний вид. Осмотический градиент периодически возникает и при сокращении природных волокон. Как и в гладких мышцах, процесс их сокращения и расслабления коррелирует с колебаниями концентрации саркоплазматического Ca^{2+} . Когда кальций выходит из цистерн саркоплазматического ретикулума в цитоплазму, омывающую миофибриллы, он увеличивает ее тоничность. Это создает осмотический градиент между миофибриллами и окружающей саркоплазмой, по которому вода могла бы покидать саркомеры. Могла бы, если бы не одно обстоятельство.

Описывая только что опыты с демембранизированными мышечными волокнами, я умолчал о том, чем определялась гипертоничность культурального раствора. А определялась она крупными молекулами (например, декстрана), *не способными* проходить между миофиламентами и проникать в саркомер. Но ионы кальция – это не крупные молекулы декстрана. Они могут легко диффундировать в филаментозную решетку и быстро ликвидировать осмотический градиент. Рассчитано, что концентрация ионов внутри и снаружи тонкой (диаметром 1-3 мкм) миофибриллы уравнивается менее чем за миллисекунду (Telley, Denoth, 2007). Успеет ли вода покинуть саркомеры до того, как ионы кальция туда проникнут?

Теоретически существует способ воспрепятствовать проникновению ионов кальция в саркомеры. Такой преградой мог бы стать суммарный положительный заряд филаментозной решетки. Вообще этот заряд изменчив, его знак зависит, например, от величины pH. При pH, равном пяти, заряд нейтрален; при повышении pH он становится негативным; при его понижении – позитивным (Elliott, 1973; Godt, 1981; Naylor et al., 1985; Millman, 1998; Regini, Elliott, 2001). Возможно, что электростатические характеристики толстых

и тонких нитей зависят также от наличия свободной АТФ. Во всяком случае миофиламенты мышечных волокон, помещенных в релаксационный (АТФ присутствует) и в ригорный (АТФ отсутствует) растворы, несли разные заряды (Bartels, Elliott, 1985).

В свете сказанного возможный “гидравлический” сценарий сокращения саркомера поперечнополосатого мышечного волокна мог бы выглядеть так (рис. 7). Ионы кальция выходят из саркоплазматического ретикулума в экстрафибрилярную саркоплазму и повышают ее тоничность – суммарный электрический заряд саркомера становится положительным (возможно, в результате превращений нуклеотидов) – из-за этого Ca^{2+} не диффундирует в саркомеры, и вода выходит оттуда по осмотическому градиенту – в саркомере создается пониженное давление – наличие одноименных (положительных) электрических зарядов на миозиновых и актиновых нитях не позволяет им сближаться – Z-диски двигаются в зону пониженного давления, саркомер укорачивается.

Способностью сокращаться по “саркомерному” типу обладают, возможно, и гладкие мускульные клетки. Дело в том, что лишенные (в эксперименте) мембраны они в присутствии кальция и АТФ сохраняют сократительную функцию (Small, 1974; Saida, Nonomura, 1978; Kargacin, Fay, 1987; Bialojan et al., 1988; Kargacin et al., 1989; Butler et al., 2001; Niiro, Ikebe, 2001; Wilson et al., 2002), хотя и создают силу меньшую, чем интактные клетки (Arner, 1983; Kossmann et al., 1987). В гладких мышечных клетках тоже есть параллельно идущие актиновые и миозиновые филаменты, которые после демембранизации клетки и превращения ее в открытую систему могли бы действовать подобно толстым и тонким нитям саркомеров, т.е. менять электрический заряд на филаментозной решетке.

Новые представления о сокращении поперечнополосатых мышц не противоречат базовым фактам, на которых построена теория скользящих нитей. В первую очередь это касается самого факта скольжения, давшего название модели. В традиционной схеме актиновые нити двигаются потому, что миозиновые головки *тянут* их; вместе с ними они тянут и Z-диски. В гидромеханической модели Z-диски *толкают* актиновые нити, то есть скольжение нитей оказывается не причиной укорочения саркомеров, а его следствием. Может возникнуть вопрос: почему тонкие нити не де-

формируются, когда Z-диски их толкают? От этого их могут спасти электростатические силы, поддерживающие расстояния между миофиламентами (см. Elliott et. al, 1970; Millman, Nickel, 1980; Irving et al., 2000). Тут вполне уместно привести образное выражение Н. Е. Huxley (1969, p. 1360), который писал, что миофиламенты скользят "...on a cushion of long-range electrostatic forces...".

Еще один факт, занимающий важное место в современной теории мышечного сокращения, устанавливает положительную связь между степенью налегания толстых и тонких нитей друг на друга (до какого-то предела) и величиной силы, развиваемой саркомером. Причину этой связи видят в том, что от степени налегания зависит число соединяющихся с актиновыми филаментами миозиновых головок (моторов). Но значение головок не только механическое. Именно на них происходит гидролиз АТФ, а скорость гидролиза многократно увеличивается в присутствии филаментозного актина (Lynn, Taylor, 1971; Geeves, 1991). Чем больше миозиновых головок соседствует с актиновыми нитями, тем больше и тем быстрее вырабатывается энергия (меняется и поддерживается электрический заряд?). Кроме того, взаимное проникновение миофиламентов увеличивает число противостоящих одноименных зарядов, что увеличивает расталкивающие силы и препятствует поперечному сжатию (утончению) саркомеров. В свое время Elliott et. al (1970) видели основную причину сокращения мышц как раз в расталкивающем действии электрических зарядов.

Итак, сокращение саркомеров и гладких мускульных клеток есть в буквальном смысле сдавливание их наружной массой. Такое сдавливание происходит после того, как из саркомеров или клеток уходит вода и давление в них становится меньше наружного. Согласившись с тем, что причиной сокращения является уход воды из сократительных единиц, мы легче поймем еще одно различие в работе поперечнополосатых и гладких мышц, а именно тот факт, что сокращение первых происходит значительно быстрее, чем вторых. Ясно, что из открытой трехмерной решетки саркомера воде выйти гораздо легче, чем сквозь полупроницаемую мембрану целой клетки. Однако и препятствовать ее возвращению в саркомер труднее. Для этого, кроме прочего, надо все время поддерживать положительный электрический заряд филаментозной решетки. Эти энерге-

тические затраты поперечнополосатым мышцам приходится нести как плату за скорость. Потому они и утомляются так быстро.

Кроме увеличения скорости сокращения, еще одним приобретением поперечнополосатых мышц была способность более тонко регулировать сократительный процесс, и это тоже легче объяснить на основе новой модели. В гладких мышцах обмен водой осуществляется между клеткой и окружающей ее средой (рис. 8А). Химический состав этой среды более или менее изменчив, и гладкие мышцы на эти изменения живо реагируют. В поперечнополосатых мышцах водный обмен проходит внутри закрытой полости волокна, между саркомерами и саркоплазмой (рис. 8Б), где постоянство среды поддерживается более строго. Тенденция к увеличению стабильности жизненной среды вообще характерна для эволюции животных. В качестве примеров можно привести переходы от эмбрионально-личиночного развития к целиком эмбриональному или от пойкилотермии к гомотермии. Не исключено даже, что в случае с мышцами именно переход сократительного аппарата к работе в мало изменчивой среде (внутри волокна) помог двигательной (скелетной) мускулатуре стать произвольной.

Включение мышечного сокращения в сферу действия гидромеханической модели позволяет объяснить наличие как сходства (пропорциональность силы поперечному сечению), так и различий (энергоемкость, скорость сокращения...) в работе гладких и поперечнополосатых мышц. Других гипотез, которые сделали бы это так полно, не видно. Вместе с тем, новая модель вызывает и новые вопросы. Если мышцу “сокращает” наружная масса, следует признать, что у наземных животных ее силу определяет, в конечном счете, атмосферное давление, а потому эта сила не должна превышать один килограмм на квадратный сантиметр сечения. Литературные источники, однако, говорят нам, что величина силы может заметно превышать эту цифру.

Измерения мышечной силы проводили на целых мышцах, мышечных клетках, мышечных волокнах и миофибриллах. Силу исчисляли в разных единицах (ньютонх, динах...), за единицу площади сечения брали квадратные микроны, миллиметры и т.д. В приводимом ниже списке все результаты переведены в одну систему – килограмм-сила на квадратный сантиметр (кг-сила/см²). Дан-

ные изложены раздельно для разных объектов, в каждой группе – в порядке возрастания цифровых значений. *Миофибрилла скелетной мышцы*: 1,59 (Friedman, Goldman, 1996); 2,61 (Yuri et al, 1998); 3,7 (Colomo et. al, 1997); 3,43 – 9,58 (Bartoo et. al, 1993). *Миофибрилла сердечной мышцы*: 3,5 (Colomo et. al, 1997). *Гладкая мышца*: 0,13 – 2,2 (обзоры Herlihy, Murphy, 1973, 1974, по Murphy et. al, 1974); 0,34 (Arner, 1983); 0.51 (Warshaw et. al, 1986); 6.83 (Dillon, Murphy, 1982). *Сердечная мышца*: 1 (Brutsaert, Housmans, 1977, по Colomo et. al, 1997). *Скелетная мышца*: 1.47-2.94 (Close, 1972, по Murphy et. al, 1974); 2-3 (Bagshaw, 1993, по Colomo et. al, 1997); 3.57 (Close, 1972, по Dillon, Murphy, 1982).

Как видим, количественные данные сильно разнятся. Крайние позиции, возможно, надо откинуть, но даже величины в 2-3 кг на см² (из сводки Bagshaw) намного превосходят величину атмосферного давления. Все-таки некоторый выход из этой критической ситуации есть.

Гладкие мускульные клетки при сокращении утолщаются в своей средней части (и тогда, кстати, становятся похожими на сомкнутые магдебургские полушария – Fay, Delise, 1973, Fig. 1). Мои промеры изображенных на фотографиях клеток показали увеличение их радиуса примерно в 1,3 раза (Kargacin, Fay, 1987, Fig. 8), в 1,5 (Fay, Delise, 1973, Fig. 2) и в 1,7 (Fay, Delise, 1973, Fig. 1). Отдельно испытываемые миофибриллы поперечнополосатых мышц тоже утолщаются при сокращении, по всей своей длине. Мои промеры дали следующие результаты: увеличение радиуса в 1.3 раза (Hanson J. 1952, Fig. 1) и в 1,7 (Lionne et al., 2003, Fig. 1). В этих случаях как гладкие мускульные клетки, так и миофибриллы максимально увеличивали свое поперечное сечение почти в три раза. Поскольку величина силы, как мы знаем, прямо пропорциональна сечению мускульной клетки или мускульного волокна, получается, что в процессе сокращения сила тоже должна была возрастать в три раза.

Если при расчетах величины мышечной силы исходить из первоначального сечения сокращающихся тел и не учитывать его роста в ходе сокращения, то получаемые цифры могут быть сильно завышены. Мы, скажем, фиксируем площадь сечения расслабленной мышцы в 1 см², наблюдаем как она, сокращаясь, развивает силу в

два килограмма и выводим отношение 2 кг/см^2 . На самом деле силу в два килограмма может показывать уже “не та” мышца, а мышца, двукратно увеличившая площадь своего сечения. Многие наверняка видели, как буквально вздуваются мышцы атлетов при напряженной работе. Известно, также, что максимальную силу мышцы развивают не сразу, а постепенно. Таким образом, мышца с начальным сечением в 1 см^2 , *может* развивать силу более килограмма, когда ее “сокращает” атмосферное давление.

Итак, работа мышц подобна работе атмосферных паровых машин. Звучит, говоря словами А. Ф. Huxley (2000) из приведенной выше цитаты, *totally unexpected*, но эта гипотеза пока единственная, которая объясняет тот факт, что величина силы, развиваемой мышцами, пропорциональна только площади их поперечного (физиологического) сечения.

По современным представлениям способностью сокращаться обладают актомиозиновые комплексы не только мышечных, но и немышечных клеток. В отношении мышц это мнение опирается на целую систему наблюдений и соображений, сложенных в теорию скользящих филаментов. Представление о сокращении актомиозина немышечных клеток подобной доказательной базы не имеет, во многом его поддерживает пример мышечного сокращения. Отказ от модели молекулярных моторов ставит под сомнение идею актомиозинового сокращения во всех ее вариантах. Ее последней опорой кажутся экспериментальные данные, показавшие, что миозин и актин могут двигаться относительно друг друга и развивать при этом силу (Toyoshima et al., 1987; Umemoto, Sellers, 1990; VanBuren et al., 1994; Guilford et al., 1997). К сожалению, трудно сказать, насколько такое взаимодействие миозина и актина *in vitro* соответствует их взаимодействию *in vivo*. В интактных мышцах миозиновые головки совершают (по гипотезе скользящих нитей) рабочий ход только в одном направлении, тогда как в опытах они смещаются и в обратном, демонстрируют попятные движения (Guilford et al., 1997; Yanagida et al., 2000). Отсюда допускают (Yanagida et al., 2000), что перемещение миозина *in vitro* есть всего лишь броуновское движение. Складывается впечатление, таким образом, что “сократительного” взаимодействия актиновых и миозиновых филаментов в природе не существует.

ОБЩЕЕ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Универсальная модель

На страницах этой книги были рассмотрены механические процессы, преобразующие форму клеток, одноклеточных организмов, эмбрионов (личинок) животных и их отдельных органов. Мы познакомились с разными схемами, описывающими эти процессы, и увидели, что многие давно поставленные вопросы по-прежнему ждут ответов. Даже те гипотезы, которые в целом получили признание научного сообщества, например модели клеточного деления или мышечного сокращения, встречают непреодолимые, в их рамках, трудности. Ответ, сформулированный здесь, выделяется тем, что взамен моделей, посвященных отдельным явлениям, он предлагает одну и ту же схему для самых разных процессов. К подобному решению меня привело осознание того факта, что *все* живые организмы, а также многие их части в основе своей устроены одинаково – они являются *замкнутыми полостными телами*.

Каждое полостное тело состоит из двух частей: 1) внутренней массы и 2) оболочки, которая механически отграничивает внутреннюю массу от внешней среды (от наружной массы). Гипотезы, посвященные формообразовательным процессам у полостных тел, чаще всего рассматривают действие или одной внутренней массы (например, при развитии почек конечностей), или одной оболочки (например, при развитии энто- и эктодермальных зачатков); наружную массу попросту игнорируют. Согласно новой модели изменение величины и формы полостных тел *всегда* осуществляется при взаимодействии *трех* компонентов: 1) внутренней массы, 2) окружающей ее оболочки и 3) наружной массы.

Независимо от общего состава внутренней и наружной масс с оболочкой чаще всего контактирует жидкость или высоко обводненный внеклеточный матрикс, которые давят на оболочку равномерно по всей ее площади (рис. 2А). *Активно вводя и выводя вещества, прежде всего воду, полостное тело меняет объем внутренней массы и этим создает разницу между внутренним и внешним гидростатическим давлением* (рис. 2Б, В). *Внутренняя (наружная) масса стремится в зону меньшего давления, но оболочка ставит ей преграду. При возрастании разности давлений внутренняя (наруж-*

ная) масса преодолевает сопротивление оболочки, смещает ее наружу (внутри) и двигается вместе с ней. Смещения происходят раньше всего или только там, где оболочка меньше всего сопротивляется давлению; эти локальные смещения представляют собой выпячиваний (рис. 2Б) и втячиваний (рис. 2В). Уровень сопротивления оболочки давлению прилегающих масс определяется ее собственными свойствами (микроструктурой, толщиной, степенью кривизны...), а при некоторых выпячиваниях еще и наличием или отсутствием стяжек, связывающих противоположные участки оболочки (рис. 5). При активном изменении внутреннего давления фазы его увеличения и уменьшения обычно чередуются. Эта модель получила название гидромеханической.

Идеи о важной формообразовательной роли гидростатического давления в том или ином виде высказывались не раз, чаще в отношении клеток растений и грибов; тургорное давление и механическая гетерогенность оболочки давно признаны условием неравномерного роста последних. В изменении тургора видят причину моторной активности растительных клеток. Действием тех же факторов обычно объясняют появление пузыревидных выпячиваний у животных клеток и протистов. Фактор разницы давлений уже давно был использован для объяснения механизма инвагинационной гастрюляции и локомоции амебы. Модель, учитывающая формообразовательную роль разницы внутреннего и наружного гидростатического давления, распространена теперь на значительно большее число объектов и процессов, ее в полной мере можно назвать универсальной.

Механические факторы в раннем онтогенезе позвоночных

Чтобы яснее представить значимость “гидромеханических” факторов, кажется полезным проследить, в чисто повествовательной манере, их возможное действие в реальном онтогенезе. В качестве базового объекта сценария выбраны хвостатые земноводные.

Основной тренд эмбриогенеза и личиночного развития – это увеличение размеров (рост) всего организма и его частей, когда внутреннее давление превышает наружное; в это время формируются выпячивания. Бывают периоды, однако, когда давление в тех или иных полостях падает, и тогда возникают втячивания. В более подробном изложении развитие выглядит следующим образом.

На ранней стадии дробления зиготы полость нарождающейся бластулы широко сообщается с омывающей ее наружной жидкостью, внутреннее давление не отличается от внешнего. На стадии зрелой бластулы проницаемость ее оболочки падает, и эмбрион получает возможность активно регулировать внутреннее давление. Осмотическая концентрация полостной жидкости становится меньше осмотической концентрации наружной среды, вода начинает покидать бластоцель, давление в нем понижается относительно внешнего. Наружная жидкость прогибает бластодерму и вдавливает ее в полость бластулы – происходит гастрюляция (см. рис. 2В). После закрытия бластопора в первичной полости эмбриона оформляется новое замкнутое полостное тело – кишка. Пространство между *эпителиальной оболочкой* целого зародыша (эктодермой) и *эпителиальной оболочкой* кишки (энтодермой) занимают *свободные* клетки (мезодерма).

По окончании гастрюляции организм в основном растет, но временами давление внутри первичной полости тела опять становится меньше наружного. В такие периоды путем инвагинации в первичную полость возникают нервная трубка, слуховые пузырьки, обонятельные мешки; эктодерма впячивается в области плакод, где поверхность эмбриона уплощена. Клетки дорсальной мезодермы упаковываются в сомиты, ее вентральные клетки складывают стенки целомической полости. Отростки мезодермальных клеток и коллагеновые волокна (стяжки) крепятся на эктодерме и внутренних органах, связывая их друг с другом (см. рис. 5А). Разбухая, внутренняя масса эмбриона (личинки) толкает эктодерму от центра; эктодерма, связанная стяжками с внутренними органами, в свою очередь тянет туда же (центробежно) сомиты и париетальные стенки целома. Сомиты, закрепленные на центральных органах, не выдерживают напряжения, их внутренние и наружные эпителиальные стенки разрушаются. Целомические стенки сохраняют целостность, тяговые усилия центробежно смещающейся эктодермы “вырывают” из них только отдельные клетки (см. рис. 3Д, Е). В итоге пространство между эмбриональными органами первичной полости тела опять занимают свободные клетки, именуемые теперь мезенхимными (см. рис. 5Б). Главным производным мезенхимы является скелет, хрящевые и костные зачатки которого формируются из *плот-*

ных скоплений клеток. О них мы говорить не будем, речь дальше пойдет только о превращениях полостных тел.

После распадаения сомитов волокна-стяжки сохраняются преимущественно в районе поперечных миосепт, где они продолжают ограничивать центробежное смещение эктодермы. В этих местах на теле появляются бороздки, его поверхность становится волнистой (рис. 4Г; см. также рис. 5Б). Затрудняя центробежное смещение эктодермы, стяжки ограничивают расширение внутренней массы, но кожный покров, в первую очередь базальная мембрана, делает это и сам. Растущая внутренняя масса преодолевает сопротивление эктодермы и отодвигает ее от центра. Базальная мембрана местами разрушается, сопротивление покровов там уменьшается, и внутренняя масса в этих местах расширяется особенно быстро – выпячивается. Так возникают и растут хвост, непарная плавниковая складка (см. рис. 3В), наружные жабры, почки конечностей (рис. 4А; см. также рис. 3Б), жаберная складка (рис. 4Б), балансеры (рис. 4В). Многочисленные поперечные стяжки в непарной плавниковой складке (рис. 4Д) делают ее плоской (см. рис. 3В).

Эмбриональные (личиночные) органы – целом, кишка, нервная трубка, кровеносные сосуды, почечные канальцы – регулируют свое внутреннее давление автономно. Оно обычно превышает давление в первичной полости тела, что позволяет органам расти. Этот рост, как и рост целого эмбриона (личинки), может быть неравномерным. В местах, где базальная мембрана эпителиальной оболочки разрушается, жидкость, заполняющая органы, выгибает оболочку и выпячивается вместе с ней в полость тела. Таким способом возникают и потом усложняются дериваты кишки (печень, легкие), удлиняются идущие от целомической полости пронефрические протоки, почки капилляры и почечные канальцы.

Эктодерма, сдерживающая расширение внутренней массы, испытывает ее растягивающее влияние, из-за чего кожный эпителий долго сохраняет однослойность. Только на поздних личиночных стадиях, когда рост внутренней массы замедляется в сравнении с увеличением площади покровов, растягивающий эффект ослабевает, и это дает возможность сформироваться многослойному эпидермису. Во время метаморфоза объем внутренней массы даже уменьшается, внутреннее давление падает относительно наружного. Это приводит к локальным инвагинациям эпидермального клеточ-

ного слоя в местах с разрушенной базальной мембраной и формированию там кожных желез.

Механические факторы в эволюции живых организмов

Эволюцию формообразовательных способностей живых организмов можно гипотетически представить в следующем виде.

Древнейшие прокариотические организмы (клетки) были замкнутыми полостными телами, покрытыми однослойной оболочкой – плазмалеммой. Они не имели цитоскелета, но обладали специализированными водными каналами – аквапоринами. Прокариоты могли активно проводить воду через клеточную мембрану и благодаря этому менять объем цитоплазмы и, соответственно, внутриклеточное давление. Уменьшая внутреннее давление относительно внешнего и одновременно проводя локальное ослабление оболочки, прокариоты вызывали впячивание и таким способом делились. Вводя и выводя воду через определенные участки плазмалеммы, они создавали токи цитоплазмы и осуществляли с их помощью транспорт веществ внутри клетки.

Еукариотические одноклеточные организмы добавили к плазмалемме второй, внутренний, слой оболочки – кортекс, в большой мере состоявший из актиновых филаментов. Разрушая и восстанавливая отдельные участки кортекса, они смогли более эффективно регулировать механические свойства оболочки. Это позволило клеткам усложнить форму, создавая, в частности, постоянные и временные отростки. Способность “целенаправленно” менять форму позволила клеткам активно ползать за счет попеременного выпячивания (спереди) и впячивания (сзади) тела. Наибольшего успеха в этом достигли амебоидные протисты.

Животные воспроизвели древний набор механических свойств на новой конструктивной основе. Ее становление началось, когда какие-то протисты стали производить внеклеточный матрикс, прежде всего гликозаминогликаны и коллаген. Гидратированный аморфный матрикс обеспечил равномерное давление внутренней массы на оболочку первичной полости тела (эктодерму). Коллагеновые волокна построили базальную мембрану – один из двух слоев оболочки первичной полости тела и полостных органов; эпителиальные клетки образовали ее второй слой. Коллагеновые волокна, кроме того, формировали стяжки, соединяющие противоположные

участки эктодермы и препятствующие их расхождению. У эмбрионов позвоночных животных стяжки принимают участие в разрушении эпителиальных стенок сомитов (полном) и целомической полости (частичном) и в формировании таким путем мезенхимы.

По мере усложнения животных в ходе эволюции основные формообразовательные процессы смещались на все более ранние стадии онтогенеза, когда происходило, в частности, умножение полостей. Эмбрион наиболее сложно устроенных многоклеточных организмов – позвоночных животных – представляет собой иерархическую систему автономных замкнутых полостей, наполненных пластичной массой: внеклеточным матриксом (первичная полость тела), вакуолизированными клетками (хорда) и жидкостью (целом, кишка, сосуды, почечные каналы). Меняя свое внутреннее давление, разрушая и восстанавливая базальную мембрану на отдельных участках эпителия или меняя его кривизну, эти полостные тела вызывают впячивания и выпячивания, давая тем самым начало разным дефинитивным органам.

Животные клетки в целом сохранили механические свойства протистов. Способность менять объем и форму путем активного перемещения воды через мембрану особое значение приобрела у гладких мускульных клеток. Поперечнополосатые мышечные волокна выработали уникальный механизм, при котором регулируемый обмен водой осуществляется внутри них – между саркомерной решеткой и цитоплазмой. Растительные и некоторые другие клетки прибавили к своей оболочке третий, наружный, слой – полисахаридную стенку. Этот жесткий инертный слой ограничил формообразовательные и локомоторные возможности.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Борхвардт В. Г. 1982. Морфогенез и эволюция осевого скелета. Л. Изд. ЛГУ. 144 с.
- Борхвардт В. Г. 1991б. Развитие непарных плавников у некоторых представителей лучеперых рыб. *Вопр. ихтиологии*. 31: 543-555.
- Борхвардт В. Г. 1994. Развитие конечностей у личинок сибирского углозуба, *Salamandrella keyserlingii* (Amphibia, Hynobiidae). *Зоол. журн.* 73: 53-67.
- Борхвардт В. Г. 2000. Рост и становление формы почек конечностей позвоночных животных. *Онтогенез*. 31: 192-200.
- Борхвардт В. Г. 2002а. Выпячивания и выпячивания: гидромеханическая модель. *Онтогенез*. 33: 19-27.
- Борхвардт В. Г. 2002б. Гидромеханическая модель формообразовательных процессов. *Вестн. СПб. ун-та. Сер. 3. Вып. 1*: 3-21.
- Борхвардт В. Г. 2009. Механические преобразования живых полостных тел. СПб. ТЕССА. 71 с.
- Борхвардт В. Г. 2010. Механические преобразования живых полостных тел. 2-е изд. СПб. ТЕССА. 135 с.
- Борхвардт В. Г., Коваленко Е. Е. 1985. Роль механических взаимодействий в развитии миомеров и осевого скелета анамний. *Вестн. Ленингр. ун-та. Сер. 3. Вып. 1*: 3-10.
- Борхвардт В. Г., Коваленко Е. Е. 1986. Септальные перегородки эмбрионов и личинок анамний. *ДАН СССР*. 287: 764-767.
- Гинзбург А. С., Детлаф Т. А. Осетр *Acipenser güldenstädti*. В: *Объекты биологии развития*. Ред. Детлаф Т. А. М. Наука: 217-263.
- Дабагян Н. В., Слепцова, Л. А. 1975. Травяная лягушка *Rana temporaria* L. В: *Объекты биологии развития*. Ред. Детлаф Т. А. М. Наука: 442-462.
- Гурев Г.А. 1950. Системы мира. Московский рабочий. 395 с.
- Иванов И. И. 1950. Химическая динамика мышц и подвижных клеток. М. Медгиз. 254 с.
- Карлсон Б. 1983. Основы эмбриологии по Пэттену. Т. 1. М. Мир. 357 с.
- Комаров В. Л. 1949. Введение в ботанику. М. Советская Наука. 322 с.

Машковцев А. А. 1935. Роль функции при развитии органов позвоночных животных. Труды лаб. эвол. морфол. АН СССР. Т. 2, № 3: 31-52.

Полевой В. В., Саламатова Т. С. 1985. Эволюция способов движения у растений. В: Эволюция функций в растительном мире. Ред. Полевой В. В., Маслова Ю. И. Л. Изд. ЛГУ: 188-200.

Строева О. Г. 1950. Этапы формирования плавников личинок амфибий. Докл. АН СССР. 70: 145-147.

Сытина Л. А., Медведева И. М., Година Л. Б. 1987. Развитие сибирского углозуба. М. Наука. 86 с.

Шмальгаузен О. И. 1975. Осетр *Acipenser guldénstädti colchicus*. В: Объекты биологии развития. Ред. Детлаф Т. А. М. Наука: 264-277.

Abraham V. C., Krishnamurthi V., Taylor D. L., Lanni F. 1999. The actin-based nanomachine at the leading edge of migrating cells. *Biophys. J.* 77: 1721-1732.

Ahmed N., Ramjeesingh M., Wong S., Varga A., Garami E., Bear C. E. 2000. Chloride channel activity of ClC-2 is modified by the actin cytoskeleton. *Biochem. J.* 352: 789-794.

Albertson R., Riggs B., Sullivan W. 2005. Membrane traffic: a driving force in cytokinesis. *Trends Cell Biol.* 15: 92-101.

Aletta J. M., Greene L. A. 1988. Growth cone configuration and advance: a time-lapse study using video-enhanced differential interference contrast microscopy. *J. Neurosci.* 8: 1425-1435.

Allen R. D. 1961. Ameboid movement. In: *The cell*. Vol. II. Eds. Brachet J., Mirsky A.E. Academic Press. New York, London: 135-216.

Anderson K. I., Wang Y.-L., Small J. V. 1996. Coordination of protrusion and translocation of the keratocyte involves rolling of the cell body. *J. Cell Biol.* 134: 1209-1218.

Andrews P. M. 1976. Microplacae: characteristic ridge-like folds of the plasmalemma. *J. Cell Biol.* 68: 420-429.

April E. W., Maughan D. W. 1986. Active force as a function of filament spacing in crayfish skinned muscle fibers. *Pflügers Arch.* 407: 456-460.

Arner A. 1983. Force-velocity relation in chemically skinned rat portal vein. *Pflügers Arch.* 397: 6-12.

Bachewich C., Heath I. B. 1998. Radial F-actin arrays precede new hypha formation in *Saprolegnia*: implications for establishing polar growth and regulating tip morphogenesis. *J. Cell Sci.* 111: 2005-2016.

Balinsky B. I. 1957. New experiments on the mode of action of the limb inductor. *J. Exp. Zool.* 134: 239-273.

Baluška F., Jasik J., Edelmann H. G., Salajová T., Volkmann D. 2001. Latrunculin B-induced plant dwarfism: plant cell elongation is F-actin-dependent. *Dev. Biol.* 231: 113-124.

Baluška F., Wojtaszek P., Volkmann D., Barlow P. 2003. The architecture of polarized cell growth: the unique status of elongating plant cells. *BioEssays.* 25: 569-576.

Baños F. G. D., Bordas J., Lowy J., Svensson A. 1996. Small segmental rearrangements in the myosin head can explain force generation in muscle. *Biophys. J.* 71: 576-589.

Bartels E. M., Elliott G. F. 1985. Donnan potentials from the A- and I-bands of glycerinated and chemically skinned muscles, relaxed and in rigor. *Biophys. J.* 48: 61-76.

Bartoo M. L., Popov V. I., Fearn L. A., Pollack G. H. 1993. Active tension generation in isolated skeletal myofibrils. *J. Muscle Res. Cell Motil.* 14: 498-510.

Begg D. A., Rebhun L. I., Hyatt H. A. 1982. Structural organization of actin in the sea urchin egg cortex: microvillar elongation in the absence of actin filament bundle formation. *J. Cell Biol.* 93: 24-32.

Bellaïrs R. 1979. The mechanism of somite segmentation in the chick embryo. *J. Embryol. Exp. Morphol.* 51: 227-243.

Benkert R., Obermeyer G., Bentrup F.-W. 1997. The turgor pressure of growing lily pollen tubes. *Protoplasma.* 198: 1-8.

Bereiter-Hahn J., Lück M., Miebach T., Stelzer H. K., Vöth M. 1990. Spreading of trypsinized cells: cytoskeletal dynamics and energy requirements. *J. Cell Sci.* 96: 171-188.

Bereiter-Hahn J., Lüers H. 1998. Subcellular tension fields and mechanical resistance of the lamella front related to the direction of locomotion. *Cell Biochem. Biophys.* 29: 243-262.

Bereiter-Hahn J., Strohmeier R. 1987. Hydrostatic pressure in metazoan cells in culture: its involvement in locomotion and shape generation. In: *Cytomechanics. The mechanical basis of cell form and structure.* Eds. Bereiter-Hahn J., Anderson O.R., Reif W-E. Springer-Verlag, Berlin: 261-272.

Bereiter-Hahn J., Strohmeier R., Kunzenbacher I., Beck K., Vöth M. 1981. Locomotion of *Xenopus* epidermal cells in primary culture. *J. Cell Sci.* 52: 289-311.

Bergmann J. E., Kupfer A., Singer S. J. 1983. Membrane insertion at the leading edge of motile fibroblasts. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 80: 1367-1371.

Bergner A., Sanderson M. J. 2002. Acetylcholine-induced calcium signaling and contraction of airway smooth muscle cells in lung slices. J. Gen. Physiol. 119: 187-198.

Bernfield M. R., Cohn R. H., Banerjee S. D. 1973. Glycosaminoglycans and epithelial organ formation. Am. Zool. 13: 1067-1083.

Bialojan C., Ruegg J. C., Takai A. 1988. Effects of okadaic acid on isometric tension and myosin phosphorylation of chemically skinned guinea-pig taenia coli. J. Physiol. 398: 81-95.

Bliokh Z. L., Domnina L. V., Ivanova O. Yu., Pletjushkina O. Yu., Svitkina T. M., Smolyaninov V. A., Vasiliev J. M., Gelfand L. M. 1980. Spreading of fibroblasts in medium containing cytochalasin B: formation of lamellar cytoplasm as a combination of several functionally different processes. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 77: 5919-5922.

Block S. M. 1996. Fifty ways to love your lever: myosin motors. Cell. 87: 151-157.

Bluemink J. G., de Laat S. W. 1973. New membrane formation during cytokinesis in normal and cytochalasin B-treated eggs of *Xenopus laevis*. I. Electron microscope observations. J. Cell Biol. 59: 89-108.

Bond M., Kitazawa T., Somlyo A. P., Somlyo A. V. 1984. Release and recycling of calcium by the sarcoplasmic reticulum in guinea-pig portal vein smooth muscle. J. Physiol. 355: 677-695

Borisy G. G., Svitkina T. M. 2000. Actin machinery: pushing the envelope. Curr. Opin. Cell Biol. 12: 104-112.

Borkhvardt V. G. 2001. On the growth mechanics of the hynobiid limb bud. Rus. J. Herpetol. 8: 63-67.

Bottino D., Mogilner A., Roberts T., Stewart M., Oster G. 2002. How nematode sperm crawl. J. Cell Sci. 115: 367-384.

Bowers B., Korn E. D. 1969. The fine structure of *Acanthamoeba castellanii* (Neff strain). II. Encystment. J. Cell Biol. 41: 786-805.

Brawley S. H., Robinson K. R., 1985. Cytochalasin treatment disrupts the endogenous currents associated with cell polarization in fucoid zygotes: studies of the role of F-actin in embryogenesis. J. Cell. Biol. 100: 1173-1184.

Bray D. 1970. Surface movements during the growth of single explanted neurons. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 65: 905-910.

- Bray D., Money N. P., Harold F. M., Bamburg J. R. 1991. Responses of growth cones to changes in osmolality of the surrounding medium. *J. Cell Sci.* 98: 507-515.
- Bretscher M. S. 1983. Distribution of receptors for transferrin and low density lipoprotein on the surface of giant HeLa cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 80: 454-458.
- Bretscher M. S. 1988. Fibroblasts on the move. *J. Cell Biol.* 106: 235-237.
- Brette F., Calaghan S. C., Lappin S., White E., Colyer J., Le Guenec J.-Y. 2000. Biphasic effects of hyposmotic challenge on excitation-contraction coupling in rat ventricular myocytes. *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* 279: H1963–H1971.
- Bridgman P. C., Dailey M. E. 1989. The organization of myosin and actin in rapid frozen nerve growth cones. *J. Cell Biol.* 108: 95-109.
- Brody J. S., Vaccaro C. A., Gill P. J., Silbert J. E. 1982. Alterations in alveolar basement membranes during postnatal lung growth. *J. Cell Biol.* 95: 394-402.
- Brown J., Bridgman P. C. 2003. Role of myosin II in axon outgrowth. *J. Histochem. Cytochem.* 51: 421-428.
- Brun R. B., Garson J. A. 1983. Neurulation in the mexican salamander (*Ambystoma mexicanum*): a drug study and cell shape analysis of the epidermis and the neural plate. *J. Embryol. Exp. Morphol.* 74: 275-295.
- Burgess D. R., Grey R. D. 1974. Alterations in morphology of developing microvilli elicited by cytochalasin B. Studies of embryonic chick intestine in organ culture. *J. Cell Biol.* 62: 566-575.
- Burgess D. R., Prum B. E. 1982. Reevaluation of brush border motility: calcium induces core filament solation and microvillar vesiculation. *J. Cell Biol.* 94: 97-107.
- Burnside B. 1973. Microtubules and microfilaments in amphibian neurulation. *Am. Zool.* 13: 989-1006.
- Burnside B., Manasek F. J. 1972. Cytochalasin B: problems in interpreting its effect on cells. *Dev. Biol.* 27: 443-444.
- Burridge K. 1981. Are stress fibres contractile? *Nature.* 294: 691-692.
- Butler T. M., Narayan S. R., Mooers S. U., Hartshorne D. J., Siegman M. J. 2001. The myosin cross-bridge cycle and its control by twit-chin phosphorylation in catch muscle. *Biophys. J.* 80: 415-426.

Byers T. J., Armstrong P. B. 1986. Membrane protein redistribution during *Xenopus* first cleavage. *J. Cell Biol.* 102: 2176-2184.

Cabib E., Sburlati A., Bowers B., Silverman S. J. 1989. Chitin synthase 1, an auxiliary enzyme for chitin synthesis in *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Cell Biol.* 108: 1665-1672.

Cai G., Cresti M. 2009. Organelle motility in the pollen tube: a tale of 20 years. *J. Exp. Botany.* 60: 495-508.

Cala P. M. 1980. Volume regulation by *Amphiuma* red blood cells. The membrane potential and its implications regarding the nature of the ion-flux pathways. *J. Gen. Physiol.* 76: 683-708.

Cameron I., Rinaldi R. A., Kirby G., Davidson D. 2007. *Amoeba proteus* displays a walking form of locomotion. *Cell Biol. Intern.* 31: 759-762.

Cantiello H. F., Prat A. G., Bonventre J. V., Cunningham C. C., Hartwig J. H., Ausiello D. A. 1993. Actin-binding protein contributes to cell volume regulatory ion channel activation in melanoma cells. *J. Biol. Chem.* 268: 4596-4599.

Carlsen F., Knappeis G. G., Buchthal F. 1961. Ultrastructure of the resting and contracted striated muscle fiber at different degrees of stretch. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 11: 95-117.

Carton I., Hermans D., Eggermont J. 2003. Hypotonicity induces membrane protrusions and actin remodeling via activation of small GTPases Rac and Cdc42 in Rat-1 fibroblasts. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 285: C935-C944.

Chambers C., Grey R. D. 1979. Development of the structural components of the brush border in absorptive cells of the chick intestine. *Cell Tissue Res.* 204: 387-405.

Chandler D. E., Heuser. J. 1981. Postfertilization growth of microvilli in the sea urchin egg: new views from eggs that have been quick-frozen, freeze-fractured, and deeply etched. *Dev. Biol.* 82: 393-400.

Charras G. T., Hu C.-K., Coughlin M., Mitchison T. J. 2006. Reassembly of contractile actin cortex in cell blebs. *J. Cell Biol.* 175: 477-490.

Charras G. T., Yarrow J. C., Horton M. A., Mahadevan L., Mitchison T. J. 2005. Non-equilibration of hydrostatic pressure in blebbing cells. *Nature.* 435: 365-369.

Chaumont F., Barrieu F., Herman E. M., Chrispeels M. J. 1998. Characterization of a maize tonoplast aquaporin expressed in zones of cell division and elongation. *Plant Physiol.* 117: 1143-1152.

Chebli Y., Geitmann A. 2007. Mechanical principles governing pollen tube growth. *Functional Plant Sci. Biotechnol.* 1: 232-245.

Chen W.-T. 1981. Mechanism of retraction of the trailing edge during fibroblast movement. *J. Cell Biol.* 90: 187-200.

Chrispeels M. J., Maurel C. 1994. Aquaporins: the molecular basis of facilitated water movement through living plant cells? *Plant Physiol.* 105: 9-13.

Colas J.-F., Schoenwolf G. C. 2001. Towards a cellular and molecular understanding of neurulation. *Dev. Dyn.* 221: 117-145.

Cole R. A., Fowler J. E. 2006. Polarized growth: maintaining focus on the tip. *Curr. Opin. Plant Biol.* 9: 579-88.

Colomo F., Piroddi N., Poggesi C., te Kronnie G., Tesi C. 1997. Active and passive forces of isolated myofibrils from cardiac and fast skeletal muscle of the frog. *J. Physiol.* 500: 535-548.

Conti M. A., Adelstein R. S. 2008. Nonmuscle myosin II moves in new directions. *J. Cell Sci.* 121: 11-18.

Cooke R. 2004. The sliding filament model: 1972-2004. *J. Gen. Physiol.* 123: 643-656.

Cooper J. A. 1987. Effects of cytochalasin and phalloidin on actin. *J. Cell Biol.* 105: 1473-1478.

Cornet M., Lambert I. H., Hoffmann E. K. 1993. Relation between cytoskeleton, hypo-osmotic treatment and volume regulation in Ehrlich ascites tumor cells. *J. Membrane Biol.* 131: 55-66.

Cosgrove D. J. 1997. Relaxation in a high-stress environment: the molecular bases of extensible cell walls and cell enlargement. *Plant Cell.* 9: 1031-1041.

Cunningham C. C. 1995. Actin polymerization and intracellular solvent flow in cell surface blebbing. *J. Cell Biol.* 129: 1589-1599.

Dai J., Sheetz M. P., Wan X., Morris C. E. 1998. Membrane tension in swelling and shrinking molluscan neurons. *J. Neurosci.* 18: 6681-6692.

Dan K., Dan J. C. 1947. Behavior of the cell surface during cleavage. VIII. On the cleavage of medusan eggs. *Biol. Bull.* 93: 163-188.

Dan K., Okazaki K. 1956. Cyto-embryological studies of sea urchins. III. Role of the secondary mesenchyme cells in the formation of the primitive gut in sea urchin larvae. *Biol. Bull.* 110: 29-42.

- Danilchik M. V., Bedrick S. D., Brown E. E., Ray K. 2003. Furrow microtubules and localized exocytosis in cleaving *Xenopus laevis* embryos. *J. Cell Sci.* 116: 273-283.
- Davidson L.A. 2012. No strings attached: new insights into epithelial morphogenesis. *BMC Biology.* 10:105-108.
- Davidson L. A., Koehl M. A. R., Keller R., Oster G. F. 1995. How do sea urchins invaginate? Using biomechanics to distinguish between mechanisms of primary invagination. *Development.* 121: 2005-2018.
- Davidson L. A., Oster G. F., Keller R. E., Koehl M. A. R. 1999. Measurements of mechanical properties of the blastula wall reveal which hypothesized mechanisms of primary invagination are physically plausible in the sea urchin *Strongylocentrotus purpuratus*. *Dev. Biol.* 209: 221-238.
- DeBiasio R. L., Wang L.-L., Fisher G. W., Taylor D. L. 1988. The dynamic distribution of fluorescent analogues of actin and myosin in protrusions at the leading edge of migrating Swiss 3T3 fibroblasts. *J. Cell Biol.* 107: 2631-2645.
- Dembo M. 1989. Mechanics and control of the cytoskeleton in *Amoeba proteus*. *Biophys. J.* 55: 1053-1080.
- Devine C. E., Somlyo A. V, Somlyo A. P. 1972. Sarcoplasmic reticulum and excitation-contraction coupling in mammalian smooth muscles. *J. Cell Biol.* 52: 690-718
- Dillon P. F., Murphy R. A. 1982. High force development and crossbridge attachment in smooth muscle from swine carotid arteries. *Circ. Res.* 50: 799-804.
- Draeger A., Amos W. B., Ikebe M., Small J. V. 1990. The cytoskeletal and contractile apparatus of smooth muscle: contraction bands and segmentation of the contractile elements. *J. Cell Biol.* 111: 2463-2473.
- Dydyńska M., Wilkie D. R. 1963. The osmotic properties of striated muscle fibres in hypertonic solutions. With an appendix by H. E. Huxley, Sally Page and D. R. Wilkie. *J. Physiol.* 169: 312-329.
- Eddy R. J., Pierini L. M., Matsumura F., Maxfield F. R. 2000. Ca²⁺-dependent myosin II activation is required for uropod retraction during neutrophil migration. *J. Cell Sci.* 113: 1287-1298.
- Ede D.A., Law J.T. 1969. Computer simulation of vertebrate limb morphogenesis. *Nature.* 221: 244-248.
- Ede D.A., Bellairs R., Bancroft M. 1974. A scanning electron microscope study of the early limb-bud in normal and talpid³ mutant chick embryos. *J. Embryol. Exp. Morphol.* 31: 761-785.

Edwards G. A., Ruska H., Souza S. P., Vallejo-Freire A. 1956. Comparative cytophysiology of striated muscle with special reference to the role of the endoplasmic reticulum. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 2: 143-156.

Elliott G. F. 1973. Donnan and osmotic effects in muscle fibers without membranes. *J. Mechanochem. Cell Motil.* 2: 83-89.

Elliott G. F., Rome E. M., Spencer M. 1970. A type of contraction hypothesis applicable to all muscles. *Nature.* 226: 417-420.

Engel A., Fujiyoshi Y., Agre P. 2000. The importance of aquaporin water channel protein structures. *EMBO J.* 19: 800-806.

Engqvist-Goldstein Å. E.Y., Drubin D. G. 2003. Actin assembly and endocytosis: from yeast to mammals. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 19: 287-332.

Ettensohn C. A. 1984. Primary invagination of the vegetal plate during sea urchin gastrulation. *Am. Zool.* 24: 571-588.

Ettensohn C. A. 1985a. Gastrulation in the sea urchin embryo is accompanied by the rearrangement of invaginating epithelial cells. *Dev. Biol.* 112: 383-390.

Ettensohn C. A. 1985b. Mechanisms of epithelial invagination. *Quart. Rev. Biol.* 60: 289-307.

Eveloff J. L., Warnock D. G. 1987. Activation of ion transport systems during cell volume regulation. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 252: 1-10.

Even-Ram S., Doyle A. D., Conti M. A., Matsumoto K., Adelstein R. S., Yamada K. M. 2007. Myosin IIA regulates cell motility and actomyosin-microtubule crosstalk. *Nature Cell Biol.* 9: 299-309.

Everhart L. P., JR., Rubin R. W. 1974. Cyclic changes in the cell surface. II. The effect of cytochalasin B on the surface morphology of synchronized chinese hamster ovary cells. *J. Cell Biol.* 60: 442-447.

Fackler O. T., Grosse R. 2008. Cell motility through plasma membrane blebbing. *J. Cell Biol.* 181: 879-884.

Fay F. S., Delise C. M. 1973. Contraction of isolated smooth-muscle cells – structural changes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 70: 641-645.

Fedier A., Keller H. U. 1997. Suppression of bleb formation, locomotion, and polarity of walker carcinosarcoma cells by hypertonic media correlates with cell volume reduction but not with changes in the F-actin content. *Cell Motil. Cytoskeleton.* 37: 326-337.

Fenteany G., Zhu S. 2003. Small-molecule inhibitors of actin dynamics and cell motility. *Curr. Topics Med. Chem.* 3: 593-616.

Fischer-Parton S., Parton R. M., Hickey P. C., Dijksterhuis J., Atkinson H. A., Read N. D. 2000. Confocal microscopy of FM4-64 as a tool for analyzing endocytosis and vesicle trafficking in living fungal hyphae. *J. Microscopy*. 198: 246-259.

Fisher B. A., Bagby R. M. 1977. Reorientation of myofilaments during contraction of a vertebrate smooth muscle. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 232: C5-C14.

Fishkind D. J., Wang Y.-L. 1993. Orientation and three-dimensional organization of actin filaments in dividing cultured cells. *J. Cell Biol.* 123: 837-848.

Flanagan L. A., Chou J., Falet H., Neujahr R., Hartwig J. H., Stos- sel T. P. 2001. Filamin A, the Arp2/3 complex, and the morphology and function of cortical actin filaments in human melanoma cells. *J. Cell Biol.* 155: 511-517.

Forscher P., Kaczmarek L. K., Buchanan J., Smith S. J. 1987. Cyclic AMP induces changes in distribution and transport of organelles within growth cones of *Aplysia* bag cell neurons. *J. Neurosci.* 7: 3600-3611.

Friedl P., Borgmann S., Bröcker E. B. 2001. Amoeboid leukocyte crawling through extracellular matrix: lessons from the *Dictyostelium* paradigm of cell movement. *J. Leukoc. Biol.* 70: 491-509.

Friedman A. L., Goldman Y. E. 1996. Mechanical characterization of skeletal muscle myofibrils. *Biophys. J.* 71: 2774-2785.

Fukui Y., De Lozanne A., Spudich J. A. 1990. Structure and function of the cytoskeleton of a *Dictyostelium* myosin-defective mutant. *J. Cell Biol.* 110: 367-378.

Fukui Y., Kitanishi-Yumura T., Yumura S. 1999. Myosin II-independent F-actin flow contributes to cell locomotion in *Dictyostelium*. *J. Cell Sci.* 112: 877-886.

Gallagher B. C. 1986. Basal laminar thinning in branching morphogenesis of the chick lung as demonstrated by lectin probes. *J. Embryol. Exp. Morphol.* 94: 173-178.

Geeves M. A. 1991. The dynamics of actin and myosin association and the crossbridge model of muscle contraction. *Biochem. J.* 274: 1-14.

Gillis J. M., Cao M. L., Godfraind-De Becker A. 1988. Density of myosin filaments in the rat anococcygeus muscle, at rest and in contraction. II. *J. Muscle Res. Cell Motil.* 9: 18-28.

Glaesner L. 1925. Normentafeln zur Entwicklungsgeschichte des gemeinen Wassermolches (*Molge vulgaris*). Fisher Verlag, Jena. 49 S.

Glück E., Paul R. J. 1977. The aerobic metabolism of porcine carotid artery and its relationship to isometric force. *Pflügers Arch.* 370: 9-18

Godman G. C., Miranda A. F., Deitch A. D., Tanenbaum S. W. 1975. Action of cytochalasin D on cells of established lines. III. Zeiosis and movements at the cell surface. *J. Cell Biol.* 64: 644-667.

Godt R. E. 1981. A simple electrostatic model can explain the effect of pH upon the force-pCa relation of skinned frog skeletal muscle fibres. *Biophys. J.* 35: 385-392.

Godt R. E., Maughan D. W. 1977. Swelling of skinned muscle fibers of the frog. Experimental observations. *Biophys. J.* 19: 103-116.

Goldman Y. E., Simmons R. M. 1986. The stiffness of frog skinned muscle fibres at altered lateral filament spacing. *J. Physiol.* 378: 175-194.

Gordon A. M., Godt R. E., Donaldson S. K. B., Harris C. E. 1973. Tension in skinned frog muscle fibers in solutions of varying ionic strength and neutral salt composition. *J. Gen. Physiol.* 62: 550-574.

Gordon R. 1985. A review of the theories of vertebrate neurulation and their relationship to the mechanics of neural tube birth defects. *J. Embryol. Exp. Morphol.* 89. Suppl.: 229-255.

Gould R. P., Day A., Wolpert L. 1972. Mesenchymal condensation and cell contact in early morphogenesis of the chick limb. *Exp. Cell Res.* 72: 325-336.

Gradmann D., Robinson D. G. 1989. Does turgor prevent endocytosis in plant cells? *Plant Cell Environ.* 12: 151-154.

Gray D. I., Gooday G. W., Prosser J. I. 1990. Apical hyphal extension in *Streptomyces coelicolor* A3(2). *J. General Microbiol.* 136: 1077-1084.

Grębecka L., Grębecki A. 1975. Morphometric study of moving *Amoeba proteus*. *Acta Protozoologica.* 14: 337-361.

Grębecki A. 1984. Relative motion in *Amoeba proteus* in respect to the adhesion sites. I. Behavior of monotactic forms and the mechanism of fountain phenomenon. *Protoplasma.* 123: 116-134.

Grębecki A. 1990. Dynamics of the contractile system in the pseudopodial tips of normally locomoting amoebae, demonstrated in vivo by video-enhancement. *Protoplasma.* 154: 98-111.

Grębecki A. 1991. Participation of the contractile system in endocytosis demonstrated in vivo by video-enhancement in heart-pretreated amoebae. *Protoplasma.* 160: 144-158.

Grębecki A. 1994. Membrane and cytoskeleton flow in motile cells with emphasis on the contribution of free-living amoebae. *Intern. Rev. Cytol.* 148: 37-80.

Grimm H. P., Verkhovsky A. B., Mogilner A., Meister J.-J. 2003. Analysis of actin dynamics at the leading edge of crawling cells: implications for the shape of keratocyte lamellipodia. *Eur. Biophys. J.* 32: 563-577.

Grinstein S., Rothstein A., Sarkadi B., Gelfand E. W. 1984. Responses of lymphocytes to anisotonic media: volume-regulating behavior. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 246: C204-C215.

Grobstein C., Cohen J. 1965. Collagenase: effect on the morphogenesis of embryonic salivary epithelium in vitro. *Science.* 150: 626-628.

Gross S. P., Tuma M. C., Deacon S. W., Serpinskaya A. S., Reilein A. R., Gelfand V. I. 2002. Interactions and regulation of molecular motors in *Xenopus* melanophores. *J. Cell Biol.* 156: 855-865.

Guilford W. H., Dupuis D. E., Kennedy G., Wu J., Patlak J. B., Warshaw D. M. 1997. Smooth muscle and skeletal muscle myosins produce similar unitary forces and displacements in the laser trap. *Biophys. J.* 72: 1006-1021.

Gunst S. J., Fredberg J. J. 2003. The first three minutes: smooth muscle contraction, cytoskeletal events, and soft glasses. *J. Appl. Physiol.* 95: 413-425.

Haddock R. E., Hill C. E. 2005. Rhythmicity in arterial smooth muscle. *J. Physiol.* 566: 645-656.

Hamada H., Damron D. S., Hong S. J., Wagoner D. R. V., Murray P. A. 1997. Phenylephrine-induced Ca^{2+} oscillations in canine pulmonary artery smooth muscle cells. *Circ. Research.* 81: 812-823.

Hanson J. 1952. Changes in the cross-striation of myofibrils during contraction induced by adenosine triphosphate. *Nature.* 169: 530-533.

Hara-Chikuma M., Verkman A. S. 2006. Aquaporin-1 facilitates epithelial cell migration in kidney proximal tubule. *J. Am. Soc. Nephrol.* 17: 39-45.

Hardin J. 1988. The role of secondary mesenchyme cells during sea urchin gastrulation studied by laser ablation. *Development.* 103: 317-324.

Hardin J. 1989. Local shifts in position and polarized motility drive cell rearrangement during sea urchin gastrulation. *Dev. Biol.* 136: 430-445.

Hardin J. D., Cheng L. Y. 1986. The mechanisms and mechanics of archenteron elongation during sea urchin gastrulation. *Dev. Biol.* 115: 490-501.

Harold F. M., 1990. To shape a cell: an inquiry into the causes of morphogenesis of microorganisms. *Microbiol. Rev.* 54: 381-431.

Harold F. M. 2002. Force and compliance: rethinking morphogenesis in walled cells. *Fungal Genetics Biol.* 37: 271-282.

Harold R. L., Money N. P., Harold F. M. 1996. Growth and morphogenesis in *Saprolegnia ferax*: is turgor required? *Protoplasma.* 191: 105-114.

Harrington W. F. 1979. On the origin of the contractile force in skeletal muscle. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 76: 5066-5070.

Heidemann S. R., Lamoureux P., Buxbaum R. E. 1990. Growth cone behavior and production of traction force. *J. Cell Biol.* 111: 1949-1957.

Hepler P. K., Vidali L., Cheung A. Y. 2001. Polarized cell growth in higher plants. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 17: 159-187.

Hering H., Sheng M. 2001. Dendritic spines: structure, dynamics and regulation. *Nature Rev. Neurosci.* 2: 880-888.

Hermann G. J., Shaw J. M. 1998. Mitochondrial dynamics in yeast. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 14: 265-303.

Herrera A. M., McParland B. E., Bienkowska A., Tait R., Paré P. D., Seow C. Y. 2005. 'Sarcomeres' of smooth muscle: functional characteristics and ultrastructural evidence. *J. Cell Science.* 118: 2381-2392.

Heuser J. 1989. Effects of cytoplasmic acidification on clathrin lattice morphology. *J. Cell Biol.* 108: 401-411.

Hiramoto Y. 1981. Mechanical properties of dividing cells. In: *Mitosis, Cytokinesis.* Ed. Zimmerman A. M. Academic Press. New York, London: 397-418

Hirokawa N. 1982. Cross-linker system between neurofilaments, microtubules, and membranous organelles in frog axons revealed by the quick-freeze, deep-etching method. *J. Cell Biol.* 94: 129-142.

Hirokawa N., Glicksman M. A., Willard M. B. 1984. Organization of mammalian neurofilament polypeptides within the neuronal cytoskeleton. *J. Cell Biol.* 98: 1523-1536.

Hirokawa N., Heuser J. E. 1981. Quick-freeze, deep-etch visualization of the cytoskeleton beneath surface differentiations of intestinal epithelial cells. *J. Cell Biol.* 91: 399-409.

Hirokawa N., Takemura R. 2005. Molecular motors and mechanisms of directional transport in neurons. *Nature Rev. Neurosci.* 6: 201-214.

Hirokawa N., Tilney L. G., Fujiwara K., Heuser J. E. 1982. Organization of actin, myosin, and intermediate filaments in the brush border of intestinal epithelial cells. *J. Cell Biol.* 94: 425-443.

Hoffmann E. K., Lambert I. H., Pedersen S. F. 2009. Physiology of cell volume regulation in vertebrates. *Physiol Rev.* 89: 193-277.

Holdaway-Clarke T. L., Feijó J. A., Hackett G. R., Kunkel J. G., Heppler P. K. 1997. Pollen tube growth and intracellular cytosolic calcium gradient oscillate in phase while extracellular calcium influx is delayed. *Plant Cell.* 9: 1999-2010.

Hollenbeck P. J., Saxto W. M. 2005. The axonal transport of mitochondria. *J. Cell Sci.* 118: 5411-5419.

Holtzer H., Sanger J. W. 1972. Cytochalasin-B: Microfilaments, cell movement and what else? *Dev. Biol.* 27: 444-446.

Höner B., Citi S., Kendrick-Jones J., Jockusch B. M. 1988. Modulation of cellular morphology and locomotory activity by antibodies against myosin. *J. Cell Biol.* 107: 2181-2189.

Hotulainen P., Lappalainen P. 2006. Stress fibers are generated by two distinct actin assembly mechanisms in motile cells. *J. Cell Biol.* 173: 383-394.

Houdusse A., Sweeney H. L. 2001. Myosin motors: missing structures and hidden springs. *Curr. Opin Structural Biol.* 11: 182-194.

Hsu L. S., Becker E. L. 1975. Volume changes induced in rabbit polymorphonuclear leukocytes by chemotactic factor and cytochalasin B. *Am. J. Pathol.* 81: 1-14.

Hülsmann N., Grębecki A. 1995. Induction of lobopodia and lamellipodia in a filopodial organism (*Vampyrella lateritia*). *Eur. J. Protistol.* 31: 182-189.

Huxley A. F. 2000. Cross-bridge action: present views, prospects, and unknowns. *J. Biomechanics.* 33: 1189-1195.

Huxley H. E. 1969. The mechanism of muscular contraction. *Science.* 164: 1356-1366.

Huxley H. E. 2004. Fifty years of muscle and the sliding filament hypothesis. *Eur. J. Biochem.* 271: 1403-1415.

Irving T. C., Konhilas J., Perry D., Fischetti R., de Tombe P. P. 2000. Myofilament lattice spacing as a function of sarcomere length in isolated rat myocardium. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 279: 2568-2573.

Isenberg G., Rathke P. C., Hülsmann N., Franke W. W., Wohlfarth-Bottermann K. E. 1976. Cytoplasmic actomyosin fibrils in tissue culture cells. Direct proof of contractility by visualisation of ATP-induced contraction in fibrils isolated by laser microbeam dissection. *Cell Tiss.Res.* 166: 427-443.

Ives H. E., Schultz G. S., Galardy R. E., Jamieson J. D. 1978. Preparation of functional smooth muscle cells from the rabbit aorta. *J. Exp. Med.* 148: 1400-1413.

Iwadate Y., Yumura S. 2008. Actin-based propulsive forces and myosin-II-based contractile forces in migrating *Dictyostelium* cells. *J. Cell Sci.* 121: 1314-1324.

Izzard C. S., Izzard S. L. 1975. Calcium regulation of the contractile state of isolated mammalian fibroblast cytoplasm. *J. Cell Sci.* 18: 241-256.

Jackson S. L., Heath I. B. 1990. Evidence that actin reinforces the extensible hyphal apex of the oomycete *Saprolegnia ferax*. *Protoplasma.* 157: 144-153.

Jacobs J. R., Stevens J. K. 1986. Changes in the organization of the neuritic cytoskeleton during nerve growth factor-activated differentiation of PC12 cells: a serial electron microscopic study of the development and control of neurite shape. *J. Cell Biol.* 103: 895-906.

Janmey P. A. 1998. The cytoskeleton and cell signaling: component localization and mechanical coupling. *Physiol. Rev.* 78: 763-781.

Jay P. Y., Pham P. A., Wong S. A., Elson E. L. 1995. A mechanical function of myosin II in cell motility. *J. Cell Sci.* 108: 387-393.

Jude J. A., Wylam M. E., Walseth T. F., Kannan M. S. 2008. Calcium signaling in airway smooth muscle. *Proc. Am. Thorac. Soc.* 5: 15-22.

Jurand A. 1965. Ultrastructural aspects of early development of the fore-limb buds in the chick and the mouse. *Proc. Roy. Soc. London.* B162: 387-405.

Kaksonen M., Toret C. P., Drubin D. G. 2006. Harnessing actin dynamics for clathrin-mediated endocytosis. *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* 7: 404-414.

Kanada M., Nagasaki A., Uyeda T. Q. P. 2005. Adhesion-dependent and contractile ring-independent equatorial furrowing during cytokinesis in mammalian cells. *Mol. Biol. Cell.* 16: 3865-3872.

Karfunkel P. 1974. The mechanisms of neural tube formation. *Intern. Rev. Cytol.* 38: 245-271.

Kargacin G. J., Cooke P. H., Abramson S. B., Fay F. S. 1989. Periodic organization of the contractile apparatus in smooth muscle revealed by the motion of dense bodies in single cells. *J. Cell Biol.* 108: 1465-1475.

Kargacin G. J., Fay F. S. 1987. Physiological and structural properties of saponin-skinned single smooth muscle cells. *J. Gen. Physiol.* 90: 49-73.

Kasai Y., Iino M., Tsutsumi O., Taketani Y., Endo M. 1994. Effects of cyclopiazonic acid on rhythmic contractions in uterine smooth muscle bundles of the rat. *Br. J. Pharmacol.* 112: 1132-1136.

Katoh K., Kano Y., Amano M., Kaibuchi K., Fujiwara K. 2001. Stress fiber organization regulated by MLCK and Rho-kinase in cultured human fibroblasts. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 280: C1669-C1679.

Katoh K., Kano Y., Masuda M., Onishi H., Fujiwara K. 1998. Isolation and contraction of the stress fiber. *Mol. Biol. Cell.* 9: 1919-1938.

Kawai M., Wray J. S., Zhao Y. 1993. The effect of lattice spacing change on cross-bridge kinetics in chemically skinned rabbit psoas muscle fibers. I. Proportionality between the lattice spacing and the fiber width. *Biophys. J.* 64: 187-196.

Keller H., Eggl P. 1998. Protrusive activity, cytoplasmic compartmentalization, and restriction rings in locomoting blebbing Walker carcinoma cells are related to detachment of cortical actin from the plasma membrane. *Cell Motil. Cytoskel.* 41: 181-193.

Keller R., Davidson L. A., Shook D. R. 2003. How we are shaped: The biomechanics of gastrulation. *Differentiation.* 71: 171-205.

Kelley R. O., Bluemink J. G. 1974. An ultrastructural analysis of cells and matrix differentiation during early limb development in *Xenopus laevis*. *Dev. Biol.* 37: 1-17.

Kimberly E. L., Hardin J. 1998. Bottle cells are required for the initiation of primary invagination in the sea urchin embryo. *Dev. Biol.* 204: 235-250.

King L. S., Yasui M., Agre P. 2000. Aquaporins in health and disease. *Mol. Med. Today.* 6: 60-65.

Kłopocka W., Kołodziejczyk J., Lopatowska A., Grębecki A. 1996. Relationship between pinocytosis and adhesion in *Amoeba proteus*. *Cell Biol. Intern.* 20: 635-641.

Knecht D. A., Loomis W. F. 1987. Antisense RNA inactivation of myosin heavy chain gene expression in *Dictyostelium discoideum*. *Science.* 236: 1081-1086.

Koch A. L. 1990. Growth and form of the bacteria cell wall. *Am. Scientist*. 18: 327-341.

Koch J.-P., Korbmayer C. 2000. Mechanism of shrinkage activation of nonselective cation channels in M-1 mouse cortical collecting duct cells. *J. Membrane Biol.* 177: 231-242.

Koenigsberger M., Sauser R., Lamboley M., Bény J.-L., Meister J.-J. 2004. Ca^{2+} Dynamics in a population of smooth muscle cells: modeling the recruitment and synchronization. *Biophys. J.* 87: 92-104.

Kolega J. 1986. The cellular basis of epithelial morphogenesis. In: *Developmental biology*. Vol. 2. The cellular basis of morphogenesis. Ed. Browder L.W. Plenum Press. New York, London: 103-143.

Kolega J. 2006. The role of myosin II motor activity in distributing myosin asymmetrically and coupling protrusive activity to cell translocation. *Mol. Biol. Cell.* 17: 4435-4445.

Kominami T., Takata H. 2004. Gastrulation in the sea urchin embryo: A model system for analyzing the morphogenesis of a monolayered epithelium. *Dev. Growth Differ.* 46: 309-326.

Koshy S. S., Montrose M. H., Sears C. L. 1996. Human intestinal epithelial cells swell and demonstrate actin rearrangement in response to the metalloprotease toxin of *Bacteroides fragilis*. *Infection Immunity*. 64: 5022-5028.

Kossmann T., Fürst D., Small J. V. 1987. Structural and biochemical analysis of skinned smooth muscle preparations. *J. Muscle Res. Cell Motil.* 8: 135-144.

Kraus Y., Technau U. 2006. Gastrulation in the sea anemone *Nematostella vectensis* occurs by invagination and immigration: an ultrastructural study. *Dev. Genes Evol.* 216: 119-132.

Krishan A. 1972. Cytochalasin-B: time-lapse cinematographic studies on its effects on cytokinesis. *J. Cell Biol.* 54: 657-664.

Kuo K.-H., Seow C. Y. 2004. Contractile filament architecture and force transmission in swine airway smooth muscle. *J. Cell Sci.* 117: 1503-1511.

Lampinen M. J., Noponen T. 2005. Electric dipole theory and thermodynamics of actomyosin molecular motor in muscle contraction. *J. Theor. Biol.* 236: 397-421.

Lang F., Busch G. L., Ritter M., Völkl H., Waldegger S., Gulbins E., Häussinger D. 1998. Functional significance of cell volume regulatory mechanisms. *Physiol. Rev.* 78: 247-306.

Langridge P. D., Kay R. R. 2006. Blebbing of *Dictyostelium* cells in response to chemoattractant. *Exp. Cell Res.* 312: 2009-2017.

Le Clainche C., Carlier M.-F. 2008. Regulation of actin assembly associated with protrusion and adhesion in cell migration. *Physiol Rev.* 88: 489-513.

Lee J.-Y., Harland R. M. 2007. Actomyosin contractility and microtubules drive apical constriction in *Xenopus* bottle cells. *Dev. Biol.* 311: 40-52.

Lew R. R. 2005. Mass flow and pressure-driven hyphal extension in *Neurospora crassa*. *Microbiol.* 151: 2685-2692.

Lewis A. K., Bridgman P. C. 1992. Nerve growth cone lamellipodia contain two populations of actin filaments that differ in organization and polarity. *J. Cell Biol.* 119: 1219-1243.

Lionne C., Iorga B., Candau R., Travers F. 2003. Why choose myofibrils to study muscle myosin ATPase? *J. Muscle Res. Cell Motil.* 24: 139-148.

Lipton B. H., Jacobson A. G. 1974. Analysis of normal somite development. *Dev. Biol.* 38: 73-90.

Lo C.-M., Buxton D. B., Chua G. C. H., Dembo M., Adelstein R. S., Wang Y.-L. 2004. Nonmuscle myosin IIB is involved in the guidance of fibroblast migration. *Mol. Biol. Cell.* 15: 982-989.

Loike J. D., Cao L., Kuang K., Vera J. C., Silverstein S. C., Fischbarg, J. 1993. Role of facilitative glucose transporters in diffusional water permeability through J774 cells. *J. Gen. Physiol.* 102: 897-906.

Loitto V. M., Forslund T., Sundqvist T., Magnusson K.-E., Gustafsson M. 2002. Neutrophil leukocyte motility requires directed water influx. *J. Leukoc. Biol.* 71: 212-222.

Loitto V. M., Huang C., Sigal Y. J., Jacobson K. 2007. Filopodia are induced by aquaporin-9 expression. *Exp. Cell Res.* 313: 1295-1306.

Lopéz-Franco R., Bartnicki-García S., Bracker C. E. 1994. Pulsed growth of fungal hyphal tips. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 91: 12228-12232.

Løvtrup S. 1983. Epigenetic mechanisms in the early amphibian embryo: cell differentiation and morphogenetic elements. *Biol. Rev.* 58: 91-130.

Lutkenhaus J., Addinall S. G. 1997. Bacterial cell division and the Z ring. *Ann. Rev. Biochem.* 66: 93-116.

Lynn R. W., Taylor E. W. 1971. Mechanism of adenosine triphosphate hydrolysis by actomyosin. *Biochemistry*. 10: 4617-4623.

Ma H., Snook L. A., Kaminskyj S. G. W., Dahms T. E. S. 2005. Surface ultrastructure and elasticity in growing tips and mature regions of *Aspergillus* hyphae describe wall maturation. *Microbiology*. 151: 3679-3688.

Mabuchi I. 1994. Cleavage furrow: timing of emergence of contractile ring actin filaments and establishment of the contractile ring by filament bundling in sea urchin eggs. *J. Cell Sci*. 107: 1853-1862.

Mabuchi I., Tsukita Sh., Tsukita Sa., Sawai T. 1988. Cleavage furrow isolated from newt eggs: Contraction, organization of the actin filaments, and protein components of the furrow. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 85: 5966-5970.

Marsh L., Letourneau P. C. 1984. Growth activity of neurites without filopodial or lamellipodial in the presence of cytochalasin B. *J. Cell Biol*. 99: 2041-2047.

Marsland D., Landau J. V. 1954. The mechanisms of cytokinesis: temperature-pressure studies on the cortical gel system in various marine eggs. *J. Exp. Zool*. 125: 507-539.

Martin-Fernandez M. L., Bordas J., Diakun G., Harries J., Lowy J., Mant G. R., Svensson A., Towns-Andrews E. 1994. Time-resolved X-ray diffraction studies of myosin head movements in live frog sartorius muscle during isometric and isotonic contractions. *J. Muscle Res. Cell Motil*. 15: 319-348.

Mast S. O. 1926. Structure, movement, locomotion, and stimulation in *Amoeba*. *J. Morphol*. 41: 347-425.

Mast S. O., Hopkins D. L. 1941. Regulation of the water content of *Amoeba mira* and adaptation to changes in the osmotic concentration of the surrounding medium. *J. Cell. Comp. Physiol*. 17: 31-48.

Masuda T. 2003. An electromechanical model of myosin molecular motors. *J. Theor. Biol*. 225: 507-515.

Matsubara I., Elliott G. F. 1972. X-ray diffraction studies on skinned single fibres of frog skeletal muscle. *J. Mol. Biol*. 72: 657-669.

Matsudaira P. T., Burgess D. R. 1979. Identification and organization of the components in the isolated microvillus cytoskeleton. *J. Cell Biol*. 83: 667-673.

Maurel C., Chrispeels M. J. 2001. Aquaporins. A molecular entry into plant water relations. *Plant Physiology*. 125: 135-138.

Mazzochi C., Benos D. J., Smith P. R. 2006. Interaction of epithelial ion channels with the actin-based cytoskeleton. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 291: F1113-F1122.

Mehta A. 2001. Myosin learns to walk. *J. Cell Sci.* 114: 1981-1998.

Meldolesi J. 1998. Calcium signaling: oscillation, activation, expression. *Nature.* 392: 863-866.

Merkel R., Simson R., Simson D. A., Hohenadl M., Boulbitch A., Wallraff E., Sackmann E. 2000. A micromechanic study of cell polarity and plasma membrane cell body coupling in *Dictyostelium*. *Biophys. J.* 79: 707-719.

Messerli M. A., Créton R., L. F. Jaffe, K. R. Robinson. 2000. Periodic increases in elongation rate precede increases in cytosolic Ca^{2+} during pollen tube growth. *Dev. Biol.* 222: 84-98.

Messerli M. A., Danuser G., Robinson K. R. 1999. Pulsatile influxes of H^+ , K^+ and Ca^{2+} lag growth pulses of *Lilium longiflorum* pollen tubes. *J. Cell Sci.* 112: 1497-1509.

Messerli M. A., Robinson K. R. 2003. Ionic and osmotic disruptions of the lily pollen tube oscillator: testing proposed models. *Planta.* 217: 147-157.

Metzger J. M., Moss R. L. 1987. Shortening velocity in skinned single muscle fibers. Influence of filament lattice spacing. *Biophys. J.* 52: 127-131.

Miao L., Vanderlinde O., Stewart M., Roberts T. M. 2003. Retraction in amoeboid cell motility powered by cytoskeletal dynamics. *Science.* 302: 1405-1407.

Miller D. D., Lancelle S. A., Hepler P. K. 1996. Actin microfilaments do not form a dense meshwork in *Lilium longiflorum* pollen tube tips. *Protoplasma.* 195: 123-132.

Millman B. M. 1998. The filament lattice of striated muscle. *Physiol. Rev.* 78: 359-391.

Millman B. M., Nickel B. G. 1980. Electrostatic forces in muscle and cylindrical gel systems. *Biophys. J.* 32: 49-63.

Millman B. M., Racey T. J., Matsubara I. 1981. Effects of hyperosmotic solutions on the filament lattice of intact frog skeletal muscle. *Biophys. J.* 33: 189-202.

Millman B. M., Wakabayashi K., Racey T. J. 1983. Lateral forces in the filament lattice of vertebrate striated muscle in the rigor state. *Biophys. J.* 41: 259-267.

Mills J. W., Mandel L. J. 1994. Cytoskeletal regulation of membrane transport events. *FASEB J.* 8: 1161-1165.

Mills J. W., Pedersen S. F., Walmod P. S., Hoffmann E. K. 2000. Effect of cytochalasins on F-actin and morphology of Ehrlich ascites tumor cells. *Exp Cell Res.* 261: 209-219.

Miranda A. F., Godman G. C., Deitch A. D., Tanenbaum S. W. 1974. Action of cytochalasin D on cells of established lines. I. Early events. *J. Cell Biol.* 61: 481-500.

Mitchison T., Kirschner M. 1988. Cytoskeletal dynamics and nerve growth. *Neuron.* 1: 761-772.

Mogilner A. 2006. On the edge: modeling protrusion. *Curr. Opin. Cell Biol.* 18: 32-39.

Mogilner A., Oster G. 1996. Cell motility driven by actin polymerization. *Biophys. J.* 71: 3030-3045.

Money N. P. 2001. The pulse of the machine – reevaluating tip-growth methodology. *New Phytologist.* 151: 553-555.

Money N. P., Harold F. M. 1993. Two water molds can grow without measurable turgor pressure. *Planta.* 190: 426-430.

Moore A. R., Burt A. S. 1939. On the locus and nature of the forces causing gastrulation in the embryos of *Dendroaster excentricus*. *J. Exp. Zool.* 82: 159-171.

Moore K. A., Polte T., Huang S., Shi B., Alsberg E., Sunday M. E., Ingber D. E. 2005. Control of basement membrane remodeling and epithelial branching morphogenesis in embryonic lung by Rho and cytoskeletal tension. *Dev. Dynamics.* 232: 268-281.

Mooseker M. S., Pollard T. D., Wharton K. A. 1982. Nucleated polymerization of actin from the membrane-associated ends of microvillar filaments in the intestinal brush border. *J. Cell Biol.* 95: 223-233.

Mooseker M. S., Tilney L. G. 1975. Organization of an actin filament-membrane complex. *J. Cell Biol.* 67: 725-743.

Moreno N., Colaço R., Feijó J. A. 2007. The pollen tube oscillator: integrating biophysics and biochemistry into cellular growth and morphogenesis. In: *Rhythms in plants: phenomenology, mechanisms, and adaptive significance*. Eds. Mancuso S., Shabala S. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg: 39-62.

Morris C. E., Lesiuk H., Mills L. R. 1997. How do neurons monitor their mechanical status? *Biol. Bull.* 192: 118-120.

Morton W. M., Ayscough K. R., McLaughlin P. J. 2000.

Latrunculin alters the actin-monomer subunit interface to prevent polymerization. *Nature Cell Biol.* 2: 376-378.

Müller M. J. I., Klumpp S., Lipowsky R. 2008. Tug-of-war as a cooperative mechanism for bidirectional cargo transport by molecular motors. *PNAS.* 105: 4609-4614.

Mullins G. L., Guntheroth W. G. 1965. A collagen net hypothesis for force transference of smooth muscle. *Nature.* 206: 592-594.

Mullins J. T., Ellis E. A. 1974. Sexual morphogenesis in *Achlya*: ultrastructural basis for the hormonal induction of antheridial hyphae. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 71: 1347-1350.

Munevar S., Wang Y.-L., Dembo M. 2001. Traction force microscopy of migrating normal and H-ras transformed 3T3 fibroblasts. *Biophys. J.* 80: 1744-1757.

Murphy R. A. 1994. What is special about smooth muscle? The significance of covalent crossbridge regulation. *FASEB J.* 8: 311-318.

Murphy R. A., Herlihy J. T., Megerman J. 1974. Force-generating capacity and contractile protein content of arterial smooth muscle. *J. Gen. Physiol.* 64: 691-705.

Nadol J. B., Gibbins J. R., Porter K. R. 1969. A reinterpretation of the structure and development of the basement lamella: an ordered array of collagen in fish skin. *Dev. Biol.* 20: 304-331.

Nakajima Y., Burke R. D. 1996. The initial phase of gastrulation in sea urchins is accompanied by the formation of bottle cells. *Dev. Biol.* 179: 436-446.

Nakanishi Y., Nogawa H., Hashimoto Y., Kishi J.-I., Hayakawa T. 1988. Accumulation of collagen III at the cleft points of developing mouse submandibular epithelium. *Development.* 104: 51-59.

Nakanishi Y., Sugiura F., Kishi J.-I., Hayakawa T. 1986. Scanning electron microscopic observation of mouse embryonic submandibular glands during initial branching: preferential localization of fibrillar structures at the mesenchymal ridges participating in cleft formation. *J. Embryol. Exp. Morphol.* 96: 65-77.

Naylor G. R. S., Bartels E. M., Bridgman T. D., Elliott G. F. 1985. Donnan potentials in rabbit psoas muscle in rigor. *Biophys. J.* 48: 47-59.

Nelson G. A., Roberts T. M., Ward S. 1982. *Caenorhabditis elegans* spermatozoan locomotion: amoeboid movement with almost no actin. *J. Cell Biol.* 92: 121-131.

Neujahr R., Heizer C., Gerisch G. 1997. Myosin II-independent processes in mitotic cells of *Dictyostelium discoideum*: redistribution of the nuclei, re-arrangement of the actin system and formation of the cleavage furrow. *J. Cell Sci.* 110: 123-137.

Newman S. A., Frisch H. L. 1979. Dynamics of skeletal pattern formation in developing chick limb. *Science.* 205: 662-668.

Niirö N., Ikebe M. 2001. Zipper-interacting protein kinase induces Ca^{2+} -free smooth muscle contraction via myosin light chain phosphorylation. *J. Biol. Chem.* 276: 29567-29574.

Odell G. M., Oster G., Alberch P., Burnside B. 1981. The mechanical basis of morphogenesis. I. Epithelial folding and invagination. *Dev Biol.* 85: 446-462.

Offer G. 2006. Fifty years on: where have we reached? *J. Muscle Res. Cell Motil.* 27: 205-213

O'Neill W. C. 1999. Physiological significance of volume-regulatory transporters. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 276: C995-C1011.

Oparka K. J., Prior D. A. M., Harris N. 1990. Osmotic induction of fluid-phase endocytosis in onion epidermal cells. *Planta.* 180: 555-561.

Oster G. F., Perelson A. S. 1987. The physics of cell motility. *J. Cell Sci. Suppl.* 8: 35-54.

Ovečka M., Lang I., Baluška F., Ismail A., Illeš P., Lichtscheidl I. K. 2005. Endocytosis and vesicle trafficking during tip growth of root hairs. *Protoplasma.* 226: 39-54.

Pabelick C. M., Sieck G. C., Prakash Y. S. 2001. Significance of spatial and temporal heterogeneity of calcium transients in smooth muscle. *J. Appl. Physiol.* 91: 488-496.

Paller M. S. 1994. Lateral mobility of Na,K-ATPase and membrane lipids in renal cells. Importance of cytoskeletal integrity. *J. Membr. Biol.* 142: 127-135.

Paluch E., Sykes C., Prost J., Bornens M. 2006. Dynamic modes of the cortical actomyosin gel during cell locomotion and division. *Trends Cell Biol.* 16: 5-10.

Papadopoulos M. C., Saadoun S., Verkman A. S. 2008. Aquaporins and cell migration. *Pflügers Arch.* 456: 693-700.

Parnass Z., Tashiro A., Yuste R. 2000. Analysis of spine morphological plasticity in developing hippocampal pyramidal neurons. *Hippocampus.* 10: 561-568.

Parre E., Geitmann A. 2005. Pectin and the role of the physical properties of the cell wall in pollen tube growth of *Solanum chacoense*. *Planta*. 220: 582-592.

Patan S. 2000. Vasculogenesis and angiogenesis as mechanisms of vascular network formation, growth and remodeling. *J. Neuro-Oncology*. 50: 1-15.

Pedersen S. F., Hoffmann E. K., Mills J. W. 2001. The cytoskeleton and cell volume regulation. *Compar. Biochem. Physiol. Part A*. 130: 385-399.

Pepicelli C. V., Lewis P. M., McMahon A. P. 1998. Sonic hedgehog regulates branching morphogenesis in the mammalian lung. *Current Biology*. 8: 1083-1086.

Peterson J. A., Tian B., Geiger B., Kaufman P. L. 2000. Effect of latrunculin-B on outflow facility in monkeys. *Exp. Eye Res*. 70: 307-313.

Petrunkina A. M., Hebel M., Waberski D., Weitze K. F., Töpfer-Petersen E. 2004. Requirement for an intact cytoskeleton for volume regulation in boar spermatozoa. *Reproduction*. 127: 105-115.

Pfenninger K. H., Johnson M. P. 1983. Membrane biogenesis in the sprouting neuron. I. Selective transfer of newly synthesized phospholipid into the growing neurite. *J. Cell Biol*. 97: 1038-1042.

Pierson E. S., Miller D. A., Callaham D. A., Shipley A. M., Rivers B. A., Cresti M., Hepler P. K. 1994. Pollen tube growth is coupled to the extracellular calcium ion flux and the intracellular calcium gradient: effect of BAPTA-type buffers and hypertonic medium. *Plant Cell*. 6: 1815-1828.

Pierson E. S., Miller D. D., Callaham D. A., van Aken J., Hackett G., Hepler P. K. 1996. Tip-localized calcium entry fluctuates during pollen tube growth. *Dev. Biol*. 174: 160-173.

Pollard T. D. 2000. Reflections on a quarter century of research on contractile systems. *Trends Biochem. Sci*. 25: 607-611.

Pollard T. D. 2003. The cytoskeleton, cellular motility and the reductionist agenda. *Nature*. 422: 741-745.

Pollard T. D., Borisy G. G. 2003. Cellular motility driven by assembly and disassembly of actin filaments. *Cell*. 112: 453-465.

Ponti A., Machacek M., Gupton S. L., Waterman-Storer C. M., Danuser G. 2004. Two distinct actin networks drive the protrusion of migrating cells. *Science*. 305: 1782-1786.

Pypaert M., Mundy D., Souter E., Labbé J.-C., Warren G. 1991. Mitotic cytosol inhibits invagination of coated pits in broken mitotic cells. *J. Cell Biol.* 114: 1159-1166.

Qualmann B., Mellor H. 2003. Regulation of endocytic traffic by Rho GTPases. *Biochem. J.* 371: 233-241.

Radice G. P. 1980. Locomotion and cell-substratum contacts of *Xenopus* epidermal cells *in vitro* and *in situ*. *J. Cell Sci.* 44: 201-223.

Raucher D., Sheetz M. P. 1999. Membrane expansion increases endocytosis rate during mitosis. *J. Cell Biol.* 144: 497-506.

Rayment I., Holden H. M., Whittaker M., Yohn C. B., Lorenz M., Holmes K. C., Milligan R. A. 1993a. Structure of the actin-myosin complex and its implications for muscle contraction. *Science.* 261: 58-65.

Rayment I., Rypniewski W. R., Schmidt-Bäse K., Smith R., Tomchick D. R., Benning M. M., Winkelmann D. A., Wesenberg G., Holden H. M. 1993b. Three-dimensional structure of myosin subfragment-1: a molecular motor. *Science.* 261:50-58.

Raynaud A., Adrian M., Kouprach. S. 1974. Etude, au microscope électronique, des ébauches des membres de l'orvet (*Anguis fragilis* L.) et du lézard vert (*Lacerta viridis* Laur.). *Ann. Embryol. Morphol.* 7: 243-263.

Reese E. L., Haimo L. T. 2000. Dynein, dynactin, and kinesin II's interaction with microtubules is regulated during bidirectional organelle transport. *J. Cell Biol.* 151: 155-166.

Regini J. W., Elliott G. F. 2001. The effect of temperature on the Donnan potentials in biological polyelectrolyte gels: cornea and striated muscle. *Intern. J. Biol. Macromol.* 28: 245-254.

Ridley A. J., Schwartz M. A., Burridge K., Firtel R. A., Ginsberg M. H., Borisy G., Parsons J. T., Horwitz A. R. 2003. Cell migration: integrating signals from front to back. *Science.* 302: 1704-1709.

Roberts T. M., Stewart M. 2000. Acting like actin: the dynamics of the nematode major sperm protein (MSP) cytoskeleton indicate a push-pull mechanism for amoeboid cell motility. *J. Cell Biol.* 149: 7-12.

Roberts T. M., Streitmatter G. 1984. Membrane-substrate contact under the spermatozoon of *Caenorhabditis elegans*, a crawling cell that lacks filamentous actin. *J. Cell Sci.* 69: 117-126.

Rogers S. S., Waigh T. A., Lu J. R. 2008. Intracellular microrheology of motile *Amoeba proteus*. *Biophys. J.* 94: 3313-3322.

Rhumbler L. 1902. Zur Mechanik des Gastrulationsvorganges insbesondere der Invagination. *Arch. EntwMech.* 14: 401-476.

Saadoun S., Papadopoulos M. C., Watanabe H., Yan D., Manley G. T., Verkman A. S. 2005. Involvement of aquaporin-4 in astroglial cell migration and glial scar formation. *J. Cell Sci.* 118: 5691-5698.

Saida K., Nonomura Y. 1978. Characteristics of Ca^{2+} - and Mg^{2+} -induced tension development in chemically skinned smooth muscle fibers. *J. Gen. Physiol.* 72: 1-14.

Salmon E. D., Wolniak S. M. 1990. Role of microtubules in stimulating cytokinesis in animal cells. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 582: 88-98.

Salpeter M. M., Singer M. 1960. Differentiation of the submicroscopic adepidermal membrane during limb regeneration in adult *Triturus*, including a note on the use of the term basement membrane. *Anat. Rec.* 136: 27-40.

Sanger J. M., Sanger J. W. 2000. Assembly of cytoskeletal proteins into cleavage furrows of tissue culture cells. *Res. Tech.* 49: 190-201.

Sanger J. M., Sanger J. W. 1980. Banding and polarity of actin filaments in interphase and cleaving cells. *J. Cell Biol.* 86: 568-575.

Sanger J. W., Holtzer H. 1972. Cytochalasin B: Effects on cell morphology, cell adhesion, and mucopolysaccharide synthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 69: 253-257.

Sanger J. W., Sanger J. M., Jockusch B. M. 1983. Differences in the stress fibers between fibroblasts and epithelial cells. *J. Cell Biol.* 96: 961-969.

Satoh H., Ueda T., Kobatake Y. 1985. Oscillations in cell shape and size during locomotion and in contractile activities of *Physarum polycephalum*, *Dictyostelium discoideum*, *Amoeba proteus* and macrophages. *Exp. Cell Res.* 156: 79-90.

Saunders P. T., Trinci A. P. J. 1979. Determination of tip shape in fungal hyphae. *J. General Microbiology.* 110: 469-473.

Savineau J.-P., Marthan R. 2000. Cytosolic calcium oscillations in smooth muscle cells. *News Physiol. Sci.* 15: 50-55.

Savion N., Selinger Z. 1978. Morphological changes in rat pancreatic slices associated with inhibition of enzyme secretion by high concentrations of secretagogues. *J. Cell Biol.* 76: 467-482.

Schatten G., Schatten H., Spector I., Cline C., Paweletz N., Simerly C., Petzelt C. 1986. Latrunculin inhibits the microfilament-mediated processes during fertilization, cleavage and early development in sea urchins and mice. *Exp. Cell Res.* 166: 191-208.

Schliwa M., Woehlke G. 2003. Molecular motors. *Nature*. 422: 759-765.

Schnapp B. J., Reese T. S. 1982. Cytoplasmic structure in rapid-frozen axons. *J. Cell Biol.* 94: 667-679.

Schneider S. W., Pagel P., Rotsch C., Danker T., Oberleithner H., Radmacher M., Schwab A. 2000. Volume dynamics in migrating epithelial cells measured with atomic force microscopy. *Pflügers Arch.* 439: 297-303.

Schoenwolf G. C. 1979. Histological and ultrastructural observations of tail bud formation in the chick embryo. *Anat. Rec.* 193: 131-148.

Schoenwolf G. C., Smith J. L. 1990. Mechanisms of neurulation: traditional viewpoint and recent advances. *Development*. 109: 243-270.

Schroeder T. E. 1972. The contractile ring. II. Determining its brief existence, volumetric changes, and vital role in cleaving *Arbacia* eggs. *J. Cell Biol.* 53: 419-434.

Schroeder T. E. 1973. Cell constriction: contractile role of microfilaments in division and development. *Am. Zool.* 13: 949-960.

Schroeder T. E. 1990. The contractile ring and furrowing in dividing cells. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 582: 78-87.

Schwab A. 2001. Function and spatial distribution of ion channels and transporters in cell migration. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 280: 739-747.

Schwab A., Nechyporuk-Zloy V., Fabian A., Stock C. 2007. Cells move when ions and water flow. *Pflügers Arch.* 453: 421-432.

Schwiebert E. M., Mills J. W., Stanton B. A. 1994. Actin-based cytoskeleton regulates a chloride channel and cell volume in a renal cortical collecting duct cell line. *J. Biol. Chem.* 269: 7081-7089.

Selman G. G., Perry M. M. 1970. Ultrastructural changes in the surface layers of the newt's egg in relation to the mechanism of its cleavage. *J. Cell Sci.* 6: 207-227.

Seow C. Y., Pratusевич V. R., Ford L. E. 2000. Series-to-parallel transition in the filament lattice of airway smooth muscle. *J. Appl. Physiol.* 89: 869-876.

Sepsenwol S., Ris H., Roberts T. M. 1989. A unique cytoskeleton associated with crawling in the amoeboid sperm of the nematode, *Ascaris suum*. *J. Cell Biol.* 108: 55-66.

Sheetz M. P. 2001. Cell control by membrane-cytoskeleton adhesion. *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* 2: 392-396.

Shi X., Gillespie P. G., Nuttall A. L. 2005. Na⁺ influx triggers bleb formation on inner hair cells. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 288: C1332-C1341.

Shimizu T. 1990. Polar body formation in *Tubifex* eggs. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 582: 260-272.

Siegmán M. J., Butler T. M., Mooers S. U., Davies R. E. 1980. Chemical energetics of force development, force maintenance, and relaxation in mammalian smooth muscle. *J. Gen. Physiol.* 76: 609-629.

Singley C. T., Solorsh M. 1981. The spatial distribution of hyaluronic acid and mesenchymal condensation in the embryonic chick wing. *Dev. Biol.* 84: 102-120.

Small J. V. 1974. Contractile units in vertebrate smooth muscle cells. *Nature.* 249: 324-327.

Small J. V., Herzog M., Anderson K. 1995. Actin filament organization in the fish keratocyte lamellipodium. *J. Cell Biol.* 129: 1275-1286.

Small J. V., Herzog M., Barth M., Draeger A. 1990. Supercontracted state of vertebrate smooth muscle cell fragments reveals myofilament lengths. *J. Cell Biol.* 111: 2451-2461.

Small J. V., Resch G. P. 2005. The comings and goings of actin: coupling protrusion and retraction in cell motility. *Curr. Opin. Cell Biol.* 17: 517-523.

Small J. V., Stradal T., Vignal E., Rottner K. 2002. The lamellipodium: where motility begins. *Trends Cell Biol.* 12: 112-120.

Smith A. A., Searls R. L., Hilfer S. R. 1975. Differential accumulation of extracellular materials beneath the ectoderm during development of the embryonic chick limb and flank regions. *Dev. Biol.* 46: 222-226.

Somlyo A. P., Somlyo A. V. 1994. Signal transduction and regulation in smooth muscle. *Nature.* 372: 231-236.

Sorokin S. 1961. A study of development in organ cultures of mammalian lungs. *Dev. Biol.* 3: 60-83.

Spector I., Schochet N. R., Blasberger D., Kashman Y. 1989. Latrunculins – novel marine macrolides that disrupt microfilament organization and affect cell growth: I. Comparison with cytochalasin D. *Cell Motil. Cytoskeleton.* 13: 127-144.

Spooner B. S. 1973. Microfilaments, cell shape changes, and morphogenesis of salivary epithelium. *Am. Zool.* 13: 1007-1022.

Steinberg G. 2007. Hyphal growth: a tale of motors, lipids, and the spitzenkörper. *Eukaryot. Cell.* 6: 351-360.

Stockem W., Kłopočka W. 1988. Ameboid movement and related phenomena. Intern. Rev. Cytol. 112: 137-183.

Stossel T. P. 1993. On the crawling of animal cells. Science. 260: 1086-1094.

Strohmeier R., Bereiter-Hahn J. 1987. Hydrostatic pressure in epidermal cells is dependent on Ca-mediated contractions. J. Cell Sci. 88: 631-640.

Suzuki M., Miyazaki K., Ikeda M., Kawaguchi Y., Sakai O. 1993. F-actin network may regulate a Cl⁻ channel in renal proximal tubule cells. J. Membrane Biol. 134: 31-39.

Svitkina T. M., Verkhovsky A. B., McQuade K. M., Borisy G. G. 1997. Analysis of the actin-myosin II system in fish epidermal keratocytes: mechanism of cell body translocation. J. Cell Biol. 139: 397-415.

Taheri-Talesh N., Horio T., Araujo-Bazán L., Dou X., Espeso E. A., Peñalva M. A., Osmani S. A., Oakley B. R. 2008. The tip growth apparatus of *Aspergillus nidulans*. Mol. Biol. Cell. 19: 1439-1449.

Takata H., Kominami T. 2001. Shrinkage and expansion of blastocoel affect the degree of invagination in sea urchin embryos. Zool. Sci. 18: 1097-1105.

Taylor A. R., Manison N. F. H., Fernandez C., Wood J., Brownlee C. 1996. Spatial organization of calcium signaling involved in cell volume control in the *Fucus* rhizoid. Plant Cell. 8: 2015-2031.

Taylor L. P., Hepler P. K. 1997. Pollen germination and tube growth. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 48: 461-491.

Telley I. A., Denoth J. 2007. Sarcomere dynamics during muscular contraction and their implications to muscle function. J. Muscle Res. Cell Motil. 28: 89-104.

Tesi C., Colomo F., Piroddi N., Poggesi C. 2002. Characterization of the cross-bridge force-generating step using inorganic phosphate and BDM in myofibrils from rabbit skeletal muscles. J. Physiol. 541: 187-199.

Tickle C., Trinkaus J. P. 1977. Some clues as to the formation of protrusions by *Fundulus* deep cells. J. Cell Sci. 26: 139-150.

Tilney L. G., Inoué S. 1982. Acrosomal reaction of *Thyone* sperm. II. The kinetics and possible mechanism of acrosomal process elongation. J. Cell Biol. 93: 820-827.

Tilney L. G., Inoué S. 1985. Acrosomal reaction of the *Thyone* sperm. III. The relationship between actin assembly and water influx during the extension of the acrosomal process. J. Cell Biol. 100: 1273-1283.

Tilney L. G., Jaffe L. A. 1981. Actin, microvilli, and the fertilization cone of sea urchin eggs. *J. Cell Biol.* 87: 771-782.

Tilney L. G., Portnoy D. A. 1989. Actin filaments and the growth, movement, and spread of the intracellular bacterial parasite, *Listeria monocytogenes*. *J. Cell Biol.* 109: 1597-1608.

Torgerson R. R., McNiven M. A. 1998. The actin-myosin cytoskeleton mediates reversible agonist-induced membrane blebbing. *J. Cell Sci.* 111: 2911-2922.

Tosney K. W., Wessells N. K. 1983. Neuronal motility: The ultrastructure of veils and microspikes correlates with their motile activities. *J. Cell. Sci.* 61: 389-411.

Toyoshima Y. Y., Kron S. J., McNally E. M., Niebling K. R., Toyoshima C., Spudich J. A. 1987. Myosin subfragment-1 is sufficient to move actin filaments *in vitro*. *Nature.* 328: 536-539.

Trimmer W. S. N. 1989. Microrobots and micromechanical systems. *Sensors and Actuators.* 19: 267 – 287.

Trinkaus J. P. 1969. Cells into organs. The forces that shape the embryo. Prentice-Hall Inc. New Jersey. 238 p.

Tsakiridis T., Vranic M., Klip A. 1994. Disassembly of the actin network inhibits insulin-dependent stimulation of glucose transport and prevents recruitment of glucose transporters to the plasma membrane. *J. Biol. Chem.* 269: 29934-29942.

Tyreman M. J. A., Molloy J. E. 2003. Molecular motors: nature's nanomachines. *IEE Proc.-Nanobiotechnol.* 150: 95-102.

Umemoto S., Sellers J. R. 1990. Characterization of *in vitro* motility assays using smooth muscle and cytoplasmic myosins. *J. Biol. Chem.* 265: 14864-14869.

Uyeda T. Q. P., Nagasaki A. 2004. Variations on a theme: the many modes of cytokinesis. *Curr. Opin. Cell Biol.* 16: 1-6.

Vale R. D. 1999. Millennial musings on molecular motors. *Trends Cell Biol.* 9: 38-42.

VanBuren P., Work S. S., Warshaw D. M. 1994. Enhanced force generation by smooth muscle myosin *in vitro*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 91: 202-205.

Verkhovsky A. B., Svitkina T. M., Borisy G. G. 1995. Myosin II filament assemblies in the active lamella of fibroblasts: their morphogenesis and role in the formation of actin filament bundles. *J. Cell Biol.* 131: 989-1002.

Verkman A. S. 2005. More than just water channels: unexpected cellular roles of aquaporins. *J. Cell Sci.* 118: 3225-3232.

Verkman A. S., Binder D. K., Bloch O., Auguste K., Papadopoulos M. C. 2006. Three distinct roles of aquaporin-4 in brain function revealed by knockout mice. *Biochim. Biophys. Acta.* 1758: 1085-1093.

Vidali L., Hepler P. K. 2001. Actin and pollen tube growth. *Protoplasma.* 215: 64-76.

Wang Q., Bilan P. J., Tsakiridis T., Hinek A., Klip A. 1998. Actin filaments participate in the relocalization of phosphatidylinositol 3-kinase to glucose transporter-containing compartments and in the stimulation of glucose uptake in 3T3-L1 adipocytes. *Biochem. J.* 331: 917-928.

Wang Y.-P., Fuchs F. 1995. Osmotic compression of skinned cardiac and skeletal muscle bundles: Effects on force generation, Ca^{2+} sensitivity and Ca^{2+} binding. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 27: 1235-1244.

Warshaw D. M., McBride W. J., Work S. S. 1987. Corkscrew-like shortening in single smooth muscle cells. *Science.* 236: 1457-1459.

Warshaw D. M., Szarek J. L., Hubbard M. S., Evans J. N. 1986. Pharmacology and force development of single freshly isolated bovine carotid artery smooth muscle cells. *Circ Res.* 58: 399-406

Wehland J., Weber K., Gawlitta W., Stockem W. 1979. Effects of the actin-binding protein DNAase I on cytoplasmic streaming and ultrastructure of *Amoeba proteus*. An attempt to explain amoeboid movement. *Cell Tissue Res.* 199: 353-372.

Wehner F., Olsen H., Tinel H., Kinne-Saffran E., Kinne R. K. H. 2003. Cell volume regulation: osmolytes, osmolyte transport, and signal transduction. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* 148: 1-80.

Wessels J. G. H. 1993. Wall growth, protein excretion and morphogenesis in fungi. *New Phytol.* 123: 397-413.

Wessells N. K. 1970. Mammalian lung development: interactions in formation and morphogenesis of tracheal buds. *J. Exp. Zool.* 175: 455-466.

Williams J. M, Daniel C. W. 1983. Mammary ductal elongation: differentiation of myoepithelium and basal lamina during branching morphogenesis. *Dev. Biol.* 97: 274-290.

Wilson D. P., Sutherland C., Walsh M. P. 2002. Ca^{2+} activation of smooth muscle contraction. Evidence for the involvement of calmodulin that is bound to the triton-insoluble fraction even in the absence of Ca^{2+} . *J. Biol. Chem.* 277: 2186-2192.

Wittmann T., Waterman-Storer C. M. 2001. Cell motility: can Rho GTPases and microtubules point the way? *J. Cell Sci.* 114: 3795-3803.

Wordeman L., Cande W. Z. 1990. Cytokinesis by furrowing in diatoms. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 582: 252-259.

Xu J.-Q., Harder B. A., Uman P., Craig R. 1996. Myosin filament structure in vertebrate smooth muscle. *J. Cell. Biol.* 134: 53-66.

Yaffe M. P. 1999. The machinery of mitochondrial inheritance and behavior. *Science.* 283: 1493-1497.

Yamada K. M., Spooner B. S., Wessells N. K. 1970. Axon growth: roles of microfilaments and microtubules. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 66: 1206-1212.

Yamada K. M., Spooner B. S., Wessells N. K. 1971. Ultrastructure and function of growth cones and axons of cultured nerve cells. *J. Cell Biol.* 49: 614-635.

Yamazaki D., Fujiwara T., Suetsugu S., Takenawa T. 2005. A novel function of WAVE in lamellipodia: WAVE1 is required for stabilization of lamellipodial protrusions during cell spreading. *Genes to Cells.* 10: 381-392.

Yanagida T., Kitamura K., Tanaka H., Iwane A. H., Esaki S. 2000. Single molecule analysis of the actomyosin motor. *Curr. Opin. Cell Biol.* 12: 20-25.

Yarar D., Waterman-Storer C. M., Schmid S. L. 2005. A dynamic actin cytoskeleton functions at multiple stages of clathrin-mediated endocytosis. *Mol. Biol. Cell.* 16: 964-975.

Ybot-Gonzalez P., Copp A. J. 1999. Bending of the neural plate during mouse spinal neurulation is independent of actin microfilaments. *Dev. Dyn.* 215: 273-283.

Yoshida K., Inouye K. 2001. Myosin II-dependent cylindrical protrusions induced by quinine in *Dictyostelium*: antagonizing effects of actin polymerization at the leading edge. *J. Cell Sci.* 114: 2155-2165.

Yoshida K., Soldati T. 2006. Dissection of amoeboid movement into two mechanically distinct modes. *J. Cell Sci.* 119: 3833-3844.

Yumura S. 2001. Myosin II dynamics and cortical flow during contractile ring formation in *Dictyostelium* cells. *J. Cell Biol.* 154: 137-145.

Yuri K., Wakayama J., Yamada T. 1998. Isometric contractile properties of single myofibrils of rabbit skeletal muscle. *J. Biochem.* 124: 565-571.

Zang J.-H., Cavet G., Sabry J. H., Wagner P., Moores S. L., Spudis J. A. 1997. On the role of myosin-II in cytokinesis: division of *Dicotyostelium* cells under adhesive and nonadhesive conditions. *Mol. Biol. Cell* 8: 2617-2629.

Zicha D., Dobbie I. M., Holt M. R., Monypenny J., Soong D. Y. H., Gray C., Dunn G. A. 2003. Rapid actin transport during cell protrusion. *Science*. 300: 142-145.

Zonia L., Müller M., Munnik T. 2006. Hydrodynamics and cell volume oscillations in the pollen tube apical region are integral components of the biomechanics of *Nicotiana tabacum* pollen tube growth. *Cell Biochem. Biophys.* 46: 209-232.

Zonia L., Munnik T. 2008. Vesicle trafficking dynamics and visualization of zones of exocytosis and endocytosis in tobacco pollen tubes. *J. Exp. Botany*. 59: 861-873.

Zurek B., Sanger J. M., Sanger J. W., Jockusch B. M. 1990. Differential effects of myosin-antibody complexes on contractile rings and circumferential belts in epitheloid cells. *J. Cell Sci.* 97: 297-306.

Zwaan J., Hendrix R. W. 1973. Changes in cell and organ shape during early development of the ocular lens. *Am. Zool.* 13: 1039-1049.

ИЛЛЮСТРАЦИИ

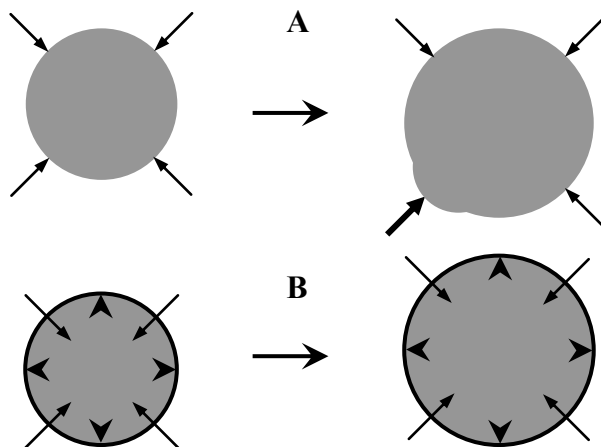


Рис. 1. Рост неживого (А) и живого (Б) тела в графическом изображении.

А: Строительный материал присоединяется (стрелки) к телу (темно-серый круг) снаружи. Там, где строительный материал добавляется в большем количестве (толстая стрелка), тело растет быстрее. Б: Строительный материал откладывается (стрелки) под оболочкой (черная окружность) тела и увеличивает объем его внутренней массы (темно-серый круг). Растущая внутренняя масса давит (наконечники стрелок) на оболочку и отодвигает ее от центра тела.

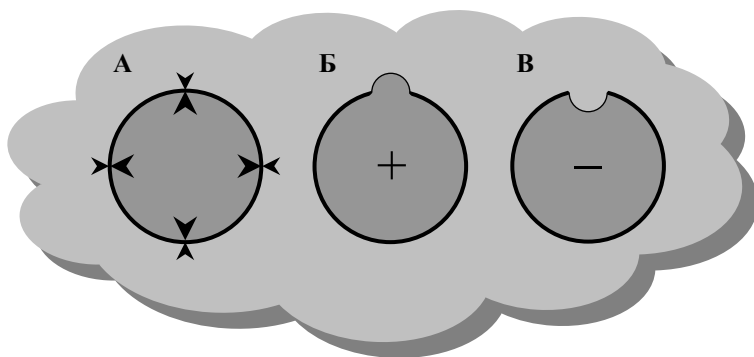


Рис. 2. Гидромеханическая модель в графическом изображении.

А: Полостное тургорное тело в статическом состоянии. Внутренняя (темно-серый круг) и наружная (светло-серый фон) массы равномерно, но с разной силой (прямо пропорциональной размеру накопителей стрелок) давят на оболочку (черная окружность) тела. Оболочка помогает наружной массе сдерживать рост внутренней.

Б: Давление под оболочкой увеличивается (+), внутренняя масса преодолевает противодействие и расширяется. Там, где оболочка сопротивляется меньше (тонкий участок окружности), внутренняя масса расширяется быстрее – выпячивается (общее расширение тела не показано).

В: Внутреннее давление падает (-) относительно внешнего. Оболочка препятствует вторжению наружной массы в полость тела. Там, где сопротивления оболочки недостаточно (тонкий участок окружности), наружная масса впячивается внутрь тела.

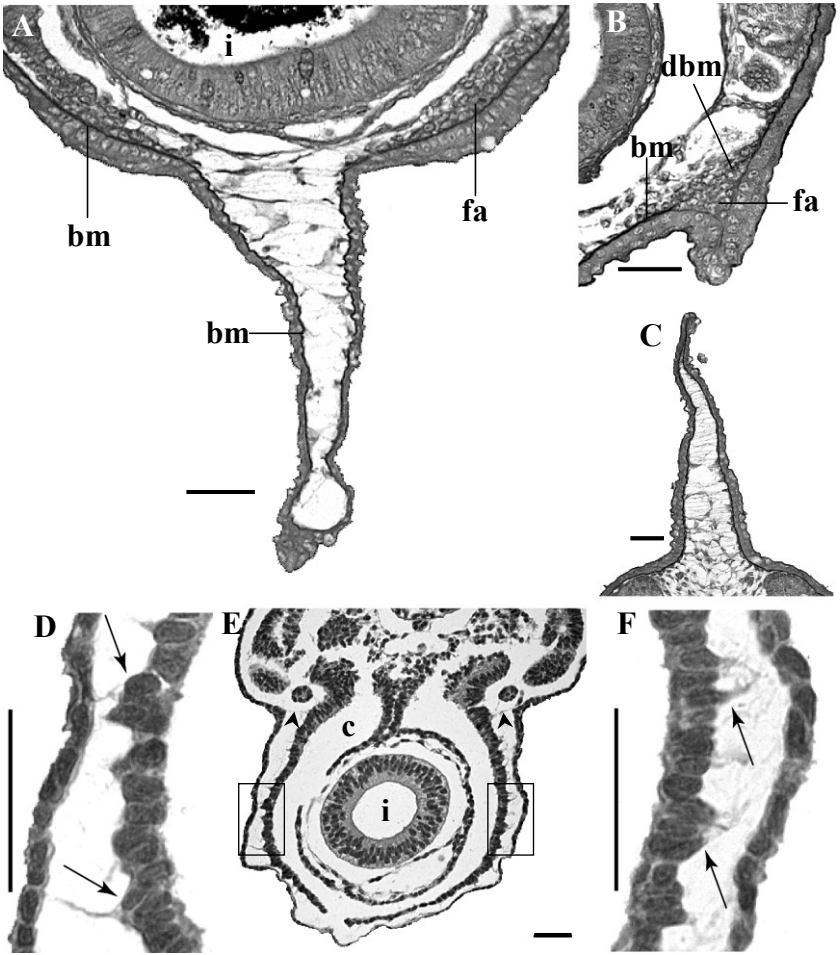


Рис. 3. Базальная мембрана и стяжки у эмбрионов и личинок рыб.

А-В: Личинки белуги, *Huso huso*, на стадиях 39 (А), 40 (Б,В) (стадии определены по: Шмальгаузен, 1975). Поперечные срезы через зачатки брюшных плавников (А, Б), вентральную (А) и дорсальную (В) непарные плавниковые складки. А: Базальная мембрана непарной плавниковой складки показывает проксимо-дистальный “градиент утончения”, базальная мембрана зачатков парных плавников по толщине мало отличается от мембраны соседних участков кожи. Б: Базальная мембрана, подстилающая эпителий более развитых зачатков парных плавников, намного тоньше, чем мембрана соседних участков кожи. Среди мезенхимных клеток плавника видна распадающаяся (старая) мембрана. В: Коллагеновые стяжки соединяют противоположащие стенки плавниковой складки. Г: Эмбрион колючей акулы, *Squalus acanthias*, длиной 16 мм. Поперечный срез в заднем отделе туловища. Стенки тела образуют продольные углубления в местах, где горизонтальные стяжки (наконечники стрелок) соединяют стенки целомической полости с эктодермой. Д, Е: Фрагменты, выделенные прямоугольниками на рисунке Г. Клетки париетальной стенки целомической полости, связанные с эктодермой (стрелки), выходят из эпителиального слоя.

бм – базальная мембрана; зп – зачаток плавника; к – кишка; рбм – распадающаяся базальная мембрана; ц – целомическая полость.

Масштабные линии – 50μ.

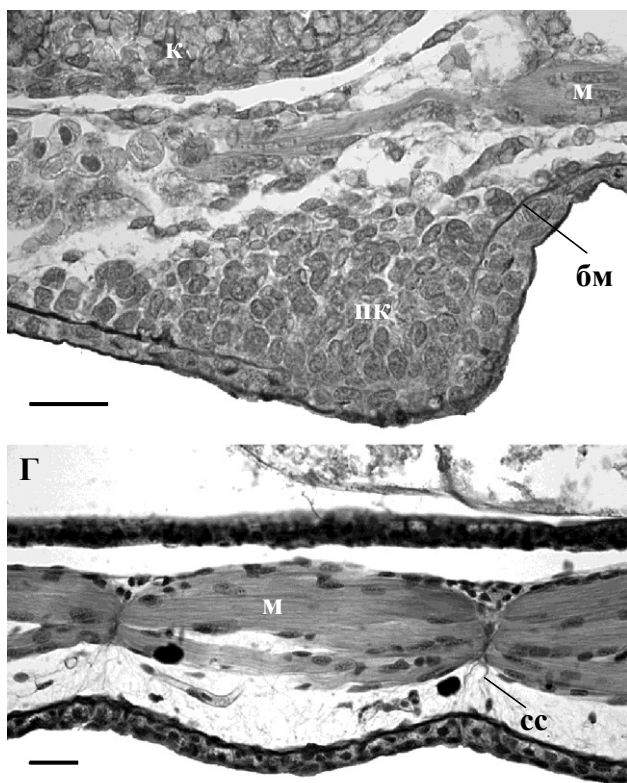
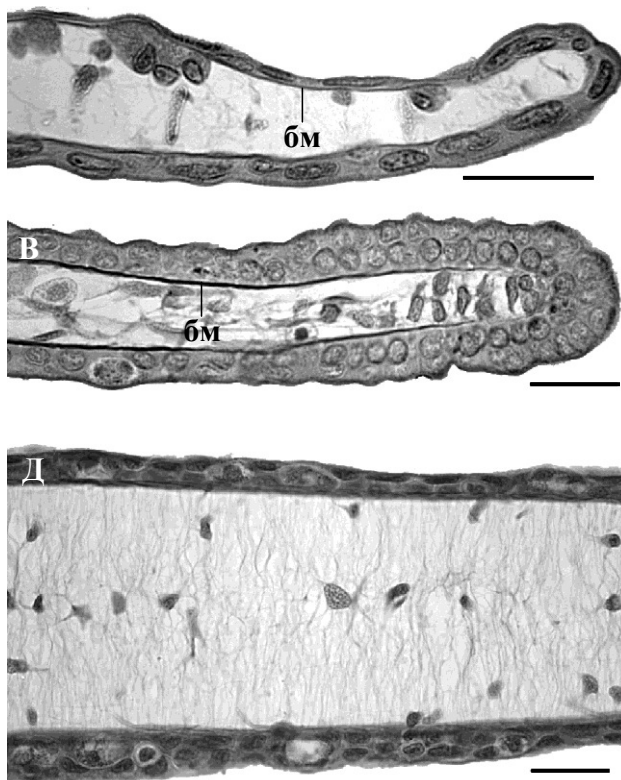


Рис. 4. Базальная мембрана и стяжки у личинок хвостатых земноводных.

А-В: Личинки сибирского углозуба, *Salamandrella keyserlingii*, на стадиях 30 (А), 35 (Б), 34 (В) (стадии определены по: Сытина и др., 1987). Фронтальные срезы через почку передней конечности (А) и балансер (В), вертикальный срез через жаберную складку (Б).

Базальная мембрана на вершине этих выпячиваний почти не видна. Г, Д: Личинки гребенчатого тритона, *Triturus cristatus*, на стадии 48 (стадия определена по: Glaesner, 1925). Фронтальные срезы в предкрестцовой области туловища (Г) и через вентральную плавнико-



вую складку (Д). Г: Коллагеновые волокна-стяжки концентрируются в области поперечных миосепт, стенка тела образует там углубления. Д: Многочисленные коллагеновые волокна (стяжки) равномерно связывают противоположные стенки складки, ее стенки остаются ровными.

Краниальные концы срезов направлены влево.

бм – базальная мембрана; к – кишка; м – миомер; пк – почка конечности; сс – септальная стяжка.

Масштабные линии – 50μ.

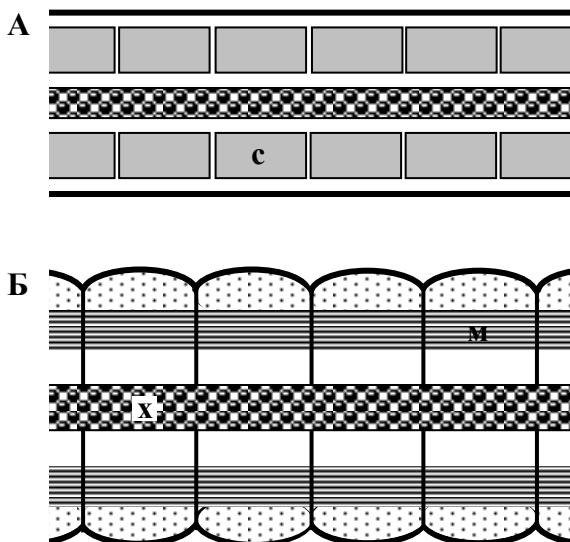


Рис. 5. Реорганизация волокон-стяжек в раннем онтогенезе позвоночных животных в графическом изображении.

А, Б: Фронтальные срезы тела на последовательных стадиях развития. А: Волокна-стяжки (тонкие вертикальные линии) равномерно связывают эпителиальные стенки сомитов (с) с эктодермой (толстые горизонтальные линии) и хордой (х). Б: Стенки сомитов разрушены, составлявшие их клетки дали мезенхиму (точки). Волокна-стяжки (толстые вертикальные линии) концентрируются в районе поперечных миосепт, разделяющих соседние миомеры (м). Неравномерному (сегментарному) креплению стяжек к покровам соответствует волнистость стенок тела (аналогичная волнистость хорды не показана).

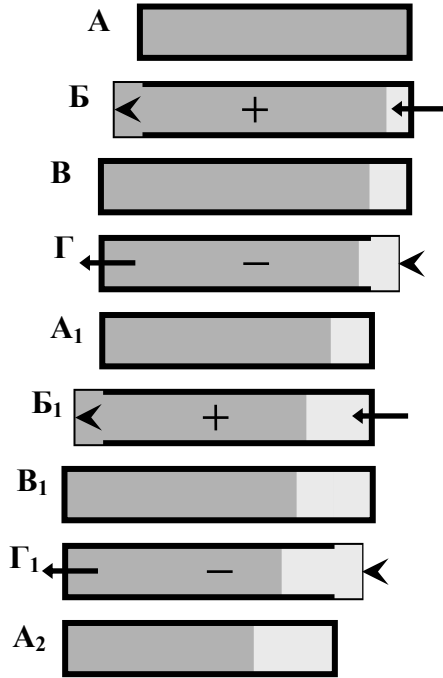


Рис. 6. Проточная модель локомоции амёбы в графическом изображении.

А-Г: Чередующиеся стадии локомоторного цикла. А, А₁, А₂: вся оболочка тургорной клетки равномерно противостоит давлению цитоплазмы. Б, Б₁: вода входит в клетку в ее задней части (стрелка); объем цитоплазмы и внутреннее давление увеличиваются (+); оболочка в передней части клетки ослабляется (тонкая линия), цитоплазма проталкивает (наконечник стрелки) плазмалемму вперед, клетка удлиняется. В, В₁: оболочка восстанавливает целостность, длина клетки максимальная. Г, Г₁: вода выходит из клетки на ее переднем конце (стрелка); объем цитоплазмы и внутреннее давление уменьшаются (-); оболочка в задней части клетки ослабляется (тонкая линия), наружная вода сдавливает (наконечник стрелки) урод, клетка укорачивается.

Удлинение светло-серой зоны показывает ток цитоплазмы.

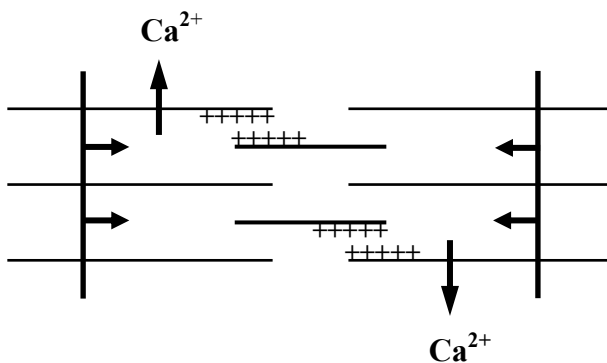


Рис. 7. Механизм укорочения саркомера поперечнополосатого волокна в графическом изображении.

Ионы кальция (Ca^{2+}) выходят из саркоплазматического ретикулума в саркоплазму и повышают ее тоничность. Суммарный электрический заряд филаментозной решетки становится положительным. Из-за этого ионы кальция не диффундируют в саркомеры и вода выходит оттуда по осмотическому градиенту (вертикальные стрелки). В саркомере создается пониженное давление. Наличие одноименных (положительных) электрических зарядов на миозиновых и актиновых нитях (+++++) не позволяет им сближаться. Z-диски движутся (горизонтальные стрелки) в зону пониженного давления. Тонкие горизонтальные линии – актиновые филаменты; толстые горизонтальные линии – миозиновые филаменты; вертикальные линии – Z-диски.

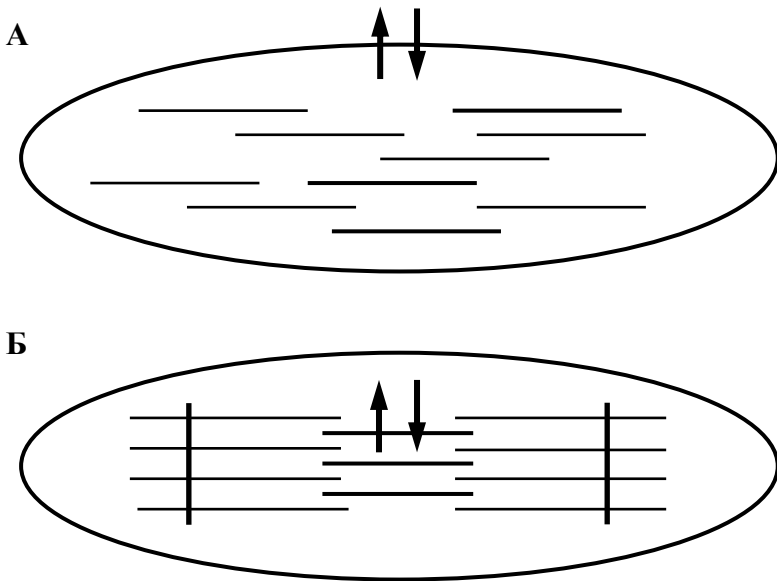


Рис. 8. Движение воды по осмотическому градиенту при сокращении и расслаблении гладкой мускульной клетки (А) и поперечнополосатого волокна (Б) в графическом изображении. Клетка и волокно представлены овалами

А: При сокращении клетки вода выходит из нее (направленная вверх стрелка), при релаксации – входит (направленная вниз стрелка). Б: При сокращении волокна вода выходит из саркомера (направленная вверх стрелка), при релаксации – входит в него (направленная вниз стрелка).

Тонкие горизонтальные линии – актиновые филаменты; толстые горизонтальные линии – миозиновые филаменты; вертикальные линии – Z-диски. Структурные изменения клетки (волокна) не показаны.

Борхвардт Валентин Германович

Механические преобразования ЖИВЫХ ПОЛОСТНЫХ ТЕЛ

Для контактов: borkhvardt@mail.ru

Подписано в печать 22.11.2015 г. Формат 60/84 1/16.
Бумага офсетная. Печать офсетная. Гарнитура Times
Усл. печ. л. 8,0 + 0,75 вкл. Тираж 100 экз. Заказ № 497ц.

Отпечатано с готового оригинал-макета, предоставленного автором
в типографии РГПУ им. А. И. Герцена
Санкт-Петербург, наб. р. Мойки, 48