

ПРОБЛЕМЫ ЭМБРИОНАЛЬНОГО МОРФОГЕНЕЗА

Л. В. Белоусов

Любой развивающийся организм многократно и закономерно изменяет свою форму. Образование борозд на поверхности дробящейся яйцеклетки, сдвиги бластомеров друг относительно друга, вворачивания зародышевых листков при гастрюляции, разнообразные изгибы клеточных пластов, сгущения и разрежения клеток, сопровождающие закладку буквально всех органов, неравномерный рост тела зародышей, личинок и взрослых особей — вот лишь некоторые примеры тех формообразовательных (морфогенетических) процессов, которые разыгрываются в течение жизни большинства многоклеточных животных. Как всю совокупность этих процессов, так и любой из них в отдельности мы будем называть морфогенезом.

Можно ли поставить относительно морфогенеза какие-либо общие вопросы, не сводящиеся к поискам частных факторов того или иного из перечисленных процессов? По нашему мнению, не только можно, но и должно, потому что и частные решения могут иметь смысл лишь в рамках более общих концепций.

ПРОСТРАНСТВЕННОЕ УСЛОЖНЕНИЕ, НАБЛЮДАЕМОЕ В ХОДЕ МОРФОГЕНЕЗА

При непосредственном наблюдении морфогенеза буквально на каждом его шагу можно заметить усложнение пространственной организации, т. е. появление новых, ранее отсутствующих изгибов и выпячиваний клеточных пластов, разрывов и склеек клеточных масс, сгущений и разрежений клеток и т. п. В терминах теории симметрии можно говорить о понижении порядка симметрии (диссимметризации) при каждом таком процессе. Но происходит ли диссимметризация в действительности в тот же самый момент времени и на тех же самых структурах, где она непосредственно нами наблюдается, или же наблюдаемая диссимметризация — лишь визуализация ранее (в пределе — в начальный момент развития) возникших, но сначала невидимых различий между частями зародыша? Последняя (преформационная) точка зрения многократно возрождалась в различных модификациях.

В принципе можно было бы говорить о генетическом и постгенетическом преформизме. Генетический преформизм сводится к ут-

верждению, что пространственная организация непосредственно передается по наследству — геном зародыша представляет собой нечто вроде карты (схемы) будущего зародыша. Такое утверждение, по-видимому, никем не оспаривается. Действительно, не только не существует связи между линейным расположением генов в хромосоме и расположением кодируемых ими морфологических признаков (положим, вдоль оси тела животного), но современная фенотипика вообще отвергает однозначную связь между геном и определенным морфологическим признаком [Майр, 1974]. Принимается, что вся совокупность генов влияет на всю совокупность морфологических признаков (если вообще морфогенез или его результат может быть разделен на отдельные признаки). К сожалению, в рамках данной статьи нет возможности подробнее обсуждать очень важные вопросы о связях генома с морфогенезом.

Постгенетический преформизм сводится к гипотезе, что, хотя пространственная организация и должна возникать вновь в каждом последующем онтогенезе, но это возникновение (диссимметризация) происходит в некоторый начальный момент развития, а затем возникающая сложность лишь переходит из одной формы в другую (например, из невидимой в видимую). Эта гипотеза может быть доказана или опровергнута только экспериментально. Схема эксперимента проста: если на стадии А искусственно нарушить целостность зародыша (разделить его на части, переставить эти части, прибавить новые части) и в результате морфогенетическая судьба некоторой части зародыша отклонится от нормальной, этого достаточно для вывода, что до стадии А развитие данной части не было преформировано. Обратный результат совместим с гипотезой преформизма развития до стадии А (хотя и не доказывает ее, так как нельзя исключить, что в каком-либо другом эксперименте данная часть все же не изменит ход своего развития).

Описанная экспериментальная схема была выдвинута классиками механики развития — Ру и Дришем, причем Дриш первым четко показал непреформированность развития зародыша морского ежа до стадии четырех бластомер. В дальнейшем было поставлено огромное количество подобных опытов на разных объектах и стадиях развития [Белоусов, 1971]. Их общий вывод состоит в том, что морфогенез на большем своем протяжении не преформирован и, значит, наблюдаемые примеры усложнения вполне реальны.

Следующий вопрос состоит в том, спонтанно ли морфогенетическое усложнение, или же оно «спечатывается» с каких-либо неоднородностей внешней среды либо некоторой развившейся ранее части зародыша. Не вникая в подробности [Белоусов, 1979а], сообщим лишь окончательный вывод: имеется достаточное число данных, относящихся к самым разным объектам и стадиям развития, которые ясно демонстрируют возможность спонтанного усложнения зародыша в однородном или почти однородном внешнем окружении.

Возможность спонтанного усложнения организации (спонтанной диссимметризации) долгое время казалась противоречащей законам физики, например принципу Кюри [Curie, 1894] и применительно к живым системам либо встречалась с недоверием, либо являлась опорой витализма. Принципиальный выход из этой ситуации появился вместе с теорией диссипативных структур [Николис, Пригожин, 1979]. Из сказанного очевидно принципиальное значение этой теории для понимания морфогенеза. Пока что сделаны лишь первые шаги по сближению теории диссипативных структур с биологическим экспериментом.

ЗАКОН ДРИША И НАПРАВЛЕНИЯ ЕГО КОНКРЕТИЗАЦИИ

Эксперименты, поставленные по описанной выше схеме, дали еще один результат первостепенной важности: в них наблюдались не любые изменения в ходе развития частей зародыша, а, как правило, именно такие, которые приводили к восстановлению нормальной формы и структуры целого. Значение этого результата было в полной мере осознано уже Дришем. Он назвал явления этого рода эмбриональными регуляциями и сформулировал на их основе свой знаменитый закон, являющийся, по сути дела, эмпирическим обобщением: «Судьба части есть функция ее положения в целом» [Дриш, 1915].

Если сам факт изменения судьбы части зародыша после нарушения его целостности показывает, что морфогенез и вообще онтогенез являются реальным усложнением пространственной организации, то закон Дриша указывает в самой общей форме, каким закономерностям подчиняется это усложнение. Поэтому закон Дриша должен лежать в основе любой теории морфогенеза. Однако крайняя общность словесной формулировки этого закона допускает самые различные толкования. Займемся их обсуждением.

1. Как понимать «положение в целом»? Попытаемся перевести это понятие на более или менее точный математический язык и одновременно уяснить его биологическое значение. Рассмотрим сначала для простоты такие развивающиеся системы, которые можно в хорошем приближении считать одномерными или обладающими осью симметрии (некоторые кишечнополостные и черви) (рис. 22, А, Б). В таких системах положение каждой части может быть однозначно определено расстоянием до некоторой другой фиксированной части. Последнюю удобно свести в точку и локализовать на одном из концов системы, например на апикальном (см. рис. 22, А). Однако измеренное таким образом положение не будет обладать свойством масштабной инвариантности (скейлинга) и не сможет отражать поэтому самой сути тех фактов, которые были обобщены законом Дриша: восстановление нормальной формы и структуры целого при его различных абсолютных размерах. Формально добиться скейлинга нетрудно: для этого достаточно ввести вторую точку отсчета, расположив ее, например,

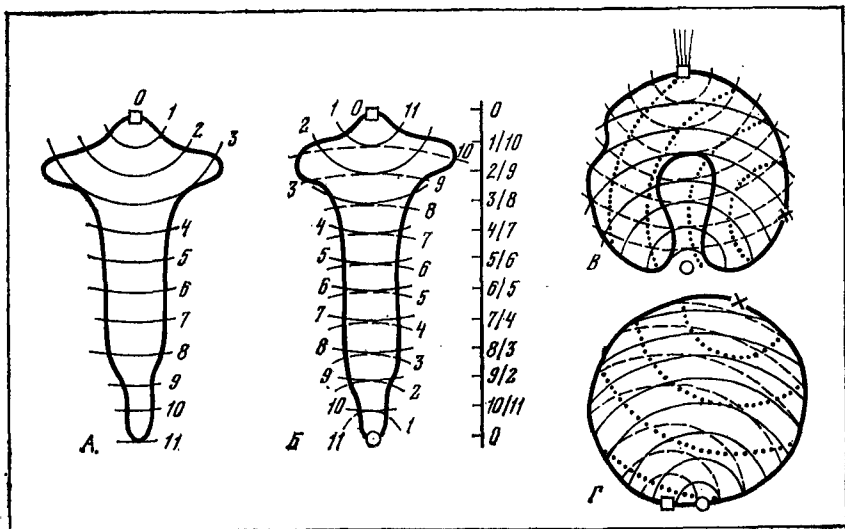


Рис. 22. Способы отсчета положений частей развивающихся систем от различающихся между собой фиксированных точек (обозначены квадратиком, кружком и крестиком)

А, Б — системы, имеющие ось симметрии; В, Г — системы, лишенные оси симметрии; А — отсчет от одной фиксированной точки; Б — отсчет от двух фиксированных точек. По обе стороны контура показаны координаты частей относительно каждой из точек. Справа — шкала отношений этих координат; В — отсчет от трех фиксированных точек. Дуги обозначают координаты некоторых частей относительно каждой из точек отсчета; Г — отсчет от трех точек, смещенных относительно их положения на В. Очевидно, что геометрически гомологичные точки на В и Г имеют разные координаты

на противоположном (базальном) конце системы, и выражать положение каждой части отношением r обоих расстояний [Аптер, 1970] (см. рис. 22, Б). Тогда, задав некоторые пороговые отношения (например, $r < 3/8$; $3/8 < r < 8/3$; $r > 8/3$), можно убедиться, что данная система будет делиться этими порогами на равные части независимо от своих абсолютных размеров. Но такая операция неизбежно связана с допущением, что уже в одномерной системе должны быть две точки отсчета, являющиеся, по терминологии Вольперта [Wolpert, 1969; Вольперт, 1970, 1971], источниками позиционной информации для всех остальных частей. В двухмерных системах, без симметрии, пришлось бы ввести третью (см. рис. 22, В), в трехмерных — четвертую такую точку. При этом очевидно, что любое изменение взаимного расположения точек отсчета нарушило бы не только масштабную инвариантность, но и вообще какое бы то ни было геометрическое сходство данного зародыша с нормальными (см. рис. 22, Г). Однако можно ли быть уверенным в том, что при всех нарушениях целостности, допускающих регуляции, хотя бы две любые наперед заданные точки отсчета сохранят одно и то же взаимное расположение? Можно смело утверждать обратное: в подавляющем числе

регуляционных систем допустимы самые значительные взаимные смещения любых наперед заданных точек отсчета. Рассмотрим, например, бластулу морского ежа, приняв ее за тело вращения (это, конечно, nepозволительное упрощение, но учет несимметричности только усилил бы наши выводы). Естественно принять за источники позиционной информации точки анимального и вегетативного полюсов. Произведем типичную операцию по исследованию регуляционной способности: рассечение бластулы или более раннего зародыша по меридиану. Известно, что, перед тем как начнется собственно регуляция, произойдет смыкание получившейся полубластулы в замкнутую сферу. При этом точка анимального полюса сильно сблизится с точкой вегетативного полюса [Herstadius, 1973], т. е. исходное противоположное расположение точек отсчета, как и любых других точек поверхности бластулы, резко нарушится (см. рис. 22, В и Г). При других типах рассечений взаимное положение любых двух наперед заданных точек будет каждый раз иным. Но все это несколько не мешает полной регуляции.

Эти соображения ясно показывают, что дришевское «положение в целом» не может рассматриваться как положение относительно любых точек отсчета. Между тем, к сожалению, именно такая точка зрения лежит в основе концепции позиционной информации Вольперта [Wolpert, 1969] и других моделей морфогенеза [Goodwin, Cohen, 1969; Gierer, Meinhardt, 1972] и считается, по-видимому, едва ли не единственно возможной конкретизацией закона Дриша. Однако существует и другая позиция, непосредственно вытекающая из отрицания первой: положение в целом следует отсчитывать не от одних и тех же индивидуальных точек отсчета с наперед заданными внутренними свойствами, а от одних и тех же элементов симметрии системы. В применении к зародышу морского ежа это означает, что отсчет положений необходимо каждый раз вести от противоположных (полярных) точек, независимо от того, какие именно клетки, с какими исходными свойствами занимают эти точки. Такой способ отсчета подразумевает, что регуляции требуют сохранения хотя бы некоторых основных элементов симметрии при экспериментальном нарушении целостности. Анализ имеющихся данных показал, что это действительно является необходимым условием полноценных регуляций [Белоусов, 1971]. Если регуляция идет из, казалось бы, аморфной клеточной массы, то нормальные регуляции возникают лишь из тех ее участков, пропорции которых близки к нормальным.

Но отсюда следует, что позиционная информация никак не связана с внутренними, индивидуальными свойствами элементов, а связана с теми их свойствами, которые одинаковы у элементов, оказавшихся в геометрически гомологичных положениях. Но чтобы такие положения были вообще узнаваемы, они должны быть привязаны к тем или другим локальным геометрическим или топологическим особенностям — кривизне поверхности, шивкам или разрывам пластов и т. п. Получается, что в регуляцион-

ных системах отсчет положения должен идти именно от таких топогеометрических особенностей, а не от каких-либо заранее заданных особых точек с внутренней индивидуальностью. Выражая другими словами почти то же самое, можно сказать, что регуляционные системы должны обладать специфической «топогеометрией» целого, достаточно устойчивой в динамическом смысле к смене индивидуальных элементов низшего уровня. Эта идея, высказанная впервые еще Кювье [цит. по Канаеву, 1976], пронизывает все учение Дриша и впервые была доведена до конкретных моделей морфогенеза А. Г. Гурвичем [1944, 1977]. К сожалению, эта идея пока не используется в современных моделях морфогенеза, постоянно связывающих себя допущением точек отсчета.

2. Что такое «судьба части»? Первоначально было естественно понимать под судьбой части весь ход ее последующего развития вплоть до достижения взрослого состояния. В современных концепциях морфогенеза этот вопрос специально не обсуждается, по их дух совместим с таким первоначальным пониманием. Между тем его неудовлетворительность и противоречивость к настоящему времени достаточно ясны. Если на некоторой стадии *A* перед которой возможны регуляции, определяется сразу вся судьба части до самого конца развития, значит, дальше все развитие предопределено и регуляции невозможны. Но хорошо известно, что регуляции возможны на всем протяжении развития, а нередко и во взрослом состоянии. Отсюда прямо следует, что на каждой данной стадии развития может определяться судьба части лишь на некоторый не слишком большой отрезок времени. Величина этого отрезка должна определяться эмпирически.

Следует ли вкладывать в понятие «судьба» все стороны поведения некоторого элемента, т. е. и его формообразовательные движения, и темп, и направление его клеточных делений, и специфику протекающих в нем синтезов, и его конечную дифференцировку? В свете современных данных общий ответ на этот вопрос должен быть отрицательным. Все перечисленные процессы и ряд других разделимы. Одни из них могут зависеть от положения, другие, наоборот, быть независимыми и протекать, например, согласно каким-либо внутренним ритмам. Осознание такой комплексности развивающихся систем пришло независимо к разным исследователям [Gurwitsch, 1930; Lehmann, 1933; Spemann, 1936; Филатов, 1939] и является важным принципом теории морфогенеза.

И, наконец, последний вопрос, относящийся к закону Дриша.

3. Что можно сказать о характере функциональной зависимости между судьбой и положением? В моделях морфогенеза 20—30-х годов предполагалось, что зависимость от положения может быть описана достаточно гладкими, монотонными функциями, вид которых не должен меняться в зависимости от исследуемого объекта или стадий развития [Anikin, 1929; Gurwitsch, 1930; Smirnow, Zhelochowtsev, 1931]. В настоящее время такой подход

представляется нереалистичным. Целый ряд данных указывает на то, что эти функции могут быть совершенно различным и для разных отрезков развития, должны быть существенно нелинейными и иметь разрывы. В приложениях к морфогенезу качественной теории дифференциальных уравнений вообще не ставится вопрос об определении вида функции, а лишь о локализации в пространстве—времени областей ее устойчивого и неустойчивого поведения [Том, 1970; Thom, 1972; Белоусов, Чернавский, 1977]. Уже один такой качественный анализ, если его удастся провести, существенно приближает нас к пониманию морфогенеза. Однако на этом не следует останавливаться и нельзя забывать о необходимости согласования различных локально действующих функциональных зависимостей.

УРОВНИ ПРОЦЕССОВ МОРФОГЕНЕЗА

Один из главных и наиболее определенных выводов из анализов закона Дриша состоит в том, что поведение частей развивающихся систем по крайней мере в некоторых отношениях должно зависеть от «топогеометрии» целого. Это подразумевает наличие хотя бы двух уровней, верхний из которых должен быть устойчивым по крайней мере к некоторым возмущениям нижнего уровня. Нам кажется, что и теоретические, и экспериментальные исследования морфогенеза нуждаются в разработке понятия уровней. Наши соображения на этот счет таковы.

I. Понятие «уровень» мы будем относить к процессам, а не к статичным структурам (клетка, орган, организм), как это делается обычно.

II. Мы будем считать понятие «уровень» строго релятивным, т. е. данную группу процессов будем выделять в самостоятельный уровень лишь по отношению к другой какой-либо группе процессов. Таким образом, имеет смысл говорить минимум о паре уровней, но не об одном.

III. Определение уровня: мы отнесем некоторые сравнимые процессы к разным уровням, если они будут существенно отличаться между собой по характерным временам своих динамических переменных (верхний уровень.— более медленные переменные) и если процессы каждого уровня будут устойчивы хотя бы к некоторым возмущениям, нарушающим устойчивость другого уровня.

Рассмотрим два примера развивающихся систем: почкование у гидроидных полипов и ранний морфогенез амфибий.

Непосредственной движущей силой роста и морфогенеза побегов и почек гидроидных полипов являются периодические сокращения — расслабления (пульсации) — верхушечных миоэпителиальных клеток [Belousov, 1973; Белоусов, Дорфман, 1974]. Периоды пульсаций составляют у разных видов от 5 до 15 мин, а каждая клетка находится в сокращенном или расслабленном состоянии некоторую часть этого времени. Таким образом, харак-

терное время переменных этого уровня — несколько минут. Можно ли, имея запись пульсаций, реконструировать форму зачатка, порождаемого этими пульсациями? Здесь мы сталкиваемся со своеобразной ситуацией. Сравнивая записи пульсаций различных видов (профили пульсаций видоспецифичны), можно описать относительные различия их форм, но самые формы однозначно определить нельзя: профиль пульсаций при росте столона несущественно отличается от профиля пульсаций при развитии гидранта. С другой стороны, оказывается возможным выводить друг из друга с достаточной точностью довольно длинную последовательность форм, не имея никаких сведений о пульсациях и зная одни лишь эти формы, т. е. локальную кривизну пласта в каждой интересующей нас точке [Belousov, 1973].

Изменения локальной кривизны клеточного пласта представляют собой другой уровень процессов, нежели ростовые пульсации.

Характерное время для образования устойчивого выпячивания значительно превышает время одной пульсации и составляет около 1 ч. Уже возникшая кривизна обладает значительной устойчивостью к различным возмущениям, в том числе и к изменению параметров пульсаций. Возможность регуляции формы зачатка зависит прежде всего от того, насколько она близка к исходной форме зачатка после операции: при сильных отклонениях формы (распределения кривизны) оперированного зачатка от исходной формы регуляции не происходит; возникают недостатки или удвоения частей.

Таким образом, изменения геометрии (кривизны поверхности) зачатка образуют некоторый собственный уровень, автономный относительно уровня более быстрых движущих сил морфогенеза. Именно такая двухуровневость и обеспечивает регулятивность морфогенеза гидроидных полипов в дришевском смысле. Для гидрополипов можно выделить и более высокие уровни с более медленными переменными, включая, например, метаболические перестройки, изменения внешних условий и т. п. Процессы этих уровней могут действовать как пусковые или блокирующие факторы морфогенеза, но содержат в себе мало пространственной специфичности и могут быть без большого ущерба для понимания собственно морфогенеза приняты за постоянные.

При формировании осевых органов у зародышей амфибий можно наметить аналогичные, хотя и иные по конкретному содержанию уровни.

Наиболее медленные процессы — это процессы химических преобразований, ведущие к возникновению или угасанию индукционных свойств, а также компетенции тканей к их восприятию. Это еще не сам морфогенез, а лишь его предпосылки. Характерное время этих процессов у амфибий — десятки часов.

Пропустив пока промежуточный уровень, охарактеризуем уровень наиболее быстрых процессов. Этот уровень представлен, по нашему мнению, контактной поляризацией клеток — переда-

чей от одной контактирующей клетки к другой морфологической поляризации и связанными с этим субмикроскопическими и молекулярными процессами (сборка микрофиламент и микротрубочек, перестройки в мембранах, активация синтеза белка на уровне трансляции [Лучинская, Белоусов, 1977; Завалишина и др., 1980]). Передача поляризации от одной клетки к другой может осуществляться в течение минуты — десятков минут. Благодаря контактной поляризации возникают тяжи, пласты и полосы поляризованных и во многих случаях активно движущихся клеток. Таким образом, процессы контактной поляризации наиболее близки к тому, что можно было бы назвать движущими силами морфогенеза. Вместе с тем сами по себе процессы контактной поляризации могут обеспечить лишь ближний порядок морфогенеза. Они, например, могут построить слитную закладку из поляризованных клеток, которая будет нормально дифференцироваться, но эта закладка будет обладать неправильной, произвольной формой и расположением.

Сами по себе процессы контактной поляризации не обеспечивают дришевских регуляций. Опыты показывают, что к дришевским регуляциям способны лишь те участки эмбриональных тканей, в которых уже к моменту операции возникли четкие топологические структуры — поля клеточных натяжений [Белоусов, 1979б], т. е. закономерным образом расположенные тяжи и полосы растянутых поляризованных клеток. Среди них особенно характерным оказался набор линий натяжений, рассекающих эмбриональные ткани — так называемые кросс-линии [Белоусов и др., 1976].

Периоды гастрюляции и нейруляции характеризуются, несмотря на изменения формы зародыша в пределах этих стадий, топологически инвариантными полями натяжений. В период гастрюляции на поперечных сечениях через зародыш кросс-линии отсутствуют и натяжения локализованы, за исключением дорсальной губы бластопора, только на поверхности зародыша (рис. 23, А). Переход к нейруляции знаменуется возникновением дорсомедиального пучка кросс-линий (рис. 23, Б), который в течение нейруляции расширяется и выходит к боковым стенкам зародыша (рис. 23, В). В конце периода нейруляции единое поле натяжений рассекается рядом поперечных кросс-линий (рис. 23, Г, Д). Сами по себе поля натяжений возникают в результате контактной поляризации, но протекающей в уже установленном ранее, предшествующем поле натяжений. После своего возникновения поле натяжений обладает структурной устойчивостью: его топология не изменяется, например, при удалении или добавлении участка ткани. В достаточно развитом поле процессы контактной поляризации приобретают определенную локализацию и ориентировку. В связи с этим, зная структуру поля, можно предвидеть ход развития на ближайший отрезок времени. Характерное время существования топологически инвариантного гастрюляционного или нейруляционного поля — часы. За это время подготавливается

А — стадия гастротомии;
 Б — переход к нейруляции;
 В — ранняя нейрула;
 Г — поздняя нейрула;
 Д — стадия ранней хвостовой почки;
 А — В — поперечные срезы;
 Г — сагиттальный срез;
 Д — фронтальный срез.
 Жирный контур — основные линии натяжения, пунктир — менее натянутые поверхности. Стрелки указывают направление входа лучков кросс-линий [Белюсов и др., 1976]

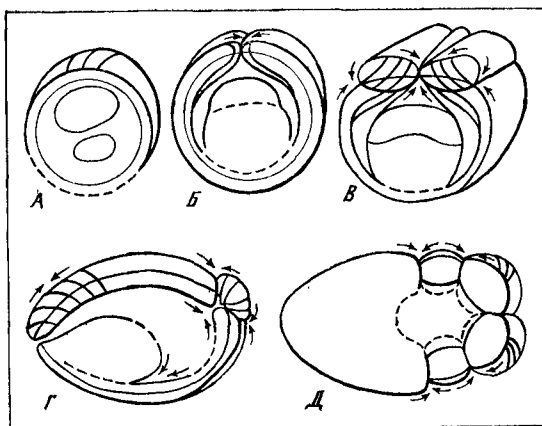


Рис. 23. Поля клеточных натяжений у зародышей травяной лягушки

относительно быстрая топологическая трансформация — построение нового поля, структуру которого можно предвидеть исходя из структуры прежнего поля.

Таким образом, по характерным временам своих переменных и по внутренней устойчивости и самодетерминированности своей эволюции поля натяжений могут рассматриваться как самостоятельный уровень. Он является промежуточным между уровнем более быстрых процессов контактной поляризации, сопоставимых как по своей скорости, так и по своему распространяющемуся характеру с ростовыми пульсациями у гидрополипов, и уровнем наиболее медленных процессов развития — угасания компетенции и индукционных способностей. Поэтому он может быть сопоставим с уровнем геометрических перестроек у гидроидов.

Набросанная картина трехуровневой структуры двух весьма далеких друг от друга морфогенезов при всей своей схематичности может представлять общий интерес. Каждый уровень имеет свою собственную, четко определимую функцию. Верхний уровень — это уровень факторов, запускающих или блокирующих морфогенез и отчасти определяющих его темп. Этот уровень содержит, по видимому, очень мало или вовсе не содержит информации о пространственной специфичности морфогенеза.

Следующий за ним уровень — это уровень геометрических или топологических преобразований многоклеточных структур. Именно структурной устойчивостью этого уровня обеспечиваются дришевские регуляции.

Наконец, на уровне наиболее быстрых процессов локализовано то, что можно называть в прямом смысле движущими силами (механизмами) морфогенеза. Короче, вычлняются уровни пусковых факторов, регуляции и движущих сил морфогенеза.