

В.Г.Борхвардт

МЕХАНИЧЕСКИЕ
ПРЕОБРАЗОВАНИЯ
ЖИВЫХ ПОЛОСТНЫХ ТЕЛ

ТЕССА
Санкт-Петербург 2010

УДК 573.7
ББК 28.63
Б 83

Борхвардт В.Г.

Б 83 **Механические преобразования живых полостных тел. -**
Изд. 2-е, испр. и доп., СПб.:ТЕССА, 2010. –с. 124: ил. 8.

ISBN 5-94086-039-7

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

ББК 28.63

ISBN 5-94086-039-7

© Борхвардт В.Г.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ К ПЕРВОМУ ИЗДАНИЮ	5
ПРЕДИСЛОВИЕ КО ВТОРОМУ ИЗДАНИЮ	5
ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПОЛОСТНЫХ ТЕЛ	6
ПРИЧИННЫЙ АНАЛИЗ ФОРМООБРАЗОВАТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ	8
Изучение механической роли актиновых филаментов	8
Изучение механической роли эпителиев	11
Природные эксперименты	12
АКТОМИОЗИН НЕМЫШЕЧНЫХ КЛЕТОК ВЫПЯЧИВАНИЯ	13
Клетки	16
<i>Клетки, имеющие стенку</i>	16
<i>Клетки, не имеющие стенки</i>	21
Эмбрионы и личинки позвоночных	33
<i>Выпячивания внутренних органов</i>	33
<i>Наружные выпячивания</i>	35
ВПЯЧИВАНИЯ	37
Клетки	37
<i>Эндоцитоз</i>	37
<i>Деление</i>	41
Животные	46
<i>Гастрюляция</i>	46
<i>Наружные выпячивания у эмбрионов и личинок позвоночных</i>	52

СТЯЖКИ	54
ЛОКОМОЦИЯ И ФОРМИРОВАНИЕ ПСЕВДОПОДИЙ	
АМЕБ	56
МЕХАНИКА НЕМЫШЕЧНЫХ БЕССТЕНОЧНЫХ КЛЕТОК	62
Развитие отростков	62
Локомоция	65
Внутриклеточный транспорт	70
МЫШЕЧНОЕ СОКРАЩЕНИЕ	72
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	86
Гидромеханическая модель	86
Механические факторы в раннем онтогенезе позвоночных	87
Механические факторы в эволюции живых организмов	89
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	92
ИЛЛЮСТРАЦИИ	125

ПРЕДИСЛОВИЕ К ПЕРВОМУ ИЗДАНИЮ

Излагаемые здесь представления формировались в течение примерно десяти лет. Начало моим размышлениям положили несколько довольно случайных наблюдений, сделанных при исследовании развития конечностей. Росту почек конечностей и были посвящены первые публикации. Позднее в анализ были включены другие процессы из тех, что принято именовать впячиваниями и выпячиваниями. Тут в полной мере обнаружилось разногласия авторов, отсутствие единого подхода к объяснению, казалось бы, сходных явлений. В завершение первого этапа взамен многих гипотез была предложена единая модель инвагинаций и эвагинаций, названная гидромеханической. Только через большой промежуток времени я решился включить в новую схему процесс амебоидной локомоции и еще через какой-то интервал – процесс мышечного сокращения. Эта историческая последовательность нашла отражение в структуре нынешнего текста.

Я благодарю А. В. Бардина за дружеское сочувствие, А. В. Гудкова – за консультации по поводу локомоции амебы.

ПРЕДИСЛОВИЕ КО ВТОРОМУ ИЗДАНИЮ

Первое издание книги было предпринято сразу, как только удалось распространить созданную ранее морфогенетическую модель на все случаи превращения полостных тел, сделать модель универсальной. Продолжая знакомиться с литературой, я увидел, что многое из имеющегося богатства осталось неосвоенным. Отыскались новые и весьма ценные факты. Обнаружилось, что ряд идей, составивших общую концепцию, в той или иной форме уже высказывались разными авторами. Особенно ощутимую поддержку своим взглядам я нашел в теории поляризованного роста растительных и грибных клеток. Появились и новые соображения. В целом, доказательная база модели стала намного прочнее, что и привело меня к мысли о полезности второй публикации. Текст в новой редакции значительно расширен и переработан.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПОЛОСТНЫХ ТЕЛ

Среди живых организмов наибольшей изменчивостью формы отличаются клетки и протисты. У животных основные формообразовательные процессы происходят на ранних этапах онтогенеза, на стадии эмбриона и личинки. Клетки, одноклеточные организмы, зародыши (личинки) животных и станут объектами нашего обсуждения.

Все живые организмы и многие их части являются *замкнутыми полостными телами*. Многоклеточный организм представляет собой настоящую иерархическую систему замкнутых полостей. Очень наглядно такая система проявляет себя у ранних эмбрионов позвоночных животных, составленных преимущественно полостными образованиями. Первичная полость зародышей содержит целом, кишку, нервную трубку, кровеносные сосуды, почечные канальцы. 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 (ядра)* и 2) *оболочки*, которая механически отграничивает внутреннюю массу от окружающей среды (от наружной массы). Ядро нередко имеет сложный состав; большой гетерогенностью, например, отличается содержимое первичной полости тела эмбрионов (личинок) позвоночных животных. Оболочка чаще всего бывает двухслойной. У зародышей слоями являются ряд эпителиальных клеток и подстилающая их базальная мембрана, сложенная преимущественно коллагеновыми волокнами; у животных клеток – плазмалемма и подстилающий ее кортекс, составленный в большой мере актиновыми филаментами. Клетки растений, грибов, грамположительные бактерии добавляют к этим слоям третий – наружную стенку, составленную в основном полисахаридами.

Механические особенности живых тел наглядно выявляются при сравнении их роста с ростом плотных неорганических тел (кристаллов, сталактитов, снежного кома...). Неживые тела увеличиваются путем присоединения (наслаивания) строительного материала к их поверхности, которая при этом замуровывается в общей

массе (рис. 1А). Неравномерность роста неорганических тел в большой мере определяется неравномерностью поступления строительного материала к их поверхности. Подобным образом могут расти плотные части и живых организмов, например хрящевые зачатки (см. Борхвардт, 1991а), роговые и костные образования. Целые организмы и их полостные части растут иначе. Объем увеличивает главным образом внутренняя масса; оболочка увеличивает свою площадь, но толщина ее меняется мало. Строительный материал откладывается *под* оболочкой, которая не уходит с поверхности, а под давлением растущего ядра отодвигается от его центра (рис. 1Б). Весь рост живого тела можно описать как центробежное смещение оболочки.

Полостное тело редко представляет собой правильную сферу, показанную на схематическом рисунке 1Б. Животные, например, являются таковыми на стадии бластулы, но в ходе развития их форма усложняется и порой становится весьма причудливой. Животные клетки могут менять форму многократно, становясь шаровидными (в суспензии) или расплываясь (на плотном субстрате), выпуская или втягивая разные отростки.

Практически все процессы, меняющие форму живых полостных тел, можно уложить в два класса – выпячивания (эвагинации) и впячивания (инвагинации) (рис. 2Б, В). Выпячиваниями являются, например, образование и рост почек конечностей животных или отростков клеток, впячиваниями – формирование нервной трубки или деление клеток. Такими же словами – выпячивания и впячивания – называют и уже возникшие выпуклости и впадины.

Процессы инвагинации и эвагинации описывают обычно как изгибание эпителиального слоя (у животных) или плазмалеммы (у клеток). Тут важно помнить, что в природе просто эпителия, или просто клеточной мембраны не бывает. Они всегда существуют как оболочки замкнутых полостных тел. Соответственно, эпителий (плазмалемма) выпячивается *вместе* с внутренней массой, а впячивается *вместе* с наружной массой.

Специальных определений понятий “выпячивание” и “впячивание” в литературе нет, они кажутся вполне очевидными. Следующий пример показывает, что некоторое уточнение все-таки необходимо. В ходе нормальных морфогенезов позвоночных живот-

ных 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, можно воспринимать только как выпячивания. В обоих случаях использование терминов вполне оправдано, но различий лучше избегать. Я при выборе названий буду руководствоваться отношением производных структур к материнскому телу. 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). Выпячиваниями (инвагинациями) будем называть углубления материнского тела, чья оболочка является частью оболочки этого тела, а наполнение – частью наружной массы (рис. 2В).

ПРИЧИННЫЙ АНАЛИЗ ФОРМООБРАЗОВАТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ

Важнейшим орудием, с помощью которого исследуют причинно-следственные отношения, является эксперимент. Опытные данные играют ведущую роль и в изучении формообразовательных процессов у живых организмов. В этой главе мне хотелось обратить внимание, с одной стороны, на трудности, возникающие при использовании экспериментальных данных, а с другой – на плодотворность сравнительного анализа нормальных морфогенезов.

Изучение механической роли актиновых филаментов

“Actin everywhere” – так Pollard (2000) назвал один из разделов своей обзорной статьи. Полагают, что именно актиновые филаменты, одни или в кооперации с миозиновыми филаментами, в первую очередь ответственны за механические преобразования самых разных клеток. Через клетки они оказывают влияние на развитие органов и целых многоклеточных организмов.

Представления о важной морфогенетической роли актиновых филаментов в большой, если не в большей, мере покоятся на опытах, в которых клетки подвергались действию цитохалазинов, прежде всего цитохалазина В и цитохалазина D. Цитохалазин не позво-

ляет актиновым мономерам присоединяться к оперенным концам филаментов, т.е. не дает им расти. Поскольку на противоположных концах происходит деполимеризация, чистым результатом является уменьшение длины филаментов. В целом, добавление цитохалазина в среду, окружающую клетки, приводит к уменьшению содержания в них филаментозного актина. Одновременно меняется форма клеток, снижается их двигательная или ростовая активность, блокируется цитокинез. Наличие таких корреляций во многом и создало мнение о важнейшей роли актиновых филаментов в формообразовательных процессах.

Результаты опытов с применением цитохалазинов 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 затрудняет изучение механической роли актиновых филаментов с помощью цитохалазиновой обработки поскольку вход и выход воды сказывается на объеме клетки и может влиять на ее 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, окру-

жающей эмбрионы морского ежа, заметно ускоряло процесс уменьшения их объема, происходившего под действием компрессии (Davidson et al., 1999); уменьшение объема зародышей авторы рассматривали как указание на потерю ими 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 применять 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 E) 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, кроме того, на внутриклеточное перемещение аквапоринов – белков, облегчающих прохождение воды через клеточную мембрану (Mazzochi et al., 2006). Есть данные, что латрункулин меняет проницаемость эндотелия роговицы (Peterson et al., 2000). Подобно цитохалазину, латрункулин нарушает регуляцию клеточного объема (Hoffmann et al., 2009).

Итак, применение цитохалазинов вряд ли стоит считать 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) полагают, что цитохалазин D и латрункулин активизируют работу хлоридных каналов именно через разрушение актинового цитоскелета, который в норме эту работу тормозит (см. также 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, как уже говорилось, влиять на водный обмен клеток и, далее, на их объем и форму. Именно в таком плане Valuška et al. (2001), например, рассматривали участие актинового цитоскелета в удлинении растительных клеток. Есть данные, что актиновые филаменты тормозят осмотическое вхождение воды в клетку (см. Lang et al., 1998). Допускают, что кортикальный F-актин контролирует слияние секреторных пузырьков с клеточной мембраной (Bachewich, Heath, 1998), т.е. влияет на поступление строительного материала к растущим участкам. Paradoroulos et al. (2008) обратили внимание на то, что полимеризация или деполимеризация актина соответственно уменьшает или увеличивает осмотическую концентрацию цитоплазмы и таким путем влияет на перемещение воды через плазмалемму. Замечу, наконец, что мнения о роли актиновых филаментов 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, а потому использование этих ингибиторов филаментозного актина не кажется надежным инструментом для изучения его формообразовательных способностей.

Изучение механической роли эпителиев

Процессы впячивания и выпячивания у животных рассматривают обычно как изгибание эпителиального слоя. Одним из методов

изучения этих превращений является наблюдение за поведением фрагментов эпителия, извлеченных из тела эмбрионов. При проведении таких экспериментов необходимо учитывать, что они ставят эпителий в условия, не существующие в природе, где он всегда представляет собой оболочку замкнутого тела. Впячиваясь внутрь живого тела, эпителий встречает сопротивление внутренней массы; при выпячивании эпителия под ним создается разреженное пространство, что также препятствует изгибанию. Автономные фрагменты эпителия таким испытаниям не подвергаются и могут вести себя “свободно”. Они так себя и ведут. Ничем не сдерживаемая культивируемая нервная пластинка, например, изгибается как в обычном направлении, так и в обратном (Schoenwolf, Smith, 1990). Особенно впечатляют опыты Sorokin (1961) по выращиванию зачатков легких млекопитающих *in vitro*. Легочные фрагменты, вырезанные из тела эмбрионов и превращенные тем самым в открытые системы, переставали ветвиться. Их почкование возобновлялось только после заживления (закупоривания) открытых концов, т.е. после того, как фрагменты опять становились замкнутыми полостными телами. Опыты продемонстрировали, что нормальный морфогенез легочных зачатков (легочного эпителия) может происходить только в замкнутой системе.

Природные эксперименты

До двадцатого столетия эмбриология была наукой преимущественно описательной и сравнительной. Стремление не только описать морфогенетические процессы, но и понять закономерности их протекания привело к бурному развитию экспериментального метода. В увлечении рукотворными экспериментами исследователи не хотят видеть, что природа сама является экспериментатором, а бы даже сказал – Великим Экспериментатором. За многие миллионы лет природа создала неисчислимое множество морфогенезов, и создает их на наших глазах в виде мутантных форм. Эти морфогенезы демонстрируют разную степень различий, от очень крупных до мельчайших. Их сравнение, в разных сочетаниях, может дать результаты, не уступающие по точности результатам, полученным при анализе данных, полученных путем искусственных изменений жизненных процессов. Экспериментальный метод тоже ведь явля-

ется методом сравнительным, где сопоставляют данные опыта и контроля (или разных опытов).

Использование метода сравнения природных морфогенезов сдерживается тем, что пока их изучено совсем немного. Вовлечение в исследования новых объектов (новых природных экспериментов) будет увеличивать число морфогенетических вариантов и, соответственно, плодотворность сравнительного анализа. Опираясь на свой опыт сравнительного анатома, могу без особого преувеличения сказать, что в природе можно найти почти все. В качестве иллюстрации приведу пока лишь один пример. Мы только что видели, сколько усилий было затрачено на нейтрализацию актиновых филаментов. Между тем природа уже давно провела подобный эксперимент, создав сперматозоиды нематод, практически лишенные актина. Эти сперматозоиды двигаются и выпускают отростки.

В проводимом ниже причинном анализе природным экспериментам (нормальным морфогенезам) будет уделено не меньше внимания, чем рукотворным.

АКТОМИОЗИН НЕМЫШЕЧНЫХ КЛЕТОК

Эта глава, как и предыдущая, является своего рода подготовительной по отношению к основному тексту. Сокращение актомиозиновых комплексов считают важным фактором, определяющим механические превращения протистов и животных клеток, и потому полезно представлять, насколько это общее мнение обосновано.

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. Эти представления оказались очень живучими. После расшифровки механизма сокращения поперечнополосатого волокна и обнаружения актиновых и миозиновых филаментов у протистов и в животных клетках идея, о которой писал Mast (1926), получила конкретное выражение. “The main force-generating mechanism in both muscle and non-muscle cells seems to be actomyosin contraction...” (Strohmeier, Bereiter-Nahn, 1987, p. 631). Какие есть аргументы в пользу акто-

миозиновой природы сократительных действий немышечных клеток, кроме примера мышечных волокон?

Аргументов немного. Среди них, в частности, результаты экспериментов, проведенных с использованием цитохалазинов и латрункулинов, но мы уже знаем, что интерпретировать эти результаты можно по-разному. Да и сами результаты различны – по свидетельству Owaribe et al. (1981), например, цитохалазин В не препятствовал сокращению эпителиальных клеток, проходившему при добавлении к ним АТФ. Безусловно, впечатляют опыты, показавшие, 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.

Сократительная единица поперечнополосатого мышечного волокна – саркомер – представляет собой высоко упорядоченную систему. Исследователи ее функционирования очень строго учитывают, в частности, 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, в частности кортикального, никаких размерных характеристик нет. Между тем, серьезные различия актомиозиновых комплексов мышечных и немышечных клеток видны уже на уровне качественных оценок. Все миофиламенты саркомера тянутся в одном направлении и двигаются вдоль одной оси – филаменты кортекса чаще имеют сетевое расположение. Саркомер является стабильной системой – актиновые филаменты немышечных клеток все время распадаются и полимеризуются вновь. По мнению Verkhovsky, Borisy (1993, p. 638), “On the ultrastructural level, no morphologically clear sarcomeric units have been identified in nonmuscle cells.” Позднее, правда, авторы нашли похожие на саркомер объединения актиновых и миозиновых филаментов в выростах фибробластов и допустили, что они могут участвовать во втягивании ламеллиподий (Verkhovsky et al., 1995).

Сходство с саркомерами видят в особых пучках актиновых и миозиновых филаментов, так называемых стресс-волокон (stress fibers) (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) отмечали, 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 слизевика *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). Burridge (1981) не 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, скорее, как вера. Charas et al. (2006), скажем, признали, что кортекс не имеет саркомерной организации, и как в нем взаимодействуют актиновые и миозиновые филаменты – не ясно; тем не менее, в сократительных способностях кортекса не сомневались. Подобных примеров можно привести немало. 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 недавнее 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). Подобным образом Brown, Bridgman (2003, p. 425) оценили современные знания о роли актомиозина в движении конуса роста нейрита: “...a model that explains the site of force generation or molecular details of the actin–myosin interaction has been lacking.”

В общем, никто не знает, как действует актомиозин немышечных клеток, но все (или многие) убеждены, что действует. Эта вера, уходящая корнями в девятнадцатый век, в большой мере поддерживается примером мышечного сокращения, в том виде, как его понимает современная теория скользящих нитей. Сами по себе представления о сокращении актомиозиновых комплексов немышечных клеток не имеют строгого обоснования, а потому не могут служить основой для разработки морфогенетических моделей.

ВЫПЯЧИВАНИЯ

Клетки

Клетки, имеющие стенку

В англоязычной литературе для краткого обозначения клеток, обладающих стенкой, употребляют слово “walled”. Соответственно, для клеток, не имеющих стенки – “unwalled” или “naked”. Подобные термины в русскоязычных трудах мне не известны. Я буду применять слова “стеночные” и “бесстеночные”. Их нельзя назвать благозвучными, и я не предлагаю их для широкого употребления. Но они значительно упрощают изложение.

Клеточная стенка представляет собой слой внеклеточного матрикса, плотно прилегающего к плазмалемме. У растений, грибов и оомицетов этот слой складывается в основном полисахаридами, у грамположительных бактерий – пептидогликанами. Стенка придает оболочке значительную прочность, что позволяет клетке иметь высокое внутреннее давление, значительно превышающее наружное. Наличие стенки в большой мере определяет формообразовательные

возможности, что ясно отражено в словах, сказанных Cosgrove (1997, p.1031) по поводу растительных клеток: “In physical terms, cell shape and size are governed by the mechanics of the cell wall...”. На примере прежде всего этих клеток мы и рассмотрим морфогенетические закономерности, характерные в целом и для других стеночных клеток.

В отношении принципиальных факторов, меняющих форму растительной клетки, в научном мире давно царит полное согласие (см., например, Cosgrove, 1987; Harold, 1990). “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). Используя принятые в первой главе термины, современную концепцию механических преобразований растительной клетки можно представить в следующем виде. Жидкая внутренняя масса давит на оболочку клетки *равномерно* по всей ее площади (см. рис. 2А); оболочка, главным образом стенка, сдерживает давление внутренней массы; разбухая (в основном за счет поглощения воды), внутренняя масса растягивает клеточную стенку – клетка растет (см. рис. 1Б); если стенка механически неоднородна, она растягивается *неравномерно*; как результат, 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 оболочки, 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 односторонний – вершущечный – рост, который подробнее рассмотрим на примере пыльцевой трубки высших растений.

Пыльцевая трубка выпячивается из пыльцевого зерна, набухающего вследствие поглощения воды; позднее удлинение трубки происходит за счет прироста в апикальной части (Taylor, Nepler, 1997; Chebli, Geitmann, 2007; Moreno, 2007). Эта вершущечная часть имеет чаще всего форму полусферического купола. Секреторные пузырьки приносят к верхушке строительный материал, за счет которого здесь формируются новые участки плазмалеммы и

клеточной стенки. Для ознакомления с процессом преобразования апикальной клеточной стенки воспользуемся далее картиной роста пыльцевой трубки картофеля (Parre, Geitmann, 2005). Апикальная стенка первоначально складывается в основном пектинами. По мере поступления нового материала и смещения переднего края прежние отложения пассивно удаляются от верхушки. Складывающиеся их пектины подвергаются дезтерификации, 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. 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 (выпихивает) стенку пыльцевой трубки и продвигается сама только на вершине – там, где новообразующаяся мягкая стенка оказывает наименьшее сопротивление ее давлению. Нормальный рост трубки поддерживается определенным соотношением величины внутреннего давления и прочности боковых и верхушечной стенок. В пользу этой модели говорят эксперименты по выращиванию пыльцевых трубок 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). Это изменение темпов роста не длится долго, т.к. клетки обладают способностью регулировать свое тургорное давление (Benkert et al., 1997). Особенно 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. У *Lilium longiflorum*, например, скорость роста колебалась 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 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).

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 гиф – жизненной формы грибов и оомицетов.

Гифа тоже представляет собой трубку, часто ветвящуюся. Каждая ветвь растет на верхушке, имеющей вид полусферического купола. Сократительные 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-Talesh et al., 2008). В местах ответвления (выпячивания) новых гиф стенка материнской гифы размягчается (Saunders, Trinci, 1979) или истончается (Mullins, Ellis, 1974).

Для полноты картины, иллюстрирующей однотипность механизма роста у стеночных клеток, приведу еще несколько 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 (выпячивания) почки стенка клетки размягчается (Cabib et al., 1989). Последняя группа включает грамположительных бактерий. “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, поляризованный, рост стеночных клеток. Графически эта модель изображена на рисунке 2Б.

Широкое принятие модели в немалой степени, я думаю, определяется тем, что она вполне очевидна и подкрепляется, в частности, многими примерами из нашей повседневной жизни. Еще не так давно футболисты играли мячами, имевшими двухслойную оболочку, где внутреннюю резиновую камеру окружала покрывка, составленная кусочками кожи. В надутом мяче камера плотно прилежала к покрывке (как клеточная мембрана к стенке). Давление внутреннего воздуха равномерно распределялось по всей площади камеры и покрывки и придавало мячу сферическую форму. Когда нитки, сшивавшие лоскуты покрывки, рвались, камера выпячивалась сквозь образовавшееся отверстие. “Рост” выпячивания, конечно, был ограниченным, т.к. он не сопровождался добавлением нового воздуха и строительного материала. Внешне пылецевую трубку или гифу больше напоминает ружейный ствол. Внутреннее давление, возрастающее вследствие сгорания порохового заряда, не деформирует стальной корпус, но двигает пулю – аналог слабой верхушки пылецевой трубки или гифы. Примеры процессов, похожих 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. Их выражают, в частности, авторы, ранее всецело поддерживавшие главные постулаты теории (сравн. Harold, 1990 и 2002). Основанием послужили данные, что гифы оомицетов (*Saprolegnia*, *Achlya*) могут расти при очень низком или даже нулевом тургорном давлении (Money, Harold, 1993; Harold et al., 1996). Эти факты мы вспомним позднее, а пока стоит задать вопрос: 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. У оомицетов актиновые филаменты действительно достигают самой

вершины (Jackson, Heath, 1990, текст и Fig. 6), но авторы считали, что апикальный актиновый колпачок служит лишь укреплению слабой апикальной стенки. В пыльцевых трубках пучки актиновых филаментов (cables) до вершины вообще не доходят (Miller et al., 1996; 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 воздействия (*равномерного давления*) жидкой внутренней массы.

Модель, описывающую формообразовательные процессы у стеночных клеток, я буду называть *гидромеханической* (см. Борхвардт, 2002а,б, 2009). 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

Прочная стенка играет первостепенную роль в механических преобразованиях растительных и им подобных клеток. В утверждении такого мнения сыграл роль и тот факт, что после удаления стенки “голые” 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 cy-

toskeleton.” (Steinberg, 2007, Fig. 5, подпись). В отношении изначально бесстеночных (голых) животных клеток и одноклеточных организмов подобное мнение считают еще более оправданным. Цитируя авторов, предположивших 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.” Но существует ли пропасть на самом деле?

Существует ли пропасть между силами, действующими в надуваемом мяче и в стволе стреляющего ружья? Движущей силой в обоих случаях является давление газа. При этом надуваемый мяч становится шарообразным, а ствол, давление внутри которого при выстреле поднимается чрезвычайно высоко, остается цилиндрическим. Однако если в ствол поместить чрезмерный заряд, он может вздуться. Животные клетки при перенесении их в гипотонический раствор часто разрываются. Но если вода очень быстро входит в пылецевую трубку и резко поднимает тургорное давление, трубка тоже лопается (Messerli, Robinson, 2003). Искусственным размягчением апикальной стенки пылецевой трубки удавалось добиться шаровидного разбухания верхушки, а при особенно сильном размягчении – ее разрушения (Parre, Geitmann, 2005).

Модель, принятая для стеночных клеток, ясно говорит, что дело заключается не в абсолютных величинах (прочность оболочки, величина тургора), а в *относительных*. Внутреннее давление не обязательно должно быть очень высоким, но лишь таким, чтобы преодолеть суммарное сопротивление оболочки и наружной массы. И поляризованный апикальный рост осуществляется не потому, что оболочка на верхушке слабая, а потому, что она *слабее*, чем в других местах. Бесстеночные клетки тоже обладают тургором. Он невелик (например, 0,1 атмосферы в нейроне – Bray et al., 1991), но, как только что было сказано, внутреннее давление не обязательно должно быть большим. Оболочка же бесстеночных клеток совсем не такая прочная, как стеночных. Проблема локального роста бесстеночных клеток заключается в том, насколько эта оболочка однородна, есть ли в ней механическая гетерогенность.

Выпячивания бесстеночных клеток весьма разнообразны, о чем свидетельствует множество 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) илидвигающихся клеток; 3) выступающие из ламеллиподий цилиндрические или слабо конические филоподии; 4) пузыревидные выступы (“blebs”, “vesicles” в англоязычной литературе, дальше – “пузыри”), возникающие на поверхности гладких мускульных клеток при их сокращении (Fay, Delise, 1973; Ives et al., 1978) и самых разных немышечных клеток, пребывающих в самом разном состоянии (Cunningham, 1995; Mills et al., 2000). 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 membrane and the cortical fibrillar net, or by weakening of the net structure itself.” (Bereiter-Hahn et al., 1990, p. 185). С разной степенью четкости и с разными нюансами такую схему предлагали многие авторы (Godman et al., 1975; Tickle, Trinkaus, 1977; Fedier, Keller, 1997; Keller, Eggli, 1998; Yoshida, Inouye, 2001; Charras et al., 2005, 2006; Lantridge, Kay, 2006; Paluch et al., 2006; Yoshida, Soldati, 2006; Fackler, Grosse, 2008). Как видим, она вполне соответствует модели (гидромеханической), выработанной для стеночных клеток – *равное* давление на оболочку и *неравное* сопротивление последней. В отсутствие стенки роль регулятора механического состояния оболочки “берет на себя” кортикальный слой, в большой мере состоящий из актиновых филаментов. Появлению пузырей предшествует его разрушение или отслоение от плазмалеммы. У новообразованных пузырей кортикальный слой почти отсутствует (Keller, Eggli, 1998; Charras et al., 2006; Fackler, Grosse, 2008). Оболочка, представленная одной мембраной, оказывается, вероятно, довольно гомогенной, и потому пузыри принимают сферическую форму.

Сферическая форма пузырей, без сомнения, служит наиболее сильным аргументом в пользу того, что они растут под равномерным давлением жидкой цитозольной массы. Пузыри начинают выпячиваться как полусферы и позднее могут становиться почти пол-

ными шариками (например, Cunningham, 1995, Fig 4; Shi et al., 2005, Fig 1). На зависимость развития пузырей от давления цитозоля указывают и экспериментальные данные. Выращивая карциносаркомные клетки в гипертонической среде, Fedier, Keller (1997, p. 335) пришли к выводу, что "...the reduction of free water within the cells... is the direct cause for inhibition of blebbing and locomotion." В пузырях, наконец, нет пучков актиновых филаментов (Keller, Egli, 1998; Torgerson, McNiven, 1998; Shi et al., 2005), которые, как полагают, участвуют в создании отростков других типов (см. ниже).

Идея, что гидростатическое давление определяет формирование клеточных выростов, высказывалась не только по поводу пузырей, но и относительно выростов иной конфигурации. Наблюдая за поведением сперматозоидов 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 вода извне. Авторы учитывали, что это давление должно распространяться одинаково во все стороны. Поддерживать цилиндрическую форму отростков помогали, по их мнению, продольно расположенные актиновые филаменты.

Oster, Perelson (1987) придали своей гипотезе широкое звучание, распространив ее на выросты разного типа, и они не были в этом одиноки. Yoshida, Inoué (2001) не видели актиновых филаментов у переднего края растущих выпячиваний *Dictyostelium* и решили, что как пузырьчатые, так и цилиндрические отростки слизевика развиваются под давлением цитозоля. Не делали различия 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." Еще раньше так же рассматривали рост ламеллиподий Bereiter-Hahn et al. (1981) и Strohmeier, Bereiter-Hahn (1987).

Облик целого ряда выпячиваний действительно позволяет думать, что и они, подобно пузырям, растут под действием гидроста-

тических сил. Микроворсинки, как пыльцевая трубка или грибная гифа, 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 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. А именно, 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.

Причиной, по которой Fedier, Keller (1997) не делали различий между пузырями и ламеллиподиями, было то, что эти выпячивания одинаково реагировали на гипертонические растворы. Есть сведения, что гипотоническая среда стимулирует образование 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), не однозначны. 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 nor-

mal conditions the elongation of the axonal cylinder may be derived in part from a small positive internal pressure.” (Bray et al., 1991, p. 515).

Оценивая результаты опытов по выращиванию клеток в анизотонических средах, надо иметь в виду, что клетки способны активно регулировать свой объем, о чем известно довольно давно – уже 30 лет назад, например, 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 объёма (regulatory volume decrease – RVD) и регуляторное увеличение объёма (regulatory volume increase – RVI). Регуляторные способности клеток 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 естественных 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. Способностью клеток регулировать свой объем объясняли, например, кратковременность влияния анизотонической среды на тургор пыльцевых трубок (см. выше Benkert et al., 1997).

Клетки регулируют свой объем путем транспорта 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 через плазмалемму (Verkman, 2005; Verkman et al., 2006; Papadopoulos et al., 2008), а у растений также и через мембрану (тонопласт) вакуолей (Chrispeels, Maurel, 1994; Chaumont et al., 1998). Аквапорины найдены почти у всех живых организмов, начиная с прокариот (Engel et al., 2000; King et al., 2000; Maurel, Chrispeels, 2001). Именно после открытия аквапоринов представление о важной роли воды в механических преобразованиях клеток стало особенно крепнуть. 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, p. 212), хотя и согла-

шались 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."

Мнение, что аквапорины повышают формообразовательную и двигательную активность клеток, опирается, в частности, на экспериментальные данные. Только что приведенное заключение Loitto et al. (2002) было поддержано результатами опытов по блокированию аквапоринов у нейтрофилов. По данным Hara-Chikuma, Verkman (2006), клетки почечного эпителия мутантных мышей, лишённые аквапоринов, хуже, чем клетки нормальных животных, формировали ламеллиподии и наполовину уменьшали двигательную активность; искусственное 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 различием актинового аппарата, а с разной интенсивностью трансмембранного перемещения воды. Подобным образом вели себя клетки астроглии (Saadoun et al., 2005), более того, авторы предположили, что "...the ability of water channels to accelerate cell migration may be a general phenomenon in mammalian cells." (p. 5696).

Как видим, идея о том, что гидростатическое давление руководит формообразовательными процессами в животных клетках, и именно образованием выпячиваний, довольно популярна. Однако для развития отдельных выпячиваний просто давления цитозоля мало, для этого нужна еще механическая гетерогенность оболочки, наличие в ней слабых участков. Это условие тоже соблюдается.

При образовании пузырей локальное ослабление оболочки 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, Eggli, 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 наблюдают и у выпячиваний других типов.

Bereiter-Hahn, Lüers (1998) обнаружили ослабление связей кортикальных филаментов с краевой плазмалеммой ламеллиподий кератоцитов. Неравномерное распределение кортикальных актиновых

филаментов было найдено в полярном теле дробящегося яйца малощетинкового червя *Tubifex* – филаменты концентрировались главным образом у основания полярного тела и были редки на его стенках и вершине (Shimizu, 1990); независимо от других исследователей автор предположил, что выпячивание полярного тела определяют два фактора: 1) рост давления внутри яйца и 2) механическое ослабление оболочки яйца на анимальном полюсе, обусловленное редукцией там актинового кортекса. Разрушение или отслоение кортекса наблюдали на переднем крае движущихся клеток (Stossel, 1993), при формировании выпячиваний амёб (Stockem, Кюпоска, 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, Eggli (1998) противопоставляли ламеллиподии пузырькам, отмечая, что на краю ламеллиподий клеток карциносаркомы плазмалемма не отслаивается от кортекса.

Отчетливое конструктивное сходство с пыльцевыми трубками или гифами демонстрируют растущие отростки *Dictyostelium*, описанные Yoshida, Inouye (2001, Fig. 13, подпись). Вот как эти отростки выглядят на стадиях 4 и 5: “(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 имеет пузыревидную форму, на стадии 5 (и при последующем удлинении), после укрепления боковых стенок отростков актиновым кортексом – цилиндрическую. Сходство выпячиваний *Dictyostelium* с апикально растущими стеночными клетками усиливается еще тем, что путем экзоцитоза на их вершину выводится материал, необходимый для строительства новой плазмалеммы. Подобное надстраивание апикальной мембраны и кортекса происходит и в выпячиваниях животных клеток (Bray, 1970; Bergmann et al., 1983; Bretscher, 1983; Pfenninger, Johnson, 1983; DeBiasio et al., 1988; Keller, Eggli, 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, готовы применить такую мо-

дель только к пузыревидным выростам, сама форма которых подталкивает к такому выводу. Представить, что равномерное давление жидкого цитозоля способно создавать не сферические фигуры, труднее. Поэтому непрестанно ведутся поиски других механизмов, которые могли бы производить цилиндрические или плоские выпячивания. В последние годы доминирует мнение, что основную работу при развитии филоподий и ламеллиподий выполняют актиновые филаменты, которые, удлиняясь за счет присоединения мономеров на своих дистальных концах, 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 G. P. 2005; Yamazaki et al., 2005; Mogilner, 2006; Conti, Adelstein, 2008; Iwadate, Yumura, 2008; Le Clainche, Carlier, 2008).

Получается, таким образом, что если в мире стеночных клеток действует всего один формообразовательный механизм, то в мире бесстеночных клеток выпячивания производятся по крайней мере двумя различными способами. Здесь следует обратить внимание на то, что разные отростки нередко появляются на одних и тех же клетках, они весьма изменчивы и могут переходить друг в друга. Таковы, например, небольшие выступы (spines), находящиеся на концах развивающихся дендритов и имеющие форму тонких филоподий, массивных или грибовидных выпячиваний (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, Eggl, 1998; см. также Flanagan et al., 2001). Авторы это не смущает. Borisy, 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 и другие исследователи (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”.

Какова доказательная база концепции толкающих филаментов? Во многом она основана на экспериментах, проводимых с применением цитохалазинов, где наблюдали корреляцию между прекраще-

нием полимеризации актина и нарушением процессов движения клеток и формирования их отростков. Но мы уже знаем, что результаты подобных опытов можно интерпретировать по-разному, в том числе и в пользу действия гидростатических сил.

Специальную поддержку концепция нашла (см. Borisy, Svitkina, 2000; Mogilner, 2006), казалось бы, в представлениях о внутриклеточном движении бактерии *Listeria*. Актиновые филаменты, окружающие бактерию, формируют длинный хвост, направленный в сторону, противоположную движению, и Tilney, Portnoy (1989) предположили, что именно он и толкает бактерию. Свою догадку они проверили, обработав клетки, содержащие бактерии, цитохалазином D. Надо сказать, что бактерии двигались внутри клетки и без актинового хвоста (см. Tilney, Portnoy, 1989, Fig. 23), но главное даже не в этом. Представления о роли актина в перемещении *Listeria* сами по себе являются гипотезой и потому не могут служить базой для дальнейших построений.

Не имея, по существу, прямых доказательств, модель толкающих филаментов вызывает, вместе с тем, ряд вопросов. Прежде всего, нет уверенности в том, что актиновые филаменты действительно упираются в плазмалемму. Тщательнее всего пространственные отношения филаментов с плазмалеммой исследованы, вероятно, в микроворсинках. О результатах можно судить по приводимой 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 ворсинок – ВВ]. 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 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 позволит 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. Не будучи способным оценить это мнение по существу, отмечу, что ни на какие специальные наблюдения оно не опирается. Loitto et al. (2002, 2007), обнаружив обилие аквапориновых каналов в мембране филоподий, предложили еще один механизм, вызывающий колебание плазмалеммы. В их варианте интенсивное поступление воды через аквапориновые каналы 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.

Не в пользу концепции толкающих филаментов говорит тот факт, что актиновые филаменты клеточных отростков не всегда показывают строгую упорядоченность. Продольные пучки филаментов существуют, например, только в зрелых микроворсинках, тогда как на ранних стадиях развития отростков филаменты, 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, микро-

ворсинки, где продольных пучков филаментов нет, перестают 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 настоящих 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.

Сперматозоиды нематод, практически не имеющие актина, ползают, выпуская крупную псевдоподию, а на ее поверхности образуют многочисленные выпячивания (Nelson et al., 1982; Roberts, Streitmatter, 1984). Sepsenwol et al. (1989) называли эти выступы “villipodia” и определили их как finger-like projections, но 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). Эти 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 применения идеи о толкающей роли филаментов, но не добавила никаких новых аргументов в ее пользу и не решила связанных с ней проблем.

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). Акти-

новые филаменты внутри митохондрий и вакуолей, насколько мне известно, отсутствуют.

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. К тому же пример пузырей ясно показывает, что гидравлический механизм у бесстеночных клеток действительно работает. В отношении толкания филаментами никаких аналогий не существует. Твердой опорой филаментозной 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 не встречает тех трудностей, которые стоят на пути филаментозной. Актиновые филаменты могут отсутствовать – цитозоль есть всегда. Не известно, упираются ли филаменты в плазмалемму – жидкий цитозоль “упирается” всегда.

По моему мнению, одна гидромеханическая модель (рис. 2Б) способна объяснить развитие *любых* клеточных выпячиваний. Неверие в ее широкое действие во многом 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? Частичный ответ на этот вопрос уже был дан выше (см. особенно Yoshida, Inouye, 2001), более полный ждет нас впереди.

Эмбрионы и личинки позвоночных

Выпячивания внутренних органов

Выпячивание внутренних органов зародышей (личинок), прежде всего кишки, рассматривают обычно как изгибание эпителиального слоя. Механические силы, которые могли бы сгибать эпителий, не известны. В последние годы преобладает мнение, что основную роль играет изменение формы эпителиальных клеток, один конец которых сжимается при сокращении актомиозинового кортекса. Эту идею удобнее обсудить в следующей главе, теперь же еще раз обратим внимание на устройство внутренних органов. Они

являются полостными телами и заполнены жидкостью (хорда – обводненными клетками), а потому попадают в зону действия гидромеханической модели. В таком случае при образовании локальных выпячиваний должны выполняться два условия: 1) наличие тургора и 2) наличие механической гетерогенности оболочки.

Органы дают выпячивания во время своего роста, когда давление внутри них безусловно превосходит наружное – в противном случае этого роста просто не было бы. Встречает ли внутренняя масса органов (жидкость) при своем расширении сопротивление оболочки? Слой эпителиальных клеток, составляющий часть оболочки органов, способен за счет пролиферации увеличивать свою площадь. Если он будет делать это достаточно интенсивно, то препятствия росту внутренней массы может и не создавать. Базальная мембрана может утолщаться, и утолщается, путем пассивного приращения новых волокон к открытым поверхностям, но расширяться сама не способна. В этом отношении она подобна стенке клеток растений и грибов, которая увеличивает площадь за счет растягивающего действия увеличивающейся внутренней массы. Соответственно, инертная базальная мембрана должна оказывать сопротивление давлению этой массы, а сама жидкая масса, встречая сопротивление, должна равномерно давить на мембрану (эпителий). Иначе говоря, полостные внутренние органы являются телами тургорными. Хорду, кстати, традиционно таким телом и считают.

Итак, одно условие работы гидравлического механизма в морфогенезе эмбриональных органов целиком выполняется. Достаточное число фактов свидетельствует, что второе условие – локальное ослабление оболочки – тоже соблюдается. Неравномерное развитие базальной мембраны (коллагенового слоя) не раз отмечено 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 образования выростов (Patan, 2000).

То, что выпячивания внутренних органов появляются и растут под равномерным давлением жидкости, подтверждает их форма. При своем возникновении (на стадии почек) они часто бывают пу-

зырчатými. Одни, например плавательный пузырь рыб или легочные пузырьки млекопитающих, остаются такими на всю жизнь, о чем говорят и их названия. Другие, например почечные канальцы, становятся правильными трубками, которые тоже вряд ли могут формироваться иначе, как под равномерным давлением внутренней жидкости. Признанное тургорное тело – хорда – демонстрирует именно цилиндрическую форму (лучше сказать, на поперечных срезах имеет вид правильного круга).

Наружные выпячивания

В отличие от жидкого содержимого внутренних органов, масса, занимающая первичную полость эмбриона, имеет сложный состав. Некоторые ее компоненты, прежде всего зачатки скелета, являются жесткими структурами. В принципе, они могли бы производить локальное давление на эктодерму и выпячивать ее там (как актиновые пучки в гипотезе толкающих филаментов). На самом деле, однако, ни один эмбриональный (личиночный) орган не контактирует прямо с эктодермой, 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 выпячивания, говорят примеры, когда их в выростах тела вообще практически нет (рис. 3А, В; 4Б). Так бывает даже в почках конечностей тетрапод, обычно содержащих много мезенхимы. Например, дистальный сегмент (плавничок) конечностей личинки сибирского углозуба (*Salamandrella*) почти не содержит клеток, но растет очень быстро (Борхвардт, 1994, 2000).

Таким образом, только аморфный внеклеточный матрикс прилегает к эктодерме и может оказывать на нее давление (Борхвардт, 2000, 2002а,б). Аморфный матрикс представляет собой сильно обводненное вещество; Newman, Frisch (1979), например, называли матрикс почки конечностей курицы разжиженным гиалуроновым

гелем. Это значит, что гетерогенное ядро целого эмбриона (личинки) взаимодействует с оболочкой (эктодермой) 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 (личинка) не выглядит простым правильным телом, его части нередко бывают такими. Туловище и хвост ранних эмбрионов, например, могут быть округлыми в поперечном сечении, а почки конечностей амфибий возникают как настоящие полусферы. Плавные, ровные изгибы эктодермы, часто видимые на препаратах (см. рис. 4Г, а также главу “СТЯЖКИ”), тоже создают вполне определенное впечатление, что стенки тела испытывают равномерное давление внутренней массы. Почему же тело эмбрионов (личинок) растет неравномерно и принимает неправильную форму? Почему какие-то его части растут быстрее, выпячиваются? В теории ответ мы уже знаем – потому, что оболочка (эктодерма) механически гетерогенна и ее части оказывают давлению внутренней массы неодинаковое сопротивление. Так ли это на практике?

Самые разные выпячивания эмбрионов (личинок) демонстрируют слабо развитую базальную мембрану. Особенно полно это документировано на примере почек конечностей, чья базальная мембрана всегда значительно тоньше, чем на соседних участках кожи. Более того, в самих почках существует проксимо-дистальный “градиент утончения” – базальная мембрана оказывается особенно тонкой, нередко даже прерывается, на вершине выпячивания (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 регенерирующей конечности 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 градиент утончения 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 заднем конце тела эмбриона себрюги (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).

В целом, гидромеханическую модель, предложенную для клеточных выпячиваний (рис. 2Б), вполне можно применить и к эмбриональным (личиночным) выпячиваниям животных.

ВПЯЧИВАНИЯ

Клетки

Эндоцитоз

Эндоцитозные выпячивания постоянно возникают на теле самых разных клеток. Нередко на внутренней поверхности выпячиваний концентрируются клатриновые белки, и полагают, что именно этот слой может играть активную роль в инвагинации (Heuser, 1989; Rueraert 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 выпячиваниях бывает далеко не всегда. Важную роль в организации эндоцитоза отводят также актиновым филаментам. Об участии филаментов судят по их присутствию в зоне выпячивания, 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 (Engqvist-Goldstein, Drubin, 2003; Yasar 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 дистальном конце новых мономеров, старые участки сдвигаются

внутри. Эти участки связаны с мембраной и тянут ее за собой. Grębecki (1991) и Кіороска et al. (1996) полагали, что при формировании пиноцитозных каналов амебы плазмалемму втягивает внутрь сокращающийся кортекс.

Обсуждая процесс эндоцитоза, обращают внимание на то, что изгибанию клеточной мембраны препятствует ее натяжение (Raucher, Sheetz, 1999). Говоря о факторах, затрудняющих эндоцитоз у стеночных клеток, указывают на роль тургорного давления. Действительно, в тургорных клетках эпидермиса лука, например, Оparka et al. (1990) эндоцитозных пузырьков не видели. В отношении растительных клеток Gradmann, Robinson (1989) рассчитали, что окаймленные (одетые клатрином) пузырьки могут формироваться только при довольно низком давлении, менее одной атмосферы. Но даже при нулевом тургоре, т.е. при равенстве внутреннего и наружного давления, впячивающаяся плазмалемма должна испытывать серьезные трудности.

Формируя эндоцитозные пузырьки, плазмалемма не просто изгибается – она *погружается* внутрь клетки. Каким образом оболочка может погрузиться внутрь *замкнутой* полости, наполненной *несжимаемым* веществом? Этот вопрос должен стоять перед исследователями *любых* впячиваний, и ни одна инвагинационная модель не будет полноценной, если не даст на него ответа. Odell et al. (1981) – единственные известные мне авторы, которые такой вопрос задали и на него ответили. Рассматривая гастрюляцию у морского ежа, они предположили, что само впячивание (архентерон) устраняет сопротивление внутренней массы, механически вытесняя жидкость бластулы наружу. Во время эндоцитоза то же самое должны делать мелкие впячивания. Можно предложить и другой вариант: впячиваясь, эндоцитозные пузырьки повышают давление внутри клетки, и оно растягивает плазмалемму (плазмалемму и стенку у стеночных клеток). Проверить оба варианта в наши дни вряд ли возможно, хотя бы потому, что вряд ли возможно сделать соответствующие промеры. Но сомневаться в способностях эндоцитозных впячиваний выполнять работу, которую в растительной клетке, например, выполняет могущественный тургор, можно и должно. Тем более, что мы даже не знаем, какие силы при эндоцитозе двигают клеточную мембрану внутрь.

В принципе проблема погружения оболочки внутрь клетки или любого другого полостного тела имеет вполне простое решение. Если внутренняя масса давит на оболочку сильнее, чем наружная, оболочка смещается центробежно – такие действия мы рассматривали в предыдущей главе. Что будет, если объем ядра уменьшится и внутреннее давление станет меньше наружного? Ответ очевиден – внешняя масса двинется к центру тела, в область низкого давления, смещая туда же оболочку. В такой схеме уменьшение объема внутренней массы явится не следствием впячивания, как думали Odell et al. (1981), а, напротив, его причиной.

Природные процессы, где впячивания несомненно следуют за уменьшением объема внутренней массы, мы наблюдаем постоянно и повсеместно. Примером является сморщивание обводненных тел (фруктов, овощей, мертвых животных...) при их высыхании. Инвагинацию легко спровоцировать искусственно, поместив организмы в гипертонический раствор, который осмотическим путем вытягивает воду из полостей. 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) давали 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. 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 отрицательном внутреннем давлении столь же очевидно, как и выпячивание при положительном, и эксперименты это подтверждают. Но бывает ли внутреннее давление отрицательным в нормальных морфогенезах? Приводит ли его падение к развитию впячиваний? Трансформация *Acanthamoeba* во время инцистирования (Bowers, Korn, 1969) показывает, что клетки действительно *могут* активно стимулировать инвагинации. 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.

Приведенный пример активного стимулирования выпячиваний путем понижения внутреннего давления пока единичен. Но о способности клеток регулировать свой объем известно немало (см. выше). Так же известно, что пульсация клеток есть их обычное состояние (Trinkaus, 1969). Из материалов предыдущей главы мы знаем, что колебательным процессом является рост стеночных клеток, и одной из причин этого называют колебания внутреннего давления. Вспомним, также, что в гифах оомицетов, например, положительное внутреннее давление может опускаться почти до нуля (Harold et al., 1996). Если оно опустится ниже внешнего, то это неизбежно приведет к выпячиваниям, при условии, конечно, что силы наружного давления будет достаточно, чтобы преодолеть еще и сопротивление оболочки.

Итак, согласно новой гипотезе, движущей силой в развитии выпячиваний выступает давление наружной массы. Эта масса представляет собой либо жидкость, либо обводненный высоко пластичный матрикс. Давление такой массы будет стремиться создавать сферические фигуры. Эндоцитозные выпячивания во многих случаях таковыми и являются, не случайно их называют и изображают пузырьками. Именно шарообразная форма выпячивающихся пузырей (blebs) утверждает в мысли, что они возникают под давлением цитозоля. В отношении же эндоцитозных пузырьков подобный вывод – о давлении наружной жидкости (матрикса) – сделан не был. Между тем, представить, как столь правильные фигуры могут создавать, скажем, тянущие усилия актиновых филаментов, намного труднее.

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 отношении выпячиваний таких фактов было приведено немало, в отношении выпячиваний информация очень скудная. Пока единственные известные мне выпячивания, 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).

Итак, причиной выпячиваний, как и выпячиваний, я признаю разницу давлений внутри полостного тела и снаружи от него. Модель “выпячивание в слабом месте под давлением гомогенной наружной массы” (рис. 2В) по существу повторяет модель “выпячивание в слабом месте под давлением гомогенной внутренней массы” (рис. 2Б), но, так сказать, с обратным знаком.

Деление

В этом разделе речь пойдет о делении, главным образом, бесстеночных клеток, которое является, по существу, разновидностью впячивания. В отношении сил, совершающих этот процесс, давно сложился консенсус. Полагают, что клетку сжимает и делит сократительное кольцо, сложенное 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 там актиновых и миозиновых филаментов? Во-первых, это кольцо временное, оно появляется к началу деления и исчезает сразу по его окончании. Во-вторых, филаменты ориентированы по периметру клетки, что в принципе позволяет им ее сжимать. В-третьих, сокращение не происходит после обработки клеток цитохалазинами, хотя есть и противоположные данные (Krishan, 1972). Безусловно, большое влияние на умы оказывают общие представления о роли актомиозинового комплекса в сокращении мышц и кортекса немышечных клеток. Создавая модель сократительного кольца, Schroeder (1973, p. 1688) был уверен, что “The contractile machinery in cells is often, if not universally, fibrillar in nature.” Но в мышцах, вернее в поперечнополосатых волокнах, актиновые и миозиновые нити складываются в строго упорядоченную саркомерную решетку, и есть прямые наблюдения за их движением (скольжением). Полагают, что расположение актиновых и миозиновых филаментов в сократительном кольце напоминают таковое в саркомере (Sanger, Sanger, 1980, 2000), однако никакого скольжения филаментов в кольце прямо не наблюдали.

Не имея строгих доказательств, идея сократительного кольца встречает, в то же время, немало разного рода трудностей. Есть данные (Neujahr et al., 1997a), что распределение актиновых и миозиновых филаментов в делящейся клетке не соответствует традиционной схеме. Не известно, как сократительные усилия передаются на клеточную мембрану. Сам основоположник учения наблюдал как зигота морского ежа заканчивала деление (при диаметре в области

борозды от 2,5 мкм до нуля) без сократительного кольца (Schroeder, 1972). Вообще, Schroeder относился к затруднениям теории вполне серьезно и даже специально перечислил их в одной из поздних статей (Schroeder, 1990). 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 разделения клетки на две дочерние необходимо именно полное кольцо. Относительно дискоидального дробления, насколько мне известно, вообще нет никаких идей.

Наиболее значимым фактом, поддерживающим критическое отношение к концепции сократительного кольца, является то, что клетки могут делиться без миозина. Так поступают мутантные представители *Dictyostelium*. Иногда их лишённые миозина клетки образуют глубокие и широкие борозды (“pseudo-cleavage furrows” – Fukui et al., 1990), в других случаях деление доходит до конца (Knecht, Loomis, 1987; Neujahr et al., 1997b; 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. Кроме того, миозиновые головки выполняют не только механическую функцию, но участвуют в выработке энергии.

Обозревая тридцатилетнюю историю теории 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, тем не менее, совсем не привлекает внимания ученых. Делятся ведь не только клетки, но и их мембранные полостные органеллы – митохондрии, аппараты Гольджи, пластиды растений, вакуоли стеночных клеток. И это может происходить не только в ходе цитокинеза. Аппарат Гольджи, например, постоянно отшнуровывает (отпочковывает) секреторные пузырьки. Никаких сократительных колец у органелл не описано.

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

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, а, значит, уменьшение его внутреннего давления безусловно начинается раньше деления, можно с основанием предполагать, что именно падение давления внутри протопласта является причиной развития борозды деления (впячивания). Интересно, что уменьшение объема стеночных клеток может происходить и при обычном способе деления. Так, сразу после деления диатомовой водоросли две дочерние клетки в сумме оказывались меньше одной материнской (заключение сделано по: Wordeman, Cande, 1990, Fig. 1). На схематических изображениях делящихся бессте-

ночных клеток показывают обычно их увеличение (например, Hiramoto, 1981, Fig. 1). Быстро делившиеся клетки *Dictyostelium*, судя по фотографиям средних и завершающих стадий (Neujahr et al., 1997б, Fig. 8В), сохраняли длину и уменьшали объем; при медленном деления они совершенно отчетливо увеличивали длину (Fig. 8С, полная серия). В целом, удлинение клеток при делении является вполне обычным явлением, и я сам его наблюдал в фильмах. Koch (1990) даже предложил механизм деления граммотрицательных бактерий, когда расходящиеся полюса клетки “разрывают” ее.

Увеличение размеров, как объемных, так и линейных, несовместимо с любой моделью впячивания, в том числе с моделью цитокинеза, принимающей в качестве его причины падение внутреннего давления. Это затруднение снимается, если допустить, что изменение объема внутренней массы (величины внутреннего давления) делящихся клеток есть процесс *колебательный* – масса (давление) то уменьшается, то увеличивается. Такое допущение вполне реалистично. В предыдущем разделе мы уже говорили о пульсации клеток, как растущих, так и не растущих, и вспоминали, что тургор в гифах оомицетов может падать почти до нуля. 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, то следует ожидать, что и развитие борозды будет колебательным процессом – борозда будет углубляться при падении внутреннего давления и возвращаться в прежнее состояние при его повышении, когда оно окажется больше внешнего. Для совершения цитокинеза необходимо, чтобы возвратные смещения дна борозды были меньше поступательных. Вот тут и может сказаться влияние “сократительного” кольца, которое подобно обручу опоясывает клетку и препятствуют 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, не сократительное, кольцо вполне может действовать без миозиновых филаментов – для выполнения пассивной роли вполне достаточно одних актиновых. А они в кольцах есть всегда. Сдерживающую роль вполне может играть и тубулиновое кольцо бактерий.

Второе условие гидромеханической модели – слабость оболочки в месте инвагинации (рис. 2В) – в случае с делящимися клетками на первый взгляд не соблюдается. Более того, наличие “сократительного” кольца возможно даже усиливает сопротивление оболочки давлению наружной массы. Однако ослабляющий фактор все-таки есть и тут. В анафазе клетка, даже бывшая до этого сферической, превращается в эллипсоид, кривизна поверхности которого в средней части, месте будущей борозды, становится меньше, чем на полюсах. Роль свода в увеличении прочности строительных конструкций всем известна, и понятно, что поверхность клетки в средней части будет противостоять наружному давлению не так успешно, как на полюсах. Показательно, что перед началом деления равномерно дробящаяся зигота морского ежа уплощается 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. Добавление к плазмалемме нового материала тоже должно уменьшать ее сопротивляемость давлению наружной среды, как это происходит, например, на вершине растущей пыльцевой трубки. В связи с этим обращает на себя внимание один, казалось бы, незначительный факт, который, на мой взгляд, служит вполне серьезным аргументом в пользу роли внешнего давления в делении клеток.

Если сокращающееся кольцо 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 в своей глубокой части. Мало сомнений, что расширение происходит под давлением внеклеточной жидкости, а встраивание нового материала в плазмалемму этому способствует. Такое же расширяющее, вернее, углубляющее воздействие наружная масса должна оказывать и на дно борозды.

Животные

Этот раздел удобно начать цитатой: “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). Замечу сразу, что инвагинацию трудно понять, если рассматривать ее как превращения одной лишь “epithelial tissue”.

Гастроляция

Гастроляция иглокожих является, быть может, наиболее полно изученным процессом инвагинации у животных. Тем не менее, относительно недавно Davidson et al. (1999, p. 221) заявили, что “... despite a century of work... there is still no answer to the question: How do sea urchins invaginate?” Ответы, конечно, есть – нет согласия. Вернее, есть и оно, но только в одном вопросе. Практически все авторы разделяют процесс гастроляции иглокожих на два этапа – первичный (впячивание вегетативной пластинки с образованием архентерона) и вторичный (удлинение архентерона). И для каждого существуют свои модели. Davidson et al. (1995) проанализировали пять схем, описывающих превращения первой стадии, но не решились выделить из них лучшую; те же схемы фигурировали и в более поздней статье (Keller et al., 2003). Чаще всего причину впячивания (изгибания) вегетативной пластинки видят в сужении апикальных

концов составляющих ее клеток (см. Davidson et al., 1995, 1999; Nakajima, Burke, 1996; Kimberly, Hardin, 1998). Из-за этого клетки принимают бутылкообразный вид, а вся пластинка становится, на срезах, веерообразной. Подобные изменения клетки претерпевают в ходе гастрюляции амфибий (Keller et al., 2003; Lee, Harland, 2007), а также при изгибании эпителиальных пластов, дающих начало разным органам позвоночных; там клетки называют еще грушевидными или клиновидными. Полагают, что апикальные отделы клеток сжимаются за счет сокращения кортикальных актомиозиновых колец.

Гипотез, объясняющих удлинение первичной кишки (второй этап) меньше. Согласно более старой это происходит за счет тянущих усилий псевдоподий (филоподий) вторичных мезенхимных клеток, связывающих верхушку архентерона с бластодермой анимального полюса (Dan, Okazaki, 1956). Эта идея встретила ряд возражений (Hardin, Cheng, 1986; Hardin, 1988). Было указано, что удлинение архентерона происходит при изначальном отсутствии филоподий или при их искусственном удалении. Кроме того, был приведен пример экзогастрюлы, когда использовать тянущую силу клеточных отростков никак нельзя. Позднее удлинение архентерона связали с изменением формы (удлинением по его оси и уплощением) и перегруппировкой клеток, составляющих стенку первичной кишки (Ettensohn, 1985a; Hardin, 1988, 1989). Авторы при этом ничего не сказали о причинах клеточных превращений. Между тем, впячивающийся архентерон встречает сопротивление жидкости бластоцеля, и нужно специально объяснить, как его стенки при этом не только удлиняются, но еще и уплощаются.

В 1902 году Rhumbler (см. Davidson et al., 1995) высказал мнение, что впячивание вегетативной пластинки происходит вследствие падения давления в бластоцеле. Эта идея не получила распространения, во многом из-за работы Moore, Burt (1939), где авторы показали, что извлеченная из зародыша вегетативная пластинка способна инвагинировать. 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). Данные Moore, Burt (1939), однако, не кажутся столь однозначными. Экспериментаторы вырезали пластинку на стадии ранней гастрюлы, когда впячивание уже сформировалось, и важным считали то, что ранний архентерон

не регрессирует, а продолжает расти. Более того, на представленном ими рисунке (Fig. 1) видно, что после изоляции вегетативной пластинки впячивание увеличивалось мало. Гораздо большие изменения претерпевали края пластинки, которые, разрастались, смыкались и восстанавливали замкнутую сферу; завершение гастрюляции происходило уже в ней. Ettensohn (1984), в отличие от Moore, Burt (1939), вырезал вегетативную пластинку до начала гастрюляции и тоже наблюдал образование архентерона. Однако единственная фотография, показывающая архентерон (Fig. 2), сделана автором на стадии свернутой вегетативной пластинки, когда она уже превратилась в замкнутую сферу. Из описаний не ясно, сформировалось ли впячивание до замыкания полости или после.

Безусловным выводом из рассмотренных экспериментов (Moore, Burt, 1939; Ettensohn, 1984) является то, что вегетативная пластинка способна разрастаться и свертываться в шар. Но ее способность давать настоящий архентерон, не превратившись в замкнутую полость, требует, на мой взгляд, дальнейшей проверки. Вместе с тем, никто не заметил, что другие опыты Moore, Burt (1939) свидетельствовали не против, а в пользу гипотезы Rhumbler. Удаляя осмотическим путем воду из ранней бластулы морского ежа, авторы добивались инвагинации ее стенки и получали в результате конструкцию, которую назвали ложной гастролой. Если воду удаляли из поздней бластулы, происходило ускорение нормального гастрюляционного процесса.

Odell et al. (1981), первые и единственные, обратили внимание на то, что жидкость бластоцеля в силу своей несжимаемости должна препятствовать инвагинации. Они предположили, что архентерон устраняет это препятствие, механически вытесняя жидкость бластулы наружу. Можно предположить еще, что давление инвагинирующего архентерона растягивает бластодерму, что должно вести к увеличению общего (бластоцель плюс архентерон) размера эмбриона. Имеющиеся на этот счет литературные данные противоречивы. Авторы, работавшие до тридцатых годов прошлого века, принимали, в основном, что эмбрион в ходе гастрюляции не увеличивается, и лишь Hörstadius имел иное мнение (см. Dan, Okazaki, 1956). Ettensohn (1984) наблюдал увеличение эмбрионов, но в другой статье (Ettensohn, 1985a) он констатировал, что объем не меняется. Dan, Okazaki (1956) говорили о постоянстве объема.

Оценивая приведенные размерные данные, надо иметь в виду, что увеличение объема целого эмбриона еще не означает, что бластоцель тоже увеличивается. Полный зародыш включает и архентерон, который лежит вне первичной полости тела и заполнен наружной жидкостью. Поэтому, если общий объем эмбриона сохраняет постоянство, бластоцель при росте первичной кишки однозначно уменьшается. Таким образом, приведенные выше размерные показатели свидетельствуют, скорее, в пользу ухода воды из бластоцеля во время гастрюляции. Но может ли это происходить за счет вытеснения ее архентероном, как думали Odell et al. (1981)? В принципе, давление способствует прохождению воды через мембраны. Хорошо известно, например, что вода постоянно покидает кровеносные капилляры, и происходит это благодаря высокому давлению в сосудах. Но в этом случае известен и механизм, создающий давление, – работа сердечной мышцы. Способна ли инвагинирующая вегетативная пластинка морского ежа выполнить подобную работу?

Схема Rhumbler, принимающая в качестве причины гастрюляции падение внутреннего давления, трудности такого рода снимает, и мы видели, что некоторые опыты Moore, Burt (1939) дали поддержку древней идее. Takata, Kominami (2001) и Kominami, Takata (2004) продвинулись в этом направлении еще дальше. Авторы обнаружили, что давление внутри эмбриона является довольно высоким на стадии бластулы и *понижается* до начала гастрюляции. Искусственное повышение давления в бластуле тормозило формирование архентерона, и авторы решили, что его понижение при нормальном развитии *облегчает* прогибание (впячивание) вегетативной пластинки. 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 (Kominami, Takata, 2004, текст, Fig. 2 и подпись к нему). Эти данные, кроме всего прочего, указывают на *колебательный* характер изменения давления внутри эмбриона. (С этим, кстати, могли быть связаны упомянутые выше разночтения авторов, проводивших измерения эмбрионов).

В пользу того, что именно давление жидкой массы определяет возникновение и рост архентерона, свидетельствуют 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, закрывают отверстие (создают замкнутую полость) и нажимают на надутую часть. Пальцы буквально выскакивают наружу. Механизм выворачивания пальцев перчатки понятен, и никаких иных механизмов для выворачивания архентерона при экзогастроляции не видно. Авторы так и описывали этот процесс – как *выталкивание* архентерона. Выталкивает, естественно, жидкость бластоцеля.

Еще до закрытия бластопора архентерон дает боковые выпячивания – *пузыревидные* целомические карманы. Для их развития тоже не видится иных причин, кроме давления жидкости, наполняющей полость первичной кишки и являющейся в это время еще частью наружной среды.

Таким образом, первое условие гидромеханической модели – падение внутреннего давления ниже внешнего – относительно гастроляции морского ежа получает довольно серьезное обоснование. Другое условие – локальное ослабление оболочки – здесь тоже соблюдается, даже “в двойном” виде. Во-первых, базальная мембрана, покрывающая внутреннюю поверхность гастролы, на стенках архентерона отсутствует (Ettensohn, 1984). Во-вторых, вегетативная пластинка, в отличие от других частей бластодермы, является плоской, что и отражено в ее названии; о значении кривизны поверхности в плане сопротивляемости давлению мы уже говорили.

Преимуществом гидромеханической модели является то, что она не требует деления процесса гастроляции морского ежа на разные этапы. Одного давления наружной жидкости вполне достаточно, чтобы провести инвагинацию архентерона от начала до конца, от изгибания вегетативной пластинки до достижения архентероном анимального полюса.

В моделях, предусматривающих активное изгибание вегетативной пластинки, большое внимание уделяют изменению ее клеток, которые при впячивании становятся бутылковидными. Считают, что клетки изменяют свою форму активно, но они могут делать это и пассивно. Клетки вегетативной пластинки являются вы-

сокими. Если представить, что пластинка прогнулась под давлением наружной жидкости, вершины клеток займут место в районе ее малой кривизны, а их основания – в районе большой. В таких условиях плотно упакованные клетки *должны* стать бутылковидными. Похожую операцию легко проделать на обычном столе с помощью каких-нибудь палочек, скрепленных на одном краю – при давлении на цепочку она изогнется, а свободные концы палочек разойдутся. Но природа подарила нам живой эксперимент, показывающий то же самое, хоть и в “обратном” виде. Эпителий бластулы актинии *Nematostella vectensis* сложен очень высокими клетками, занимающими около трети диаметра эмбриона, так что протяженность внутренней поверхности бластодермы (малой кривизны) и наружной (большой кривизны) сильно различаются. Апикальные отделы клеток бластодермы, лежащие в области большой кривизны, оказываются расширенными, а целые клетки – клиновидными (wedge shaped) (Kraus, Technau, 2006). Таким образом, изменение формы клеток, превращение их в бутылковидные вполне может быть не причиной изгибания вегетативной пластинки, а, напротив, его следствием.

Из фактов, касающихся гастрюляции амфибий, отмечу лишь безусловное и значительное уменьшение объема бластоцеля, что легко видеть на рисунках в соответствующих учебниках. Каким образом жидкость покидает полость тело? Вытесняется инвагинирующим архентероном? В этом плане еще более впечатляет ланцетник, эмбрион которого при гастрюляции превращается в двухслойную чашу, *почти лишенную полости*. По образному выражению Карлсона (1983), фигуру, подобную чашевидной гастрюле ланцетника, можно получить, надавив пальцем на проколотый резиновый мячик. Бластула ланцетника (и никакая другая) дырявым мячиком не является, и трудно поверить, что ее эпителий может развить силу, способную вытеснить из бластоцеля почти все его содержимое. Примечательно, кстати, что для создания простой и понятной картины инвагинации Карлсон использовал *эффект наружного давления*. В природе давящая наружная масса всегда “на месте”, надо только дать ей возможность себя проявить, т.е. уменьшить давление в бластоцеле. Чтобы наружная масса могла проявлять себя избирательно (локально) бластодерма должна быть механически гетерогенной. Про давление в бластуре ланцетника ничего не известно, а возможная причина локального ослабления бластодермы нам зна-

кома. Впячивание происходит там, где высокие клетки бластодермы формируют пластинку.

Наружные впячивания у эмбрионов и личинок позвоночных

Путем впячивания в первичную полость тела ранних эмбрионов формируются, как известно, зачатки центральной нервной системы, внутреннего уха, органов обоняния, хрусталика. Значительно позднее таким же образом закладываются кожные железы. 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, 1985б; 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).

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), апикальные сократительные кольца скорее стабилизируют форму клеток, чем меняют ее. Напомню, что сама способность клеточного кортекса производить сокращения далеко не очевидна.

После этого краткого обзора обратимся, привычно, к гидромеханической модели. Начну с того, что уже сам вид многих эктодермальных впячиваний наводит на мысль, что они развиваются под давлением наружной жидкости. Все инвагинации имеют вполне округлую форму, за что и получили названия, скажем, обонятельных мешков или слуховых пузырьков. Кожные железы амфибий остаются сферическими на всю жизнь.

Первое условие, предусмотренное гидромеханической моделью – падение внутреннего давления – пока не имеет сильной поддержки. Прямые данные о том, что давление в первичной полости эмбрионов (личинок) уменьшается в ходе онтогенеза (как в случае с гастрულიей морского ежа), мне не известны. О том, что такое бывает, можно судить по сокращению объема тела. Первый пример – это хорошо известный феномен уменьшения тела личинок амфибий в ходе метаморфоза. При этом могут уменьшаться и его отдельные части, что очень ярко демонстрирует, скажем, лежащая под позвоночником хорда жерлянки (*Anura*) (Борхвардт, 1982, рис. 17б,в). Второй пример – это заметное уменьшение поперечного сечения хвостового отдела у эмбрионов рыб и земноводных, происходящее в то время, когда рыхлая мезодерма упаковывается в плотные сомиты (Борхвардт, 1991б).

Относительно другой составляющей гидромеханической модели – локального ослабления оболочки – данных значительно больше. Базальная мембрана отсутствует в закладках обонятельных мешков *Ambystoma* (Balinsky, 1957) и интенсивно разрушается при инвагинации эпителиального слоя, формирующего кожные железы амфибий (собственные наблюдения). Последний факт особенно интересен, так как разрушение базальной мембраны и закладка желез (впячивание эпителия) происходят в ходе метаморфоза и совпадают по времени с уменьшением давления внутри первичной полости тела. Если случаев разрушения базальной мембраны известно пока немного, то другое структурное изменение, ослабляющее оболочку, иллюстрируется большим числом примеров. Подобно архентерону морского ежа и ланцетника, нервная трубка, обонятельные мешки, слуховые пузырьки и хрусталики у *всех* позвоночных закладываются как впячивания относительно плоских участков эктодермы, сложенных высокими клетками. Эти участки имеют и соответствующие названия. Зачаток нервной трубки именуют нервной пластин-

кой, а зачатки других органов – плакодами. Термин “плакода” происходит от греческого слова, означающего “плоскость”, “пластинка”.

Удивительное конструктивное сходство с пыльцевыми трубками или грибными гифами демонстрируют развивающиеся канальцы млечных желез мыши (см. Williams, Daniel, 1983). Растущие апикальные отделы канальцев увенчаны овальными концевыми почками (end buds); зону, переходную к трубчатому канальцу, авторы именуют шейкой (neck region). Верхушечные эпителиальные клетки (cap cells) активно размножаются. Покрывающая их базальная пластинка (basal lamina) на порядок тоньше, чем в области шейки. Кроме того, стенка шейки усилена слоем соединительной ткани, которого нет на самой верхушке.

СТЯЖКИ

Выпячивания и впячивания, возникающие за счет давления на оболочку пластической массы, должны “стремиться” к округлой форме и часто действительно ее приобретают. Но так бывает не всегда, при этом у эмбрионов (личинок) позвоночных животных наблюдается определенная 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 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 могли бы их скреплять. Показательно, что на переднем конце спинной плавниковой складки головастика жабы, где таких волокон обнаружено не было, складка сильно разбухла (Борхвардт, 2000). Следующий пример не менее выразителен. Волокна, видимые на рисунке 4Д, расположены 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). Это сравнение показывает, как будто, что коллагеновые волокна, связывающие противоположные стенки плавниковых складок, действительно ограничивают их расхождение и таким способом влияют на форму этих частей тела. То же самое происходит и с целым телом.

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 противоположные 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 мезодермы и цельных сомитов волокна размещаются равномерно (рис. 5А), и в это время их механическое действие обнаружить трудно. После распада сомитов и образования миомеров волокна концентрируются (остаются) в районе поперечных миомерт, 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, 1986; 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 волокон эктодерма образует продольные углубления (рис. 3Г).

Волокна и клетки, скрепляющие противоположные стенки полостей и препятствующие их расхождению, были ранее названы стяжками (Борхвардт, 2000). Роль стяжек, конечно, пассивная – она проявляется только в процессе расширения внутренней массы и вызванного им центробежного смещения оболочки. Стяжки нарушают плавное расширение ядра и препятствуют формированию правильных округлых тел; уплощенные плавники рыб дают этому хороший пример. Кишка и ее дериваты, кровеносные сосуды, почечные ка-

нальцы, нервная трубка, зачатки органов чувств заполнены не мезенхимой, а жидкостью. 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. Примером может быть их роль в разрушении эпителиальных стенок сомитов, причины которого до сих пор не ясны (см. Balling et al., 1996). Смещаясь центробежно, эктодерма тянет за собой сомиты, связанные с ней стяжками (см. рис. 5А). Поскольку сомиты закреплены также на осевых органах (хорда на рисунке 5), возникают силы, которые 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, что эктодерма с помощью стяжек буквально вырывает их оттуда.

Элементы подобные стяжкам тела позвоночных существуют и в клетках, но о них удобнее сказать в другом месте.

ЛОКОМОЦИЯ И ФОРМИРОВАНИЕ ПСЕВДОПОДИЙ АМЕБ

В литературе, посвященной жизни клеток, амебой часто называют слизевика *Dictyostelium*. В этой главе речь пойдет о “настоящих” амebaх, простейших из группы Sarcodina. Создав этих протистов, природа провела очень удачный, для нас, эксперимент, расшифровка которого позволяет заметно продвинуться в понимании закономерностей клеточных превращений. Именно поэтому обсуждение преобразований амeb выделено в особую главу.

Амебы обладают по крайней мере двумя уникальными особенностями. Во-первых, в их эндоплазме нет актиновых филаментов, способных толкать плазмолемму при движении клетки или росте псевдоподий. Согласно общему мнению, эту роль выполняет эндоплазма. Иными словами, здесь точно известно, каким образом механические усилия передаются на клеточную мембрану и выпячивают ее. Во-вторых, у ряда амeb, в частности у *A. proteus*, при движении или росте псевдоподий наблюдается мощный ток эндоплазмы, направленный от заднего края (от уроида) к переднему или к

вершине псевдоподий. За счет интенсивного эндоцитоза (пиноцитоза) участки хвостовой плазмалеммы попадают внутрь клетки. Током эндоплазмы этот материал транспортируется к выпячивающимся краям, где используется на построение новой оболочки (Stockem, Кюроска, 1988). Таким образом, цитоплазматический ток играет ключевую роль в движении амёб и росте их псевдоподий, осуществляя механическое воздействие на плазмалемму и доставку строительного материала. Не случайно авторы, изучавшие локомоцию амёбы, "...concentrated mainly on the mechanisms generating and controlling the endoplasm stream." (Grębecki, 1984, p.116).

Тут приходится посетовать на то, что высказывания авторов об эндоплазматическом (цитоплазматическом) токе, описываемом у разных клеток, не являются достаточно строгими. Цитоплазмой принято называть всю внутреннюю массу клетки, кроме ядра. В нее входят жидкий цитозоль, органеллы и разного рода частицы. Видеть движение цитозоля мы не можем, мы регистрируем только перемещение относительно крупных тел (частиц). Согласно современным представлениям, эти тела перемещаются по клетке за счет работы молекулярных моторов, которые активно двигаются вдоль микротрубочек или вдоль актиновых филаментов. Читая о плазматическом токе, как правило не знаешь, имеют ли авторы в виду и движение цитозоля. Такое слово вообще редко встречается в описаниях. В эндоплазме амёбы нет микротрубочек и пучков актиновых филаментов, и потому она представляет тот счастливый случай, когда можно точно знать, что цитозоль (жидкость) течет вдоль клетки и именно он переносит все вещества.

Казалось бы, амёба легко раскрывает секреты, выставляя напоказ свою внутреннюю жизнь. Эта "прозрачность", однако, является обманчивой. По словам Allen (1961, p. 212), "There are very few biological 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 амёбы и формирования ее псевдоподий. Mast принимал, что покоящаяся амёба находится в тургор-

ном 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.” (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 гидромеханическую модель. Вернее, она повторяет ее в нашем тексте, а в истории науки была, может быть, первой. Эта схема сохранила значение до наших дней, получив дополнения и уточнения. Теперь думают, что ослабление эвагинирующей оболочки происходит в результате разрушения кортекса или отслоения от него плазмалеммы (Stockem, Кјороска, 1988; Grębecki, 1990). Стало известно, также, что кортекс движущейся амебы периодически разрушается не только на переднем конце, но и на заднем (Stockem, Кјороска, 1988). Но природа цитоплазматического тока во многом остается загадочной. Большинство вслед за Mast считает, что цитозоль перемещается вперед сокращением кортикального слоя хвостового отдела. На сокращение уроида указывает, как полагают, его морщинистость у движущейся амебы (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). Все-таки главным основанием думать, что сокращение происходит именно в хвостовой части, являет-

ся, наверное, убеждение, что только так можно объяснить, почему эндоплазма течет от заднего конца к переднему. Такая посылка не кажется верной.

Что будет толкать уроид при своем сокращении? Он будет толкать *столб* цитоплазмы. При этом наблюдатель увидит движение переднего и заднего края внутренней масса, увидит перемещение всей клетки, но тока цитоплазмы не увидит. Но мы его видим! Почему? Потому, что эндоплазма движется *быстрее*, чем вся клетка, чем ее задний и передний края. Однако в замкнутом пространстве жидкость не может течь в одном направлении – она может только циркулировать. Действительно, существует мнение, что в то время, как центральная часть цитоплазмы (эндоплазма) течет вперед, ее периферический слой (эктоплазма) течет назад; это явление получило название “фонтанного” движения (fountain streaming) (Stockem, Кюроска, 1988). Я сознательно сказал “мнение”, а не наблюдение. Mast (1926), например, видел обратное движение 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 смещение наружного слоя. Если движение эндоплазмы вперед выглядит как мощный поток, то смещение эктоплазмы в лучшем случае распознается лишь с применением специальных методик (см., например, Grębecki, 1984).

Совсем недавно Rogers et al. (2008) подтвердили наличие циркуляции цитоплазмы в псевдоподиях (лобоподиях) *A. proteus* и назвали причину существования обратного тока. “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 уроиду. А куда девается жидкость (цитозоль), притекающая к переднему краю? Ее тоже *тянет* назад сокращающийся кортекс? По моему мнению, жидкость возвращаться к заднему концу вообще *не может*. Вернее, не может у амебы, движущейся за счет сокращения хвостового отдела, поскольку *не может* течь в зону более высокого давления. Актинмиозин лежит сразу под клеточной мембраной, и его сокращение должно толкать вперед *всю* цитоплазму.

В отличие от большинства авторов, Allen (1961) полагал, что сокращение происходит не в заднем, а в переднем отделе амебы, и силы, действующие на эндоплазму, не толкают, а тянут ее вперед. Не обсуждая эту идею саму по себе, замечу, что она объясняет, по существу, лишь происхождение эндоплазматического тока, но не локомоцию амебы.

Мне решение загадки эндоплазматического тока видится так: амеба *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 амеба (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 амебы будет выглядеть следующим образом.

В цикле есть две чередующиеся фазы. В первой (рис. 6Б, Б₁) вода входит в клетку на ее заднем конце, увеличивает объем цитоплазмы и делает внутреннее давление выше наружного. Эктоплазма уроида насыщается водой, разжижается и “превращается” в эндоплазму. Одновременно кортекс переднего края разрушается, эндоплазма проталкивает ослабленную 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, 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 падает относительно внешнего. Обезвоженная апикальная эндоплазма густеет и “превращается” в эктоплазму. Кортекс уроида разрушается, оболочка здесь ослабевает, и наружная вода сжимает задний отдел – 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 амeбы (что все и видят).

Решая проблему движения эндоплазмы, “проточная” модель одновременно показывает, как внутреннее давление меняется без всякого кортикального сокращения и как движутся передний и задний концы клетки. Модель предполагает, что амeba при движении периодически меняет размеры (длину), и такие колебания действительно обнаружены у разных движущихся клеток, в частности у *Amoeba proteus* (Sato et al., 1985). Морщинистость уроида подвижной амeбы обычно рассматривают как результат сокращения кортекса (Mast, 1926; Wehland et al., 1979). Не очень понятно как должен сокращаться кортекс, чтобы вызвать сморщивание мембраны. Зато вполне понятно как это происходит при сжатии клеток в гипертоническом растворе (см. Mast, Hopkins, 1941; Bereiter-Nahn, Strohmeier, 1987; Dai et al., 1998) и, главное, понятно, почему происходит. Мы знаем, также, что кортекс уроида периодически разрушается, т.е. его оболочка периодически ослабляется. При падении внутреннего давления именно она в первую очередь должна деформироваться давлением наружной воды. Таким образом, углубления на конце движущейся амeбы или на верхушке ретрак-

тирующей псевдоподии (Cameron et al., 2007) могут быть интерпретированы как впячивания наружной жидкости.

Кроме довольно хорошо видимых вдавлений, поверхность уроида движущейся амебы несет микроскопические 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 каналцы (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. Все вместе эти впячивания “съедают” понемногу хвостовую часть клетки и таким способом “двигают” ее задний край вперед. Описывая движение амебы, можно говорить, что она *растет* на переднем конце и *редуцируется* на заднем.

МЕХАНИКА НЕМЫШЕЧНЫХ БЕССТЕНОЧНЫХ КЛЕТОК

В проведенном выше обсуждении впячиваний и выпячиваний бесстеночных клеток некоторые вопросы остались открытыми. Это касается прежде всего формы отростков, которая наряду с “понятной” пузыревидной нередко бывает цилиндрической или плоской. Теперь, имея в арсенале больше фактов и идей, можно вернуться к старым проблемам и обсудить новые.

Развитие отростков

Среди отростков бесстеночных клеток пузыревидные выпячивания, по общему признанию, формируются под давлением цитозоля. Принять такую же точку зрения в отношении других отростков – тонких филоподий и особенно листовидных ламеллиподий – во многом мешает их внешний вид. Гидромеханическая модель признает, что форма отростка во многом определяется соотношением прочности оболочки на его вершине и боках. Такой подход позволяет объяснить создание цилиндрической формы у отростков *Dictyostelium*,

чи боковые стенки по мере удлинения укрепляются актиновым кортексом (см. выше Yoshida, Inouye, 2001). Кроме того, мы знакомимся с мнением авторов, полагающих, что форму микроворсинок и акросомальных отростков поддерживают центральные пучки актиновых филаментов. Теперь можно более предметно судить о том, как они это делают.

В микроворсинках клеток кишечного эпителия центральные пучки актиновых филаментов имеют поперечные связи с плазмалеммой (Mooseker, Tilney, 1975; Matsudaira, Burgess, 1979; Hirokawa, Heuser, 1981; Burgess, Prum, 1982). То же самое наблюдали в нейритах, где в состав центрального осевого комплекса, кроме актиновых филаментов, входят и микротрубочки (Yamada et al., 1970, 1971; Hirokawa, 1982; Schnapp, Reese, 1982); в теле нейрона филаменты располагаются беспорядочно, поперечных соединений меньше (Hirokawa et al., 1984). Авторы называют связующие элементы поперечными мостиками (cross-bridges), мы же теперь можем именовать их стяжками. О том, что стяжки действительно выполняют механическую функцию, наглядно свидетельствуют параллельно происходящие изменения внешнего вида растущего нейрона и содержащегося в нем цитоскелета (см. Jacobs, Stevens, 1986). Тело нейрона не продуцирует стяжек (поперечных мостиков) и сохраняет округлую форму; его молодые отростки, которые еще не развили строго организованного цитоскелета, демонстрируют 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 стяжкам, 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 (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, большая их часть была обращена к верхушке оперенными концами. Другие, короткие, филаменты располагались косо между верхней и нижней плазмалем-

мой и имели разную полярность. “The shorter meshwork filaments may act as scaffolding, maintaining the volume of the lamellipodia.” (Lewis, Bridgman, 1992, p. 1241). В ламеллиподиях эпидермальных клеток *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 (стяжкам) соответствуют, по-видимому, вертикальные черточки, изображенные на схематическом рисунке (Bereiter-Hahn et al., 1981, Fig. 27a).

Итак, можно думать, что конструктивные особенности клеточных отростков – гетерогенность оболочки и наличие стяжек – вполне позволяют им под равномерным давлением цитозоля принимать *любые* формы (пузырчатые, цилиндрические, плоские...). Теперь на очереди другой вопрос: “Как это давление поднимается?” Относительно растущих клеток, например, нейрона ответ прост. Получая воду и строительные материалы извне, нейрон увеличивает внутреннюю массу и, соответственно, давление этой массы на оболочку. А как быть с не растущими клетками? Есть мнение, что давление внутри них повышается сжатием кортекса. Аргументом служит то, что у мутантных особей *Dictyostelium*, лишенных миозина, выпячивания не образуются (Yoshida, Inouye, 2001). Вместе с тем Yoshida, Inouye (2001) наблюдали появление крупных пузырей у нормальных клеток, обработанных цитохалазином А. Такая обработка ликвидирует филаментозный актин, и не понятно, как без него миозин может работать. Авторы это не обсудили. В другом исследовании было показано как разные выпячивания, в том числе пузырьвидные, формировались у клеток мутантных *Dictyostelium*, лишенных миозиновых нитей (Fukui et al, 1990). На этом основании авторы сделали вывод, что для развития отростков силы, генерируемые миозином, не нужны.

В отношении не растущих клеток обсуждают и другой способ повышения внутреннего давления – путем увеличения объема цитоплазмы за счет ввода воды. В схеме, представленной Papadopoulos et al. (2008, Fig. 4b), выпячиванию переднего края движущейся клетки предшествует вхождение внутрь ионов, а также деполимеризация актина, что повышает осмотическую концентрацию цитозоля. По создавшемуся градиенту в клетку устремляется наружная вода, передний отдел разбухает и выпячивается. Этот механизм действует особенно эффективно при активизации аквапоринов (Verkman, 2005, Fig. 4B; Verkman et al., 2006). (Авторы не принимали во внимание, что давление от входящей воды должно распространяться одинаково во всех направлениях, и плазмалемма выпятится не там, где поступила вода, а там, где она слабее).

Против того, что рост выпячиваний происходит за счет входа в клетку воды и увеличения ее объема, свидетельствуют, как будто, прямые наблюдения. Клетки, дающие выпячивания, не меняют размеры – параллельно с увеличением отростков тело клетки уменьшается (Tickle, Trinkaus, 1977; Charras et al., 2005). При развитии крупных отростков у *Dictyostelium*, подвергавшихся воздействию хинина, тело клетки могло совсем исчезнуть, весь цитозоль “переливался” в отросток (Yoshida, Inouye, 2001, Fig. 11). О постоянстве объема клетки говорили и Langridge, Kay (2006), тоже работавшие с *Dictyostelium*. Вместе с тем, на представленных ими графиках (Fig. 3) видно, что объем постоянным не был – он слабо колебался. Можно предположить, как это было сделано ранее в отношении инвагинаций и локомоции амебы, что периоды входа воды в клетку сменяются периодами ее выхода. Отростки увеличиваются во время входа, а во время выхода происходит уменьшение тела клетки. Процесс отслоения актинового кортекса от апикальной плазмалеммы отростков *Dictyostelium* тоже может быть колебательным (Yoshida, Inouye, 2001).

Локомоция

Движущаяся клетка производит несколько механических операций. Обсуждение одной из них – выпячивания переднего края – мы уже завершили. Теперь, не выпуская из вида целой клетки, уделим особое внимание перемещению ее тела и хвоста.

Хотя перемещению тела клетки уделяли меньше внимания, чем выпячиванию переднего края, разнообразия во взглядах здесь, пожалуй, 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." Сами авторы считали, что "...F-actin flows rearward in the posterior cell body of migrating *Dictyostelium* amoebae... this flow is responsible for the generation of traction forces for cell migration..." (Fukui et al. (1999, p. 885). По мнению Bretcher (1988, p. 235), "...there exists a continual flow of plasma membrane from the front of the cell towards the rear, both on the dorsal and ventral cell surfaces. It is this flow which pushes on those feet attached to the substrate and thereby produces the force to move the cell forwards." Пояняя свою модель, автор сравнил клетку с танком. На основе опытов, 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. Iwadata, 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.

Чаще всего движение тела клетки связывают с сократительными действиями (см. Conti, Adelstein, 2008, Fig. 2B). В понимании того, как и где это происходит, единства нет. "The cell body is dragged in the direction of locomotion by the fibrils emanating from the basal filament cortex to the upper membrane of the lamella." Bereiter-Hahn et al. (1981, p. 303). Svitkina et al. (1997), изучавшие локомоцию кератоцитов, полагали, что тело клетки двигается 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; Iwadata, Yumura, 2008).

Весомым аргументом в пользу идеи сокращения считают замедление движения клетки или ретракции ее псевдоподий у му-

тантных *Dictyostelium*, лишенных миозина (Jay et al., 1995; Iwadate, 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). (У *Dictyostelium* и нейтрофилов, кстати, отсутствуют стресс-волокна, единственные актомиозиновые комплексы немышечных клеток, сокращение которых наблюдали *in vitro* – см. выше). Таким образом, тело клетки *может* двигаться и *двигается* без участия сократительных актомиозиновых комплексов. Более того, 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 IIb null fibroblasts were not only capable of migration but also migrated at a higher raw speed than did control cells."

Особняком среди животных клеток стоят сперматозоиды нематод, у которых практически отсутствуют как актин, так и миозин (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.

Начиная раздел, мы выделили в двигательном цикле клетки несколько операций, но собирались не упустить из вида клетку как целое. Для понимания механизма движения заднего отдела это особенно важно. Дело в том, что выпячивание переднего края клетки приводит к ее удлинению. Между тем движущиеся клетки, в отличие от растущих, в целом размеры сохраняют, и потому параллельно с удлинением клетка должна укорачиваться. То есть должна не просто двигать задний отдел, подтягивать его вслед за передним, а именно *укорачиваться*. Попеременное удлинение и укорочение действительно наблюдали у движущихся клеток эндотелия (Kolega, 2006).

Теоретически можно представить себе несколько способов укорочения. 1) Силы, выпячивающие передний край, растягивают боковую плазмалемму (как резину), а потом она сокращается (как резина). Подобный механизм Chen (1981a) предложил для ретракции хвоста фибробластов. Однако если передняя часть клетки надстраивается (Bergmann et al., 1983; Bretscher, 1983), растягивания боковой плазмалеммы быть не должно. 2) Задний край подтягивается (за счет неизвестных сократительных действий), при этом боковая плазмалемма “сморщивается”. Chen (1981a,б) действительно видел складки мембраны в задней части фибробластов и считал, что они расправляются при выпячивании переднего отдела клетки. Наличие такого “запаса” было представлено как необходимое условие выпячивания. Однако на фотографиях (Chen, 1981a, Fig. 9 C-E) видны просто ямки (впячивания), иногда с поднятыми краями. 3) Задний край сжимается за счет сокращения кортекса, как это принято многими в отношении амебы (см. выше), а также в отношении ретракции всякого рода отростков (Cunningham, 1995; Merkel et al., 2000; Vaas, Ahmad, 2001; Yoshida, Inouye, 2001; Gallo et al., 2002; Charras et al., 2006). Второй и третий варианты предполагают сокращение кортекса, но, как мы знаем, никаких веских аргументов в пользу существования у немышечных клеток таких способностей до сих пор не приведено. 4) Задний край впячивается, как это предусматривает схема локомоции амебы (рис. 6). Именно этот механизм я собираюсь предложить теперь для *всех* движущихся клеток.

Проточная модель, описывающая механизм локомоции амебы, предусматривает, в частности, такие действия: 1) колебание внутреннего давления (объема) вследствие попеременного входа и выхода воды и 2) впячивание хвостовой плазмалеммы вследствие па-

дения внутреннего давления и одновременного ослабления там оболочки. Похожие мысли высказывались в отношении движущихся животных клеток, хотя конкретные схемы были разными. Paradoroulos et al. (2008) считали, что вода выходит из клетки там же, где и входит (спереди), а в схемах Lang et al. (1998) и Schwab (2001) вода входит в клетку спереди, а покидает ее через заднюю мембрану, вслед за уходящими ионами. При этом Schwab (2001, p. 741), судя по всему, рассматривал выпячивание переднего отдела клетки и ретракцию заднего как явления одного порядка: “If retraction of the rear part of migrating cells involves local cell shrinkage, one might anticipate that local cell swelling at the front contributes to the protrusion of the lamellipodium.” Согласно модели Schneider et al. (2000) уход ионов калия из задней части клетки приводит к потере воды хвостовым отделом и его сжатию; изменения носят *колебательный* характер. Это мнение было обосновано конкретными наблюдениями над клетками почечного эпителия. О роли внутреннего давления в продвижении заднего края мигрирующей клетки говорили Yoshida, Soldati (2006, Fig. 8, подпись): “The decrease in cytoplasmic pressure allows the opposite [задний – ВГ] end of the cell to retract resulting in net centroid translocation.”

В отношении амебы мною было принято, что ее задний конец редуцируется (“съедается”) за счет развития мелких и мельчайших выпячиваний. Ямки и морщины были описаны также на хвосте фибробластов (Chen, 1981a, Fig. 9 C-E), на вершине искусственно созданных, а потом втягивающихся отростков *Dictyostelium* (Merkel et al., 2000), на спадающихся пузырях (Cunningham, 1995; Charras et al., 2006). Как и в других подобных случаях, думают, что углубления появляются в результате сокращения кортекса, но не объясняют, как именно он должен сокращаться, чтобы их создать. Для проверки этой гипотезы природа провела простой эксперимент. На теле (но не на псевдоподии) сперматозоидов *Ascaris* возникают многочисленные ямки (Sepsenwol et al., 1989), но в этих клетках нет актиновых и миозиновых филаментов, необходимых для создания сократительных комплексов. Если сокращение кортекса здесь исключается, остается единственная причина появления ямок, а именно выпячивание наружной массы при падении внутреннего давления, т.е. так, как это было принято выше для самых разных инвагинаций (рис. 2B). В этот список вполне могут попасть и все другие выпячи-

вания, развивающиеся на втягивающихся частях клеток и постепенно “съедающие” их. Действительно, Tosney, Wessells (1983) обнаружили в ретрагирующих отделах конуса роста нейритов пузырьки, которые, по их мнению, содержали “...internalized remnants of veils or of the microspikes...” (р. 408).

Как и все прочие схемы, новая модель, сформулированная сначала для объяснения механизма локомоции амёбы (рис. 6) и перенесенная теперь на другие клетки, не имеет абсолютных доказательств. Но она не встречает, как будто, и непреодолимых препятствий. Важно, что в отличие от прочих схем, модель предлагает по существу единый механизм для движения как заднего, так и переднего отделов клетки, т.е. клетки как целого.

Внутриклеточный транспорт

Проблема внутриклеточного транспорта не имеет прямого отношения к теме изложения, но поскольку нам приходилось ее затрагивать, теперь стоит специально уделить этому вопросу некоторое внимание.

В настоящее время преобладает мнение, что различные частицы, “...as large as nuclei and as small as RNA molecules.” (Pollard, 2003, р. 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 редко, но они, тем не менее, есть.

Не вызывает сомнений, что по телу амёбы включения перемещаются током цитозоля. 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. Mitchison, Kirschner (1988), говоря о движении актиновых мономеров к верхушке конуса роста, применили слово “diffuse”. Zicha et al. (2003) рассчитали, что скорость поступления глобулярного актина в выросты переднего края 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.

В пузырчатых 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. Вполне вероятно, что таким же путем (а не диффузией) следуют к мембране пузырей актиновые мономеры, которые создают первоначально почти отсутствующие там филаменты. У некоторых мутантных *Saccharomyces* (дрожжи) нет пучков актиновых филаментов, необходимых для движения молекулярных моторов, но это не влияет на перемещение митохондрий (см. Yaffe, 1999). Общепринято, что секреторные (экзоцитозные) пузырьки, доставляющие строительный материал к растущей верхушке стеночных клеток, переносятся молекулярными моторами (Fischer-Parton et al., 2000; Vidali, Hepler, 2001; Taheri-Talesh et al., 2008; Cai, Cresti, 2009). Но так же единодушно все указывают, что актиновые филаменты в субапикальной зоне практически отсутствуют; протяженность свободной зоны в пыльцевой трубке *Lilium*, например, достигает 20 μm (Miller et al., 1996). Это вызвало 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 (extreme) переднем крае. Кроме того, эндоцитозные пузырьки и по данным Zonia, Munnik (2008) двигаются внутрь трубки от самого переднего края.

Таким образом, ток цитозоля безусловно является одним из способов перемещения частиц внутри клеток. Как создается этот ток? Обычно думают, что цитоплазму двигает сокращение кортекса, но есть большие сомнения в том, что такое сокращение вообще бывает. Предложенная альтернативная модель – “проточная” (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 “специализи-

рованные” токи цитозоля и с их помощью “целенаправленно” перемещать частицы. Интенсифицировать 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

Теория мышечного сокращения разрабатывалась главным образом на примере поперечнополосатого мускульного волокна, которое показывает очень строгую внутреннюю организацию. Сократительной единицей здесь является саркомер, представляющий собой трехмерную решетку, составленную толстыми миозиновыми и тонкими актиновыми филаментами. Переднюю и заднюю стенки саркомера образуют плотные Z-диски, на которых крепятся актиновые волокна соседних саркомеров.

Сократительный процесс уже давно связывали с актином и миозином – основными белками мышц. Первоначально полагали, что укорачиваются сами миофиламенты. Возникшая в середине прошлого века модель скользящих нитей постулировала, что сокращение есть результат взаимодействия актиновых и миозиновых филаментов, которые при работе мышцы своей длины не меняют. 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. Изгибание поперечных мостиков происходит за счет конформационных изменений миозиновых головок, связанных с фосфорилированием АДФ и дефосфорилированием АТФ (Rayment et al., 1993a,б).

Модель скользящих нитей (поперечных мостиков) 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. Все время предлагают разные варианты действия миозиновых моторов (Harrington, 1979; Baños et al., 1996; Houdusse, Sweeney, 2001; Tesi et al., 2002; Masuda, 2003; Lampinen, Noponen, 2005) и даже подвергают сомнению справедливость всей модели (Schutt, Lindberg, 1992; Martin-Fernandez et al., 1994). Сетования на несовершенство знаний о природе мышечного сокращения не прекращаются: “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. 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 happened with the disproof of the lactic acid theory and the discovery of sliding filaments.” Именно “*totally unexpected*” я и попробую изложить далее.

Каковы бы не были успехи концепции поперечных мостиков, абсолютных доказательств она не имеет и до сих пор остается гипотезой. Факты, положенные в основание модели, – движение миофиламентов относительно друг друга, зависимость величины развиваемой силы от степени перекрытия нитей, наличие поперечных мостиков, изменение угла их наклона – свидетельствуют лишь о том, что механизм поперечных мостиков *мог бы* действовать, но не о том, что он реально действует. Модель скользящих нитей находит, по существу, лишь один действительно серьезный аргумент в

свою пользу. В условиях эксперимента было показано, 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 рабочий ход только в одном направлении, тогда как в опытах они двигаются и в обратном (Guilford et al., 1997; Yanagida et al., 2000). Отсюда допускают (Yanagida et al., 2000), что перемещение миозина *in vitro* есть всего лишь броуновское движение.

Идею поперечных мостиков лучше всего могли бы поддержать примеры моторов, где постулированный способ превращения химической энергии в механическую точно установлен. Увы, таких аналогий нет. Известные моторы, а именно промышленные двигатели, работают совсем иначе. В поршневых моторах – паровой машине, двигателе внутреннего сгорания – рабочий ход поршня совершается за счет разницы внутреннего (в закрытой камере) и наружного (атмосферного) давлений. Разница давлений определяет движение масс и во многих других случаях. Высокое давление выбрасывает снаряды из стволов орудий, лаву вулканов, воду и пар гейзеров. Ветры и морские течения в большой степени определяются 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 вписываются и все рассмотренные выше живые полостные тела – немышечные клетки, многоклеточные организмы, органеллы и органы. Поперечнополосатое волокно, работающее по законам теории скользящих нитей, из нее выпадает.

Модель скользящих нитей, разработанная на базе поперечнополосатых мышц, была перенесена на гладкие мышцы, но основной для этого совсем мало. Настоящего скольжения нитей в гладких мышечных клетках никто не наблюдал. Никто не наблюдал и закономерного продольного смещения так называемых плотных тел – предполагаемых аналогов Z-дисков поперечнополосатых мышц. Миофиламенты гладких мышц не показывают правильного расположения (Tyreman, Molloy, 2003), к тому же актиновые (Gunst,

Fredberg, 2003), а, возможно, и миозиновые (Seow et al., 2000) нити нестабильны – они частично деполимеризуются во время релаксации клетки и полимеризуются (восстанавливаются) при ее активации. Относительную протяженность миозиновых и актиновых филаментов, характер размещения и способ работы поперечных мостиков оценивают по-разному (см. Kargacin et al., 1989; Small et al., 1990; Xu et al., 1996; Herrera et al., 2005). Обсуждая организацию сократительного аппарата гладких мышц, некоторые авторы признают, что “The intracellular organization of contractile filaments... is still poorly understood.” (Kuo, Seow, 2004, p. 1503), что “...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).

Среди структурных и функциональных различий гладких и поперечнополосатых мышц некоторые привлекают особое внимание. Гладкая мускульная клетка содержит относительно намного меньше миозина и, соответственно, поперечных мостиков (молекулярных моторов), чем поперечнополосатое волокно (Иванов, 1950; Murphy et al., 1974; Dillon, Murphy, 1982; Warshaw et al., 1987). Несмотря на это гладкая мышца развивает, на единицу поперечного 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). Однако чаще феномен объясняют тем, что поперечные мостики гладких мышечных клеток дольше сохраняют “рабочую” связь с актиновыми 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 в норме укорачиваются на 25-60 процентов, поперечнополосатые мышцы насекомых – значительно меньше (Edwards et al., 1956). Гладкие мускульные клетки позвоночных животных укорачиваются в четыре (вычислено 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).

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) удивления не вызывает. В то же время поведение гладких мускульных клеток, как мы сейчас увидим, вполне согласуется с постулатами гидромеханической модели.

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. Было высказано мнение (Kargacin, Fay, 1987), что при сокращении актомиозинового комплекса вода из клетки вытесняется. 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 еще одного эксперимента. При изометрическом сокращении гладких мускульных клеток происходило уменьшение их поперечного сечения (Gillis et al., 1988), а, значит, объема и водного содержания. Однако сокращение актомиозинового комплекса не могло быть этому причиной, так как, по словам авторов, миофиламенты тянулись вдоль, а не поперек клетки. Остается признать, что сокращающиеся гладкие мышечные клетки уменьшают объем за счет *активного* выведения воды осмотическим путем.

Расслабляясь после сокращения, гладкие мышечные клетки удлиняются и возвращают прежнюю форму. 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, т.к. 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. Единственно справедливым представляется мнение (Kargacin, Fay, 1987), что удлинение гладкой мускульной клетки при релаксации происходит за счет осмотического ввода воды.

Итак, практически не вызывает сомнений, что, сокращаясь и расслабляясь, 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 или удлинения своего тела (об изменении толщины клетки см. ниже). По сути такой же механизм был принят выше для объяснения локомоции амёбы и животных клеток. Тот факт, что гладкие мускульные клетки, как и немышечные клетки, могут укорачиваться только на одном конце (Fay, Delise, 1973), увеличивает сходство процессов мышечного сокращения и клеточного движения.

Предложенный механизм сокращения гладких мышечных клеток, кроме прочего, легко объясняет перечисленные выше особенности в поведении гладкой мускулатуры, прежде всего – малую энергоёмкость сократительного процесса. При сокращении клетка тратит энергию лишь на выведение воды, а собственно механическую работу выполняет давление внешней среды, воздушной или водной (у водных организмов). Достигнув тонуса, клетка вообще может уже “ни о чем не заботиться” – ее объем и форму целиком поддерживает внешнее давление. Знаменитые магдебургские полшария весьма наглядно иллюстрируют это состояние.

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 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 клеточного деления, и тогда было сделано допущение, что изменение внутреннего давления (объема) является колебательным процессом, где фазы уменьшения и увеличения давления периодически сменяют друг друга. Теперь это решение можно перенести 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. Ритмические сокращения действительно обнаружены у разных гладких мышц как *in vivo*, так и *in vitro* (Haddock, Hill, 2005; Kasai et al., 1994). Были отмечены, также, небольшие колебания напряженности клеток, которые накладывались на общее тоническое сокращение (Bond et al., 1984). Ритмические изменения длины и толщины клетки должны, вероятно, коррелировать с такими же изменениями сопротивляемости оболочки на концевых и боковых участках тела, выраженных, например, в локальных изменениях ее толщины. Локальные различия в толщине оболочки на самом деле существуют. У сокращающихся гладких мускульных клеток возникают пузырьревидные тонкостенные выпячивания (Fay, Delise, 1973; Kargacin, Fay, 1987), у покоящихся клеток есть похожие выпячивания (Devine et al., 1972). Однако динамика этих образований не прослежена.

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 $[Ca^{2+}]_i$ (Haddock, Hill, 2005). Колебания $[Ca^{2+}]_i$ 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 (Grinstein et al., 1984; Eveloff, Warnock, 1987). 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 называют 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.

Очень важно, что, в отличие от концепции поперечных мостиков, гидромеханическая модель работы гладкой мускульной клетки может опереться на пример двигателей, созданных как человеком, так и природой. Среди промышленных моторов особенно примечательны первые в истории паровые машины Дени Папина и Томаса Ньюкомена (конец 17 – начало 18 веков). Они работали не просто по принципу разницы давлений, но именно так, как это предусматривает новая гипотеза работы гладких мускульных клеток. Поршень этих двигателей совершал рабочее движение под действием атмосферного давления, когда после конденсации пара в цилиндре создавалось разреженное пространство. Эти двигатели часто так и называют – атмосферными паровыми машинами.

Хорошо известно, что гидравлический механизм используют и живые машины, а именно растительные клетки, приводящие в дви-

жение части целого организма. В эволюции растений "... все в большей степени развивается способность к обратимым движениям *на основе изменяющегося тургорного давления* [курсив мой – ВВ]. 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 ритмическое 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). И в этом случае пропасти между животными и растительными клетками не видно.

Возможность объяснить сокращение гладких мускульных клеток постулатами гидромеханической модели сама по себе не отрицает механического участия в этом процессе миофиламентов и актиновых филаментов. Однако теперь это участие надо доказывать особенно тщательно и не полагаться излишне на пример поперечнополосатых мышц. Более того, теперь уже сами гладкие мышцы могли бы стать примером для поперечнополосатых.

Подобно гладкой мускульной клетке и всем другим рассмотренным выше живым объектам, мышечное волокно является замкнутым полостным телом. Структурному сходству соответствует и сходство в поведении. Поперечнополосатое волокно теряет воду и сжимается в гипертоническом растворе, набирает воду и набухает – в гипотоническом (Reuben et al., 1964; Drewnowska, Baumgarten, 1991). При набухании увеличивается как толщина, так и, в меньшей степени, длина мышечных волокон (Blinks, 1965; Brette et al., 2000), иногда появляются пузыревидные выпячивания (Brette et al., 2000). Пиноцитозные впячивания (пузырьки) наблюдали у волокон, сжимавшихся в гипертоническом растворе (Dydyńska, Wilkie, 1963).

В отличие от гладкой мускульной клетки сокращающееся мускульное волокно, однако, не совершает *активного* обмена водой с окружающим раствором – общепризнано, что оно не меняет своего объема при сокращении. Вместе с тем, волокно, частично или полностью лишенное сарколеммы (Gordon et al., 1973; Godt, Maughan, 1981; April, Maughan, 1986), и даже отдельная миофибрилла (Hanson, 1952; Bartoo et al., 1993; Colomo, 1997) укорачиваются и развивают силу; величина силы может быть такой же, как и в интактном волокне (Godt, Maughan, 1977; April, Maughan, 1986). Это ясно говорит о том, что именно *открытая* актомиозиновая решетка саркомера является сократительной единицей. Способна ли такая решетка вести себя подобно клетке, чья цитоплазма окружена полупроницаемой мембраной? Оказывается, что при определенных условиях – способна.

Частично или полностью демембранизированное (открытое) мышечное волокно, помещенное в релаксационный раствор сразу после разрушения сарколеммы, набирает воду и набухает (Matsubara, Elliott, 1972; Gordon et al., 1973). При этом происходит увеличение расстояния между миофиламентами, саркомер утолщается (Godt, Maughan, 1977; Goldman, Simmons, 1986). Воду из волокон можно опять вывести и вернуть им и отдельным саркомерам прежний вид, то есть сжать их. Этого достигают, переводя волокно в гипертонический раствор, высокая тоничность которого определяется *крупными* молекулами (например, декстрана), *не способными проходить между миофиламентами и проникать в саркомер* (Godt, Maughan, 1977; Millman et al., 1981, 1983; April, Maughan, 1986; Goldman, Simmons, 1986; Metzger, Moss, 1987; Kawai et al., 1993; Wang, Fuchs, 1995; Irving et al., 2000). В этом случае актомиозиновая решетка ведет себя как обычная клетка, теряющая воду по осмотическому градиенту.

Чистый актомиозин, находящийся в солевом растворе определенного состава, тоже способен терять воду и сжиматься, а при изменении качества раствора – опять ее набирать и набухать. Существовало мнение, что такие превращения актомиозиновых лент *in vitro* имитируют мышечное сокращение и расслабление (см. Иванов, 1950). Эта идея не получила распространения, и одной из причин, вероятно, было то, что актомиозин в опытах сжимался по всем направлениям. На рисунке 9 в книге Иванова (1950), например, изо-

бражена актомиозиновая лента, которая после добавления АТФ укоротилась почти в два раза, но утончилась еще больше. Саркомеры демембранизированных волокон, набирающие и теряющие воду в растворах разной тоничности, меняют толщину, но сохраняют длину (April, Maughan, 1986). Активно сокращающиеся отдельные миофибриллы укорачиваются и одновременно заметно утолщаются (Hanson, 1952; Lionne et al., 2003). Наконец, саркомеры интактных мышечных волокон, сокращающихся изотонически в нормальном рингеровском растворе, утолщаются (увеличивают расстояние между миофиламентами) совсем мало (Millman, 1998).

Как видим, ни в каких искусственных условиях поведение актомиозиновых комплексов не повторяет поведение саркомеров *in situ*. Это касается в том числе и активно сокращающейся изолированной миофибриллы. Вместе с тем, является фактом, что при определенных обстоятельствах вода входит и выходит из саркомеров и меняет их форму. Могут такие обстоятельства складываться в интактном мышечном волокне?

Кроме цитоплазмы, наполняющей саркомер, расстояния между миофиламентами поддерживают электростатические силы (Elliott et al., 1970; Millman, Nickel, 1980; Irving et al., 2000). Если вода уйдет из саркомеров, а одноименные электрические заряды, локализованные на миозиновых и актиновых нитях, не позволят им сблизиться, то Z-диски будут двигаться к середине саркомера, в зону пониженного давления. Вода действительно уходит из саркомера при сокращении мышечного волокна *in situ* (Carlsen et al., 1961), но этот факт находит объяснение и в рамках традиционной концепции. Если саркомер укорачивается за счет работы поперечных мостиков, сближающиеся Z-диски в любом случае должны вытеснять из него воду. Вместе с тем в мышечном волокне периодически возникает ситуация, когда вода могла бы уходить из саркомеров осмотическим путем.

Как и в гладких мышцах, процесс сокращения и расслабления поперечнополосатого волокна коррелирует с колебаниями концентрации цитоплазматического Ca^{2+} . Когда кальций выходит из цистерн саркоплазматического ретикула в цитоплазму, омывающую миофибриллы, он увеличивает ее тоничность. Это создает осмотический градиент между миофибриллами и окружающей саркоплазмой, по которому вода могла бы покидать саркомеры. Но ионы кальция – это не крупные молекулы декстрана. Они могут легко

проникать в филаментозную решетку и быстро ликвидировать осмотический градиент. Показано, 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. В целом 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 сблизиться – Z-диски двигаются в зону пониженного давления, саркомер укорачивается.

Такой механизм сокращения кажется вполне приемлемым в отношении одного саркомера, но применение его к целой миофибрилле встречает затруднение. Если давление понижается одновременно во всей миофибрилле, то соседние саркомеры так же одновременно должны “всасывать” разделяющий их Z-диск, т.е. по существу препятствовать его смещению. Точно такая же проблема встает, впрочем, и при использовании модели скользящих нитей – согласно этой схеме актиновые филаменты соседних саркомеров,

прикрепленные к одному Z-диску, тянут его в противоположные стороны. Обсуждения вопроса в литературе я не встречал, и собственного решения сейчас не имею.

Новые представления о сокращении поперечнополосатых мышц не противоречат базовым фактам, на которых построена концепция 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 деформируются, когда Z-диски их толкают. Ответ находим в образном выражении Н. Е. Huxley (1969, p. 1360), который писал, что миофиламенты скользят “...on a cushion of long-range electrostatic forces...” При этом актиновые нити могут механически или электростатически действовать на поперечные мостики и изгибать их – это объяснило бы факт расположения мостиков под разными углами к миофиламентам. 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 зависимости видят в том, что от степени налегания зависит число работающих 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. Кроме того, взаимное проникновение миофиламентов увеличивает число противостоящих одноименных электрических зарядов, что увеличивает расталкивающие силы и препятствует поперечному сжатию (утончению) саркомеров. В свое время Elliott et. al (1970) видели в расталкивающем действии электрических зарядов основную причину сокращения мышц.

Итак, в поперечнополосатых мышцах работу выполняет актомиозиновая решетка, в гладких мышцах – вся клетка. Но в этой клетке тоже есть своеобразная решетка, сложенная параллельно

идущими актиновыми и миозиновыми филаментами. У демембранных гладких мышечных клеток именно она, возможно, берет на себя сократительные функции. Такие клетки сохраняют способность сокращаться (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), но в отличие от демембранных поперечнополосатых волокон создают меньшую силу, чем интактные (Arner, 1983; Kossmann et al., 1987). Как это часто бывает в эволюции, поперечнополосатые мышцы развили аппарат, который появился уже у их предшественниц – гладких мышц. Что выиграли животные усовершенствовав работу актомиозинового комплекса?

Первое приобретение, которое кажется очевидным, – это увеличение скорости сокращения. Понятно, что вывести воду из открытой трехмерной решетки можно гораздо быстрее, чем через полупроницаемую клеточную мембрану. Однако и препятствовать ее возвращению в ту же открытую систему, т.е. поддерживать саркомер в “обезвоженном” состоянии, наверное, труднее. Для этого необходимы дополнительные энергетические затраты, и поперечнополосатым мышцам приходится их нести как плату за скорость. Вторым приобретением была возможность более тонко регулировать сократительный процесс. В гладких мышцах обмен водой осуществляется между клеткой и тканевой жидкостью (рис. 8А), которая более или менее изменчива в отношении ионного состава. Гладкие мышцы быстро реагируют на изменение химического состава окружающей среды, что, кстати, широко используют в медицине и в экспериментальных исследованиях. В поперечнополосатых мышцах водный обмен проходит внутри замкнутой полости волокна, между саркомерами и саркоплазмой (Fig. 8Б), где постоянство среды поддерживается более строго. Тенденция к увеличению стабильности жизненной среды вообще характерна для эволюции животных (и человеческого общества). В качестве примеров можно привести переходы от эмбрионально-личиночного развития к целиком эмбриональному или от пойкилотермии к гомотермии. Не исключено, что в случае с мышцами именно переход сократительного аппарата к работе в мало изменчивой среде (внутри волокна) позволил двигательной (скелетной) мускулатуре стать произвольной.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Гидромеханическая модель

Практически все процессы, меняющие форму клеток, одноклеточных организмов и эмбрионов (личинок) животных, можно уложить в два класса – выпячивания (эвагинации) и втячивания (инвагинации) (рис. 2Б, В). Процессы выпячивания и втячивания описывают обычно как изгибание плазмалеммы (у клеток) или эпителиального слоя (у животных). Для экспериментального изучения закономерностей преобразования эпителиев, например, используют его изолированные фрагменты. Между тем, в природе просто клеточной мембраны или просто эпителия не бывает. Они всегда существуют как оболочки замкнутых полостных тел (клеток, целых эмбрионов, их частей). Эти оболочки никогда не двигаются сами по себе, а только вместе с находящейся под ними внутренней массой или окружающей их наружной. Соответственно, выпячивается не плазмалемма (эпителий), а внутренняя масса вместе с плазмалеммой (эпителием); и в полость тела втячивается не плазмалемма (эпителий), а наружная масса вместе с плазмалеммой (эпителием). Такое понимание устройства и поведения живых тел и легло в основание универсальной модели, описывающей механизм развития самых разных инвагинаций и эвагинаций. Эта модель в свое время (Борхвардт, 2002а,б) была названа гидромеханической.

Процессы выпячивания и втячивания гидромеханическая модель рассматривает как взаимодействие трех элементов: 1) внутренней массы (ядра), 2) окружающей ее оболочки и 3) наружной массы. Независимо от состава внутренней и наружной масс, с оболочкой всегда контактирует жидкость или высоко обводненный внеклеточный матрикс; в силу этого массы оказывают на оболочку равномерное давление (рис. 2А). *Активно увеличивая или уменьшая объем внутренней массы (в первую очередь за счет ввода и вывода воды), полостное тело создает разницу между внутренним и внешним давлением (рис. 2Б, В). Внутренняя (наружная) масса стремится в зону меньшего давления, но оболочка ставит ей преграду. Внутренняя (наружная) масса преодолевает сопротивление оболочки, смещает ее наружу (внутрь) и двигается вместе с ней. Там, где оболочка сопротивляется менее всего (где оболочка “слабее”),*

масса движется быстрее, то есть выпячивается (рис. 2Б) или втягивается (рис. 2В). Уровень сопротивления оболочки давлению определяется ее собственными свойствами (микроструктурой, толщиной, степенью кривизны), а также (при выпячивании) наличием или отсутствием стяжек, связывающих противоположные участки оболочки (рис. 5). Активное изменение внутреннего объема и давления может иметь колебательный характер, при котором фазы увеличения и уменьшения объема (давления) чередуются. Необходимым условием развития втягиваний и выпячиваний является поступление к ним веществ, надстраивающих оболочку.

По крайней мере часть постулатов модели не являются новыми. Идеи о важной роли гидростатического давления в той или иной форме высказывались многократно. Наличие тургорного давления и механическая гетерогенность оболочки давно признаны условием неравномерного роста клеток, обладающих прочной стенкой (растительных, грибных...). Действием тех же факторов обычно объясняют появление пузыревидных выпячиваний у бесстеночных клеток. Гидромеханическая модель распространяет эти принципы на значительно большее число объектов и процессов: “классические” выпячивания и втягивания (образование клеточных отростков и почек конечностей, гастрюляция и т.д.), клеточное деление, изменения движущихся клеток, мышечные сокращения. Механизм, предлагаемый моделью, прост и вполне очевиден, его действие мы постоянно наблюдаем в природе, а также в работе созданных человеком машин.

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 такого сценария выбраны хвостатые земноводные.

Основной тренд онтогенеза – это увеличение размеров (рост) всего эмбриона (личинки) 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 втягивания. В более подробном изложении развитие выглядит следующим образом.

На ранней стадии дробления полость нарождающейся бластулы широко сообщается с омывающей жидкостью, давление в ней не отличается от наружного. На стадии зрелой бластулы проницаемость ее стенки падает, и эмбрион получает возможность активно регулировать внутреннее давление. Осмотическая концентрация полостной жидкости уменьшается, вода начинает покидать бластоцель, давление в нем понижается относительно внешнего. Наружная жидкость прогибает бластодерму и вдавливают ее в полость бластулы – происходит гастрюляция (см. рис. 2В).

На стадии нейрулы давление внутри первичной полости тела продолжает падать. В это время путем выпячивания в первичную полость возникают нервная трубка, слуховые пузырьки. Это происходит в области плакод, где поверхность эмбриона уплощена. Клетки дорсальной мезодермы упаковываются в сомиты, вентральные клетки складывают стенки целомической полости. Отростки мезодермальных клеток и коллагеновые волокна крепятся на эктодерме и внутренних органах, связывая их друг с другом (см. рис. 5А).

На стадии органогенеза внутренняя масса эмбриона начинает расти. Разбухая, она толкает эктодерму от центра; эктодерма, закрепленная на внутренних органах, в свою очередь, тянет туда же (центробежно) сомиты и париетальные стенки целома. Сомиты, закрепленные на центральных органах, не выдерживают напряжения, их эпителиальные стенки разрушаются. Целомические стенки сохраняют целостность, и только отдельные клетки, связанные с эктодермой, покидают их (см. рис. 3Д, Е). В результате свободные мезенхимные клетки заполняют первичную полость тела эмбриона (см. рис. 5Б). Волокна-стяжки сохраняются преимущественно в районе поперечных миоосепт, 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 кожи 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 жаберы, почки конечностей (рис. 4А; см. также рис. 3Б), жаберные крышки (рис. 4Б), балансеры (рис. 4В). Многочисленные поперечные стяжки в непарной плавниковой складке (рис. 4Д; см. также рис. 3В) и жаберных крышках делают их плоскими.

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 стенки разрушается, жидкость, заполняющая органы, выгибает эпителий и выпячивается вместе с ним в полость тела. Таким способом закладываются и потом усложняются дериваты кишки (железы, легкие), почкуются капилляры и почечные канальцы, удлиняются связанные с целомической полостью пронефрические протоки...

Эктодерма, сдерживающая расширение внутренней массы, испытывает в то же время ее растягивающее влияние. Это обуславливает долгое сохранение однослойности кожного эпителия. Только на поздних личиночных стадиях, когда рост внутренней массы замедляется в сравнении с увеличением площади покровов, растягивающий эффект ослабляется, и это дает возможность сформироваться многослойному эпидермису. Более того, во время метаморфоза личинка даже уменьшается, т.е. внутреннее давление падает относительно наружного. Это приводит к локальным инвагинациям эпидермиса в местах с редуцированной 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 уже обладали специализированными водными каналами – аквапоринами. Прокариоты могли активно проводить воду через клеточную мембрану и благодаря этому менять объем цитоплазмы и, соответственно, внутри-

клеточное давление. Увеличение объема цитоплазмы происходило, конечно, и во время нормального роста. 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, развивая, в частности, постоянные и временные отростки. Способность “целенаправленно” менять форму позволила клеткам активно двигаться за счет попеременного удлинения (спереди) и укорочения (сзади) тела. Амебоидные протисты достигли в этом наибольшего успеха.

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 растущей внутренней массы на оболочку первичной полости тела (эктодерму). Коллагеновые волокна построили базальную мембрану – один из двух слоев оболочки первичной полости тела и всех других полостей; 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

внеклеточным матриксом (первичная полость тела), вакуолизированными клетками (хорда) и жидкостью (целом, кишка, сосуды, почечные каналцы). 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 за счет активного перемещения воды через мембрану особого развития получила у гладких мышечных клеток. Поперечнополосатые 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. 1-144.

Борхвардт В. Г. 1991а. Закономерности развития хрящевых элементов в онтогенезе позвоночных. Журн. общей биол. 52: 746-757.

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. Впячивания 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., 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.

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.

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 guldenstädti colchicus*. В: Объекты биологии развития. Ред. Деллаф 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. Microplicae: 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.
- Baas P. W., Ahmad F. J. 2001. Force generation by cytoskeletal motor proteins as a regulator of axonal elongation and retraction. *Trends Cell Biol.* 11: 244-249.
- 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.
- Balling R., Neubuser A., Christ B. 1996. Pax genes and sclerotome development. *Cell. Dev. Biol.* 7: 129-136.
- 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.

Bellairs 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.

Blinks J. R. 1965. Influence of osmotic strength on cross-section and volume of isolated single muscle fibres. *J. Physiol.* 177: 42-57.

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.

Bretcher M. S. 1988. Fibroblasts on the move. *J. Cell Biol.* 106: 235-237.

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.

Brette F., Calaghan S. C., Lappin S., White E., Colyer J., Le Guennec J.-Y. 2000. Biphasic effects of hyposmotic challenge on excitation-contraction coupling in rat ventricular myocytes. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 279: 1963-1971.

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., Siegelman M. J. 2001. The myosin cross-bridge cycle and its control by twitchin 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. 1981a. Mechanism of retraction of the trailing edge during fibroblast movement. *J. Cell Biol.* 90: 187-200.

Chen W.-T. 1981b. Surface changes during retraction-induced spreading of fibroblasts. *J. Cell Sci.* 49: 1-13.

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. 1987. Mechanical and hydraulic aspects of plant cell growth. In: *Cytomechanics. The mechanical basis of cell form and structure.* Eds. Bereiter-Hahn J., Anderson O.R., Reif W-E. Springer-Verlag. Berlin: 215-229.

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., 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.

Drewnowska K., Baumgarten C. M. 1991. Regulation of cellular volume in rabbit ventricular myocytes: bumetanide, chlorothiazide, and ouabain. *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* 260: C122-C131.

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. Ca^{2+} -dependent myosin II activation is required for uropod retraction during neutrophil migration. *J. Cell Sci.* 113: 1287-1298.

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.

Flanagan L. A., Chou J., Falet H., Neujahr R., Hartwig J. H., Stossel 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.

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.

Gallo G., Yee H. F., Jr., Letourneau P. C. 2002. Actin turnover is required to prevent axon retraction driven by endogenous actomyosin contractility. *J. Cell Biol.* 158: 1219-1228.

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. 1981. Influence of osmotic compression on calcium activation and tension in skinned muscle fibers of the rabbit. *Pflügers Arch.* 391: 334-337.

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., Hepler 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., Egli 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.

Kłopotcka 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., Korbmacher 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. Ca²⁺ 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 earrangement 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.

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.

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., Albrecht R., Ecke M., Schwartz J.-M., Weber I., Gerisch G. 1997a. Three-dimensional patterns and redistribution

of myosin II and actin in mitotic *Dictyostelium* cells. *J. Cell Biol.* 139: 1793-1804.

Neujahr R., Heizer C., Gerisch G. 19976. 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.

Niirio 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.

Owaribe K., R. Kodama, G. Eguchi. 1981. Demonstration of contractility of circumferential actin bundles and its morphogenetic significance in pigmented epithelium in vitro and in vivo. *J. Cell Biol.* 90: 507-514.

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.

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.

Reuben J. P., Girardier L., Grundfest H. 1964. Water Transfer and Cell Structure in Isolated Crayfish Muscle Fibers. *J. Gen. Physiol.* 47: 1141-1174.

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.

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.

Schutt C. E., Lindberg U. 1992. Actin as the generator of tension during muscle contraction. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 89: 319-323.

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.

Seppenwol 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., Solursh 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., Kłopocka 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.

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.

Umamoto 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., Borisy G. G. 1993. Non-sarcomeric mode of myosin II organization in the fibroblast lamellum. J. Cell Biol. 123: 637-652.

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.

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. Ca²⁺ activation of smooth muscle contraction. Evidence for the involvement of calmodulin that is bound to the triton-insoluble fraction even in the absence of Ca²⁺. *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.

Zang J.-H., Cavet G., Sabry J. H., Wagner P., Moores S. L., Spudich J. A. 1997. On the role of myosin-II in cytokinesis: division of *Dictyostelium* 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

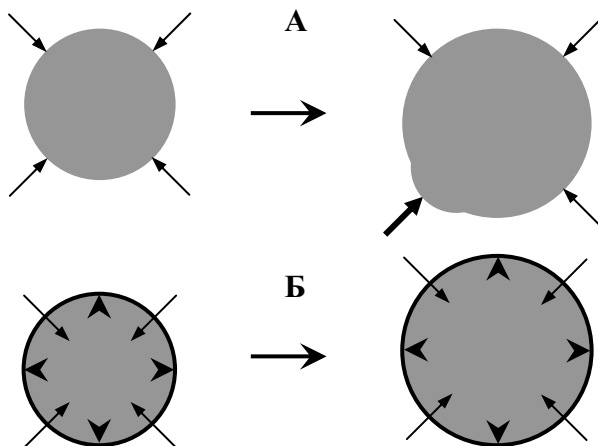


Рис. 1. Рост неживого (А) и живого (Б) тела в графическом изображении.

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). Растущее ядро давит (наконечники стрелок) на оболочку и отодвигает ее от центра тела.

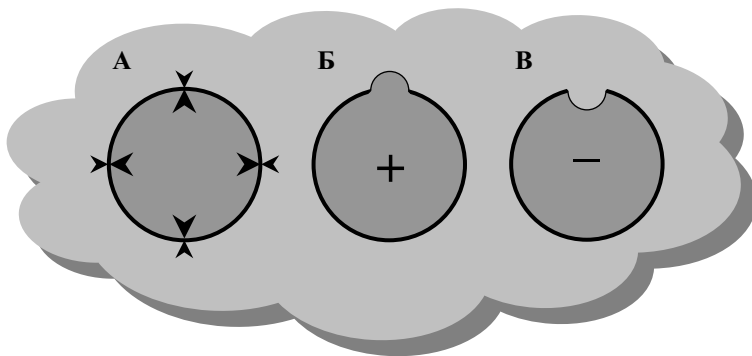


Рис. 2. Гидромеханическая модель в графическом изображении.

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 наконечников 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.

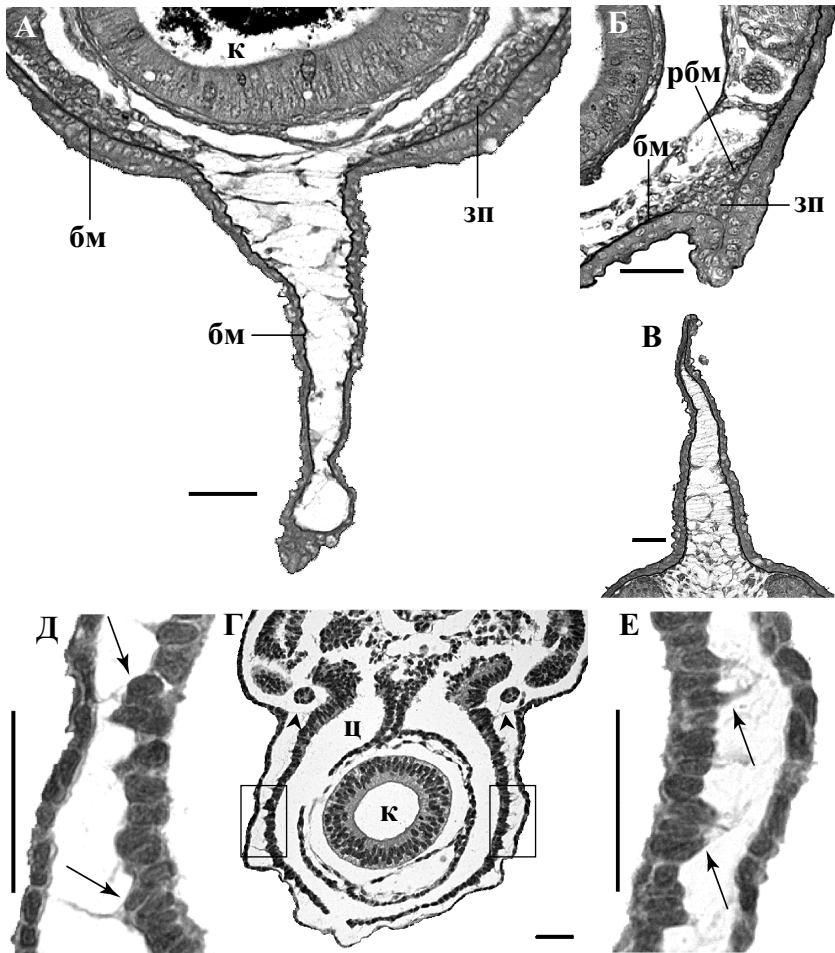


Рис. 3. Базальная мембрана и стяжки у эмбрионов и личинок рыб.

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.

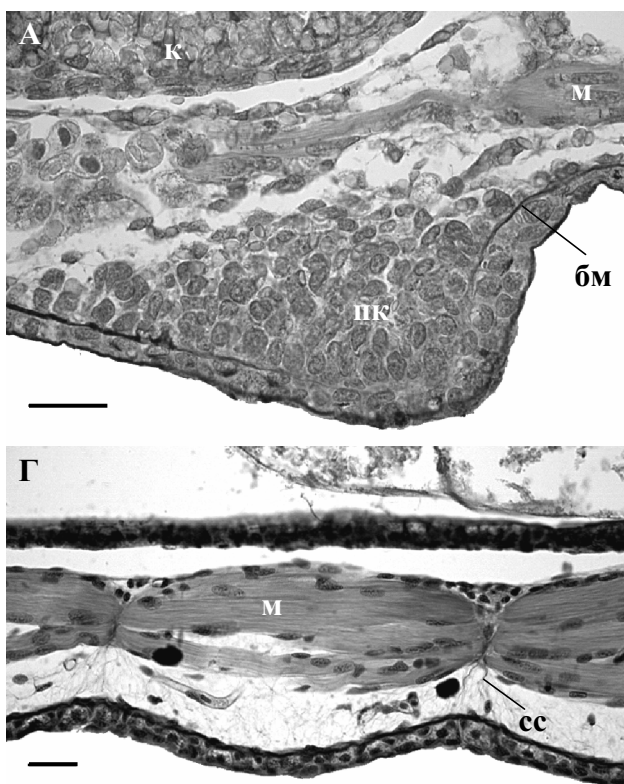
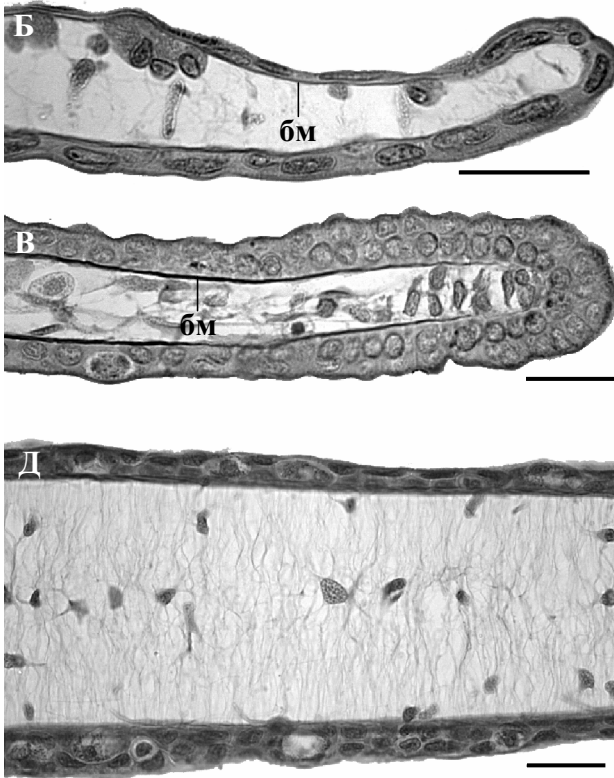


Рис. 4. Базальная мембрана и стяжки у личинок хвостатых земноводных.

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.

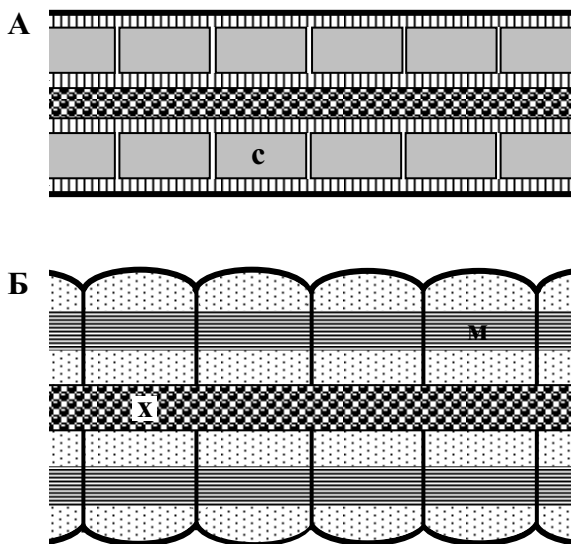


Рис. 5. Реорганизация волокон-стяжек в раннем онтогенезе позвоночных животных в графическом изображении.

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 миоसेптов, разделяющих соседние миомеры (м). Неравномерному (сегментарному) креплению стяжек к покровам соответствует волнистость стенок тела (аналогичная волнистость хорды не показана).

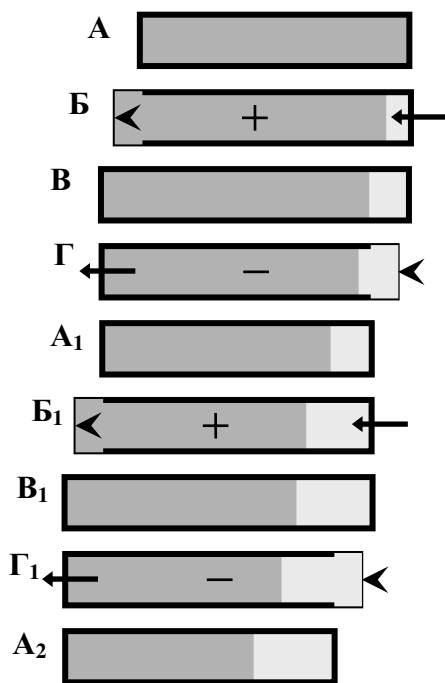


Рис. 6. Проточная модель локомоции амёбы в графическом изображении.

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.

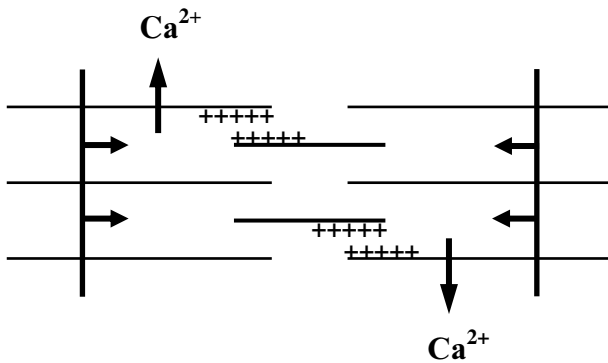


Рис. 7. Механизм укорочения саркомера поперечнополосатого волокна в графическом изображении.

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 двигаются (горизонтальные стрелки) в зону пониженного давления. Тонкие горизонтальные линии – актиновые филаменты; толстые горизонтальные линии – миозиновые филаменты; вертикальные линии – Z-диски.

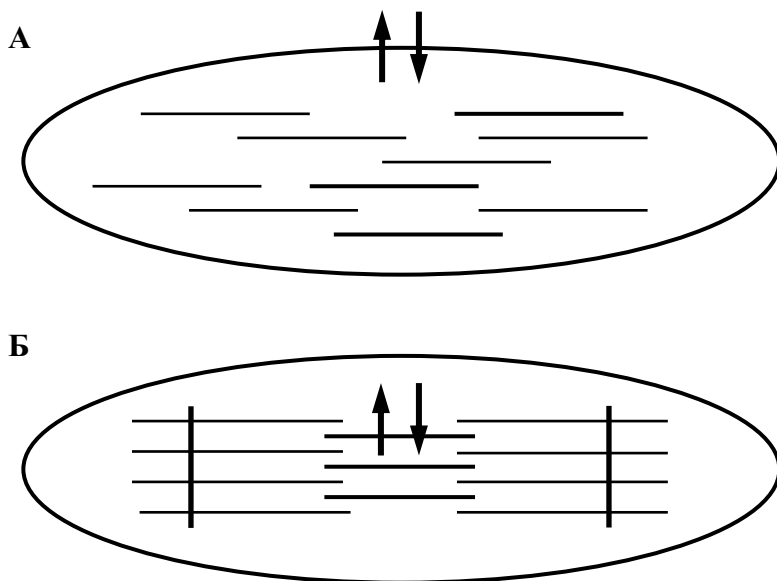


Рис. 8. Движение воды по осмотическому градиенту при сокращении и расслаблении гладкой мускульной клетки (А) и поперечно-полосатого волокна (Б) в графическом изображении. Клетка и волокно представлены овалами

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**
Второе издание

Издательство «ТЕССА»
191011, Санкт-Петербург, наб. р. Фонтанки, д. 23, оф.9
Тел.: (812) 973-10-25; факс: (812) 318-45-86
e-mail: tessar@bk.ru

Лицензия ИД № 01957 от 05.06.2000г.

Подписано к печати 02.12.2010. Формат 60x88 1/16.
Печать офсетная. Бумага офсетная. Гарнитура тип «Times»
Усл.-печ. л. 4,5. Тираж 100 экз. Зак. № 2943.

Изготовлено в ООО «Полиграф экспресс»
194233, Санкт-Петербург, ул. Курчатова, 9
Тел.: (812) 702-14-15