

УДК 611.013.9

ПАССИВНЫЕ И АКТИВНЫЕ РЕАКЦИИ ЭМБРИОНАЛЬНЫХ ТКАНЕЙ НА ДЕЙСТВИЕ ДОЗИРОВАННЫХ МЕХАНИЧЕСКИХ СИЛ¹

© 2011 г. А. Н. Мансуров, Л. В. Белоусов

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, 119992 Москва, ГСП-2, Ленинские горы

E-mail: morphogenesis@yandex.ru

Поступила в редакцию 04.06.10 г.

Окончательный вариант получен 23.06.10 г.

С помощью присасывающего манометрического устройства изучали зависимость между деформациями зародышей шпорцевой лягушки на стадиях гастролы и нейрулы и величинами приложенных сил. Модуль жесткости эмбриональных тканей имел порядок нескольких десятков паскалей и при деформациях от 40 до 120% был им обратно пропорционален. На стадии гастролы в течение 30 мин после прекращения действия присасывающей силы наблюдали равномерное или нарастающее по скорости втягивание тела зародыша во всасывающий капилляр диаметр которого составлял около половины поперечника зародыша. Длина втянутой части зародыша коррелировала с величиной его деформации за первую минуту. В результате втягивания общая поверхность тела деформированного зародыша возрастала более чем в два раза по сравнению с интактным зародышем. После выталкивания зародыша из капилляра в течение 5 мин его поверхность сокращалась и деформация сглаживалась, что указывает на присутствие в растянутых зародышах упругих сил. Эти данные показывают, что у зародышей стадии гастролы внешние механические силы не только пассивно деформируют зародыш, но и запускают его активное растяжение, происходящее при нулевой внешней силе и преодолевающее упругое сопротивление тканей. Обсуждаются механизмы активного растяжения и его связь с процессами нормального морфогенеза.

Ключевые слова: морфогенез, механические напряжения, гастролы, модуль Юнга, *Xenopus laevis*.

ВВЕДЕНИЕ

Одним из важных направлений современной биологии развития становится морфомеханика, изучающая распределение и морфогенетическую роль механических напряжений в клетках и тканях зародыша, а также реакции эмбриональных тканей на механические воздействия. Многочисленные данные, полученные за последние 10–15 лет, указывают на важную, а иногда и решающую роль механических сил и вызываемых ими деформаций для блокирования апоптоза (Huang, Ingber, 2000), нормального протекания морфогенеза (Belousov et al., 2006), установления паттернов экспрессии генов (Farge, 2003; Kornikova et al., 2010) и определения путей дифференцировки стволовых клеток (Engler et al., 2006). Принципиально важно, что во всех этих случаях наблюдаются активные ответы клеток на внешние механические силы. Одна из моделей связей между внешними механическими силами и активными ответами эмбриональных клеток и тканей предложена в терминах гипотезы гипервосстановления механических напряжений (Belousov, 2008; Taber, 2009).

Дальнейшее развитие морфомеханики требует получения точных количественных данных как о пассивных механических параметрах клеток и тканей (характеризующих их вязко-упругие свойства), так и об их активных ответах. Хотя первые измерения механических сил в ходе развития зародышей были получены около 70 лет тому назад (Waddington, 1939; Moore, 1941; Selman, 1958), планомерные исследования в этом направлении были начаты лишь недавно. Так, на зародышах шпорцевой лягушки (стадии гастролы–нейрулы) измеряли жесткость эмбриональных тканей (модули Юнга) при сжатии тканей (Zhou et al., 2009) и их растяжении методом присасывания (von Dassow, Davidson, 2009). В обеих работах были получены сходные данные. При сжатии модуль Юнга для гастрол составлял около 20 Па, а к стадии нейрулы возрастал до 80 Па. При растяжении тот же показатель для гастрол варьировал в области 10–20 Па, а к стадии нейрулы возрастал до 20–140 Па. Авторы подчеркивают широкую вариабельность этого показателя даже для зародышей одной и той же стадии развития, полученных из одной кладки. Они полагают, что нормальное развитие зародышей при сильно различающихся значениях модуля Юнга свидетельствует о тонкой подстройке активных механохимических реакций с участием цитоскелета к жесткости тканей. Вместе с тем, они не ис-

¹ Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (проект № 05-04-48681).

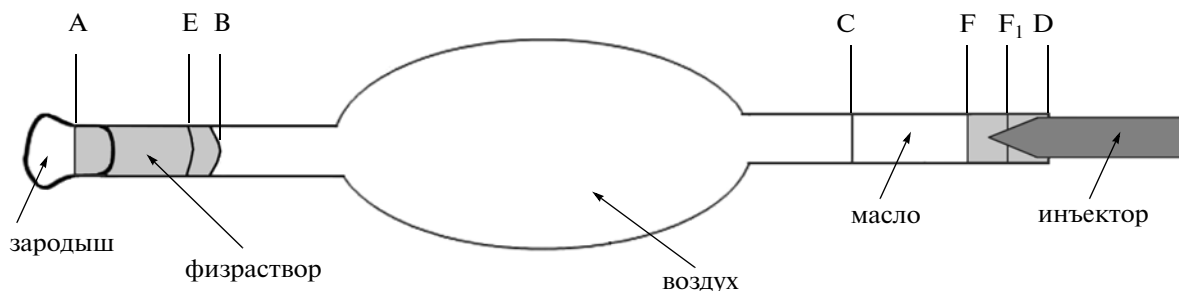


Рис. 1. Принципиальная схема установки и положение менисков в ходе измерений. Подробные объяснения в тексте.

следовали зависимости модуля Юнга от величины приложенной силы и/или вызванной ею деформации. В цитированных работах отсутствуют также какие-либо указания об активных реакциях деформированных тканей. Наше исследование было посвящено решению именно двух последних вопросов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Материал. Работу проводили на зародышах шпорцевой лягушки *Xenopus laevis* Daudin, полученных методом гормональной стимуляции. Измерения проводили на зародышах стадий 12 (средняя гастрюла) и 14 (нейрула) по Nieuwkoop, Faber (1956). Зародыши помещали в чашку Петри с агаровым дном, заполненную модифицированным раствором Рингера (MMR). Перед началом измерений с зародышей снимали желточную оболочку.

Описание установки. Был сконструирован прибор, имеющий резервуар с воздухом, связанный на противоположных концах с двумя капиллярами (рис. 1). Один из капилляров (CD) заполнялся маслом. В него вводили иглу инъектора, снабженного винтовой подачей. Противоположный капилляр (AB) был погружен в раствор MMR. Пространство BC заполнено воздухом. Диаметр капилляра равнялся 0.6 мм, что составляло примерно половину диаметра зародыша.

Схема измерений механических сил, вызывающих деформацию зародыша. Зародыш плотно прижимали к концу А капилляра, фиксируя его стеклянными иглами, закрепленными в агаровом дне. Это полностью исключало сдвиги или повороты зародыша в ходе опыта. Для каждого опыта устанавливали такие объемы воздуха в отсеке ВС, при которых мениск В начнет двигаться либо в сторону инъектора, либо в противоположную сторону. Назовем первый объем полностью разреженным, а второй объем — полностью сжатым воздухом. Для этого с помощью движений инъектора достигали такое давление в резервуаре с воздухом, когда столбик АВ начнет удлиняться или укорачиваться соответственно (засасывание раствора в установку или его выпуск). Это необходимо для расчета эффективного давления, действующего на эмбрион, так как эмбрион втягивается

только при полностью разреженном воздухе. Затем, во избежание последующих резких рывков мениск С сдвигали влево относительно полностью разреженного воздуха (воздух немного сжимался) на такое малое расстояние, чтобы мениск В не двигался. Затем вращением винта инъектора давление воздуха в отсеке ВС понижали, и когда эмбрион начинал втягиваться в капилляр, понижение прекращали. Зародыш фотографировали с помощью цифровой камеры непосредственно перед началом понижения давления, сразу после остановки инъектора, а также через 1, 5, 10, 20 и 30 мин. В некоторых опытах после этого повышали с помощью инъектора давление в системе, благодаря чему зародыш выталкивался из капилляра. Его фотографировали сразу, через 1 и 6 мин после выхода. В ходе измерений поддерживали внутри установки постоянную температуру с точностью 0.2°C.

Принципы расчетов механических сил. Расчеты проводили на основе уравнения для идеальных газов: $P_1V_1 = P_2V_2$. Для его применения надо знать давление в отсеке с воздухом при *полностью разреженном воздухе*. Чтобы его рассчитать, измеряли объемы полностью разреженного и полностью сжатого воздуха по фотографиям соответствующих положений менисков на границе вода-воздух и воздух-масло. (На рис. 1 полностью разреженный воздух располагается между менисками В и F, а полностью сжатый — между менисками Е и С). После стабилизации капиллярных сил давление в системе составило примерно 103 кПа, что соответствует воздуху средней сжатости. Это на 2 кПа выше атмосферного давления. Данная разница возникла за счет капиллярных сил, сжимающих воздух внутри системы. Принимая, что давление воздуха средней сжатости $P_{cp} = (P_{сж} + P_p)/2$, где $P_{сж}$ и P_p — давление соответственно сжатого и полностью разреженного воздуха, и используя уравнение для идеального газа, получаем, что $P_p = (2P_{cp}V_p)/(V_p + V_c) \approx 102$ кПа, что и является стартовым давлением в дальнейших расчетах.

Для расчета действующего на эмбрион отрицательного давления измеряли объем воздуха V_n до начала деформации зародыша (рис. 1, объем между менисками В и F) и объем воздуха V_k после заданной деформации (объем между менисками В и F₁). В со-

Результаты измерений. $(\Delta L/L)$ – относительные деформации, P – начальное давление, E – модули Юнга. Подстрочные индексы: 1 – результаты за первую минуту после начала измерений; 10 – за последующие 10 мин; 30 – за все 30 мин измерений; 30–10 – то же за вычетом первых 10 мин; 6 мин out – за 6 мин после выталкивания зародыша из капилляра

№ опытов	$(\Delta L/L)_1$	P_1	E	$(\Delta L/L)_{10}$	$(\Delta L/L)_{30}$	$(\Delta L/L)_{6 \text{ мин out}}$
1	0.4	86	215	0.21	0.58	
2	0.46	76	165	0.24	0.58	
3	0.49	76	155	0.07	0.69	
4	0.6	66	110	0.55	1.11	0.45
5	0.88	54	61.5	1.42		
6	1.18	16	13.5	2.41	2.58	
7	1.5	36	24	3.87	1.99	0.8
8	1.85	74	40	4.57	1.99	0.8
9	2.0	138	69	4.0	2.7	
10	0.65	115	75	2.78	0.70	
11	0.26	44	171	2.07	1.70	
12	0.17	27	154	2.26	1.15	
13	0.60	62	103	2.09		

ответствии с уравнением для идеального газа, отрицательное давление на зародыш $P_k = P_n V_n / V_k$, где $P_n = P_p \approx 102$ кПа.

Механические показатели, измерявшиеся в данной работе. В течение всего периода измерений (в большинстве опытов в течение 30 мин) регистрировали величину действующего на зародыш всасывающего давления в паскалях (Pa) и растяжение введенной в капилляр части зародыша. В ряде опытов по истечении данного времени зародыш выталкивали из капилляра и измеряли изменение его длины в течение 6 мин. За модуль Юнга (модуль жесткости эмбриональных тканей) принимали отношение $\varepsilon = P : (\Delta L/L)$, где P – всасывающее давление, регистрируемое сразу после приложения силы, $\Delta L/L$ – относительное растяжение введенной в капилляр части зародыша за первую минуту втягивания. Использование для измерения модуля Юнга именно первой минуты действия силы связано с тем, что деформации зародышей за столь краткий период можно было в достаточном приближении считать пассивными (хотя, как мы увидим, и в этот период активной компоненты полностью исключить нельзя), тогда как в дальнейшем активные реакции явно преобладают.

Определение корреляций между различными показателями. С помощью пакета программа Statistica 7.0 определяли коэффициенты корреляции (r) между значениями модуля Юнга и одноминутными деформациями зародышей, а также между деформациями зародышей за первую и за последующие 10 мин. Измерения проводили на 13 зародышах стадии 12, состоящих из 5 разновременных серий опытов.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Зависимость модуля Юнга от пассивных (одноминутных) деформаций. Как видно из табл. 1, величины модуля Юнга для разных образцов различаются почти на порядок (от 24 до 215 Pa). Наряду с этим обнаруживается достоверная, в основном обратная корреляция ($r = -0.80$) между значениями модуля Юнга и деформациями (рис. 2, а): в диапазонах деформаций от 25 до 140% значения модуля падают, а затем начинают слабо возрастать. Это означает, что при средних величинах деформаций ткань зародыша уже в течение первой минуты воздействия “размягчается”, а при более сильных деформациях испытывает небольшое затвердевание.

Активное втягивание зародыша в капилляр. Наиболее важным и неожиданным результатом данной работы оказалось то, что большинство зародышей, деформированных на стадии гастрюлы (но не на стадии нейрулы) продолжали втягиваться в капилляр даже при прекращении действия втягивающей силы (рис. 3, а, б). Поэтому втягивание зародыша в капилляр следует считать активным процессом (вызванным действием внутренних сил), тем более, что в ряде случаев оно шло с нарастающей скоростью (рис. 3, а). При этом активное удлинение зародышей за первые 10 мин имело достоверную положительную корреляцию с деформациями тех же зародышей за первую минуту ($r = 0.80$); эта корреляция проявлялась начиная с 40% растяжения (рис. 2, б). Размеры активных деформаций за 10 мин почти во всех случаях существенно превышали размеры предшествующих пассивных деформаций (пунктирная прямая на рис. 2, б). Достоверная положительная корреляция сохранялась и между одноминутными и 30-минутными деформациями ($r = 0.77$), а также

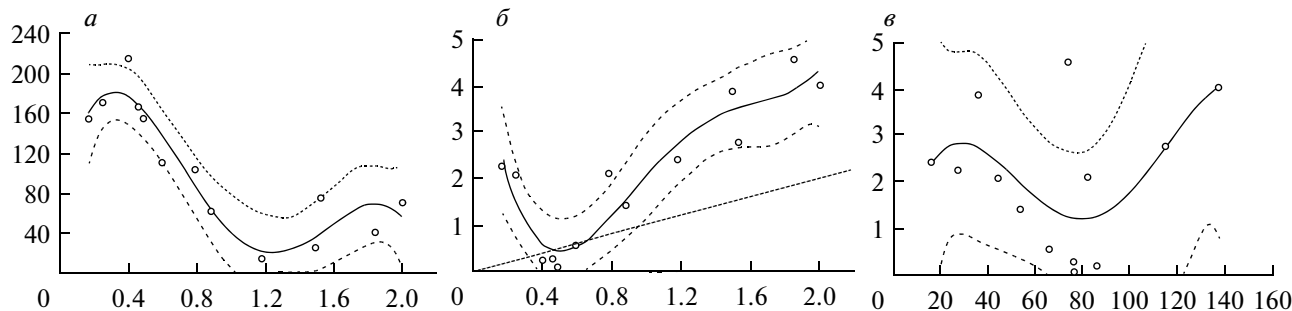


Рис. 2. Корреляции между значениями модуля Юнга и деформациями за первую минуту опыта (*а*), между деформациями за первую и последующие 10 мин (*б*) и отсутствие корреляций между приложенной силой и деформациями за 10 мин после прекращения ее действия (*в*). На *а* абсцисса – деформации ($\Delta L/L$) за первую минуту, ордината – модули Юнга (Па). На *б* абсцисса та же, ордината – деформации ($\Delta L/L$) за последующие 10 мин. Пунктирная прямая соединяет равновеликие деформации. На *в* абсцисса – присасывающая сила (Па), ордината – деформации за 10 мин после прекращения ее действия. Использовано полиномиальное сглаживание. Пунктирные кривые – доверительные интервалы корреляций.

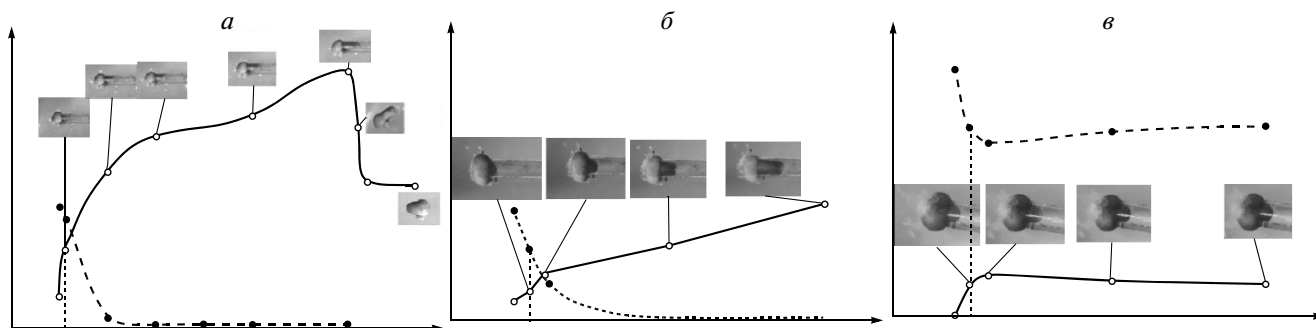


Рис. 3. Типичные графики деформаций нормальных зародышей на стадии гастрюлы (*а, б*) и зародыша, предварительно обработанного колхицином (*в*). На рис. 3 и 5 горизонтальные оси – время от начала опытов, мин. Вертикальная пунктирная линия указывает момент снятия деформирующей силы. Левые вертикальные оси и сплошные кривые – деформации зародышей (длины втянутых в капилляры частей, мм). Два правых кадра на *а* относятся к зародышам, выпущенным из капилляра. Правые вертикальные оси и пунктирные кривые – внешние силы, приложенные к зародышам (паскали, Па). Видно, что втягивание зародышей в капилляры продолжается при нулевых внешних силах.

между 10- и 30-минутными ($r = 0.84$). На этом фоне показательным является полное отсутствие корреляций между десятиминутными деформациями и величинами всасывающих сил (рис. 2, *в*).

Через 30 мин после начала опыта некоторые зародыши полностью втягивались в капилляр, после чего оставались неподвижными. Последнее еще раз подтверждает, что внешняя всасывающая сила в период их втягивания отсутствовала.

Мы исследовали также динамику деформации зародышей стадии гастрюлы, предварительно инкубированных в 1% растворе колхицина. При этом наблюдали вытяжение зародыша за первую минуту, находящееся в типичном отношении к величине приложенной силы (вычисленный на основе данного опыта модуль Юнга составлял около 40 Па, что по порядку величин соответствует данным по нормальным зародышам). Однако даже при сохранении ненулевой внешней силы последующее вытяжение отсутствовало и наблюдалось даже небольшое сокращение втянутой части (рис. 3, *в*). Это можно связать

с тем, что разрушение микротрубочек колхицином приводит к утрате передне-задней полярности мигрирующих клеток (Li, Gundersen, 2008). Такая реакция подтверждает, что последующее вытяжение связано с активными клеточными движениями.

Изменение рисунка поверхностного пигмента при действии внешней силы

На фотографиях, сделанных до приложения внешней силы, в момент ее приложения и через 1 мин мы прослеживали пигментный рисунок на той части зародыша, которая осталась вне капилляра. Как видно из сравнения рис. 4, *а–в*, уже через 1 мин после начала действия силы края относительно свободной от пигмента зоны поверхности зародыша образуют несколько впадин, примерно параллельных отверстию капилляра. Это свидетельствует о том, что втягивание сопровождается кольцевым (окружным) сжатием поверхности, примыкающей к отверстию капилляра.

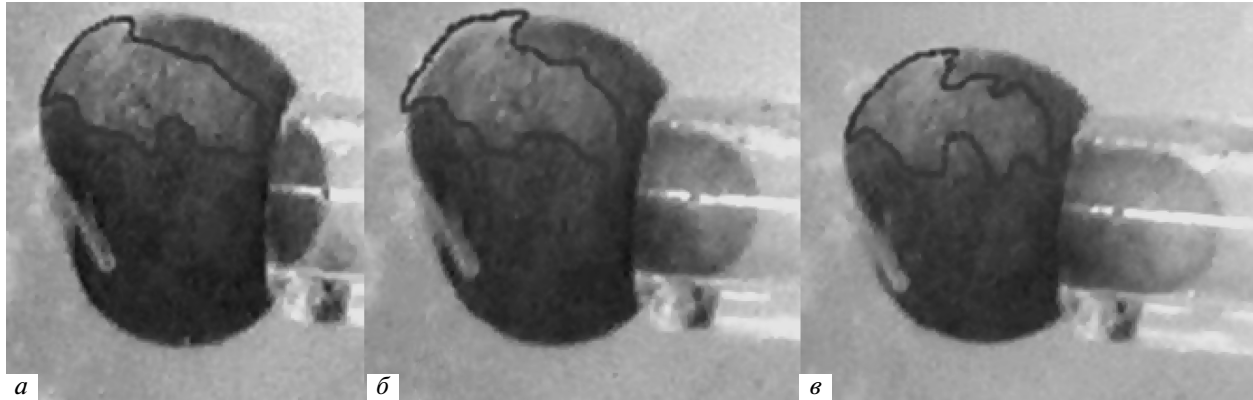


Рис. 4. Фотографии поверхности зародыша до начала действия силы (а), в момент приложения силы (б) и через 1 мин (в). Обведен край зоны, относительно свободной от пигмента.

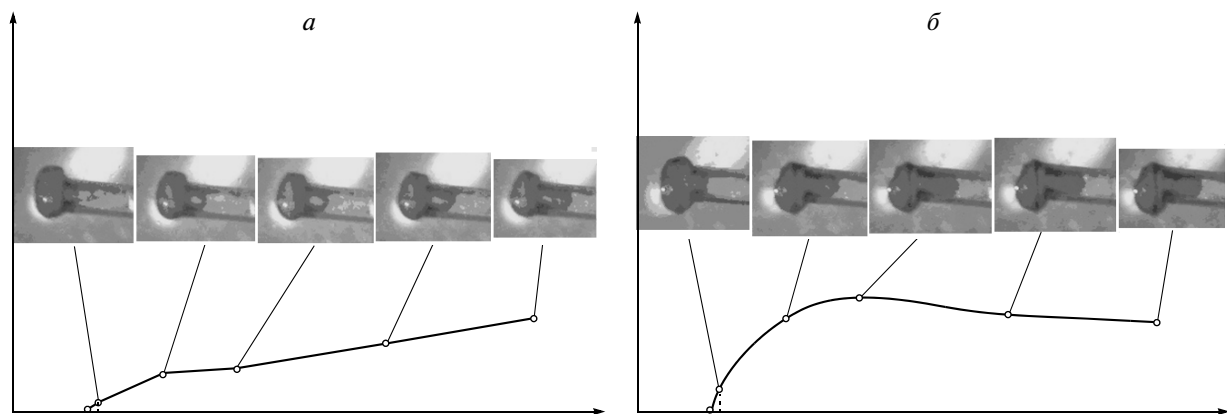


Рис. 5 а, б – Типичные графики деформаций зародышей стадии нейрулы. Обозначения по осям как на рис. 3.

В нескольких опытах мы выпускали из капилляра наружу частично втянутые в него зародыши. Будучи освобожденными, они немедленно начинали сокращаться (рис. 3, а), возвращаясь к своей исходной форме. Через 6 мин сокращение в большинстве случаев превышало 50% (Таблица, правая графа). Это указывает на присутствие в активно деформированных зародышах существенных упругих напряжений.

Результаты воздействий на зародыши стадии нейрулы были менее определенными. После воздействия силой 80–90 Па в некоторых случаях наблюдали последующее вытяжение зародыша, а в других – его слабое сокращение (рис. 5, а, б).

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты данной работы можно разделить на две категории. К первой относятся измерения модулей Юнга эмбриональной ткани на основе измерений деформаций (растяжения) участка зародыша в течение первой минуты действия присасывающего давления заданной величины (“быстрый ответ”). Мы считали, что за столь малое время активная ре-

акция зародыша на действие внешней силы не успевает развиваться, так что быстрый ответ можно в хорошем приближении рассматривать как пассивную линейную реакцию вязко-упругого тела. Однако оказалось, что уже в пределах 1-минутных воздействий модули сильно зависят как от деформаций, так и от приложенных сил.

Как уже говорилось, в диапазоне деформаций от 25 до 140% модули были обратно пропорциональны деформациям. Это значит, что при возрастании деформаций в данном диапазоне ткань зародыша уже за 1 минуту существенно “размягчается”, что согласуется с данными о способности цитоскелета уже в течение нескольких секунд изменять жесткость под влиянием внешних сил (Deng et al., 2006). Следовательно, реакции тканей зародыша на механические силы на всех испытанных временах являются сильно нелинейными, отчего само понятие модуля жесткости может быть применено к ним в значительной мере условно. Однако с этой оговоркой мы будем продолжать его использовать ввиду привычности данного термина и отсутствием адекватной замены.

Полученные нами значения модулей Юнга на 1.5–2 порядка меньше типичных значений модулей для отдельных клеток, измеренных по большей части методом присасывания (Kolodney, Wysolmerski, 1992; Hochmuth, 2000). С другой стороны, наши данные по порядку величин совпадают с таковыми Dassow, Davidson (2009), которые были также получены методом присасывания, хотя и с использованием значительно более тонкими пипетками (поперечник 120–125 мкм). Это подтверждает корректность наших данных. Расхождения с величинами модулей для отдельных клеток допускают следующие толкования:

1. Можно допустить, что при определении величин давления показания манометра следует делить не на полную площадь сечения отростка зародыша, втянутого в капилляр (S_1), а на суммарную площадь клеточных контактов типа *zonulae adherence*, приходящихся на данное сечение. (S_2). Поскольку для каждого сечения толщиной в одну клетку $S_2 \approx 0.01S_1$, при таком пересчете значения модулей должны возрасти примерно на 2 порядка. Однако такое рассуждение, по-видимому, несостоятельно, поскольку действующие в наших опытах силы растягивают не один поперечный слой клеток, а по меньшей мере несколько десятков таких слоев, отчего суммарная площадь растягиваемых клеточных контактов (расположенных в разных плоскостях) приближается по порядку величин к S_1 .

2. Действующие в наших опытах кратковременные силы деформируют не отдельные клетки, а межклеточные связи и внеклеточный матрикс. Иными словами, клетки не деформируются каждая по отдельности, а перераспределяются. Это предположение кажется нам правдоподобнее, хотя и оно должно быть проверено подробными цитологическими наблюдениями.

Вторая категория данных относится к активным деформациям, протекающим при нулевой внешней силе (втягивание зародышей в капилляр). Мы считаем, что эти деформации являются реакциями целого зародыша на изменение его механогеометрии при начале втягивания. Предлагается следующая интерпретация (рис. 6). В результате приложения внешней силы в течение первой минуты растягивается не только втянутая в капилляр часть зародыша, но и примыкающие к устью капилляра участки еще не втянутой поверхности. Согласно модели гипертонического восстановления механических напряжений (Velousov, 2008) и соответствующих ей наблюдений клеточной динамики в тороидальных структурах (Kraus, 2006; Cherdantzeva, Cherdantzev, 2006), меридиональные натяжения вызывают интеркаляционные движения клеток в окружных направлениях (рис. 6, конвергирующие стрелки 4). Эти движения и вызывают активное кольцевое сужение еще не втянувшейся части зародыша, что способствует ее вталкиванию в капилляр. Согласно

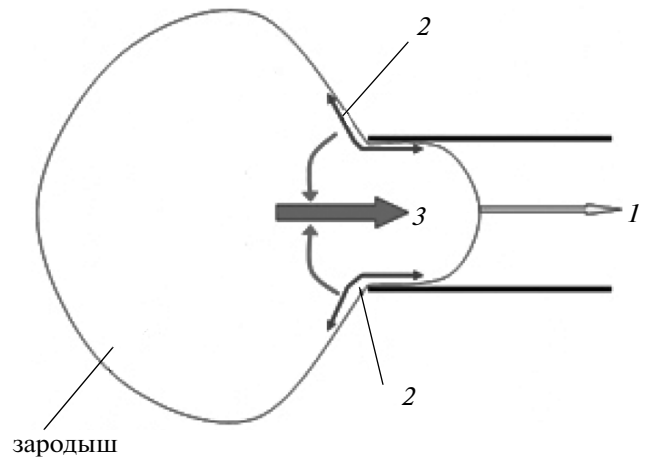


Рис. 6. Схема механических напряжений в тканях зародыша, вызывающих его активное втягивание в капилляр. 1 – всасывающая сила, 2 – пассивное растяжение поверхности зародыша под действием этой силы, 3 – активное давление, втягивающее зародыш в капилляр и возникающее на основе конвергенции клеток (4), вызванной растяжением.

Cherdantzeva, Cherdantzev (2006), совершенно аналогичные силы должны действовать при гаструляции по окружности бластопора. В этом смысле активное втягивание тканей зародыша в капилляр можно рассматривать как экзогастрюляцию, или же как модель роста побега.

Обратим внимание на то, что величина активного втягивания за 10 и даже за 30 мин сильно коррелирует с длиной втягивания за первую минуту, но не с величиной приложенной силы (рис. 2, б, в). Это важно потому, что именно длина одномоментного втягивания является непосредственной мерой пассивного растяжения тканей зародыша под влиянием внешней силы. В таком случае высокий коэффициент корреляции между прямыми показателями пассивного и активного вытяжения говорит о пропорциональности активной реакции пассивному растяжению. При этом активное вытяжение в подавляющем большинстве случаев существенно превышает пассивное (см. положение пунктирной прямой на рис. 2, б). Это как раз и соответствует реакции гипертонического восстановления, то есть генерации в тканях зародыша силы давления, превышающего внешнюю растягивающую силу. При оценке сил внутреннего давления следует учитывать, что они при втягивании зародыша в капилляр преодолевают еще и упругое растяжение тканей, проявляющееся при выталкивании зародыша из трубки. Наряду с этим, дополнительным фактором, способствующим втягиванию зародыша в трубку, может быть понижение значений модуля Юнга при деформации (рис. 2, а, б), т.е. уменьшение жесткости растянутой ткани по сравнению с нерастянутой. Мы полагаем, что предложенная нами простая экспериментальная модель может быть удобной для дальнейшего исследования коли-

чественных соотношений между пассивными и активными механозависимыми реакциями эмбриональных тканей.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Belousov L.V.* Mechanically based generative laws of morphogenesis // *Physical Biology*. 2008. V. 5. № 1. 015009.
- Belousov L.V., Luchinskaia N.N., Ermakov A.S., Glagoleva N.S.* Gastrulation in amphibian embryos, regarded as a succession of biomechanical feedback events // *Int. J. Dev. Biol.* 2006. V. 50. P. 113–122.
- Cherdantzeva E.V., Cherdantzev V.G.* Geometry and mechanics of Teleost gastrulation and the formation of primary embryonic axes // *Int. J. Dev. Biol.* 2006. V. 50. P. 157–168.
- Deng L., Trepast X., Butler J.P. et al.* Fast and slow dynamics of the cytoskeleton // *Nature Materials*. 2006. V. 5. P. 636–640.
- Engler A.J., Sen S., Sweeney H.L. et al.* Matrix elasticity directs stem cells lineage specification // *Cell*. 2006. V. 126. P. 677–689.
- Farge E.* Mechanical induction of Twist in the Drosophila foregut/stomodaeal primordium // *Curr. Biol.* 2003. V. 13. P. 1365–1377.
- Hochmuth R.M.* Micropipette aspiration of living cells // *J. Biomechanics*. 2000. V. 33 P. 15–22.
- Huang S., Ingber D.E.* Shape-dependent control of cell growth, differentiation, and apoptosis: switching between attractors in cell regulatory networks // *Exptl. Cell Res.* 2000. V. 261. P. 91–103.
- Kolodney M.S., Wysolmerski R.B.* Isometric contraction by fibroblasts and endothelial cells in tissue culture: a quantitative study // *J. Cell Biol.* 1992. V. 117. P. 73–82.
- Kornikova E.S., Troshina T.G., Kremnyov S.V. et al.* Neuro-mesodermal patterns in artificially deformed embryonic explants: a role for mechanogeometry in tissue differentiation // *Dev. Dynamics*. 2010. V. 239. P. 885–896.
- Kraus Ju.A.* Morphomechanical programming of morphogenesis in Cnidarian embryos // *Int. J. Dev. Biol.* 2006. V. 50. P. 267–276.
- Li R., Gundersen G.G.* Beyond polymer polarity: how the cytoskeleton builds a polarized cell // *Nature*. 2008. V. 9. P. 860–873.
- Moore A.R.* On the mechanisms of gastrulation in *Dendroaster excentricus* // *J. Exp. Zool.* 1941. V. 87. P. 101–111.
- Nieuwkoop P.D., Faber J.* Normal table of *Xenopus laevis* (Daudin). Amsterdam: North-Holland Publ. Co. 1956. 243 p.
- Selman J.* The forces producing neural closure in Amphibia // *J. Embryol. Exp. Morphol.* 1958. V. 6. P. 448–465.
- Taber L.A.* Towards a unified theory for morphomechanics // *Phil. Trans. R. Soc. A*. 2009. V. 367. P. 3555–3583.
- von Dassow M., Davidson L.A.* Natural variation in embryo mechanics: gastrulation in *Xenopus laevis* is highly robust to variation in tissue stiffness // *Dev Dynamics*. 2009. V. 238. P. 2–18.
- Waddington C.H.* Order of magnitude of morphogenetic forces // *Nature*. 1939. V. 144. P. 637–637.
- Zhou Jan, Hye Young Kim, Davidson L.A.* Actomyosin stiffens the vertebrate embryo during crucial stages of elongation and neural tube closure // *Development*. 2009. V. 136. P. 677–688.

Passive and Active Reactions of Embryonic Tissue to the Action of Dosed Mechanical Forces

A. N. Mansurov and L. V. Belousov

Moscow State University, Moscow, 119992 Russia

e-mail: morphogenesis@yandex.ru

Abstract—With the help of a suction manometric device, the relation between the deformation of *Xenopus laevis* embryo at the gastrula and neurula stages and the value of the applied force has been studied. Stiffness modules of embryonic tissues were in the order of several dozens of Pascal and they were inversely proportional during deformation from 40 to 20%. At the gastrula stage, a uniform or an increasing rate of expansion of the embryo body in the suction capillary with the diameter of approximately half that of the embryo was observed for 30 min after the action of the suction forces. The length of the stretched portion of the embryo correlates with the value of its deformation at the first minute. As a result of the expansion, the total body surface area of the deformed embryo increases more than twice compared to intact embryos. After expelling the embryo from the capillary, its surface reduced and the deformation became smoothed within 5 min, which indicates the existence of tensional force in the expanded embryo. These data confirm that, at the embryo gastrula stage, external mechanical forces do not only passively deform the embryo but also initiate the active expansion of the embryo which takes place at zero external force and overcomes the tensional resistance of tissues. The mechanism of active expansion and its link with the processes of normal morphogenesis are discussed.

Keywords: morphogenesis, mechanical tensions, gastrula, Young module, *Xenopus laevis*