

МОРФАЛЛАКСИС *versus* ЭПИМОРФОЗ? КЛЕТОЧНЫЕ И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ АСПЕКТЫ РЕГЕНЕРАЦИИ И БЕСПОЛОГО РАЗМНОЖЕНИЯ У АННЕЛИД

© 2020 г. Р. П. Костюченко*, @, В. В. Козин*

*Санкт-Петербургский государственный университет,
Университетская наб., 7/9, Санкт-Петербург, 199034 Россия

@E-mail: r.kostyuchenko@spbu.ru

Поступила в редакцию 27.12.2018 г.

После доработки 20.02.2019 г.

Принята к публикации 03.03.2019 г.

Проведен сравнительный анализ событий морфаллаксиса и эпиморфоза при регенерации и бесполом размножении у аннелид. Показаны перестройки на молекулярном, клеточном и системном уровнях уже на самых ранних этапах восстановительных морфогенезов. Отмечена принципиальная необходимость морфаллаксиса для инициации, прогресса и завершения событий по типу эпиморфоза в ходе полноценной регенерации и формирования недостающих частей у новых зооидов при бесполом размножении.

DOI: 10.31857/S0002332920030042

Способность различных организмов восстанавливать утраченные ткани, органы и даже целые части тела (регенерация) известна издавна. Однако восстановление недостающих частей тела или формирование их *de novo* у животных наблюдается и при различных способах бесполого размножения (Иванова-Казас, 1977; Короткова, 1997; Bely, Gray, 2001; Харин и др., 2006; Bely, Sikes, 2010; Stocum, 2012; Костюченко и др., 2016). Эти два феномена, представляющие собой формы постэмбрионального развития, имеют много общего. В частности, и регенерация, и бесполое размножение обходятся без участия специализированных половых клеток, но требуют активного размножения соматических клеток, приводящего к формированию временных скоплений недифференцированных клеток (эпиморфоз) и/или реорганизации старых тканей (морфаллаксис). Нередко животные, размножающиеся бесполом способом, характеризуются великолепными регенеративными способностями. Однако даже у близкородственных видов способности к такому рода постэмбриональным морфогенезам могут кардинально различаться (Иванова-Казас, 1977; Короткова, 1997; Bely, 1999, 2006; Bely, Nyberg, 2010; Zattara *et al.*, 2019).

Известно, что типы регенерации и формы бесполого размножения коррелируют с организацией животных и могут быть, как и сами животные, весьма разнообразными. Так, наряду с типичной регенерацией, приводящей к полноценному восстановлению формы и функции органа или части

тела, но по-разному протекающей при ампутации или автотомии, часто встречаются варианты атипичной регенерации (аддиции, гипертрофии, гетероморфозы и неполноценная регенерация) (Vorontsova, Liosner, 1960; Короткова, 1997). Особенности анатомического строения (слияние сегментов, формирование жесткого внешнего скелета и т.д.), например, у насекомых приводят к резкому ограничению способностей к *de novo* образованиям. Характер регенерации у многих животных может коррелировать со спецификой строения нервной системы (Короткова, 1997).

Еще более принципиально различающиеся основные типы бесполого размножения (деление, почкование, агрегация клеток и полиэмбриония), хотя и коррелируют с особенностями анатомического строения, но в меньшей степени, чем регенерация. Так, среди представителей одной и той же группы животных, одного вида и даже на уровне одной особи можно наблюдать различные варианты репродукции бесполом путем в зависимости от условий окружающей среды, физиологического состояния и этапа жизненного цикла. Вместе с тем нарушения морфогенезов в ходе бесполого размножения у животных встречаются крайне редко и носят случайный характер (Иванова-Казас, 1977; Харин и др., 2006; Костюченко и др., 2016).

Очевидно, что для понимания механизмов постэмбрионального развития животных нужны модели схожие, но демонстрирующие тонкие или

принципиальные различия. Это могут быть как близкородственные группы или виды, различающиеся своими способностями, например, к регенерации, так и сходные по своим основным характеристикам явления. Такой подход способствует раскрытию универсальных механизмов, знание которых позволяет в экспериментальных условиях стимулировать восстановление утраченных частей тела даже животных с ограниченными регенеративными способностями. Отличный пример этого – виды планарий, не способные в норме регенерировать полноценный головной отдел, но восстанавливающие голову при влиянии на элементы канонического Wnt-сигналинга в эксперименте (Liu *et al.*, 2013; Sikes, Newmark, 2013). Такой подход, безусловно, важен и для создания моделей для исследования эволюции механизмов постэмбрионального развития, выявления, возможно, существующих универсальных компонентов этих механизмов (Харин и др., 2006; Bely, Sikes, 2010; Stocum, 2012; Костюченко и др., 2016).

В настоящей работе на примере аннелид, одной из ключевых для эволюционной биологии развития групп Bilateria, мы рассмотрим особенности морфогенезов при регенерации и бесполом размножении с точки зрения типа клеточного поведения, морфаллаксиса и эпиморфоза. Как и другие спиральные животные, аннелиды демонстрируют консервативный паттерн эмбрионального развития, хотя и с элементами регуляции (Костюченко, Дондуа, 2006, 2017; Schneider, Bowerman, 2007; Nakamoto *et al.*, 2010; Козин и др., 2013; Wanninger, 2015; Козин, Костюченко, 2016; Kozin *et al.*, 2016; Carrillo-Baltodano, Meyer, 2017; Lanza, Seaver, 2018). При этом взрослые формы, заметно различающиеся по строению, жизненному циклу и экологическим условиям обитания, в целом характеризуются выраженными способностями к регенерации целых частей тела и часто к бесполому размножению. Несмотря на большое разнообразие восстановительных морфогенезов, аннелиды имеют преимущественно сходный характер постэмбриональных событий на основе поперечного деления с сохранением исходных осей. Это в совокупности с длительной историей исследований и наличием современных разработок делает аннелид чрезвычайно перспективной моделью для изучения как молекулярных и клеточных механизмов регенерации и бесполого размножения, так и эволюции программ развития (Iwanoff, 1928; Herlant-Meewis, 1964; Иванова-Казас, 1977; Короткова, 1997; Bely, 1999, 2006; Харин и др., 2006; Bely, Sikes, 2010; Zattara, Bely, 2011; Novikova *et al.*, 2013; Kozin, Kostyuchenko, 2015; Костюченко и др., 2016; Козин и др., 2017; de Jong, Seaver, 2018).

РЕГЕНЕРАЦИЯ И БЕСПОЛОЕ РАЗМНОЖЕНИЕ У АННЕЛИД: РАЗНООБРАЗИЕ И АНЦЕСТРАЛЬНОСТЬ ФОРМ

У представителей типа Annelida, как и у других животных, способность к регенерации и бесполому размножению коррелирует с особенностями анатомического строения и организации тела животного. При этом усиление специализации и вторичное упрощение приводят к сходным эффектам, а именно к ограничению восстановительных процессов или их приуроченности лишь к определенным участкам тела. Такие специализированные формы, как пиявки и динофиллиды, демонстрируют очень ограниченный характер регенерации, главным образом заживление раны (Короткова, 1997; Bely, 2006; Костюченко и др., 2016; Zattara, Bely, 2016). В то же время полихеты с редуцированными перегородками между сегментами, например *Arenicola marina*, в случае ампутации даже одного сегмента погибают, не приступая к заживлению раны (Iwanoff, 1928; Bely, 2006). Однако большинство аннелид способны к задней регенерации, т.е. восстанавливать утраченный хвостовой отдел. Безусловно, задняя регенерация – анцестральный признак всего типа Annelida. Головная или передняя регенерация (восстановление головы и передних сегментов) характерна для меньшего числа видов, но в некоторых случаях возможно восстановление всех утраченных частей животного даже из очень маленького фрагмента тела (Berrill, 1952; Herlant-Meewis, 1964; Короткова, 1997; Bely, 2006; Özpolat, Bely, 2016). Филогенетический анализ распространенности различных видов регенерации среди представителей аннелид показал анцестральность и передней регенерации, которая в силу причин, в том числе описанных выше, была вторично утрачена среди заметного числа видов (Bely, Sikes, 2010; Zattara, Bely, 2016). Разумеется, аннелиды способны к формированию *de novo* не только отсутствующих частей тела, но и отдельных органов, таких как параподии, различные придатки и даже гонады (Berrill, 1952; Herlant-Meewis, 1964; Короткова, 1997; Tadokoro *et al.*, 2006; Özpolat *et al.*, 2016; Voilly *et al.*, 2017). Однако во всех случаях регенерация происходит с учетом целостности переднего и заднего концов, которые должны быть восстановлены, если это возможно, в первую очередь (Короткова, 1997; Костюченко и др., 2016).

Все аннелиды, размножающиеся бесполом способом, как правило, обладают великолепными регенерационными способностями, но в некоторых случаях восстановительные реакции, вероятно, вторично ограничены лишь отдельными участками тела (Bely, Nyberg, 2010). Бесполое размножение у аннелид встречается широко, но только среди полихет и олигохет, причем нерав-

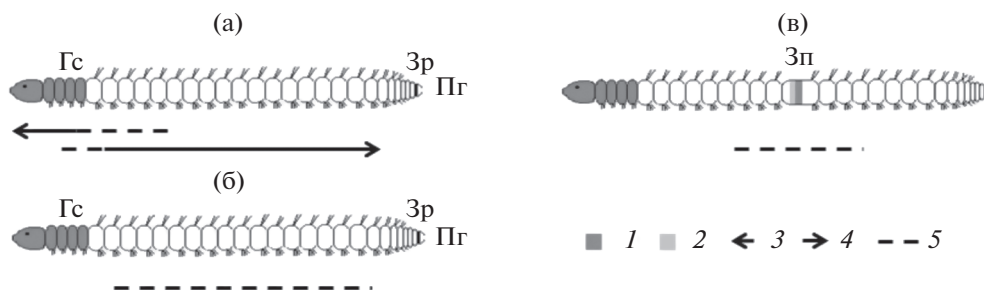


Рис. 1. Схематическое изображение локализации регенерационных территорий при репаративной регенерации и зон компетенции при бесполом размножении у аннелидов. а — регенерация, б — архитомия, в — паратомия. 1 — головной регион и цефалогенная часть зоны деления (перетяжки), 2 — соматогенная часть перетяжки и ее производные, 3 — головная регенерационная территории, 4 — задняя (“хвостовая”) регенерационная территории, 5 — зона компетенции сегментов, где возможно разделение животных при бесполом размножении, Зр — зона роста; Гс — головные сегменты, Зп — зона паратомии, Пг — пигидий.

номерно в различных семействах. Как правило, оно представляет собой поперечное деление. Если сначала происходит деление материнского зооида на дочерние, а затем достройка недостающих структур, то считают, что это свидетельствует об архитомии. Однако формирование нового головного и заднего отделов может происходить и до физического разделения исходного индивидуума на два и более зооидов. Такое явление называют паратомией. Паратомия относительно чаще встречается у олигохет, а архитомия — у полихет (Иванова-Казас, 1977; Zattara, Bely, 2016). Для некоторых видов полихет и олигохет половое размножение не описано и предполагается, что воспроизводство популяций таких видов происходит исключительно бесполом способом. Для большинства видов характерна регрессия половых продуктов при переходе к бесполому размножению. В то же время у полихет из сем. Syllidae бесполое размножение приводит к формированию половых особей (Иванова-Казас, 1977; Ribeiro *et al.*, 2018). Следует также отметить, что для отдельных групп или видов аннелидов могут быть характерны усложненные формы паратомии и архитомии, вплоть до форм, близких к почкованию (Иванова-Казас, 1977; Костюченко и др., 2016; Ribeiro *et al.*, 2018).

СПЕЦИФИКА ПРОЦЕССОВ ВДОЛЬ ОСЕЙ ТЕЛА

Несмотря на схожесть во многих аспектах, процессы регенерации и бесполого размножения характеризуются особенностями в пределах осей тела, прежде всего вдоль переднезадней оси. Это касается и полноценности процесса, и пространственного ограничения специфичности восстановления недостающих структур. Так, у животных с тагмизацией зона паратомии с новым головным концом закладывается в последней трети тела. У животных, не имеющих в своем строении выраженных тагм, место формирования зоны попе-

речного деления при бесполом размножении наблюдается либо в определенном сегменте, либо в пределах любого из сегментов преимущественно средней части тела (рис. 1б, в). Например, у *Dero digitata* закладка зоны паратомии происходит на уровне 38-го сегмента, у видов из рода *Ophidonais* — на уровне 35-го сегмента. В ходе столонизации у полихет из сем. Syllidae формируется особый пролиферирующий сегмент, который развивает новые столоны (Иванова-Казас, 1977; Костюченко и др., 2016; Ribeiro *et al.*, 2018). В то же время у *Nais communis* длиной 21–41 сегмент зона деления закладывается в пределах 12–23 сегмента. У *Pristina longiseta* первое место разделения зооидов появляется на сегменте с 14-го по 18-й (при длине животного 21–29 сегментов), при этом последующая зона паратомии формируется последовательно, каждый раз на сегменте впереди от предыдущей. Лишь исчерпав набор компетентных к образованию перетяжки сегментов, животное прекращает размножаться и растет до достижения нужной длины (Харин и др., 2006). В случае архитомии как у полихет, так и у олигохет тело распадется либо приблизительно посередине на две части, либо на несколько фрагментов, состоящих из одного или нескольких сегментов, каждый из которых, сохраняя свою полярность, восстанавливает недостающие части (Иванова-Казас, 1977).

Вне зависимости от наличия или отсутствия тагм тела у полихет и у олигохет способность к передней регенерации, если и имеется, то, как правило, ограничена лишь передней частью тела (рис. 1а). Размер головного регенерата, характер и полноценность головной регенерации сильно меняются по мере удаления места операции от головы в заднем направлении, вплоть до восстановления на раневой поверхности “хвостового” конца вместо головного. Так, у *Autolitys pictus* самая крупная регенерационная почка, дающая простомииум, перестомииум и восемь головных сегментов, формируется при ампутации на уровне восьмого сегмента.

При проведении операции между 9-м и 13-м сегментами образуется на четыре головных сегмента меньше, а при удалении 14–42 сегментов восстанавливается только простомиум (Короткова, 1997). Головная регенерационная территория у каждого вида ограничена видоспецифичным набором сегментов. Однако при полноценной регенерации, как и при бесполом размножении, нередко задействованы и старые сегменты, примыкающие к ране. Именно в них происходит трансформация соответствующих отделов кишки в желудок. Задняя регенерация демонстрирует меньше специфики вдоль переднезадней оси. Она не только присуща гораздо большему числу видов, но и возможна, как правило, при проведении ампутации в пределах почти всей длины червя, за исключением головных сегментов (Короткова, 1997; Костюченко и др., 2016).

Отметим, что гетероморфная регенерация при ампутации переднего или заднего конца или при бесполом размножении путем поперечного деления наблюдается крайне редко. Чаще всего она состоит именно в формировании второго “хвостового” вместо головного конца и наоборот в случае проведения операции за пределами соответствующей регенерационной территории. По нашим наблюдениям, в ходе паратомии возможно образование животного с раздвоенным задним концом тела. Это очень редкое событие, возникающее вследствие нарушения развития зоны деления. В этом случае формируется лишь новый “хвостовой” конец переднего зооида, растущий под углом к переднезадней оси тела животного (Костюченко, неопубликованные данные).

Восстановление утраченных частей по дорсовентральной оси имеет свою специфику и свидетельствует о важности топологически правильной комбинации систем и тканей, включая нервную систему, кишку и стенку тела, имеющих вентральную и дорсальную идентичность. Это подтверждается экспериментами по пересадке параподий и участков стенки тела от донора в эктопическое положение на поверхности тела хозяина. В результате формируются дополнительные параподии там, где дорсальная и вентральная ткани наложены одна на другую. Таким образом, если трансплантат и место трансплантации имеют противоположные дорсовентральные полярности, например, когда участок дорсальной стенки тела пересаживается на вентральную сторону и наоборот, индуцируется морфогенез, приводящий к образованию новых параподий по всей длине трансплантата. Если после успешной пересадки части брюшной нервной цепочки вместе со смежной стенкой тела на дорсальную область нормального животного-реципиента провести поперечную ампутацию через область тела, содержащую два нервных тяжа (нормальный вентральный и пересаженный “спинной”), то происходит регенерация заднего

конца. При этом такой регенерат имеет пигидий с удвоенным числом анальных цирр и сегменты с удвоенным набором параподий. Следовательно, брюшная нервная цепочка и/или полоса соответствующей брюшной стенки тела достаточны для индукции второй дорсовентральной оси в регенерате (Boilly *et al.*, 2017).

Черви с “хвостами”, которые имеют двойную нервную цепочку, иногда встречаются в природе. Как полагает Бойли с соавт. (Boilly *et al.*, 2017), такие животные появляются в результате регенерации, поскольку во всех случаях их задние концы тела демонстрируют те же морфологические характеристики, что и у животных с двойным нервным тяжем, полученным при пересадке. Таким образом, для прохождения полноценной регенерации требуется правильное соединение тканей, имеющих разную идентичность. Очевидно, что изменение нормального паттерна вдоль дорсовентральной оси путем его наложения или инверсии приводит к аддициям, гетероморфозам и прочим нарушениям. Однако среди аннелид имеются многочисленные виды, для которых характерна закладка новых особей при бесполом размножении именно в пределах вторичной оси. Такие способы усложненной столонизации обычно называют почкованием. При вентральном почковании у *Trypanosyllus asterobia* на брюшной стороне задней части животного образуется большое число многосегментных задних концов, каждый на основе отдельного сегмента материнского организма. При вентротерминальном почковании у нескольких видов *Trypanosyllus* многочисленные столоны образуются на базе 1–2 задних сегментов. Боковые, т.е. расположенные в дорсовентральной плоскости параподий, столоны формируются в ходе латерального почкования у *Syllus ramosa* (Иванова-Казас, 1977; Ribeiro *et al.*, 2018). Таким образом, восстановительные морфогенезы при изменении/нарушении дорсовентральной полярности приводят к разным последствиям: при регенерации – к уродствам, а при бесполом размножении – к успешной репродуктивной стратегии.

Представленные выше данные не оставляют сомнений в том, что при бесполом размножении молекулярная разметка тела вдоль осей имеет свои особенности. При этом наши знания свидетельствуют об анцестральности почти неограниченных регенерационных способностей, возможности вторичного ограничения восстановительных процессов определенными участками тела и многократном независимом возникновении бесполого размножения в разных группах аннелид на основе механизмов репаративной регенерации (Vorontsova, Liosner, 1960; Иванова-Казас, 1977; Короткова, 1997; Bely, Wray, 2001; Харин и др., 2006; Bely, Sikes, 2010; Zattara, Bely, 2011, 2016; Костюченко и др., 2016). В таком случае возникает вопрос: какие принципиальные изменения в мо-

лекулярной организации тела вдоль осей влияют на успешность восстановления недостающих структур? Сходства и различия разнообразных форм регенерации и бесполого размножения и их представленность в различных группах полихет и олигохет позволяют рассматривать аннелид в качестве идеальной модели для понимания фундаментальных механизмов инициации регенерации и определения клеточных потенций, эволюции программ постэмбрионального развития, в том числе поддержания или ограничения регенерационных способностей. Несмотря на длительный период изучения феномена как регенерации, так и бесполого размножения, полученные данные нередко описывают лишь общую картину на макроанатомическом уровне, особенно если это касается проблем бесполого размножения (Randolph, 1892; Herlant-Meewis, 1964; Иванова-Казас, 1977; Короткова, 1997; Bely, 2006). Появление новых моделей и современное состояние техники исследований позволяют перейти к критическому анализу изменений на клеточном и тканевом уровнях в ключе интерпретаций молекулярных данных (Харин и др., 2006; Tadokoro *et al.*, 2006; Bely, Sikes, 2010; Zattara, Bely, 2011; Novikova *et al.*, 2013; Kozin, Kostyuchenko, 2015; Костюченко и др., 2016; de Jong, Seaver, 2016, 2018; Zattara *et al.*, 2016; Козин и др., 2017).

РАННИЕ СОБЫТИЯ РЕГЕНЕРАЦИИ И БЕСПОЛОГО РАЗМНОЖЕНИЯ

С самого начала активных научных исследований регенерации и бесполого размножения у аннелид, как и у других животных, в центре внимания оказались именно клеточные и тканевые аспекты (Randolph, 1892; Herlant-Meewis, 1964; Короткова, 1997; Bely, 2006; Костюченко и др., 2016). Морфогенезы в ходе этих двух форм постэмбрионального развития обеспечиваются эпиморфозом и морфаллаксом. Для эпиморфных процессов характерно восстановление недостающих частей за счет пролиферации клеток, возникающих путем дедифференцировки имеющихся тканей, и/или особых резервных клеток, в том числе мигрирующих. При этом в подавляющем большинстве случаев образуется регенерационная бластема – совокупность недифференцированных делящихся клеток, которые позднее дают восстанавливаемый орган (часть тела). В ходе морфаллакса развитие новообразований происходит за счет изменений старых тканей без выраженной фазы пролиферации и в отсутствие бластемы (Короткова, 1997; Stocum, 2012; Козин и др., 2017).

За более чем столетие накоплено немало данных о событиях на клеточном уровне, главным образом относительно регенерации и в гораздо меньшей степени относительно бесполого размножения у аннелид (Bely, 2014; Костюченко и

др., 2016). Эпиморфоз, как правило, наблюдается в ходе восстановления недостающих частей на организменном уровне и носит ярко выраженный характер, хотя размеры бластемы могут сильно различаться. Чаще всего бластема крупная при передней регенерации и слабо развита при задней (Короткова, 1997; Костюченко и др., 2016; Козин и др., 2017). Восстановление переднего или заднего конца тела аннелид только по механизму морфаллакса, по-видимому, нехарактерно для полноценной регенерации. Однако морфаллакис очевиден при формировании *de novo* отдельных органов (например, гонад во вновь образованных сегментах, желудка за счет кишечника старых сегментов) и при респецификации ранее имевшихся сегментов, примыкающих к регенерировавшему концу (Короткова, 1997; Tadokoro *et al.*, 2006; Özpolat *et al.*, 2016; Voilly *et al.*, 2017).

Как при ампутации и последующей регенерации, так и при бесполом размножении требуется предотвращение потери жидкости тела. Это происходит с участием разнообразных типов клеток и по-разному. Как правило, велика роль клеток мышечной системы, обеспечивающих путем резкого сокращения быстрое закрытие раны сразу после разрыва (регенерация после ампутации и архитомия). Кроме того, мышцы, прежде всего кольцевые, принимают участие в процессе самого физического разделения (автотомия или паратомия). Вместе с тем одних мышечных сокращений недостаточно. Кишка за счет некоторого выпадения после ампутации или иногда быстрого сращения с эпидермисом также обеспечивает закрытие раны. К месту раны для формирования регенерационной пробки и осуществления защитной функции устремляются различные типы клеток, гомологию которых на основании результатов гистологических исследований на фиксированном материале установить очень трудно. И наконец, постоянное закрытие раны осуществляется за счет клеток раневого эпителия (Herlant-Meewis, 1964; Короткова, 1997; Lesiuk, Drewes, 1999; Kawamoto *et al.*, 2005; Харин и др., 2006; Bely, 2014; Костюченко и др., 2016; Козин и др., 2017).

Эпителизация раны путем образования раневого эпителия или сращения краев перерезанных кишечного и покровного эпителия критически важна для дальнейшей регенерации. Животные, не способные закрыть рану, погибают, не приступив к образованию регенерата (Короткова, 1997; Stocum, 2012; Костюченко и др., 2016). Эпителизация раны завершается, как правило, в течение первых суток, обычно до появления признаков активного деления клеток эпидермиса. Таким образом, уже первый критический этап регенерации обеспечивается главным образом за счет изменения формы и положения клеток старых тканей (Hill, 1970; Харин и др., 2006; Paulus, Muller, 2006; Zattara, Bely, 2011; Bely, 2014; Костюченко и др.,

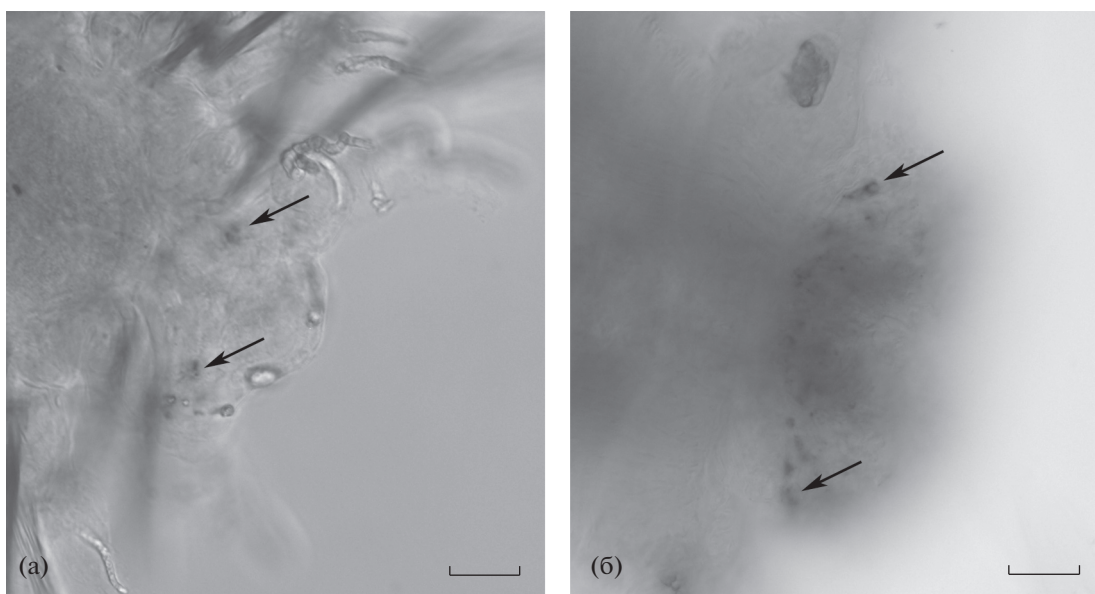


Рис. 2. Активация экспрессии генов на ранних стадиях развития заднего регенерата у полихеты *Alitta virens*, выявляемая методом гибридизации *in situ*. Стрелки указывают на локализацию сигнала мРНК. Раневая поверхность справа. а – *Avi-twist* на стадии 8 ч после ампутации, внутренние клетки. б – *Avi-foxA* экспрессируется в районе сращения краев перерезанных кишечного и покровного эпителиев до начала пролиферации клеток, 20 ч после ампутации. Масштаб: 50 мкм.

2016; Козин и др., 2017). Интересно, что при поперечном делении аннелид, даже при наиболее близком к регенерации (архитомии), и тем более при паратомии, собственно процесса заживления и формирования раневого эпителия не наблюдается (Martinez *et al.*, 2005; Костюченко и др., 2016). Однако и в этом случае начало развития необходимых пограничных образований, предотвращающих появление раны при физическом отделении одного зооида от другого, происходит благодаря изменению предсуществующей архитектуры мышечной системы и локальной модификации клеток покровного эпителия в зоне деления (Иванова-Казас, 1977; Харин и др., 2006; Бабаханова и др., 2012; Костюченко и др., 2016).

Тканевые перестройки после ампутации сопровождаются существенными изменениями во взаимодействии клеток с внеклеточным матриксом и между клетками вблизи раны (Coulon *et al.*, 1989; Dupin *et al.*, 1991; Stocum, 2012). Кроме того, отдельные клетки начинают мигрировать к ране (месту закладки зоны деления) или от нее (Костюченко и др., 2016; Zattara *et al.*, 2016). Таким образом, наиболее ранние этапы регенерации и бесполого размножения связаны с локальными изменениями старых тканей по типу морфаллаксиса.

Важно отметить, что с самого начала процессы регенерации и бесполого размножения сопровождаются “молекулярным морфаллаксисом”. Это, прежде всего, относится к системам позиционной информации и изменения молекулярного

профиля клеток. Так, клетки в зоне паратомии или в области раны начинают экспрессировать гены половых и мультипотентных клеток (*vasa*, *pl10* и *piwi*) еще до появления первых признаков пролиферации (Смирнова, Костюченко, 2007; Козин, Kostyuchenko, 2015). Столь же рано наблюдается активация экспрессии генов, кодирующих транскрипционные факторы, в том числе пионерные (рис. 2) (Kostyuchenko *et al.*, 2019; Козин, Костюченко, неопубликованные данные). Все это протекает на фоне перестройки молекулярной разметки нервной системы и молекулярной идентичности участков тела, в том числе с участием *Hox*-генов и других гомеобоксодержащих генов (Steinmetz *et al.*, 2010; Novikova *et al.*, 2013; Костюченко и др., 2016).

ПРОЛИФЕРАЦИЯ, РОСТ, ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ

В результате взаимодействия тканей в месте ранения или в месте закладки зоны деления, перегруппировки и миграции клеток создаются условия как для эпиморфоза с образованием бластемы, так и для дальнейших изменений по типу морфаллаксиса (Fontes *et al.*, 1983; Короткова, 1997; Boilly *et al.*, 2017). Для развития эпиморфного регенерата, вероятно, необходимы сигналы из центральной нервной системы. Известно, что без иннервации развития бластемы у многих видов не происходит. Раневой конец брюшной нервной цепочки может активировать регенерацию и про-

лиферативную активность клеток (Coulon, Thouveny, 1984; Muller *et al.*, 2003). Часть нервной системы, расположенная непосредственно в районе раны, претерпевает особые изменения. У полихеты *Alitta virens* уже в первые сутки после ампутации терминальная зона последнего ганглия, перерезанного в передней его части и покрытого раневым эпителием, начинает перестраиваться. При этом происходит локальное ремоделирование брюшной нервной цепочки. На этой стадии нейриты, отходящие и от обрубленного конца брюшного нервного тяжа, и от субэпителиальной сети периферической нервной системы последнего старого сегмента, насквозь пронизывают раневой эпителий (Козин и др., 2017). Развитие сети нервных волокон, охватывающей всю бластему, еще до проявления всех остальных регенеративных процессов было показано и на олигохете *Enchytraeus japonensis*, размножающейся путем архитомии (Yochida-Noro *et al.*, 2000). Вероятно, структурные, биохимические и функциональные изменения нервной системы при формировании новых зооидов свидетельствуют в пользу ведущей роли нервной системы при бесполом размножении (Martinez *et al.*, 2005; Харин и др., 2006; Zattara, Bely, 2011; Костюченко и др., 2016). Возможно, и другие системы оказывают влияние на процессы локального ремоделирования и закладки бластемных масс (Короткова, 1997; Костюченко и др., 2016).

На формирование бластемы могут влиять поточки особых, как предполагается створковых, клеток, расположенных на некотором удалении от раны. Таким образом, бластема, хотя бы частично, может быть сформирована за счет мигрирующих клеток (Короткова, 1997; Bely, 2014; Костюченко и др., 2016; de Jong, Seaver, 2018). Вместе с тем есть много моделей, на которых показано, что формирование бластемы происходит за счет локального размножения клеток и может сопровождаться дедифференцировкой клеток, входящих в состав старых тканей (Короткова, 1997; Bely, 2014; Kozin, Kostyuchenko, 2015; Костюченко и др., 2016; Никанорова, Костюченко, 2018; Шалаева и др., 2018а, б; Planques *et al.*, 2019). Наши данные свидетельствуют в пользу существенных перемещений и активной пролиферации клеток в районе зоны деления при паратомии у олигохет. При этом очевидно, что ткани всех трех зародышевых листков могут участвовать в развитии бластемных масс (Харин и др., 2006; Смирнова, Костюченко, 2007; Zattara, Bely, 2011, 2013; Бабаханова и др., 2012; Костюченко и др., 2016).

Дальнейшее развитие регенерата или зоны деления связано с ростом и дифференцировкой бластемы. Вне зависимости от начального происхождения недифференцированные клетки бластемы активно пролиферируют. Пролиферация также отмечена и в эпителиальных слоях раневого

эпителия, эпидермиса и кишечника. При этом ярко выраженные эпиморфные процессы протекают на фоне не столь заметных перестроек старых тканей. Прежде всего это касается мышечной и нервной системы. Изменяется структура мышечного каркаса, который становится более разреженным. Однако к моменту дифференцировки регенерата или зоны паратомии в нем появляются дополнительные волокна как путем встраивания новых клеточных элементов, так и путем вставочного роста. Ближайшие к ране или месту паратомии сегментные ганглии претерпевают изменения и формируют новые отростки или нервные тяжи, врастающие в бластемные массы и дающие новые терминальные структуры центральной и периферической нервной системы (Харин и др., 2006; Zattara, Bely, 2011; Костюченко и др., 2016; Özpolat, Bely, 2016; Козин и др., 2017).

Рост и дифференцировка эпиморфных новообразований сопровождаются интеркаляциями и прочими формами реаранжировки клеток, изменением степени компактности как эпителиальных, так и мезенхимных структур. По сути все это отражает очередной этап морфаллактических событий, протекающих на фоне образования новых сегментов и отделов существующих систем организма. Отметим, что при завершении процессов регенерации и бесполого размножения часто наблюдаются существенные морфаллактические изменения в пределах старых сегментов. Например, кишечная трубка в старых сегментах, примыкающих к новообразованному переднему концу животного, преобразуется в желудок, если эта структура была утрачена в результате ампутации. В других случаях меняется морфологическая идентичность некоторых старых сегментов и т.д. (Харин и др., 2006; Zattara, Bely, 2011; Костюченко и др., 2016; Özpolat, Bely, 2016; Козин и др., 2017).

Разумеется, прогресс развития регенерата или зоны деления сопровождается существенными изменениями в экспрессии генов. В это время наблюдается заметное расширение доменов экспрессии генов половых и мультипотентных клеток с последующим сужением и замещением на домены экспрессии генов спецификаторов тканей и клеточной дифференцировки. Одновременно с этим происходят заметные системные изменения молекулярного профиля не только локально, но и в пределах всего организма (Steinmetz *et al.*, 2010; Novikova *et al.*, 2013; Kozin, Kostyuchenko, 2015; Костюченко и др., 2016; de Jong, Seaver, 2016, 2018; Kostyuchenko *et al.*, 2019).

МОРФАЛЛАКСИС *versus* ЭПИМОРФОЗ?

С тех пор как Т. Морган (Morgan, 1901) разделил восстановительные процессы на два основных типа по “поведению” клеток и состоянию остатка органа (эпиморфоз и морфаллаксис) про-

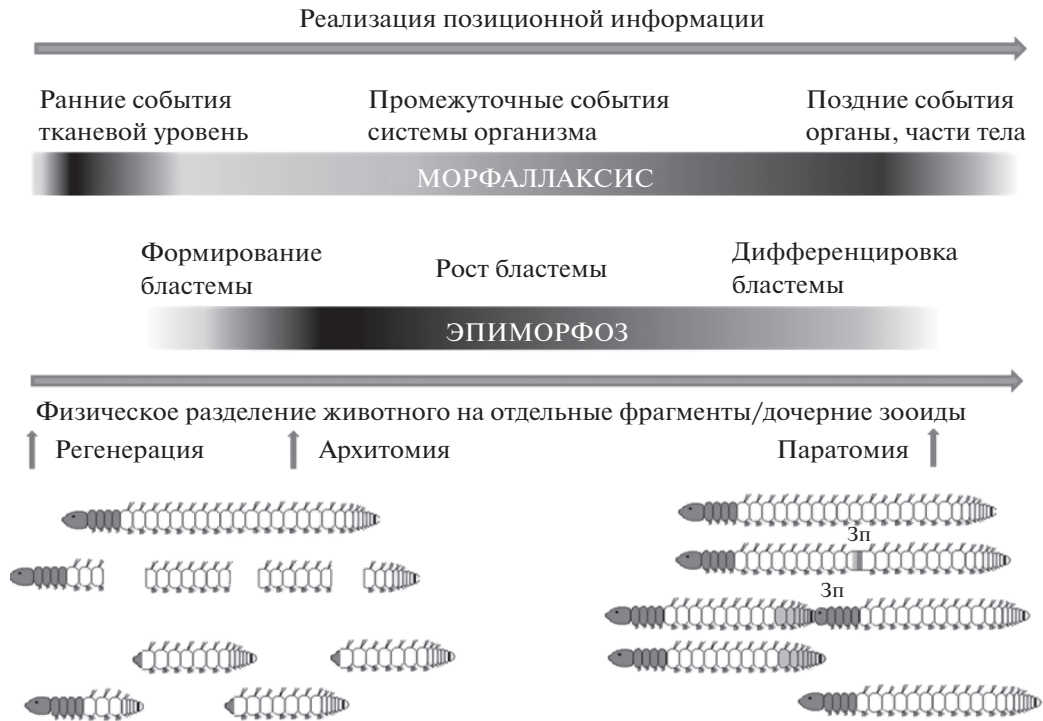


Рис. 3. Схема соотношения событий эпиморфоза и морфаллаксиса в ходе репаративной регенерации и бесполого размножения по типу поперечного деления у аннелид. Интенсивность цвета в градиентной заливке МОРФАЛЛАКСИС и ЭПИМОРФОЗ соответствует степени выраженности процесса от начала до его завершения. Вертикальными стрелками обозначено относительное время разделения животного на отдельные фрагменты при регенерации/архитомии или зооиды при паратомии.

шло немало времени. Как правило, в учебной литературе эти два типа противопоставляются один другому. Действительно, при эпиморфозе наблюдается всплеск митотической активности и формируется популяция недифференцированных клеток, называемая бластемой, а при морфаллаксисе происходит перегруппировка клеток в остатке органа или тела животного после эпителизации раны, бластема при этом не образуется. Однако некоторые исследователи считают, что деление восстановительных морфогенезов на эпиморфоз и морфаллаксис условно, потому что в некоторых случаях эти процессы сочетаются (Короткова, 1997).

В настоящей работе мы показали, что процессы морфаллактических перестроек наблюдаются при регенерации и бесполом размножении у аннелид с самых ранних стадий (рис. 3). Иницирующие механизмы, вероятно, различаются, поскольку при бесполом размножении они отражают системную регуляцию на уровне всего организма. Отправная точка при регенерации – ранение и смещение тканей, приводящее к локальному изменению идентичности позиционной информации и т.д. Очевидно, морфаллаксис – необходимое условие для дальнейших событий по типу эпиморфоза, которые у аннелид имеют ярко выраженный ха-

рактер. Вместе с тем морфаллактические процессы, хотя и не столь заметные, теперь уже на уровне локальных изменений в пределах отдельных систем организма сопровождают рост бластемных масс. На заключительном этапе восстановительных морфогенезов у аннелид морфаллаксис вновь становится очевидным, поскольку затрагивает отдельные органы и метамерные структуры. Таким образом, морфаллаксис не просто сочетается с процессами эпиморфоза, но и является необходимой составной частью всего морфогенеза, без которой невозможны полноценные инициация образования бластемы, ее роста и дифференциации и появление отдельных недостающих органов.

Исследования проведены при финансовой поддержке РФФИ 16-04-00991-а с использованием оборудования РЦ РМиКТ СПбГУ и инфраструктуры учебно-научной базы “Беломорская” (МБС) СПбГУ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Бабаханова Р.А., Смирнова Н.П., Костюченко Р.П. Дифференцировка соматических клеток как вероятный источник восстановления недостающих структур при бесполом размножении у аннелид // Цитология. 2012. Т. 54. № 4. С. 334–335.

- Иванова-Казас О.М. Бесполое размножение животных. Л.: Изд-во ЛГУ, 1977. 240 с.
- Козин В.В., Костюченко Р.П. Эволюционный консерватизм и вариабельность развития мезодермы у Spiralia: неповторимый паттерн неридных полихет // Изв. РАН. Сер. биол. 2016. Т. 43. № 3. С. 265–275.
- Козин В.В., Бабаханова Р.А., Костюченко Р.П. Участие MAP-киназного сигналинга в спецификации клеточных линий и дорсовентральной оси у примитивной гастроподы *Testudinalia testudinalis* (Patello-gastropoda, Mollusca) // Онтогенез. 2013. Т. 44. № 1. С. 42–56.
- Козин В.В., Филиппова Н.А., Костюченко Р.П. Восстановление нервной и мышечной системы в ходе регенерации полихеты *Alitta virens* (Annelida: Nereididae) // Онтогенез. 2017. Т. 48. № 3. С. 234–247.
- Короткова Г.П. Регенерация животных. СПб.: Изд-во СПбГУ, 1997. 480 с.
- Костюченко Р.П., Дондуа А.К. Закономерности формирования прототроха в эмбриональном развитии полихеты *Nereis virens* // Онтогенез. 2006. Т. 37. № 2. С. 91–99.
- Костюченко Р.П., Дондуа А.К. Особенности развития изолированных бластомеров полихеты *Alitta virens* // Онтогенез. 2017. Т. 48. № 3. С. 275–280.
- Костюченко Р.П., Козин В.В., Купряшова Е.Е. Регенерация и бесполое размножение у аннелид: клетки, гены и эволюция // Изв. РАН. Сер. биол. 2016. Т. 43. № 3. С. 231–241.
- Никанорова Д.Д., Костюченко Р.П. Процессы регенерации и особенности восстановления гонад у *Enchytraeus coronatus* (Enchytraeidae, Oligochaeta) // Зоология беспозвоночных – новый век. 2018. С. 93.
- Смирнова Н.П., Костюченко Р.П. Клеточные источники развития зоны паратомии у олигохеты *Pristina longiseta* (Naididae): клонирование и анализ экспрессии генов-маркеров стволовых и малодифференцированных клеток // Цитология. 2007. Т. 49. № 9. С. 794.
- Харин А.В., Загайнова И.В., Костюченко Р.П. Формирование зоны паратомии у пресноводных олигохет // Онтогенез. 2006. Т. 37. № 6. С. 424–437.
- Шалаева А.Ю., Костюченко Р.П., Козин В.В. Исследование митотической активности при задней регенерации беломорской полихеты *Alitta virens* // Зоология беспозвоночных – новый век. 2018а. С. 128.
- Шалаева А.Ю., Борисенко И.Е., Костюченко Р.П., Козин В.В. Кинетика клеточных популяций при регенерации и в ходе ларвального развития у беломорской полихеты *Alitta virens*: методические аспекты и первые результаты // Морские исследования и образование: MaresEdu-2018. 2018б. С. 93–97.
- Bely A. Decoupling of fission and regenerative capabilities in an asexual oligochaete // Hydrobiologia. 1999. V. 406. P. 243–251.
- Bely A., Wray G. Evolution of regeneration and fission in annelids: insights from engrailed and orthodenticle-class gene expression // Development. 2001. V. 128. P. 2781–2791.
- Bely A.E. Distribution of segment regeneration ability in the Annelida // Integr. Comp. Biol. 2006. V. 46. P. 508–518.
- Bely A.E. Early events in annelid regeneration: a cellular // Integr. Comp. Biol. 2014. V. 54. P. 688–699.
- Bely A.E., Nyberg K.G. Evolution of animal regeneration: reemergence of a field // Trends Ecol. Evol. 2010. V. 25. P. 161–170.
- Bely A.E., Sikes J.M. Latent regeneration abilities persist following recent evolutionary loss in asexual annelids // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 2010. V. 107. P. 1464–1469.
- Berrill N.J. Regeneration and budding in worms // Biol. Rev. 1952. V. 27. P. 401–438.
- Boilly B., Boilly-Marer Y., Bely A.E. Regulation of dorsoventral polarity by the nerve cord during annelid regeneration: A review of experimental evidence // Regeneration. 2017. V. 4. P. 54–68.
- Carrillo-Baltodano A.M., Meyer N.P. Decoupling brain from nerve cord development in the annelid *Capitella teleta*: Insights into the evolution of nervous systems // Dev. Biol. 2017. V. 431. P. 134–144.
- Coulon J., Thouveny Y. Relation entre l'innervation et l'activite proliferatrice des cellules blastematique au cours de la regeneration de l'annelide polychete *Owenia fusiformis*: etudes ultrastructurale et autoradiographique // Arch. Anat. Microsc. 1984. V. 73. P. 45–56.
- Coulon J., Diano M., Arsanto J.-P., Thouveny Y. Remodeling processes during anterior regeneration of *Owenia fusiformis* (Polychaeta, Annelidae): a morphological and immunocytochemical survey // Can. J. Zool. 1989. V. 67. P. 994–1005.
- de Jong D.M., Seaver E.C. A stable thoracic *Hox* code and epimorphosis characterize posterior regeneration in *Capitella teleta* // PLoS One. 2016. V. 11(2): e0149724–34.
- de Jong D.M., Seaver E.C. Investigation into the cellular origins of posterior regeneration in the annelid *Capitella teleta* // Regeneration. 2018. V. 5. P. 61–77.
- Dupin F., Coulon J., Le Parco Y., Fontes M., Thouveny Y. Formation of the extracellular matrix during the epimorphic anterior regeneration of *Owenia fusiformis*: autoradiographical and in situ hybridization studies // Int. J. Dev. Biol. 1991. V. 35. P. 109–119.
- Evolutionary developmental biology of invertebrates 2: Lophotrochozoa (Spiralia) / Ed. Wanninger A. Vienna: Springer Vienna, 2015. 289 p.
- Fontes M., Coulon J., Delgrossi M.H., Thouveny Y. Muscle dedifferentiation and contractile protein synthesis during post-traumatic regeneration by *Owenia fusiformis* (polychaete annelid) // Cell. Differ. 1983. V. 13. P. 267–282.
- Herlant-Meewis H. Regeneration in annelids // Adv. Morphogen. 1964. V. 4. P. 155–215.
- Hill S.D. Origin of the regeneration blastema in polychaete annelids // Am. Zool. 1970. V. 10. P. 101–112.
- Iwanoff P.P. Die Entwicklung der Larvalsegmente bei den Annelide // Z. Morph. Oekol. Tiere. 1928. Bd 10. S. 62–161.
- Kawamoto S., Yoshida-Noro C., Tochintai S. Bipolar head regeneration induced by artificial amputation in *Enchytraeus japonensis* (Annelida, Oligochaeta) // J. Exp. Zool. Pt A Comp. Exp. Biol. 2005. V. 303A. P. 615–627.

- Kostyuchenko R.P., Kozin V.V., Filippova N.A., Sorokina E.V.* FoxA expression pattern in two polychaete species, *Alitta virens* and *Platynereis dumerilii*: examination of the conserved key regulator of the gut development from cleavage through larval life, post-larval growth and regeneration // *Dev. Dyn.* 2019. V. 248. № 8. P. 728–743.
- Kozin V.V., Kostyuchenko R.P.* *Vasa*, *PL10*, and *Piwi* gene expression during caudal regeneration of the polychaete annelid *Alitta virens* // *Dev. Genes Evol.* 2015. V. 225. P. 129–138.
- Kozin V.V., Filimonova D.A., Kupriashova E.E., Kostyuchenko R.P.* Mesoderm patterning and morphogenesis in the polychaete *Alitta virens* (Spiralia, Annelida): Expression of mesodermal markers Twist, Mox, Evx and functional role for MAP kinase signaling // *Mech. Dev.* 2016. V. 140. P. 1–11.
- Lanza A.R., Seaver E.C.* An organizing role for the TGF- β signaling pathway in axes formation of the annelid *Capitella teleta* // *Dev. Biol.* 2018. V. 435. P. 26–40.
- Lesiuk N., Drewes C.* Autotomy reflex in a freshwater oligochaete, *Lumbriculus variegatus* // *Hydrobiologia.* 1999. V. 406. P. 253–261.
- Liu S.-Y., Selck C., Friedrich B., Lutz R., Vila-Farrer M., Dahl A., Brandl H., Lakshmanaperumal N., Henry I., Rink J.C.* Reactivating head regrowth in a regeneration-deficient planarian species // *Nature.* 2013. V. 500. P. 81–84.
- Martinez V.G., Menger G.J., 3rd, Zoran M.J.* Regeneration and asexual reproduction share common molecular changes: upregulation of a neural glycoepitope during morphallaxis in *Lumbriculus* // *Mech. Dev.* 2005. V. 122. № 5. P. 721–732.
- Morgan T.H.* Regeneration. Columbia Univ. Biol. Ser. Norwood, MA: Macmillan, 1901. 376 p.
- Muller M.C.M., Berenzen A., Westheide W.* Experiments on anterior regeneration in *Eurythoe complanata* (“Polychaeta”, Amphinomidae): reconfiguration of the nervous system and its function for regeneration // *Zoomorphology.* 2003. V. 122. P. 95–103.
- Nakamoto A., Nagy L.M., Shimizu T.* Secondary embryonic axis formation by transplantation of D quadrant micromeres in an oligochaete annelid // *Development.* 2010. V. 138. P. 283–290.
- Novikova E.L., Bakalenko N.I., Nesterenko A.Y., Kulakova M.A.* Expression of *Hox* genes during regeneration of nereid polychaete *Alitta (Nereis) virens* (Annelida, Lophotrochozoa) // *EvoDevo.* 2013. V. 4. № 14.
- Özpolat B.D., Bely A.E.* Developmental and molecular biology of annelid regeneration: a comparative review of recent studies // *Curr. Opin. Genet. Dev.* 2016. V. 40. P. 144–153.
- Özpolat B.D., Sloane E.S., Zattara E.E., Bely A.E.* Plasticity and regeneration of gonads in the annelid *Pristina leidyi* // *EvoDevo.* 2016. V. 7(1). № 22.
- Paulus T., Muller M.C.M.* Cell proliferation dynamics and morphological differentiation during regeneration in *Dorvillea bermudensis* (Polychaeta, Dorvilleidae) // *J. Morph.* 2006. V. 267. P. 393–403.
- Planques A., Malem J., Parapar J., Vervoort M., Gazave E.* Morphological, cellular and molecular characterization of posterior regeneration in the marine annelid *Platynereis dumerilii* // *Dev. Biol.* 2019. V. 445. P. 189–210.
- Randolph H.* The regeneration of the tail in *Lumbriculus* // *J. Morph.* 1892. V. 7. P. 317–344.
- Ribeiro R.P., Bleidorn C., Aguado M.T.* Regeneration mechanisms in Syllidae (Annelida) // *Regeneration.* 2018. V. 5. P. 26–42.
- Schneider S.Q., Bowerman B.* β -Catenin asymmetries after all animal/vegetal-oriented cell divisions in *Platynereis dumerilii* embryos mediate binary cell-fate specification // *Dev. Cell.* 2007. V. 13. № 1. P. 73–86.
- Sikes J.M., Newmark P.A.* Restoration of anterior regeneration in a planarian with limited regenerative ability // *Nature.* 2013. V. 500. P. 77–80.
- Steinmetz P.R.H., Urbach R., Posnien N., Eriksson J., Kostyuchenko R.P., Brena C., Guy K., Akam M., Bucher G., Arendt D.* *Six3* demarcates the anterior-most developing brain region in bilaterian animals // *EvoDevo.* 2010. V. 1. Iss. 1. № 14. P. 1–9. <https://doi.org/10.1186/2041-9139-1-14>
- Stocum D.L.* Regenerative biology and medicine. 2 ed. Amsterdam: Elsevier Sci. Publ. Co. Inc., 2012. 474 p.
- Tadokoro R., Sugio M., Kutsuna J., Tochinai S., Takahashi Y.* Early segregation of germ and somatic lineages during gonadal regeneration in the annelid *Enchytraeus japonensis* // *Curr. Biol.* 2006. V. 16. P. 1012–1017.
- Vorontsova M.A., Liosner L.D.* Asexual propagation and regeneration. London: Pergamon Press, 1960. 489 p.
- Yochida-Noro C., Myohara M., Kobari F., Tochinai S.* Nervous system dynamics during fragmentation and regeneration in *Enchytraeus japonensis* (Oligochaeta, Annelida) // *Devel. Genes Evol.* 2000. V. 210. P. 311–319.
- Zattara E.E., Bely A.E.* Evolution of a novel developmental trajectory: fission is distinct from regeneration in the annelid *Pristina leidyi* // *Evol. Dev.* 2011. V. 13. P. 80–95.
- Zattara E.E., Bely A.E.* Investment choices in post-embryonic development: quantifying interactions among growth, regeneration, and asexual reproduction in the annelid *Pristina leidyi* // *J. Exp. Zool. P B Mol. Dev. Evol.* 2013. V. 320. P. 471–488.
- Zattara E.E., Bely A.E.* Phylogenetic distribution of regeneration and asexual reproduction in Annelida: regeneration is ancestral and fission evolves in regenerative clades // *Invert. Biol.* 2016. V. 135. № 4. P. 400–414.
- Zattara E.E., Turlington K.W., Bely A.E.* Long-term time-lapse live imaging reveals extensive cell migration during annelid regeneration // *BMC Dev. Biol.* 2016. V. 16(1). № 6.
- Zattara E.E., Fernandez-Alvarez F.A., Hiebert T.C., Bely A.E., Norenburg J.L.* A phylum-wide survey reveals multiple independent gains of head regeneration ability in Nermertea // *Proc. Biol. Sci.* 2019. V. 286. Art. ID:20182524.

Morphallaxis *versus* Epimorphosis? Cellular and Molecular Aspects of Regeneration and Asexual Reproduction in Annelids

R. P. Kostyuchenko^{1, #} and V. V. Kozin¹

¹*St. Petersburg State University, Universitetskaya nab. 7/9, St. Petersburg, 199034 Russia*

[#]*e-mail: r.kostyuchenko@spbu.ru*

The article addresses the question of the role for the morphallactic and epimorphic events in regeneration and asexual reproduction in annelids. It was shown, that the tissue reorganizations and changes at molecular level occur already at the very early stages of regenerative processes. These data indicate the requirement of morphallaxis for all progressive stages of a full epimorphic regeneration, including initiation and completion, and *de-novo* formation of missing parts in new zooids during asexual reproduction.