

И. Ю. Долматов, Н. В. Бобровская, А. С. Гирич

ИГЛОКОЖИЕ КАК МОДЕЛЬНЫЕ ОБЪЕКТЫ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ МЕХАНИЗМОВ РЕГЕНЕРАЦИИ*

Иглокожие представляют собой удобные модельные объекты для изучения механизмов регенерации. Филогенетически они являются вторичноротыми животными и вместе с полухордовыми образуют группу Ambulacraria, которая является сестринской для хордовых животных. Иглокожие могут восстанавливать как небольшие придатки тела, так и все внутренние органы, включая нервную и половую системы. Кроме того, эти животные могут регенерировать крупные отделы тела, например лучи, а также восстанавливаться после разрезания на две части. Иглокожие являются примером того, что хорошие способности к регенерации могут быть обусловлены не наличием стволовых клеток, а механизмами дедифференцировки и трансдифференцировки. Основой восстановления у иглокожих является эпителиальный морфогенез. Приведены данные по клеточным механизмам регенерации и анализу транскриптомов для трех видов, которые представляются наиболее удобными и интересными объектами. Это голотурии *Eupentacta fraudatrix* и *Cladolabes schmeltzii* и морская лилия *Himerometra robustipinna*. Показано, что у *E. fraudatrix* и *H. robustipinna* при регенерации активируются гены семейств *TGF-β*, *Wnt*, *Hox*, а также многочисленные транскрипционные факторы. Преобразование внеклеточного матрикса при регенерации и бесполом размножении у голотурий происходит при участии матриксных металлопротеиназ, их ингибиторов (ТИМП) и фермента лизилоксидазы (Lox). Библиогр. 90 назв. Ил. 5.

Ключевые слова: иглокожие, регенерация, голотурии, морские лилии, трансдифференцировка.

ECHINODERMS AS MODEL OBJECTS FOR STUDY OF REGENERATION MECHANISMS

I. Yu. Dolmatov^{1,2}, N. V. Bobrovskaya¹, A. S. Girich¹

¹ A. V. Zhirmunsky Institute of Marine Biology FEB RAS, 17, ul. Palchevskogo, Vladivostok, 690041, Russian Federation; idolmatov@mail.ru; loriel@list.ru; astromoon@mail.ru

² Far Eastern Federal University, 8, ul. Sukhanova, Vladivostok, 690950, Russian Federation

Echinoderms are convenient model objects for study of regeneration mechanisms. In terms of phylogeny, echinoderms are deuterostomes and therefore have a near common ancestor with vertebrates. Echinoderms can regenerate small body appendages and all internal organs, including nerve system and gonads. Moreover, these animals can regenerate large body regions, like arms or even the whole body after cut in two halves. Good regenerative capacities of echinoderms are the results of mechanisms of dedifferentiation and transdifferentiation but not stem cells. The basis of regeneration of the animals is epithelial morphogenesis. Data cited about cellular mechanisms of regeneration and transcriptome analysis for three species which are most convenient and interesting objects. These are holothurians *Eupentacta fraudatrix* and *Cladolabes schmeltzii*, and sea lily *Himerometra robustipinna*. It was shown that gene families *TGF-β*, *Wnt*, *Hox*, and numerous transcription factors are activated during regeneration in *E. fraudatrix* and *H. robustipinna*. Extracellular matrix remodeling during regeneration and fission in holothurians occurred by participation of matrix metalloproteinases, their inhibitors (TIMP), and lysyl oxidase (Lox). Refs 90. Figs 5.

Keywords: echinoderms, regeneration, holothurians, sea lilies, transdifferentiation.

И. Ю. Долматов (idolmatov@mail.ru): Институт биологии моря им. А. В. Жирмунского ДВО РАН, Российская Федерация, 690041, Владивосток, ул. Пальчевского, 17; Дальневосточный федеральный университет, Российская Федерация, 690950, Владивосток, ул. Суханова, 8; Н. В. Бобровская (loriel@list.ru), А. С. Гирич (astromoon@mail.ru): Институт биологии моря им. А. В. Жирмунского ДВО РАН, Российская Федерация, 690041, Владивосток, ул. Пальчевского, 17.

* Исследование выполнено при поддержке грантов Правительства России (№ 11.G34.31.0010), Российского фонда фундаментальных исследований (№ 14-04-00239) и Президиума ДВО РАН (№14-III-B-06-067).

Введение

Любое живое существо на Земле хотя бы в минимальной степени способно к регенерации. Под термином «регенерация» подразумевается совокупность морфогенетических явлений, общей чертой которых является восстановление утраченной структуры и функции [1–3]. За долгое время изучения этого феномена был собран обширный описательный материал, разработаны основные положения теории регенерации [4–8]. Тем не менее, несмотря на интенсивное изучение и достигнутый в последнее время прогресс в понимании молекулярных механизмов, основные теоретические вопросы регенерации, такие как происхождение и эволюция механизмов восстановительных процессов, клеточные источники регенерации и ряд других, далеки от своего решения.

Основной причиной этого является сложность самого феномена регенерации. Ответные реакции организма на повреждение чрезвычайно многообразны. Они обнаруживаются на всех уровнях организации живой материи, от субклеточного до организменного, имеют разные механизмы и, вероятно, различное происхождение и эволюцию [2, 3, 9]. Восстановительные реакции зависят от стадии жизненного цикла, степени и места повреждения. Кроме того, близкие виды часто значительно отличаются друг от друга по своим восстановительным свойствам [3, 10]. Например, сравнительный анализ регенерации скелетной и сердечной мускулатуры, а также некоторых других тканей млекопитающих показал, что полнота и интенсивность восстановления в ответ на однотипное повреждение варьирует даже у таксономически близких видов [11].

Еще одной причиной является небольшое число видов, у которых исследуется регенерация. Работа проводится главным образом на трех группах животных — Cnidaria (гидроидные полипы и актинии), Turbellaria (различные виды планарий) и Vertebrata (костистые рыбы и амфибии) [12–14]. Несмотря на интересные и важные результаты, полученные при изучении перечисленных модельных объектов, эти исследования, на наш взгляд, имеют один существенный недостаток: используемые виды животных напрямую не связаны друг с другом, они представляют собой давно разошедшиеся таксоны, имеющие мало общего как в морфологии, так и в эмбриональном развитии и регенерации. Все это не дает возможности проводить сравнительный анализ и делать какие-либо заключения о происхождении и путях эволюции восстановительных способностей и механизмов. Для того чтобы получить более полную картину, необходимо увеличение числа модельных объектов.

Почему иглокожие?

Иглокожие в плане решения проблем регенерации представляют собой уникальную группу. Филогенетически они являются вторичноротыми животными и вместе с полухордовыми образуют группу Ambulacraria, которая является сестринской для хордовых животных [15]. История развития иглокожих насчитывает не один миллион лет, время их появления датируется, вероятно, кембрийским периодом, поскольку уже в раннем ордовике существовало несколько классов этих животных, в частности ромбиферы и морские лилии [16, 17]. Кроме того, иглокожие — одна из немногих групп, у которой наличие регенерации установлено еще для палеозойских

представителей. Палеонтологические данные свидетельствуют, что морские лилии уже в начале палеозоя обладали способностью к регенерации [18, 19]. В более поздних отложениях встречаются многочисленные остатки регенерирующих стебельчатых морских лилий, офиур и морских звезд [17, 20–24].

У современных иглокожих регенераторные реакции хорошо выражены и достаточно разнообразны [2, 25–28]. Эти животные могут восстанавливать небольшие придатки тела, такие как щупальца, амбулакральные ножки, цирри и иглы, заживлять кожные раны. Иглокожие способны регенерировать все внутренние органы, включая гонаду [2, 25, 29–31]. Кроме того, они могут регенерировать крупные отделы тела, например лучи, а также восстанавливаться после разрезания на две части [27, 32–36].

Особенностью регенерации иглокожих является то, что восстановление у них протекает без участия стволовых клеток. До настоящего времени многочисленные попытки обнаружить стволовые клетки у иглокожих к успеху не привели [37]. Анализ имеющихся данных показывает, что формирование утраченных органов у этих животных происходит за счет дедифференцировки специализированных клеток оставшихся частей органов [2, 27, 31, 35, 38, 39]. Основным механизмом восстановления является эпителиальный морфогенез. В некоторых случаях, когда происходит полное удаление какого-то типа клеток, регенерация осуществляется за счет трансдифференцировки [40, 41]. В настоящее время наиболее полно изучена регенерация у представителей двух классов иглокожих — *Holothuroidea* (голотурии) и *Crinoidea* (морские лилии).

Голотурии как модельные объекты

Голотурии, или морские огурцы, имеют вытянутое, часто червеобразное тело, снабженное разнообразными выростами. Как и все иглокожие голотурии являются исключительно морскими животными. Они обитают во всех регионах мирового океана в широком диапазоне глубин, от мелководных, приливно-отливных зон до глубины 5000 м и более. В большинстве своем голотурии — бентосные организмы, однако среди них есть и плавающие виды [42, 43] и, возможно, полностью пелагические [44]. Эти животные имеют большое значение в качестве объектов добычи и марикультуры в странах Юго-Восточной Азии и Австралии, где используется около 47 видов голотурий [45, 46].

Исследования регенерации у голотурий чаще всего связаны с изучением восстановления внутренних органов, поскольку у этих животных имеется уникальная разновидность аутомии — эвисцерация. При некоторых воздействиях они выбрасывают часть внутренних органов. Удаление внутренностей может происходить двумя различными способами — через передний или задний концы тела (рис. 1). При эвисцерации через задний конец тела удаляется средняя часть пищеварительной трубки, расположенная между пищеводом и клоакой, а также органы дыхания (водные легкие) [32–34, 47]. Этот способ характерен главным образом для голотурий отряда *Aspidochirotida*. Эвисцерация через передний конец встречается исключительно у представителей отряда *Dendrochirotida* [34, 47]. При таком способе происходит удаление орального комплекса органов (аквафарингеального комплекса, АК; на рис. 1 — ак) и всего пищеварительного тракта, за исключением клоаки.

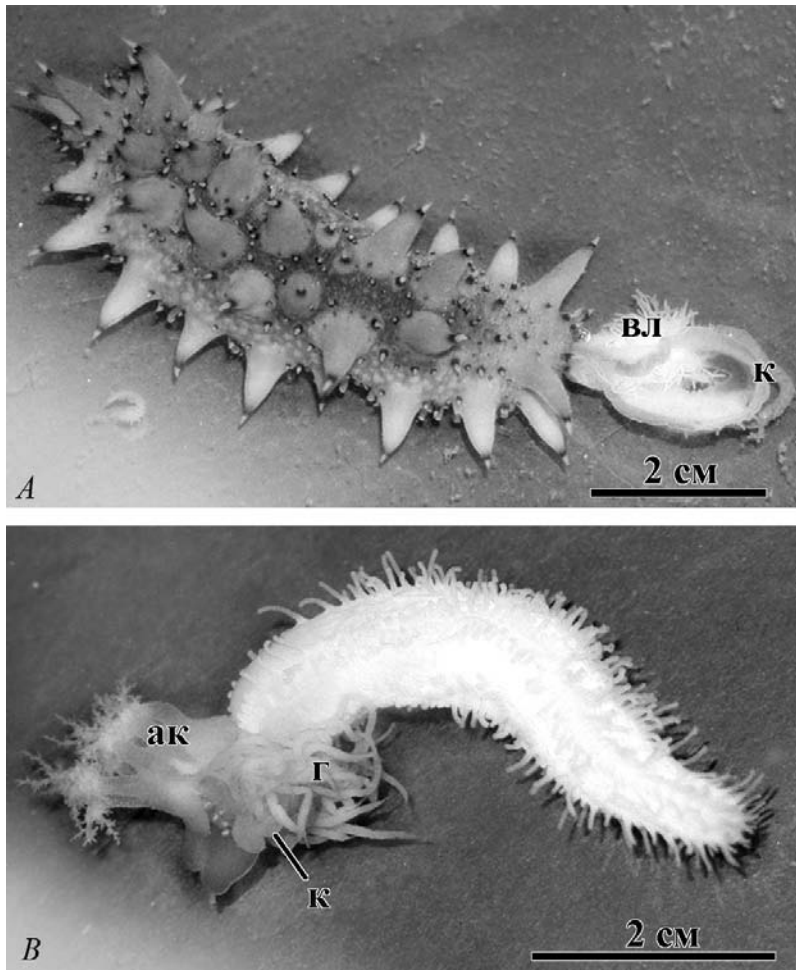


Рис. 1. Два способа эвисцерации у голотурий:

А — эвисцерация через анальное отверстие у дальневосточного трепанга *Apostichopus japonicus*; Б — эвисцерация через передний конец тела у *Eupentacta fraudatrix*. ак — аквафарингеальный комплекс; вл — водные легкие; г — гонада; к — кишка.

В настоящее время активно исследуется регенерация после эвисцерации у двух видов голотурий, принадлежащих отряду Aspidochirotida, — *Holothuria glaberrima* и дальневосточного трепанга *Apostichopus japonicus*. У этих животных были исследованы клеточные механизмы регенерации пищеварительной системы и водных легких [48–50]. Кроме того, было проведено секвенирование транскриптомов зачатков кишки на некоторых стадиях регенерации [51, 52]. Показано, что при восстановлении кишечника активируются гены *survivin*, *mortalin*, *TCTP*, *BMP1*, *Wnt9* [53, 54]. Тем не менее, на наш взгляд, данные виды голотурий являются не совсем удачными модельными объектами. Дело в том, что при эвисцерации у них удаляется только средний отдел кишки и водные легкие, большая часть органов не повреждается.

Соответственно, исследование регенерации ограничено пищеварительной и дыхательной системами.

Более разнообразные восстановительные реакции характерны для голотурий отряда Dendrochirotida, у которых эвисцерация осуществляется через передний конец тела. Как уже указывалось, при таком способе аутоотомии происходит удаление всей пищеварительной системы и АК. Последний является важной структурой голотурий. В его состав входят такие интегрирующие органы, как нервное кольцо и кольцевой канал амбулакральной системы (рис. 2, А). Кроме того, АК содержит щупальца, ряд органов амбулакральной системы, мышцы, начальные отделы пищеварительной системы [34, 55]. Соответственно, регенерация после эвисцерации

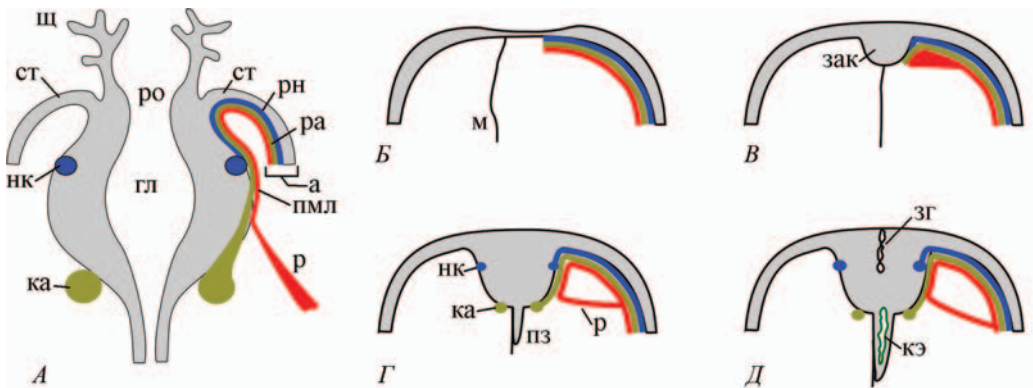


Рис. 2. Схемы строения аквафарингеального комплекса и последовательных стадий его регенерации у голотурии *Eupentacta fraudatrix*:

А — неповрежденный АК; Б — передняя часть голотурии через одни сутки после эвисцерации; В — зачаток АК через 5 суток после эвисцерации; Г — зачаток АК через 7 суток после эвисцерации; Д — зачаток АК через 8–10 суток после эвисцерации. а — амбулакр; гл — глотка; зак — зачаток АК; зг — зачаток глотки; ка — кольцевой канал амбулакральной системы; кэ — кишечный эпителий; м — кишечный мезентерий; нк — нервное кольцо; пз — передний зачаток кишки; пмл — продольная мышечная лента; р — мускулоретрактор АК; ра — радиальный амбулакральный канал; рн — радиальный нервный тяж; ро — ротовое отверстие; ст — стенка тела; щ — щупальце.

у Dendrochirotida включает в себя восстановление структур практически всех систем органов — пищеварительной, амбулакральной, нервной и мышечной. В связи с этим голотурии отряда Dendrochirotida представляют собой более интересные модельные объекты для изучения механизмов регенерации. В настоящее время проводятся исследования на двух видах из этого отряда — *Eupentacta fraudatrix* и *Cladolabes schmeltzii*.

Голотурия *Eupentacta fraudatrix*

Голотурия *E. fraudatrix* (сем. Sclerodactylida, отр. Dendrochirotida) является обычным представителем фауны Японского моря. Она способна к эвисцерации через передний конец тела. Регенерация в летние месяцы при температуре воды 18–20 °С занимает примерно 30 суток [2, 56].

При эвисцерации у голотурий удаляется АК и вся пищеварительная система, за

исключением клоаки (рис. 2, Б; 3, А, Б). В первые сутки после выброса происходит заживление раны на переднем конце животного (рис. 2, Б). Восстановление внутренних органов начинается на вторые-третьи сутки после эвисцерации с регенерации АК [57]. Его зачаток формируется в виде соединительнотканного утолщения на переднем конце голотурии. Затем в него врастают радиальные структуры стенки тела голотурий, амбулакры. Каждый из пяти амбулакров образован радиальным нервным тяжом, радиальным каналом амбулакальной системы и продольной мышечной лентой (рис. 2, А). На третьи сутки после эвисцерации в оборванных передних участках амбулакров начинается дедифференцировка, пролиферация и миграция клеток. При этом эпителиальная организация амбулакальных каналов и нервных тяжей сохраняется, межклеточные контакты не разрушаются. За счет активного деления клеток и их миграции радиальные амбулакральные каналы и радиальные нервные тяжи постепенно растут по зачатку АК назад (рис. 2, В). Через 7 суток после эвисцерации концевые отделы амбулакальных каналов раздваиваются, объединяются с соседними каналами и образуют амбулакральное кольцо вокруг АК (рис. 2, Г). Сходным образом за счет преобразования концов нервных тяжей развивается и нервное кольцо. Мышцы-ретракторы АК формируются из клеток целомического эпителия, покрывающего продольные мышечные ленты в месте повреждения [2, 58, 59]. Позднее, на 8–10-е сутки после эвисцерации в соединительную ткань зачатка АК мигрируют клетки эпидермиса и энтероциты переднего зачатка кишки, формируя выстилку пищеварительной системы (рис. 2, Д). Полностью АК восстанавливается на 20–26-е сутки.

Особенностью регенерации пищеварительной системы у голотурий является то, что она формируется из двух зачатков [28, 31]. Последние развиваются в виде соединительнотканых утолщений края кишечного мезентерия у переднего и заднего концов животного (рис. 3, В, Г). Дальнейший рост зачатков навстречу друг другу приводит к их объединению и формированию единой кишечной трубки (рис. 3, Д). Задний зачаток образуется в результате преобразования тканей клоаки, его выстилка имеет, очевидно, энтодермальное происхождение.

Наиболее интересным является образование переднего зачатка, поскольку у *E. fraudatrix* после эвисцерации в передней части никаких энтодермальных тканей не остается (рис. 3, Б). Кишечная выстилка здесь образуется за счет трансдифференцировки клеток мезотелия (целомического эпителия) [40]. Через 5 суток после эвисцерации целомический эпителий, покрывающий передний зачаток кишки, начинает формировать складки и погружаться в подлежащую соединительную ткань (рис. 3, Е). По мере погружения происходит дедифференцировка клеток. Несмотря на достаточно серьезные структурные перестройки, клетки целомического эпителия не теряют связи между собой, межклеточные контакты не разрушаются. Оставаясь в составе погружающегося эпителия, дедифференцированные клетки начинают митотически делиться. Через 8–10 суток после эвисцерации складки отделяются от основной части эпителия, сливаются друг с другом и формируют кишечную выстилку переднего зачатка кишки (рис. 3, Ж, З). К этому моменту преобразование клеток завершено, в их цитоплазме обнаруживаются секреторные гранулы, типичные для энтероцитов. В целом формирование пищеварительной системы и структур АК у *E. fraudatrix* происходит за счет преобразования клеток оставшихся органов [2]. Основой регенерации является эпителиальный морфогенез.

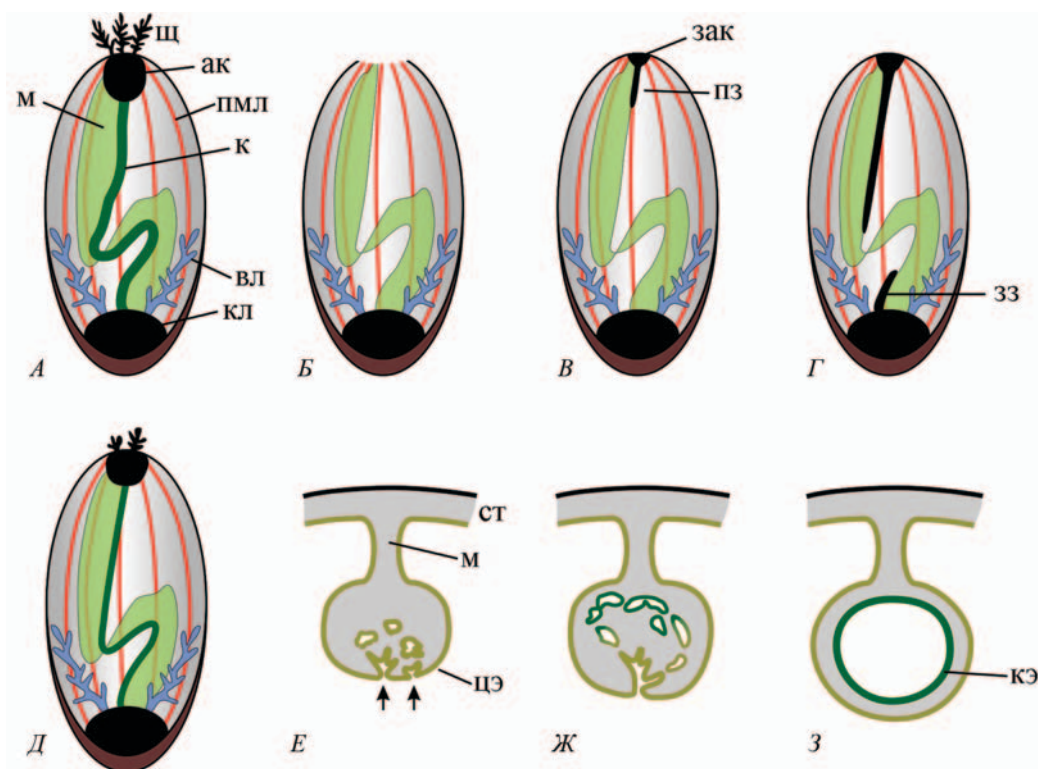


Рис. 3. Схема регенерации внутренних органов у *Eupentacta fraudatrix*:

А — неповрежденное животное; Б — животное сразу после эвисцерации; В — 5–7 суток после эвисцерации; Г — 16–18 суток после эвисцерации; Д — 26–30 суток после эвисцерации; Е — погружение целомического эпителия в соединительную ткань зачатка кишки через 5–7 суток после эвисцерации; Ж — объединение погружившихся складок целомического эпителия через 8 суток после эвисцерации; З — сформированный кишечный эпителий через 10 суток после эвисцерации. ак — аквафарингеальный комплекс; вл — водные легкие; зак — зачаток АК; зз — задний зачаток кишки; к — кишка; кл — клоака; кэ — кишечный эпителий; м — кишечный мезентерий; пз — передний зачаток кишки; пмл — продольная мышечная лента; ст — стенка тела; цэ — целомический эпителий; щ — щупальца. Стрелками обозначены места погружения целомического эпителия. Гонада не показана.

В регуляции такого сложного процесса, как регенерация АК и кишки у *E. fraudatrix* задействовано большое число генов. Предварительный анализ транскриптомов зачатков на ранних этапах регенерации (3, 5 и 7 суток после эвисцерации) выявил наличие транскриптов около 6000 генов [60]. Помимо структурных и генов домашнего хозяйства (“house-keeping”) генов обнаружилось большое число продуктов регуляторных генов. Прежде всего, это компоненты ряда сигнальных путей, активных в различных морфогенезах у многоклеточных (Wnt, TGF- β , Hippo, Notch, Hedgehog), а также транскрипционные факторы.

Особое внимание было обращено на гены семейства TGF- β и их антагонистов, поскольку они участвуют в формировании дорсо-вентральной оси животных [61]. У *E. fraudatrix* были обнаружены транскрипты генов *activin B* и *follistatin*. С помощью ПЦР в реальном времени (Q-PCR) была изучена экспрессия *activin B* и *follistatin* в неповрежденных АК и передней части кишки (контроль) и в их зачатках на разных

сроках восстановления [62]. Было показано, что активность этих генов меняется в процессе регенерации. В первые дни восстановления концентрация их продуктов снижается по сравнению с таковой в неповрежденных тканях и к 7-м суткам после эвисцерации уменьшается почти в 5 раз. Однако к 10-м суткам после эвисцерации активность *activin B* и *follistatin* вновь увеличивается. Концентрация их транскриптов достигает 60–80% от контроля. В это время у *E. fraudatrix* происходит формирование основных передних структур, в частности глоточного отдела, щупалец, органов амбулакральной системы. Возможно, что активность *activin B* и *follistatin* в данный период связана с регуляцией регенерации этих органов. В дальнейшем экспрессия обоих генов постепенно падает и практически прекращается на 20-е сутки после эвисцерации. Возвращение к исходным уровням активности, характерным для неповрежденных тканей голотурии, скорее всего, происходит позднее. Синхронное изменение экспрессии обоих генов при регенерации у голотурий, вероятно, указывает на то, что их продукты взаимодействуют друг с другом и участвуют в регуляции одних и тех же процессов.

У *E. fraudatrix* при регенерации происходит активация и другого важного сигнального пути — Wnt [63, 64]. Были обнаружены транскрипты генов сигнальных молекул *Wnt4a*, *Wnt4b*, *Wnt6* и *Wnt16*; рецепторов *frizzled* и *LRP5/6*; мессенджеров, опосредующих передачу сигнала, — β -*catenin* и *disheveled*. Экспрессия генов *Wnt* начинается с третьих суток после эвисцерации и продолжается в течение всего процесса восстановления. При этом активность разных *Wnt* стадийспецифична. Продукты *Wnt4b* обнаруживаются в зачатках в течение всей регенерации. Гены *Wnt4a* и *Wnt16* экспрессируются на ранних этапах восстановления (3–5 суток после эвисцерации) и в период активного морфогенеза (7–14 суток после эвисцерации). Транскрипты *Wnt6* выявляются в тканях зачатка только на 5–7-е сутки после эвисцерации.

При регенерации у *E. fraudatrix* активируется большое число транскрипционных факторов [60]. Были выявлены транскрипты генов семейств *Six*, *Tbx* и *Pax*, а также генов *Otx1* и *Mef2*. Эти транскрипционные факторы у *E. fraudatrix*, вероятно, регулируют закладку различных структур, в том числе мускулатуры и органов нервной системы.

Особый интерес вызывают молекулярные механизмы трансдифференцировки мезодермальных клеток в энтероциты при регенерации кишки. У *E. fraudatrix* были идентифицированы транскрипты ряда Krüppel-подобных факторов, *c-myc*, *Sox17 α* и гена, содержащего домен POU [60]. Известно, что у млекопитающих продукты *KLF4*, *Sox2*, *c-myc* и *Oct4* (*POU5F1*) участвуют в трансформации фибробластов в ипс-клетки [65]. В спецификации энтодермы и формировании пищеварительной системы у позвоночных заметную роль играют гены семейства *Sox*, в частности *Sox17 α* и *Sox17 β* [66–68]. Большое число генов семейства *Sox* экспрессируется на поздних стадиях гаструляции у морских ежей [69]. В связи с этим выявленный у *E. fraudatrix* ген, содержащий домен POU, а также Krüppel-подобные факторы, *c-myc* и *Sox17 α* можно рассматривать в качестве кандидатов на роль регуляторов процессов восстановления кишки и трансдифференцировки.

Преобразование внеклеточного матрикса играет большую роль в морфогенезе многоклеточных животных [70]. У голотурий зачатки ряда органов, в частности АК и кишки, на ранних стадиях формирования представляют собой соединительно-тканые образования. Основными компонентами, модифицирующими внеклеточный

матрикс, являются специальные ферменты, матриксные металлопротеиназы (ММП), а также их ингибиторы, тканевые ингибиторы металлопротеиназ (ТИМП). С помощью биохимических методов у голотурии *E. fraudatrix* в тканях пищеварительной системы и АК были выявлены четыре протеазы, обладающие желатиназной активностью [56]. Их молекулярная масса составила 132, 58, 53 и 47 кДа. По своим свойствам эти ферменты являются цинк-зависимыми металлопротеиназами. Все 4 протеазы проявляют дифференциальную активность при регенерации у голотурий. Протеаза 132 кДа наиболее активна в первые сутки после повреждения. Блокирование желатиназной активности ингибитором (1,10-фенантролином) на этой стадии приводит к полной остановке регенерации и гибели животных. В начальный период формирования передних органов (3–7 суток после эвисцерации) наиболее активны протеазы 53 и 58 кДа. При блокировании ферментов 1,10-фенантролином на 5-е сутки после эвисцерации происходит замедление регенерации. Отмена блокатора приводит к возобновлению прежней скорости регенерации и формированию нормальных органов.

Анализ транскриптомов регенерирующих органов у *E. fraudatrix* выявил наличие транскриптов нескольких генов ММП и ТИМП, а также *Lox* (*lysyl oxidase*) [60]. У позвоночных лизилоксидаза является важным фактором модификации соединительной ткани [71]. С помощью этого фермента формируются поперечные сшивки между волокнами коллагена и эластина (cross-link complex). У *E. fraudatrix* эти гены обнаруживаются на всех стадиях регенерации. Очевидно, что *Lox*, ММП и ТИМП принимают участие в синтезе и модификации внеклеточного матрикса при восстановлении у голотурий.

Голотурия Cladolabes schmeltzii

Голотурия *C. schmeltzii* (сем. Sclerodactylida, отр. Dendrochirotida) широко распространена в Тихом океане, ее ареал простирается от южных берегов Китая до Австралии [72]. Она интересна тем, что может регенерировать не только передние, но и задние структуры после поперечного разрезания. Кроме того, этот вид способен к бесполому размножению путем поперечного деления (рис. 4) [33]. В связи с этим *C. schmeltzii* является удобным объектом для исследования механизмов деления голотурий, а также для сравнительного анализа морфогенезов в ходе репаративной регенерации и при бесполом размножении. Для *C. schmeltzii* в настоящее время достаточно подробно описаны клеточные механизмы восстановления пищеварительной системы, водных легких и ряда других структур после поперечного разрезания и в ходе бесполого раз-

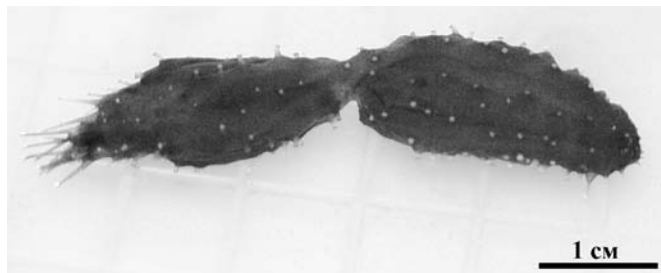


Рис. 4. Поперечное деление голотурии *Cladolabes schmeltzii*

множения [73]. Регенерация в обоих случаях осуществляется за счет дедифференцировки, миграции и пролиферации клеток сохранившихся тканей. У *C. schmeltzii*, как и у *E. fraudatrix*, основой восстановления является эпителиальный морфогенез.

Особый интерес данной модели состоит в возможности изучения механизмов бесполого размножения. Основными вопросами здесь являются определение места деления и механизмы разделения тела. В связи с этим было проведено секвенирование транскриптомов структур места деления в норме и при бесполом размножении у *C. schmeltzii* (Долматов, Афанасьев, неопубликованные данные). Место формирования перетяжки у голотурий является видоспецифическим признаком [74] и, очевидно, должно маркироваться продуктами определенных генов. У большинства животных передне-заднюю ось и регионализацию тела вдоль нее определяет экспрессия генов семейств *Wnt* и *Hox* [75, 76]. У нормальных особей *C. schmeltzii* в средней части тела выявляются продукты двух генов *Hox* — *Hox6* и *Hox9/10*. Однако у голотурий, находящихся в процессе деления, в месте перетяжки транскрипты *Hox* не обнаруживались. С одной стороны, это может означать, что *Hox* не участвуют в определении места деления у голотурий. Но, с другой стороны, возможно, что активное выключение *Hox6* и *Hox9/10* необходимо для начала деления.

У нормальных особей *C. schmeltzii* в средней части тела обнаружена экспрессия большого числа генов семейства *Wnt* [63]. Здесь присутствуют транскрипты *Wnt1*, *Wnt2*, *Wnt3*, *Wnt4*, *Wnt5*, *Wnt6*, *Wnt7*, *Wnt10* и *Wnt16*. У делящихся голотурий в месте перетяжки также обнаружены продукты большинства генов этого семейства, но транскрипты *Wnt3*, *Wnt5* и *Wnt6* отсутствуют. Очевидно, что белки *Wnt* участвуют в регуляции разных функций, как в норме, так и при бесполом размножении, что объясняет такое разнообразие транскриптов генов семейства *Wnt*. Возможно, они задействованы и в маркировке места деления. Однако для выявления *Wnt*, дифференциально экспрессирующихся вдоль передне-задней оси голотурии, необходимы дополнительные исследования.

Стенка тела голотурий представлена толстым слоем соединительной ткани, поэтому преобразование внеклеточного матрикса играет особую роль при бесполом размножении данных животных. При делении голотурий происходит преобразование и локальное разрушение соединительной ткани стенки тела. В этих процессах, вероятно, принимают участие ММП, ТИМП и *Lox*. У *C. schmeltzii* было обнаружено несколько генов ММП, гомологичных генам *collagenase 3*, *72 kDa collagenase*, *MMP14*, *MMP16* и *MMP19* морского ежа *Strongylocentrotus purpuratus* (Долматов, Афанасьев, неопубликованные данные). Интересно, что большее разнообразие транскриптов, кодирующих различные протеиназы, обнаруживается у нормальных животных, у которых в средней части тела выявлены транскрипты семи генов протеиназ. У делящихся голотурий в месте перетяжки активированы только три гена протеиназ — протеиназа неустановленной гомологии, *collagenase 3* и *MMP14*.

Помимо протеиназ как у нормальных, так и у делящихся животных выявлены транскрипты генов ТИМП и *Lox*. Очевидно, что при бесполом размножении ТИМП ограничивает место разрушения соединительной ткани стенки тела, а лизилоксидаза способствует восстановлению связей между волокнами коллагена и укреплению внеклеточного матрикса. Совместное скоординированное взаимодействие протеиназ, ТИМП и *Lox* обеспечивает локальное размягчение и разрыв стенки тела в строго определенном месте вдоль передне-задней оси тела.

Морские лилии как модельные объекты

Регенерацию у морских лилий исследуют достаточно давно [77]. Основное число работ посвящено изучению восстановления рук после их аутоотомии [25]. Однако, на наш взгляд, более интересной является регенерация внутренних органов у этих животных. Комплекс внутренних органов морских лилий (висцеральная масса) представлен главным образом спирально закрученной кишечной трубкой и аксиальным органом, расположенными в углублении чашечки. Более ста лет назад было показано, что у ряда видов морских лилий полное удаление висцеральной массы не приводит к гибели животного [77]. У таких особей происходит быстрая регенерация утраченных структур. Поскольку при удалении висцеральной массы теряются все энтодермальные ткани, восстановление кишечника происходит за счет клеток — производных других зародышевых листков, т. е. в результате трансдифференцировки. К сожалению, регенерация кишки у морских лилий практически не исследована. Имеются только три публикации по этому вопросу [41, 77, 78]. В настоящее время исследования по регенерации проводятся только на одном виде — *Himerometra robustipinna*.

Морская лилия *Himerometra robustipinna*

Морская лилия *H. robustipinna* является обычным представителем фауны Южно-Китайского моря [79]. Недавно нами было показано, что этот вид способен к аутоотомии висцеральной массы и быстрой ее регенерации [80, 81].

Восстановление органов у *H. robustipinna* происходит в течение 5–7 дней (рис. 5). Через 6 ч после удаления висцеральной массы поверхность чашечки покрывается слоем коагулировавшей целомической жидкости (рис. 5, А, Б). Через 12 ч после аутоотомии он замещается скоплением дедифференцированных клеток, сформированным, по-видимому, клетками, мигрировавшими из целомического эпителия мезентериев кишечного целома, эпидермиса и соединительной ткани (рис. 5, В, Г). Позднее однородный слой клеток начинает разделяться на две части. Наружная часть дает начало эпидермису и целомическому эпителию, а внутренняя — кишечному эпителию. Будущие энтероциты по мере дифференцировки собираются в небольшие скопления. Через одни сутки после аутоотомии из них образуется зачаток кишки (рис. 5, Д, Е). К этому времени на оральной стороне чашечки формируется покровный эпидермис и амбулакральные желобки. Через двое суток после аутоотомии в центральной части висцеральной массы видно ротовое отверстие.

На данной стадии регенерации кишка уже сформирована. Стенка пищеварительной системы состоит из кишечного и целомического эпителиев, между которыми располагается слой бесструктурного внеклеточного матрикса, заполненного целомоцитами. Клетки кишечного эпителия высотой около 40 мкм расположены на тонкой базальной мембране. Они имеют микроворсинки и хорошо развитые реснички, в апикальной части энтероциты связаны между собой септированными контактами. Некоторые энтероциты уже проявляют секреторную активность: в их апикальной цитоплазме видны небольшие секреторные вакуоли.

На четвертые сутки после аутоотомии формируется анальное отверстие. Клоака в виде небольшого бугорка обнаруживается на пятые сутки после аутоотомии (рис. 5, Ж, З), а к седьмым суткам она хорошо заметна. Таким образом, *H. robustipinna* в течение 5–7 суток полностью регенерирует пищеварительную систему. В восста-

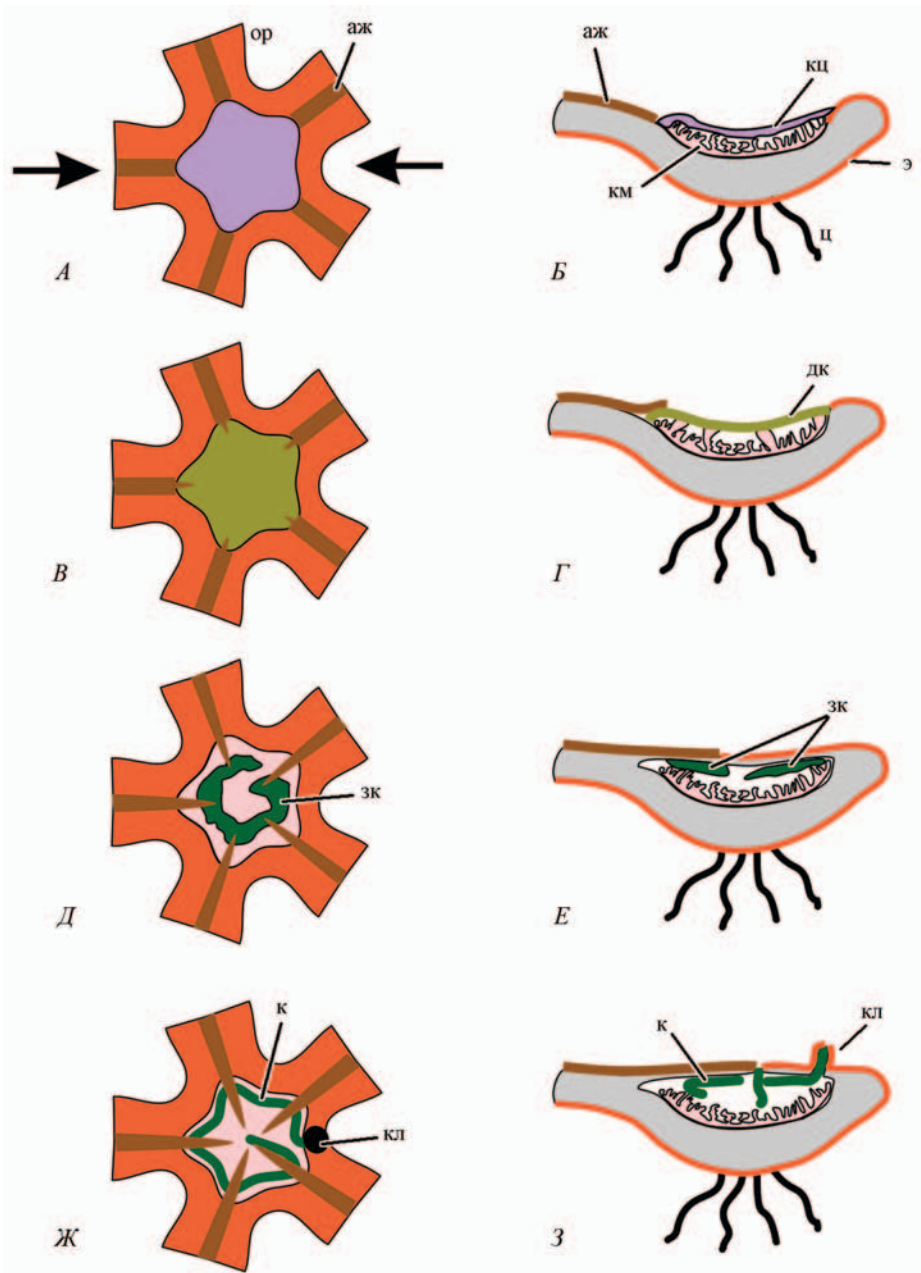


Рис. 5. Схема последовательных стадий регенерации кишки у *Himerometra robustipinna*:

А, В, Д, Ж — вид сверху; Б, Г, Е, З — поперечный срез (плоскость разреза указана стрелками). А, Б — закрытие раны слоем коагулировавшей целомической жидкости через 6 ч после аутономии; В, Г — формирование слоя дедифференцированных клеток через 12 ч после аутономии; Д, Е — формирование зачатка кишки через 24 ч после аутономии; Ж, З — образование клоаки через 5 суток после аутономии. аж — амбулакральный желобок; дк — слой дедифференцированных клеток; зк — зачаток кишки; к — кишка; кл — клоака; ор — основание руки; км — кишечные мезентерии; кц — слой коагулировавшей целомической жидкости; ц — цирри; э — эпидермис. На рис. 5, Д и Ж эпидермис на оральной стороне чашечки не показан.

новлении принимают участие дифференцированные клетки целомического эпителия кишечного целома, эпидермиса и соединительной ткани, которые, вероятно, дают начало всем типам клеток висцеральной массы, включая энтероциты.

В настоящее время проведено секвенирование транскриптомов кишки у *H. robustipinna* в норме и на трех стадиях регенерации — через одни, двое и четверо суток после аутоотомии (Долматов, неопубликованные данные). Предварительный анализ полученных данных показал, что при восстановлении пищеварительной системы уже через одни сутки после аутоотомии происходит активация почти всего набора генов *Hox*. Из 10 имеющихся у иглокожих генов *Hox* не были выявлены транскрипты только *Hox3* и *Hox8*. По-видимому, продукты *Hox* участвуют в разделении единого зачатка на территории, каждая из которых соответствует одному из отделов кишки. Известно, что гены *Hox* экспрессируются при развитии у иглокожих в мезодерме, при этом зоны экспрессии расположены по спирали [82]. Такое расположение, вероятно, отражает процесс формирования радиальной организации тела в филогенезе иглокожих. Позднее, на 4-е сутки после аутоотомии у *H. robustipinna* начинается экспрессия генов *ParaHox*, которые, вероятно, участвуют в окончательном разделении пищеварительной системы на отделы.

Заключение

Иглокожие представляют собой уникальную группу Deuterostomia, изучению которой до сих пор уделяется недостаточно внимания. Они обладают разнообразными восстановительными реакциями и могут быть использованы в качестве модельных объектов биологии развития. В данном обзоре были описаны только три вида, наиболее удобных, на наш взгляд, для изучения различных аспектов регенерации. Проведенные в последние годы молекулярно-генетические исследования транскриптомов *E. fraudatrix*, *C. schmeltzii* и *H. robustipinna* заложили основу для дальнейшего более детального анализа молекулярных механизмов восстановительных морфогенезов и бесполого размножения.

Кроме голотурий и морских лилий интересными объектами могут быть морские звезды и офиуры. Некоторые виды этих животных способны не только к репаративной регенерации, но и к бесполому размножению [47]. Проводятся исследования механизмов восстановления у морских звезд [83, 84] и офиур [85–87]. Появляются работы по протеомике и транскриптомике этих животных [88–90].

Иглокожие являются примером того, что хорошие способности к регенерации могут быть обусловлены не наличием стволовых клеток, а механизмами дедифференцировки и трансдифференцировки. В связи с этим изучению регенерации иглокожих необходимо уделять больше внимания, поскольку исследование механизмов репрограммирования клеток важно не только для понимания теоретических основ регенерации, но и в практических целях. Возможность управлять дедифференцировкой и пролиферацией специализированных клеток позволит решить широкий спектр проблем медицины, включая получение клеточного материала из дифференцированных клеток, регенерацию различных структур и выращивание искусственных органов и тканей.

Литература

1. *Carlson B. M.* Development and regeneration, with special emphasis on the amphibian limb // Cellular and molecular basis of regeneration: from invertebrates to humans / ed. by P. Ferretti, J. Géraudie. Chichester: John Wiley and Sons, 1998. P. 45–62.
2. *Долматов И. Ю., Машианов В. С.* Регенерация у иглокожих. Владивосток: Дальнаука, 2007. 212 с.
3. *Короткова Г. П.* Регенерация животных. СПб: Изд-во С.-Петерб. ун-та, 1997. 480 с.
4. *Goss R. J.* Principles of regeneration. New York: Academic Press, 1969. 287 p.
5. *Goss R. J.* The evolution of regeneration: Adaptive or inherent? // *J. Theor. Biol.* 1992. Vol. 159, N 2. P. 241–260.
6. *Morgan T. H.* Regeneration. New York: Mac-Millan, 1901. 316 p.
7. *Токин Б. П.* Регенерация и соматический эмбриогенез. Л.: Изд-во ЛГУ, 1959. 264 с.
8. *Vorontsova M. A., Liosner L. D.* Asexual propagation and regeneration. London; New York: Pergamon Press, 1960. 489 p.
9. *Bely A. E., Nyberg K. G.* Evolution of animal regeneration: re-emergence of a field // *Trends Ecol. Evol.* 2010. Vol. 25, N 3. P. 161–170.
10. *Thouveny Y., Tassava R. A.* Regeneration through phylogenesis // Cellular and molecular basis of regeneration: from invertebrates to humans / ed. by P. Ferretti, J. Géraudie. Chichester: John Wiley and Sons, 1998. P. 9–43.
11. *Borisov A. B.* Regeneration of skeletal and cardiac muscle in mammals: do nonprimate models resemble human pathology? // *Wound Rep. Reg.* 1999. Vol. 7, N 1. P. 26–35.
12. *Agata K., Saito Y., Nakajima E.* Unifying principles of regeneration I: Epimorphosis versus morphallaxis // *Develop. Growth Differentiation.* 2007. Vol. 49, N 2. P. 73–78.
13. *Brockes J. P., Kumar A.* Comparative aspects of animal regeneration // *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 2008. Vol. 24. P. 525–549.
14. *Sánchez Alvarado A.* Regeneration and the need for simpler model organisms // *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B, Biol. Sci.* 2004. Vol. 359. P. 759–763.
15. *Swalla B. J., Smith A. B.* Deciphering deuterostome phylogeny: molecular, morphological and palaeontological perspectives // *Phil. Trans. R. Soc. B.* 2008. Vol. 363. P. 1557–1568.
16. *Ausich W. I.* Origin of the class Crinoidea // Abstracts of 9th International echinoderm conference, August 5–9, 1996, San Francisco, California. P. 24.
17. *Ausich W. I., Baumiller T. K.* Column regeneration in an ordovician Crinoid (Echinodermata) — paleobiologic implications // *J. Paleontology.* 1993. Vol. 67, N 6. P. 1068–1070.
18. *Baumiller T. K.* Crinoid ecological morphology // *Ann. Rev. Earth Planetary Sci.* 2008. Vol. 36. P. 221–249.
19. *Oji T.* Fossil record of echinoderm regeneration with special regard to crinoids // *Microsc. Res. Tech.* 2001. Vol. 55. P. 397–402.
20. *Burke J. J.* Four new pirasocrinid crinoids from the Ames Limestone, Pennsylvanian of Brooke County, West Virginia // *Ann. Carnegie Museum.* 1973. Vol. 44, N 10. P. 157–169.
21. *Hattin D. E.* Regeneration in a Pennsylvanian crinoid spine // *J. Paleont.* 1958. Vol. 32. P. 129–147.
22. *Lane N. G.* The anal sac of *Aesiocrinus*, a Pennsylvanian inadunate crinoid // *J. Paleont.* 1975. Vol. 49. P. 638–645.
23. *Lehmann W. M.* Anomalies et regenerations chez quelques Asterozoa paleozoiques // *Bull. Soc. Geol. France. Ser. 5.* 1951. Vol. 20. P. 267–274.
24. *Strimple H. L., Frest T. J.* Points of generation and partial regeneration of the column of *Euonychocrinus simplex* (Crinoidea: Flexibilia) // *J. Paleont.* 1979. Vol. 53. P. 216–220.
25. *Candia Carnevali M. D.* Regeneration in echinoderms: repair, regrowth, cloning // *Invertebr. Surv. J.* 2006. Vol. 3. P. 64–76.
26. *Candia Carnevali M. D., Bonasoro F.* Microscopic overview of crinoid regeneration // *Microsc. Res. Tech.* 2001. Vol. 55. P. 403–426.
27. *Dolmatov I. Yu.* Regeneration in echinoderms // *Russ. J. Mar. Biol.* 1999. Vol. 25, N 3. P. 225–233.
28. *Долматов И. Ю.* Регенерация пищеварительной системы у голотурий // *Журн. общ. биол.* 2009. Т. 70, № 4. С. 316–327.
29. *Kille F. R.* Regeneration of gonad tubules following extirpation in the sea-cucumber, *Thyone briareus* (Lesueur) // *Biol. Bull.* 1939. Vol. 76. P. 70–79.
30. *Kille F. R.* Regeneration of the reproductive system following binary fission in the sea cucumber *Holothuria parvula* // *Biol. Bull.* 1942. Vol. 83. P. 55–66.

31. *Mashanov V.S., García-Arrarás J.E.* Gut regeneration in holothurians: a snapshot of recent developments // *Biol. Bull.* 2011. Vol. 221, N 1. P.93–109.
32. *Dolmatov I. Yu.* New data on asexual reproduction, autotomy and regeneration in holothurians of the order Dendrochirotida // *Russ. J. Mar. Biol.* 2014. Vol. 40, N 3. P.228–232.
33. *Dolmatov I. Yu., Nguyen An Khang, Kamenev Ya.O.* Asexual reproduction, evisceration, and regeneration in holothurians (Holothuroidea) from Nha Trang Bay of the South China Sea // *Russ. J. Mar. Biol.* 2012. Vol. 38, N 3. P.243–252.
34. *Hyman L. H.* The invertebrates: Echinodermata. The coelome Bilateria. New York: McGraw-Hill Book Co., 1955. 763 p.
35. *Mladenov P. V., Bisgrove B., Asotra S., Burke R. D.* Mechanisms of arm tip regeneration in the sea star, *Leptasterias hexactis* // *Roux Arch. Dev. Biol.* 1989. Vol. 198, N 1. P.19–28.
36. *Smith G. N.* Regeneration in the sea cucumber *Leptosynapta*. I. The process of regeneration // *J. Exp. Zool.* 1971. Vol. 177. P.319–330.
37. *Vogt G.* Hidden treasures in stem cells of indeterminately growing bilaterian invertebrates // *Stem Cell Rev. Reports.* 2012. Vol. 8, N 2. P.305–317.
38. *Долматов И. Ю.* Регенерация у иглокожих: восстановление без стволовых клеток // Регенеративная биология и медицина: сб. науч. тр. М: Изд. Дом «Нарконет», 2011. С. 60–61.
39. *Murray G., García-Arrarás J. E.* Myogenesis during holothurian intestinal regeneration // *Cell Tissue Res.* 2004. Vol. 318. P.515–524.
40. *Mashanov V.S., Dolmatov I. Y., Heinzeller T.* Transdifferentiation in holothurian gut regeneration // *Biol. Bull.* 2005. Vol. 209. P.184–193.
41. *Mozzi D., Dolmatov I. Y., Bonasoro F., Candia Carnevali M. D.* Visceral regeneration in the crinoid *Antedon mediterranea*: basic mechanisms, tissues and cells involved in gut regrowth // *Centr. Eur. J. Biol.* 2006. Vol. 1, N 4. P.609–635.
42. *Bluhm H., Gebruk A.* Holothuroidea (Echinodermata) of the Peru Basin — ecological and taxonomic remarks based on underwater images // *Mar. Ecol.* 1999. Vol. 20, N 2. P.167–195.
43. Towards a greater understanding of pattern, scale and process in marine benthic systems: a picture is worth a thousand worms / *Solan M., German J. D., Rhoads D. C., Smith C., Michaud E., Parry D., Wenzhofer F., Kennedy B., Henriques C., Battle E., Carey D., Iocco L., Valente R., Watson J., Rosenberg R.* // *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 2003. Vol. 285. P.313–338.
44. *Ohta S.* Photographic observations of the deep sea pelagothuriid holothurian *Enypniastes* (Elasipoda, Holothuroidea) // *J. Oceanogr. Soc. Japan.* 1985. Vol. 41, N 2. P.121–133.
45. *Conand C.* Population status, fisheries and trade of sea cucumbers in Africa and the Indian Ocean // *Sea cucumbers. A global review of fisheries and trade.* FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper / ed. by V.Toral-Granda. Rome: FAO, 2008. N 516. P.143–193.
46. *Uthicke S., Byrne M., Conand C.* Genetic barcoding of commercial Bêche-de-mer species (Echinodermata: Holothuroidea) // *Mol. Ecol. Resour.* 2010. Vol. 10. P.634–646.
47. *Emson R. H., Wilkie I. C.* Fission and autotomy in echinoderms // *Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev.* 1980. Vol. 18. P.155–250.
48. *Dolmatov I. Yu., Ginanova T. T.* Post-autotomy regeneration of the respiratory trees in the holothurian *Apostichopus japonicus* (Holothuroidea, Aspidochirotida) // *Cell Tissue Res.* 2009. Vol. 336. P.41–58.
49. Cellular mechanisms in the regeneration of the intestine of the sea cucumber, *Holothuria glaberrima* Selenka (Holothuroidea: Echinodermata) / *García-Arrarás J. E., Estrada-Rodgers L., Santiago R., Torres I. I., Díaz-Miranda L., Torres-Avillán I.* // *J. Exp. Zool.* 1998. Vol. 281. P.288–304.
50. *García-Arrarás J. E., Greenberg M. J.* Visceral regeneration in holothurians // *Microsc. Res. Tech.* 2001. Vol. 55. P.438–451.
51. Gene expression profiling of intestinal regeneration in the sea cucumber / *Ortiz-Pineda P. A., Ramírez-Gómez F., Pérez-Ortiz J., González-Díaz S., Jesús F. S., Hernández-Pazos J., Valle-Avila C. D., Rojas-Catagena C., Suárez-Castillo E. C., Tossas K., Méndez-Merced A. T., Roig-López J. L., Ortiz-Zuazaga H., García-Arrarás J. E.* // *BMC Genomics.* 2009. Vol. 10. P.262
52. Large scale gene expression profiling during intestine and body wall regeneration in the sea cucumber *Apostichopus japonicus* / *Sun L., Chen M., Yang H., Wang T., Liu B., Shu C., Gardiner D. M.* // *Comp. Biochem. Physiol. P. D. Genomics Proteomics.* 2011. Vol. 6, N 2. P.195–205.
53. *Mashanov V.S., Zueva O.R., García-Arrarás J.E.* Expression of *Wnt9*, *TCTP*, and *Bmp1/Tll* in sea cucumber visceral regeneration // *Gene Expr. Patterns.* 2012. Vol. 12. P.24–35.
54. *Mashanov V.S., Zueva O.R., Rojas-Catagena C., García-Arrarás J.E.* Visceral regeneration in a sea cucumber involves extensive expression of survivin and mortalin homologs in the mesothelium // *BMC Dev. Biol.* 2010. Vol. 10. P.117.

55. Долматов И. Ю. Строение аквафарингеального комплекса голотурии *Cucumaria fraudatrix* (Holothuroidea, Dendrochirota) // Зоол. журн. 1986. Т. 65, № 9. С. 1332–1340.
56. Lamash N. E., Dolmatov I. Yu. Proteases from the regenerating gut of the holothurian *Eupentacta fraudatrix* // PLoS ONE. 2013. Vol. 8, N 3. P. e58433.
57. Dolmatov I. Yu. Regeneration of the aquapharyngeal complex in the holothurian *Eupentacta fraudatrix* (Holothuroidea, Dendrochirota) // Keys for regeneration / ed. by C. H. Taban, B. Boilly. Basel: Karger, 1992. P. 40–50. (Monographs in development biology. Vol. 23.)
58. Dolmatov I. Yu., Gitanova T. T. Muscle regeneration in holothurians // Microsc. Res. Tech. 2001. Vol. 55. P. 452–463.
59. García-Arrarás J. E., Dolmatov I. Yu. Echinoderms: potential model systems for studies on muscle regeneration // Curr. Pharm. Des. 2010. Vol. 16. P. 942–955.
60. Долматов И. Ю. Клеточные и молекулярные механизмы морфогенеза при бесполом развитии и регенерации у иглокожих // Эмбриональное развитие, морфогенез и эволюция. Всерос. конф. с междунар. участием. СПб., 2013. С. 42–43.
61. De Robertis E. M., Sasai Y. A common plan for dorsoventral patterning in Bilateria // Nature. 1996. Vol. 380. P. 37–40.
62. Ларионова А. А., Шамигурина Е. В., Ковальчук С. Н., Долматов И. Ю. Экспрессия генов активина В и фоллистатина при регенерации у голотурии *Eupentacta fraudatrix* // Эмбриональное развитие, морфогенез и эволюция. Всерос. конф. с междунар. участием. СПб., 2013. С. 147–148.
63. Гирич А. С., Долматов И. Ю. Экспрессия генов сигнального пути Wnt при регенерации и бесполом размножении у голотурий // Тихоокеанский мед. журн. 2014. № 1. С. 11–13.
64. Гирич А. С., Долматов И. Ю., Исаева М. П. Гены семейства wnt, экспрессирующиеся при регенерации у голотурии *Eupentacta fraudatrix* // Эмбриональное развитие, морфогенез и эволюция. Всерос. конф. с междунар. участием. СПб., 2013. С. 117–118.
65. Takahashi K., Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors // Cell. 2006. Vol. 126. P. 663–676.
66. Xsox17a and β mediate endoderm formation in *Xenopus* / Hudson C., Clements D., Friday R. V., Stott D., Woodland H. R. // Cell. 1997. Vol. 91. P. 397–405.
67. Kobayashi D., Jindo T., Naruse K., Takeda H. Development of the endoderm and gut in medaka, *Oryzias latipes* // Develop. Growth Differ. 2006. Vol. 48. P. 283–295.
68. Zhang C., Klymkowsky M. W. The Sox axis, Nodal signaling, and germ layer specification // Differentiation. 2007. Vol. 75, N 6. P. 536–545.
69. Gene families encoding transcription factors expressed in early development of *Strongylocentrotus purpuratus* / Howard-Ashby M., Materna S. C., Brown C. T., Chen L., Cameron R. A., Davidson E. H. // Develop. Biol. 2006. Vol. 300. P. 90–107.
70. Adams J. C., Watt F. M. Regulation of development and differentiation by the extracellular matrix // Development. 1993. Vol. 117. P. 1183–1198.
71. Kagan H. M., Li W. Lysyl oxidase: properties, specificity, and biological roles inside and outside of the cell // J. Cell. Biochem. 2003. Vol. 88. P. 660–672.
72. Massin C. Reef dwelling holothurians (Echinodermata) of the Spermonde Archipelago (South-West Sulawesi, Indonesia) // Zool. Verhand. 1999. Vol. 329. P. 1–144.
73. Каменев Я. О. Ультраструктура внутренних органов, бесполое размножение и регенерация у голотурии *Cladolabes schmeltzii*: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Владивосток, 2013. 25 с.
74. Purwati P. Fissiparity in *Holothuria leucospilota* from tropical Darwin waters, northern Australia // SPC Beche-de-Mer Inform. Bull. 2004. Vol. 20. P. 26–33.
75. Finnerty J. R. The origins of axial patterning in the metazoa: how old is bilateral symmetry? // Int. J. Dev. Biol. 2003. Vol. 47. P. 523–529.
76. Retinoic acid and Wnt/ β -catenin have complementary roles in anterior/posterior patterning embryos of the basal chordate amphioxus / Onai T., Lin Hsiu-Chin, Schubert M., Koop D., Osborne P. W., Alvarez S., Alvarez R., Holland N. D., Holland L. Z. // Developmental Biology. 2009. Vol. 332. P. 223–233.
77. Dendy A. On the regeneration of the visceral mass in *Antedon rosaceus* // Stud. biol. Labs Owens Coll. 1886. Vol. 1. P. 299–312.
78. Meyer D. L. Crinoids as renewable resource: rapid regeneration of the visceral mass in a tropical reef-dwelling crinoid from Australia // Echinoderm biology / ed. by R. D. Burke. Rotterdam: Balkema, 1988. P. 519–522.
79. Clark A. M., Rowe F. W. E. Monograph of the shallow-water Indo-West Pacific echinoderms. London: Trustees of the British Museum (Natural History), 1971. 238 p.

80. Бобровская Н. В., Долматов И. Ю. Ультраструктурные особенности регенерации пищеварительной системы морской лилии *Himerometra robustipinna* после аутономии // Эмбриональное развитие, морфогенез и эволюция. Всерос. конф. с междунар. участием. СПб., 2013. С. 109–110.
81. Bobrovskaya N. V., Dolmatov I. Yu. Autotomy of the visceral mass in feather star *Himerometra robustipinna* (Crinoidea, Comatulida) // Biol. Bull. 2014. Vol. 226, N 2. P. 98–108.
82. Arenas-Mena C., Cameron A. R., Davidson E. H. Spatial expression of Hox cluster genes in the ontogeny of a sea urchin // Development. 2000. Vol. 127. P. 4631–4643.
83. Горшков А. Н., Блинова М. И., Пинаев Г. П. Ультраструктура целомического эпителия и целомочитов морской звезды *Asterias amurensis* L. в норме и после нанесения раны // Цитология. 2009. Т. 51, № 8. С. 650–662.
84. Козлова А. Б., Петухова О. А., Пинаев Г. П. Анализ клеточных элементов целомической жидкости на ранних сроках регенерации морской звезды *Asterias rubens* L. // Цитология. 2006. Т. 48, № 3. С. 175–183.
85. Wound healing and arm regeneration in *Ophioderma longicaudum* and *Amphiura filiformis* (Ophiuroidea, Echinodermata): comparative morphogenesis and histogenesis / Biressi A. C. M., Zou T., Dupont S., Dahlberg K., Di Benedetto C., Bonasoro F., Thorndyke M., Candia Carnevali M. D. // Zoomorphology. 2010. Vol. 129, N 1. P. 1–19.
86. Charlina N. A., Dolmatov I. Yu., Wilkie I. C. Juxtaligamental system of the disc and oral frame of the ophiuroid *Amphipholis kochii* (Echinodermata: Ophiuroidea) and its role in autotomy // Invertebr. Biol. 2009. Vol. 128, N 2. P. 145–156.
87. Frolova L. T., Dolmatov I. Yu. Microscopic anatomy of the digestive system in normal and regenerating specimens of the brittlestar *Amphipholis kochii* // Biol. Bull. 2010. Vol. 218, N 3. P. 303–316.
88. Elphick M. R. The protein precursors of peptides that affect the mechanics of connective tissue and/or muscle in the echinoderm *Apostichopus japonicus* // Plos One. 2012. Vol. 7, N 8. P. e44492.
89. Understanding regeneration through proteomics / Franco C., Soares R., Pires E., Koci K., Almeida A. M., Santos R., Coelho A. V. // Proteomics. 2013. Vol. 13, N 3–4. P. 686–709.
90. Identification and assessment of differentially expressed genes involved in growth regulation in *Apostichopus japonicus* / Zhu L., Li C. H., Su X. R., Guo C. Y., Wang Z., Jin C. H., Li Y., Li T. W. // Genetics and molecular research: GMR. 2013. Vol. 12, N 3. P. 3028–3037.

Статья поступила в редакцию 3 апреля 2014 г.

Сведения об авторах

Долматов Игорь Юрьевич — доктор биологических наук
 Бобровская Надежда Владимировна — аспирант
 Гирич Александр Сергеевич — аспирант

Dolmatov Igor Yu. — Doctor of Biology
 Bobrovskaya Nadezhda V. — post graduate student
 Girich Alexandr S. — post graduate student