

УДК 591.3

ЭВОЛЮЦИОННОЕ РАЗНООБРАЗИЕ МЕХАНИЗМОВ УСТАНОВЛЕНИЯ ЛЕВО-ПРАВОЙ АСИММЕТРИИ У ЖИВОТНЫХ

© 2020 г. Н. Д. Петри*

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет,
ул. Ленинские Горы, 1, стр. 12, Москва, 119923 Россия

*e-mail: petri1543@inbox.ru

Поступила в редакцию 01.11.2019 г.

После доработки 27.11.2019 г.

Принята к публикации 01.12.2019 г.

Асимметрия относительно передне-задней оси тела является важной чертой плана строения билатеральных животных (Bilateria). Нарушения формирования лево-правой асимметрии приводят к патологиям различной степени тяжести, поэтому изучение механизмов ее установления в эмбриональном развитии является важной научной и медицинской задачей. Основной вопрос, на который пытаются ответить исследователи — как и когда запускаются процессы, приводящие к нарушению зеркальной симметрии левой и правой сторон развивающегося организма. Исследования в этой области активно развиваются, у животных разных филогенетических групп уже выявлено множество разнообразных способов установления лево-правой асимметрии. К сожалению, сравнительный анализ этих способов зачастую охватывает лишь несколько филогенетически удаленных объектов биологии развития и не показывает разнообразия, существующего внутри таксономических групп. Поэтому цель данного обзора — показать многообразие механизмов установления лево-правой асимметрии в раннем развитии Metazoa, а также сделать предположения об эволюционной консервативности этих механизмов и о том, какой из обнаруженных на данный момент механизмов эволюционно первичен как для Bilateria, так и для всех Metazoa. В статье систематизируются знания об установлении асимметрии тела на основе сигнального каскада Nodal, проводится сравнение морфологии и функционирования лево-правых организаторов асимметрии разных животных, сравнивается роль механических напряжений в установлении асимметрии у первичноротых животных. Обобщение и анализ данных об установлении лево-правой асимметрии тела позволяет по-новому взглянуть на эволюцию развития многоклеточных животных.

Ключевые слова: лево-правая асимметрия, установление асимметрии, лево-правый организатор, план строения, Metazoa, Bilateria, Nodal, развитие

DOI: 10.31857/S0475145020020056

ВВЕДЕНИЕ

Асимметрия относительно центральной оси тела является нечасто упоминаемой, но важной чертой билатерально-симметричных животных. Вопреки названию, для многих билатерий характерно асимметричное развитие левой и правой сторон тела. У человека установление лево-правой асимметрии выражается в правильном расположении непарных органов, таких как печень, сердце и желудок, в грудной и брюшной полости, и асимметричном развитии парных органов, например, легких (Shiraishi, Ichikawa, 2012). Кроме того, механизмы асимметричного морфогенеза при развитии трубчатых органов, таких как кишечник, обуславливают повороты петель в строго определенном направлении. Для многих органов (например, сердца) правильное функционирование без асимметрии невозможно (Chen et al.,

2010). Таким образом, установление лево-правой асимметрии необходимо для корректного расположения висцеральных органов в грудной и брюшной полостях и для успешного морфогенеза, связанного с функциональностью органов.

Нарушения установления асимметрии встречаются с частотой около 1/5000–1/10 000 человек и приводят к патологиям различной степени тяжести — гетеротаксии, декстрокардии, *situs inversus* с синистрокардией, связанным с этим пороком сердца и сосудистой системы, а при сопутствующем диагнозе первичной цилиарной дискинезии — к бесплодию у мужчин и хроническим заболеваниям дыхательных путей (Afzelius, 1976; Zhu et al., 2006). Поэтому изучение механизмов установления лево-правой асимметрии в эмбриональном развитии остается важной научной и медицинской задачей.

Основной вопрос, на который пытаются ответить исследователи — как и когда запускаются процессы, приводящие к нарушению билатеральной симметрии развивающегося организма. Работы, проведенные на животных самых разных групп, выявили множество разнообразных способов установления лево-правой асимметрии. Тем не менее, между ними обнаружили сходства, позволяющие по-новому взглянуть на эволюцию развития многоклеточных животных.

ПОЗВОНОЧНЫЕ: МОЛЕКУЛЯРНЫЕ АСПЕКТЫ УСТАНОВЛЕНИЯ АСИММЕТРИИ ПЛАНА СТРОЕНИЯ

Установление лево-правой асимметрии у всех изученных позвоночных животных происходит благодаря работе сигнального каскада Nodal. Его наличие и роль в установлении асимметрии показаны у представителей млекопитающих — домашних мышей *Mus musculus*, кроликов *Oryctolagus cuniculus*, свиней *Sus scrofa domestica*, коров *Bos taurus* (Blum et al., 2007; Schröder et al., 2016); у курицы *Gallus gallus* (Levin et al., 1995); у представителей амфибий — шпорцевых лягушек *Xenopus laevis* и *X. tropicalis*, аксолотля *Ambystoma mexicanum* (Schweickert et al., 2007; Yu et al., 2002); костистых рыб — *Danio rerio*, медаки *Oryzias latipes* (Essner et al., 2005; Hojo et al., 2007). Более того, гены, гомологичные генам сигнального каскада Nodal у позвоночных, участвуют в установлении лево-правой асимметрии у вторичноротых беспозвоночных: ланцетника *Amphioxus* sp., оболочников — асцидий *Ciona intestinalis* и *Halocynthia roretzi* (Moriguchi et al., 2002), иглокожих — морских ежей *Paracentrotus lividus* и *Strongylocentrotus pallidus* (Duboc et al., 2005; Tisler et al., 2016), что свидетельствует об его высокой эволюционной консервативности.

Сигнальный каскад Nodal у позвоночных функционирует на стадиях нейруляции и сомитогенеза. Ключевым звеном этого каскада является ген *nodal*, принадлежащий к суперсемейству TGF- β . *Nodal* экспрессируется на левой стороне тела эмбриона вблизи средней линии и обуславливает дальнейшее развитие левой стороны тела по “левому” сценарию: если там не произойдет вспышки его экспрессии, у эмбриона сформируются две правые стороны (Saijoh et al., 2003). Далее белок Nodal по внеклеточному матриксу диффундирует в мезодермальные клетки на левой стороне тела (Oki et al., 2007) и там запускает экспрессию гомеобоксного гена *pitx2*, который будет постоянно экспрессироваться в клетках мезодермы боковой пластинки на левой стороне, управляя дальнейшим установлением асимметрии органов (Logan et al., 1998). Вспышка экспрессии белка Nodal на левой стороне тела длится недолго (6–7 ч у мыши) (Shiratori, Nishida, 2006), поскольку он активирует несколько генов, продукты которых подавляют экспрессию и

распространение Nodal. В клетках боковой мезодермальной пластинки он индуцирует экспрессию белка Lefty2. Диффундируя в область средней линии эмбриона, он запускает экспрессию Lefty1. Lefty1 подавляет экспрессию Nodal вблизи средней линии и тем самым не позволяет ему распространиться на правую сторону эмбриона (Meno et al., 1998), а Lefty2 подавляет его экспрессию в боковой мезодерме (рис. 1), таким образом экспрессия Nodal ограничивается с двух сторон. Помимо того, на правой стороне эмбриона экспрессируется ген *cerl2* (*cerberus-like 2*), продукт которого блокирует диффузию белка Nodal, связываясь с ним в комплексы. По-видимому, именно этот ген, вначале экспрессирующийся на обеих сторонах тела, принимает первичный сигнал к установлению асимметрии на левой стороне, прекращает работать, за счет этого белок Nodal высвобождается и усиливает экспрессию собственного гена на левой стороне тела (Schweickert et al., 2010; Shinohara et al., 2012). В отсутствие любого из генов-репрессоров Nodal происходит его неконтролируемое просачивание на правую сторону, что приводит к ошибкам асимметризации и частичному или полному развитию правой стороны по “левому” сценарию.

ПОЗВОНОЧНЫЕ: СТРОЕНИЕ И ФУНКЦИИ ОРГАНИЗАТОРОВ ЛЕВО-ПРАВОЙ АСИММЕТРИИ

Асимметричная экспрессия Nodal у большинства позвоночных животных (мышь *M. musculus*, кролика *O. cuniculus*, коровы *B. taurus*, амфибий *X. laevis* и *X. tropicalis*, *A. mexicanum*, костистых рыб *D. rerio* и *O. latipes*, осетровой рыбы *A. transmontanus*) возникает в результате работы так называемого лево-правого организатора. Это участок мезодермы, имеющий эпителиальное строение и покрытый подвижными ресничками, недолгое время существующий на стадиях гастрюлы и нейрулы и создающий ток жидкости во внеклеточном пространстве, который запускает сигнальный каскад в мезодерме левой стороны тела эмбриона. Лучше всего строение и работа лево-правого организатора изучены у мыши.

Мышь: лево-правый организатор — узелок

Лево-правым организатором домашней мыши является вентральная часть узелка, появляющегося во время гастрюляции и являющегося гомологом дорзальной губы бластопора. Узелок закладывается к седьмому дню развития в эпипласте в области будущего головного конца эмбриона (рис. 2а). Важно отметить, что у мыши гипобласт, подстилающий эпипласт, не является сплошным слоем. Именно под узелком он расходится в стороны и образует отверстие. Таким образом, зрелый

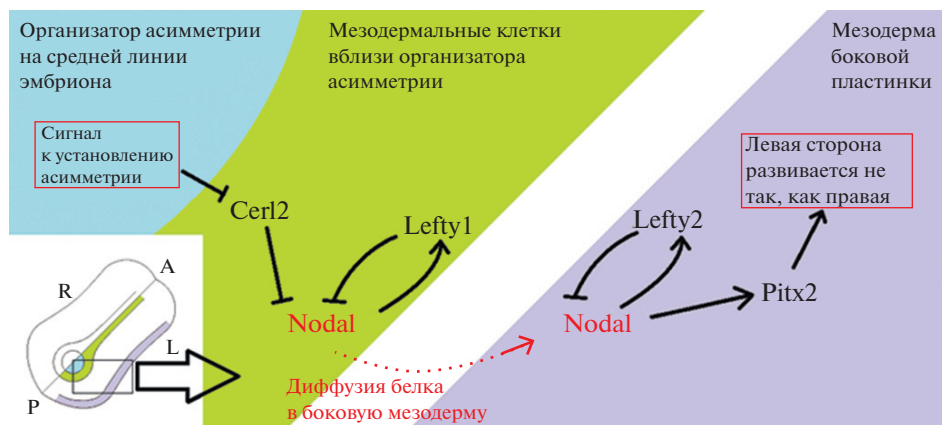


Рис. 1. Схема биохимического сигнального каскада Nodal, запускающего асимметричное развитие левой стороны тела эмбриона мыши. На врезке условная схема эмбриона мыши во время гаструляции, вид с вентральной стороны. А и Р – передняя и задняя стороны тела эмбриона, L и R – левая и правая стороны. По данным Lee, Anderson, 2008.

узелок выглядит как ямка на вентральной стороне эмбриона длиной около 70 мкм и состоит примерно из 250 клеток (Sulik et al., 1994) (рис. 2б). Узелок окружен 20–30 более плоскими клетками, т.н. паракордальными. На поперечном разрезе узелка можно различить два слоя: слой хордомезодермы и слой эктодермальных клеток, которые впоследствии образуют нервную пластинку (Sulik et al., 1994; Blum et al., 2007) (рис. 2в).

Итак, апикальная сторона мезодермальных клеток узелка (обращенная на вентральную сторону эмбриона) направлена в полость желточного мешка и не прикрыта гипобластом. Это обстоятельство чрезвычайно важно для установления лево-правой асимметрии.

Каждая из мезодермальных клеток узелка несет на апикальной стороне по одной ресничке (рис. 2г), причем эти реснички совершают вращательные движения по часовой стрелке со скоростью около 600 оборотов в минуту (Okada et al., 1999). При потере ресничек (например, при выключении генов моторных белков KIF3A и KIF3B из суперсемейства кинезинов, необходимых для формирования ресничек) лево-правая ось вовсе не формируется, и латерализация органов происходит случайным образом, при этом эмбрионы оказываются нежизнеспособными (Nonaka et al., 1998). Не столько важно, впрочем, наличие ресничек само по себе, сколько их подвижность: показано, что неподвижность ресничек из-за поломки гена аксонемного динеина (*lrd*) приводит к таким же нарушениям, что и их полное отсутствие (Supp et al., 1997; Okada et al., 1999).

Суммарное вращение ресничек создает в области узелка ток жидкости справа налево, причем достаточно быстрый: около 20 мкм/с (Okada et al., 1999; Shiratori, Hamada, 2006). Именно асимметрично направленный ток является ключевым моментом, определяющим дальнейшую асимметри-

зацию правой и левой сторон тела эмбриона (Blum et al., 2009). Гипотеза о важности асимметричного тока жидкости получила название Nodal flow, то есть узелковый ток. Показано, что при создании в узелке мыши искусственного потока жидкости справа налево (то есть в обратном направлении), если он достаточно сильный, чтобы нивелировать эффект биения ресничек, все эмбрионы приобретают состояние *situs inversus*. Искусственный поток также позволяет произвольно задавать *situs inversus* или *situs solitus* у мышей с неподвижными ресничками, в зависимости от направления тока (Nonaka et al., 2002).

На первый взгляд, круговые движения ресничек должны создавать круговой ток, и никакого направленного тока не получится. Тем не менее, наблюдаемый *in vivo* ток в самом узелке отчетливо левонаправленный. Биофизическое моделирование показало, что левонаправленный ток возможен в том случае, если все реснички отклонены назад минимум на 5°–25° (Cartwright et al., 2004). При последующих наблюдениях оказалось, что апикальная поверхность каждой клетки имеет куполообразную форму; базальное тело каждой реснички смещено в постериорном направлении и из-за куполообразной формы клетки оказывается отклонено кзади в среднем на 26.6° (Nonaka et al., 2005). В результате над поверхностью клеток ток становится более-менее однонаправленным. Обратный ток, по-видимому, проходит между ресничками и поверхностью клеток ниже и постериорнее прямого тока, выражен слабее и не влияет на направление главного потока, проходящего над ресничками (рис. 3).

Важную роль в расположении базальных тел ресничек играет цитоскелет, а именно сеть актиновых микрофиламентов. При мутациях белков Cofilin1, Vangl2, отвечающих за перестройки актинового цитоскелета, базальные тела ресничек

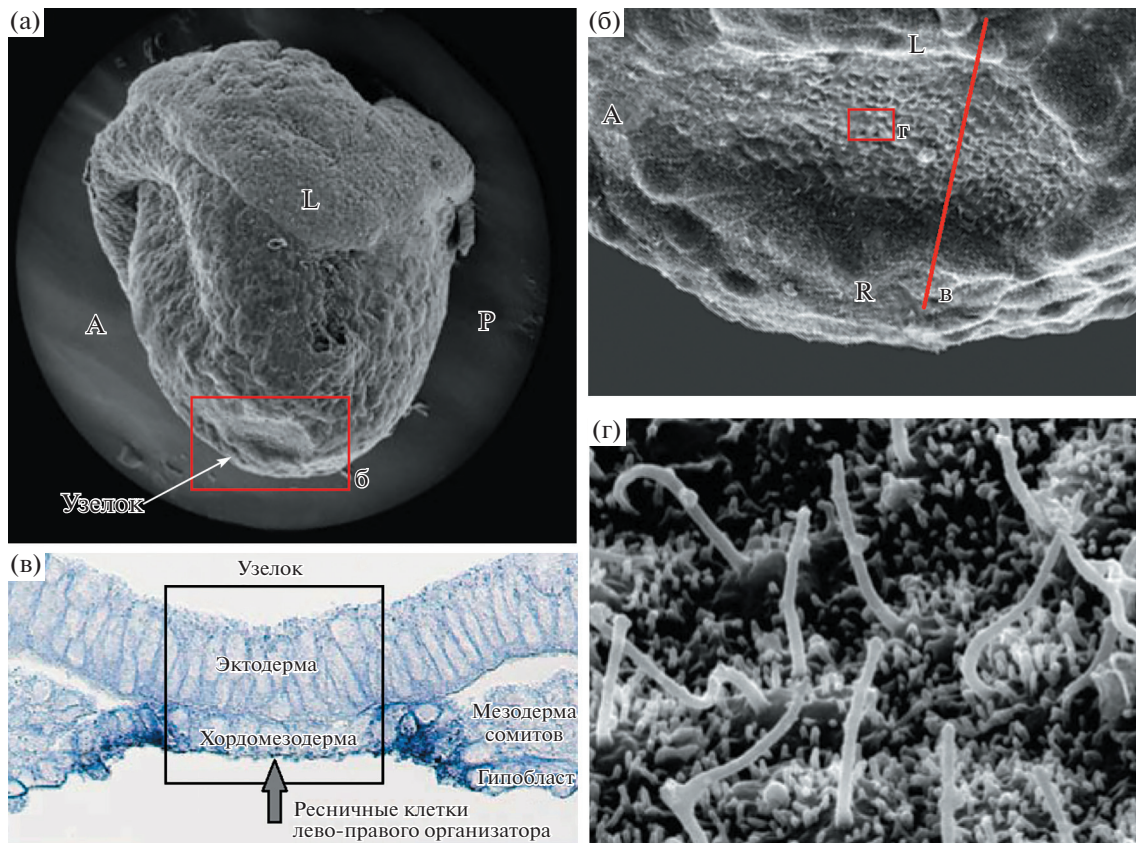


Рис. 2. (а) Общий вид эмбриона мыши на стадии гастрюляции. (б) Узелок эмбриона мыши, вид с вентральной стороны. (в) Поперечный срез через узелок эмбриона мыши. (г). Реснички на клетках узелка. А и Р – передняя и задняя стороны тела эмбриона, L и R – левая и правая стороны; (в) используется с разрешения Schröder et al., 2016. Финальная, опубликованная версия статьи доступна на <http://www.karger.com/?doi=10.1159/000440951>; (а, б, г) адаптировано из Hamada, 2016 согласно условиям Creative Commons Attribution-NonCommercial 2.5 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.5/>).

остаются в центре клетки, и это приводит к нарушениям в определении лево-правой оси (Mahaffey et al., 2013).

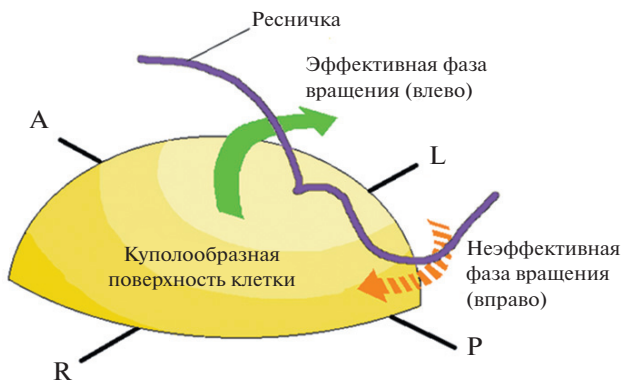


Рис. 3. Модель результирующего тока жидкости в узелке мыши. А и Р – передняя и задняя стороны тела эмбриона, L и R – левая и правая стороны.

Парахордальные клетки, расположенные по бокам от узелка, несут каждая по одной неподвижной ресничке (McGrath et al., 2003). По-видимому, именно парахордальные клетки отвечают за восприятие тока жидкости, созданного биеением ресничек. На данный момент сосуществуют две гипотезы о механизмах восприятия этого тока. Первая – химическая, или гипотеза переноса морфогена – утверждает, что клетки узелка выделяют везикулы с ретиноевой кислотой и белком Sonic hedgehog, которые с током жидкости направляются на левую сторону и там сливаются с мембранами парахордальных клеток, запуская в них каскад Nodal (Nonaka et al., 1998; Tanaka et al., 2005) (рис. 4а). Вторая гипотеза – биомеханическая – постулирует, что передача сигнала от асимметричного тока жидкости осуществляется за счет восприятия механического воздействия тока (рис. 4б). Согласно этой гипотезе, неподвижные реснички играют роль антенн, непосредственно воспринимая давление тока жидкости в узелке. Механический сигнал от реснички передается через трансмембранный сенсорный белок Polycystin-1

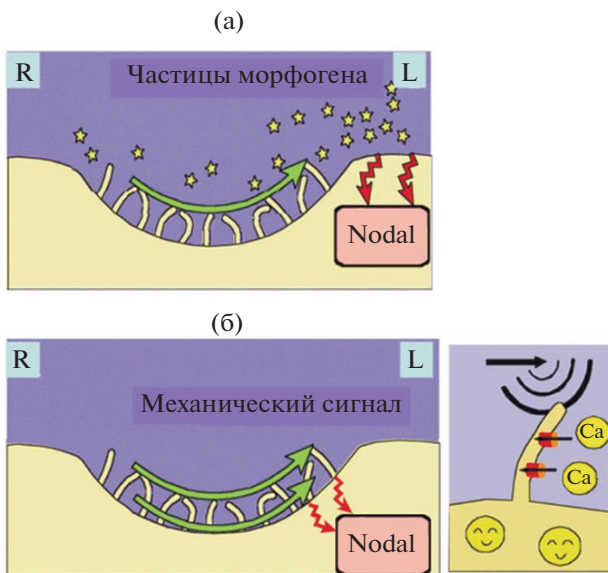


Рис. 4. (а) Иллюстрация гипотезы переноса морфогена. (б) Иллюстрация биомеханической гипотезы. L и R – левая и правая стороны тела, зеленые стрелки – направление тока жидкости, звездочки – частицы морфогена. Адаптировано из Hamada, 2016 согласно условиям Creative Commons Attribution-NonCommercial 2.5 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.5/>).

(Pkd1) на кальциевые каналы Polycystin-2 (Pkd2) (Field et al., 2011), открытие которых приводит к кальциевому пику в парахордальных клетках левой стороны эмбриона и дальнейшей активации молекулярного каскада (McGrath et al., 2003). В пользу второй гипотезы говорит то, что белок Pkd2 действительно необходим для запуска каскада реализации асимметрии в парахордальных клетках, так же как наличие неподвижных ресничек и способность клеток создавать волну Ca^{2+} в цитоплазме (McGrath et al., 2003; Yoshida et al., 2012).

Кролик: лево-правый организатор – хордальная пластинка

Лево-правый организатор кролика функционально идентичен организатору мыши и в значительной степени морфологически сходен с ним. Организатор кролика – это тоже эпителиальный участок мезодермы на вентральной стороне эмбриона, свободный от гипобласта и несущий подвижные реснички. Основное различие состоит в том, что гипобласт кролика прорывается не под узелком, а под прилегающей к нему с головного конца хордальной пластинкой. Поэтому именно апексы клеток хордальной пластинки оказываются экспонированными в полость желточного мешка и формируют реснички. Соответственно, биение ресничек и ток жидкости у кролика про-

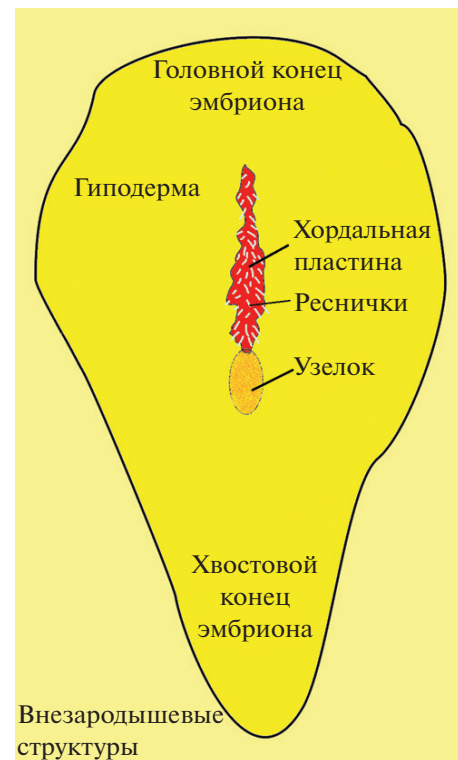


Рис. 5. Схема эмбриона кролика, вид с вентральной стороны. По данным Blum et al., 2007.

исходит не в области узелка, а в области хордальной пластинки (Blum et al., 2007) (рис. 5).

Кроме того, узелок мыши прикрыт так называемой мембраной Рейхардта, состоящей из одного слоя клеток (Lee, Anderson, 2008), и под ней формируется небольшое пространство для циркуляции жидкости. Поэтому у мыши обратный ток жидкости, направленный вправо, “прижат” к поверхности ресничных клеток и протекает непосредственно под левонаправленным током. У кролика же жидкость в лево-правом организаторе свободно сообщается с жидкостью желточного мешка, и пространство для циркуляции намного больше. Вследствие этого обратный ток проходит не под левонаправленным током, а несколько каудальнее, вдоль задней границы хордальной пластинки. Возможно, это свидетельствует о том, что угол наклона ресничек в хордальной пластинке кролика меньше, чем в узелке мыши.

Лягушки: лево-правый организатор – участок крыши гастроцеля

Аналогичный мыши и кролику механизм ресничного тока представлен в лево-правом организаторе асимметрии шпорцевой лягушки. У лягушки этим организатором является мезодермальный участок крыши гастроцеля – так называемая gastrocoel roof plate (GRP), то есть буквально пластин-

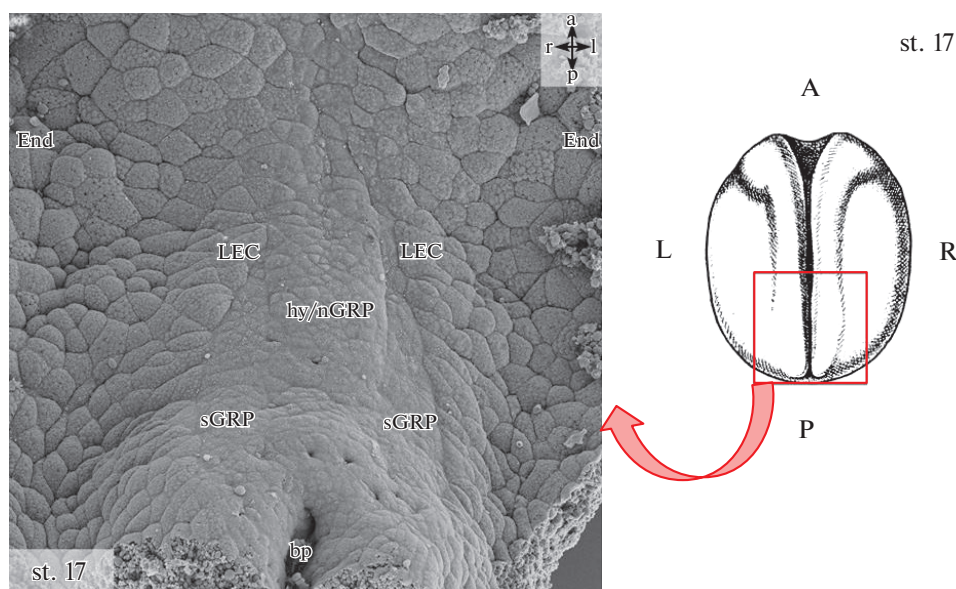


Рис. 6. Морфология лево-правого организатора в крыше гастроцеля шпорцевой лягушки на стадии нейрулы. *hy/nGRP* – гипохорд и поверхностная презумптивная мезодерма хорды, *sGRP* – поверхностная презумптивная мезодерма сомитов, *LEC* – латеральные энтодермальные клетки, *End* – энтодерма, *bp* – blastopore. *A* и *P* – передняя и задняя стороны тела эмбриона, *L* и *R* – левая и правая стороны. Схема зародыша адаптирована из Nieuwkoop, Faber, 1994, с изменениями.

ка крыши гастроцеля (Schweickert et al., 2007). На стадии нейрулы область *GRP* представляет собой вытянутую треугольную пластинку на внутренней поверхности крыши гастроцеля, сложенную мезодермальными клетками презумптивной хорды и сомитов. *GRP* со всех сторон окружена энтодермальным эпителием, от которого отличается меньшим размером клеток (Schweickert et al., 2007) (рис. 6). Важно отметить, что в таком виде *GRP* существует недолго, и уже к началу стадии хвостовой почки клетки области *GRP* уходят с внутренней поверхности первичной кишки, энтодерма крыши гастроцеля смыкается, и поверхность гастроцеля оказывается выстланной только энтодермальными клетками (Shook et al., 2004).

Как и в случае лево-правого организатора у мыши и кролика, клетки *GRP* несут по одной подвижной ресничке. Показано, что для успешного формирования и позиционирования ресничек необходима работа генов *myosin 1d* и *vangl2*, отвечающих за планарную полярность клеток (Tingler et al., 2018). Реснички на клетках *GRP* вращаются по часовой стрелке с частотой 20–25 биений в секунду, их суммарное вращение создает над областью *GRP* ток жидкости справа налево. Как и в случае мыши, для шпорцевой лягушки показано, что наличие левонаправленного тока чрезвычайно важно для установления асимметрии тела эмбриона: в условиях экспериментального блокирования тока жидкости эмбрионы развивались с нарушениями асимметрии (Schweickert et al., 2007). Потеря аксонемного динеина (гомологичного таковому у мыши) вызывала также непо-

движность ресничек и далее нарушения установления асимметрии. Кроме того, у эмбриона лягушки было показано наличие на клетках *GRP* ионного канала Polycystin-2 и его необходимость для правильной латерализации зародыша (Schweickert et al., 2007; Tingler et al., 2018).

Костистые рыбы: лево-правый организатор – купферов пузырек

У костистых рыб (*D. rerio*, *O. latipes*) лево-правым организатором асимметрии является купферов пузырек (Essner et al., 2005). Это специфичная для костистых рыб структура, формирующаяся в конце гастрюляции в заднем отделе тела, вентральнее хорды. Купферов пузырек образован потомками так называемых клеток-лидеров, которые составляют фронт инволюирующей дорзальной бластодермы во время гастрюляции. В конце гастрюляции эти клетки эпителизуются и образуют большую сферическую структуру. Во время начальных стадий сомитогенеза в центре этой сферы появляется полость, а на обращенных к ней апикальных поверхностях клеток начинают формироваться реснички (Lin et al., 2017). В образовании полости купферова пузырька задействован ген *myosin 1d*, при его мутации полость не формируется нормально, и лево-правая асимметрия нарушается (Saydmohammed et al., 2018). Клетки купферова пузырька несут по одной ресничке, обращенной в полость пузырька и отклоненной назад. Было показано, что эти реснички подвижны и вращаются по часовой стрелке, как и рес-

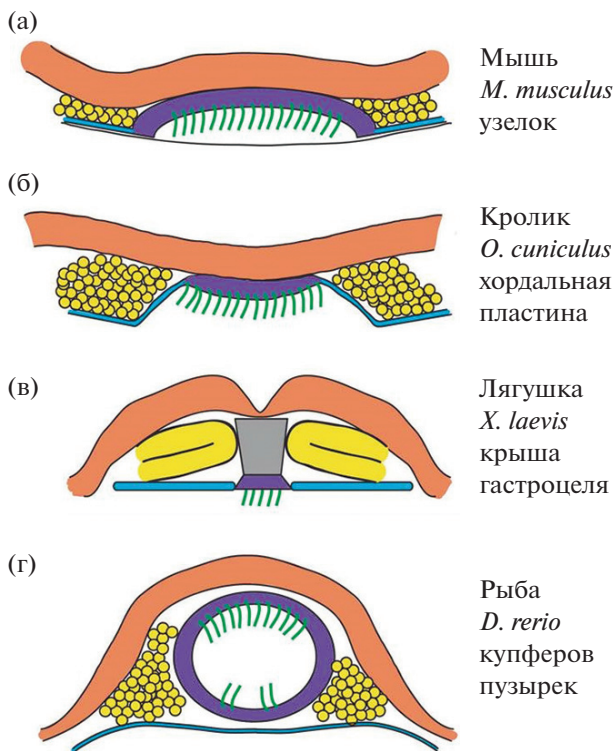


Рис. 7. Строение лево-правых организаторов у отдельных представителей позвоночных животных. Эктодерма показана оранжевым цветом, боковая мезодерма — желтым, энтодерма/гипобласт — голубым, организатор асимметрии — фиолетовый с зелеными ресничками. © 2008 Wiley. Используется с разрешения Lee, Anderson. Morphogenesis of the node and notochord: the cellular basis for the establishment and maintenance of left-right asymmetry in the mouse // *Developmental Dynamics*, John Wiley & Sons.

нички эмбриона мыши, кролика и лягушки. Несмотря на то, что пузырек имеет сферическую форму, в нем удается создать левонаправленный ток за счет того, что 80% ресничек сосредоточены на крыше пузырька (Lee, Anderson, 2008). Левонаправленный ток приводит к асимметричной экспрессии генов сигнального каскада Nodal — например, у японской медаки ген *charon*, гомологичный *cerl2* (репрессору *nodal*) у мыши, экспрессируется справа и, по-видимому, тоже является репрессором гомолога *nodal* (Hojo et al., 2007). У *D. rerio* экспрессия гена *spaw*, гомологичного гену *nodal* мыши, также зависит от тока жидкости в купферовом пузырьке: при правильной работе ресничек он экспрессируется на левой стороне тела, и его активация запускает работу остальных компонентов сигнального каскада Nodal (*lefty1*, *lefty2*, *pitx2*) (Long et al., 2003). При блокировании экспрессии *spaw* нарушается экспрессия этих генов. В активации сигнального каскада Nodal у дацио-рерио, как и у мыши, участвуют кальциевые каналы, кодируемые геном *pkd2* (Yuan et al., 2015).

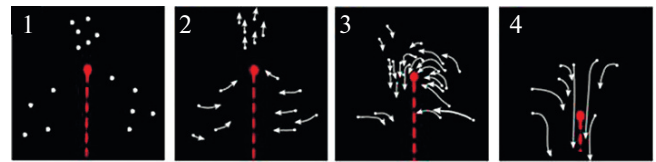


Рис. 8. Схема движения клеток вокруг первичного узелка эмбриона курицы во время гастрюляции, четыре стадии процесса, вид с дорсальной стороны. На третьей стадии видно массовое перемещение клеток на левую сторону эмбриона. Из Gros et al. Cell movements at Hensen's node establish left/right asymmetric gene expression in the chick // *Science*. 2009. V. 324. № 5929. P. 941–944. Используется с разрешения AAAS.

Разнообразие способов установления асимметрии среди позвоночных

Несмотря на то, что механизмы установления асимметрии за счет активности ресничных клеток мезодермальных структур эмбриона, создающих ток жидкости, обнаружены у представителей разных классов позвоночных (рис. 7), экстраполировать их на любого представителя позвоночных следует с осторожностью. Среди позвоночных встречаются и иные механизмы установления асимметрии, не связанные с созданием направленного тока жидкости.

У эмбриона курицы, в отличие от мыши, энтодерма, подстилающая первичный узелок и сопутствующие структуры, сплошная и не имеет разрывов. Мезодерма эмбриона курицы оказывается перекрытой сплошным энтодермальным слоем, и никакая ее часть не экспонируется на вентральной стороне эмбриона. Таким образом, мезодерма не может образовывать реснички и запускать ток жидкости, как это наблюдается у мыши (Schröder et al., 2016; Tsikolia et al., 2012).

Основным механизмом установления асимметрии у эмбриона курицы является клеточная перестройка в районе первичного узелка. На стадии гастрюляции, во время которой длина первичной полоски максимальна, происходит быстрое (3–4 ч) перемещение клеток, окружающих узелок, на левую сторону, а сам узелок немного изгибается (рис. 8).

В результате гены *shh* (*sonic hedgehog*) и *fgf8* (*fibroblast growth factor 8*), ранее экспрессировавшиеся одинаково с обеих сторон от узелка, увеличивают интенсивность экспрессии на левой стороне зародыша. *Shh* запускает экспрессию *nodal* в мезодерме на левой стороне тела зародыша с помощью гена-посредника *caronte* (Esteban et al., 1999), что приводит к активации характерного для всех позвоночных сигнального каскада Nodal (Pagán-Westphal, Tabin, 1998). Экспериментально показано, что при нарушении миграции клеток вокруг узелка сам узелок принимает более симметричную форму, а гены *shh* и *fgf8* продолжают экспрес-

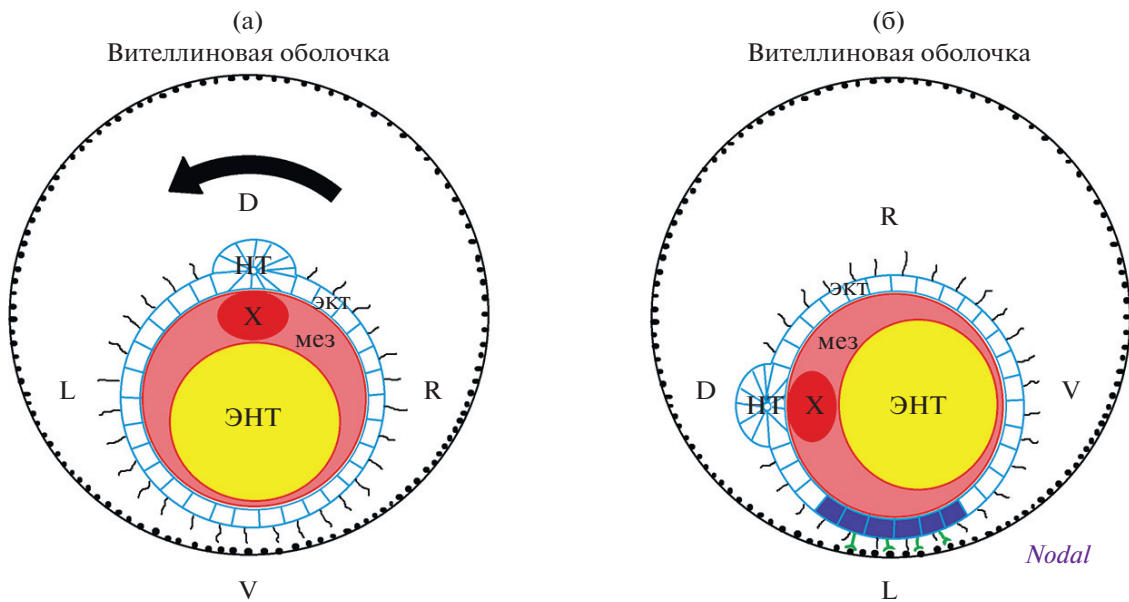


Рис. 9. Схема вращения нейрулы асцидии в вителлиновой оболочке, вид сзади. (а) Начало вращения эмбриона. (б) Конец вращения эмбриона, длительный контакт левой стороны тела с вителлиновой оболочкой запускает экспрессию *Nodal* в эктодерме. X – хорда, нт – нервная трубка, экт – эктодерма, мез – мезодерма сомитов и боковой пластинки, энт – энтодерма. D и V – спинная и брюшная стороны тела эмбриона, L и R – левая и правая стороны. По данным Nishide et al., 2012.

сироваться одинаково по обе стороны от узелка (Gros et al., 2009). Причины этих клеточных движений на данный момент неизвестны.

Интересно, что, как и у курицы, у свиньи не найдено ничего похожего на ресниччатый организатор асимметрии, и запуск каскада *Nodal* на левой стороне эмбриона свиньи также вызывается миграциями клеток справа налево вокруг первичного узелка (Schröder et al., 2016).

Консервативность роли гена nodal и биения ресничек в установлении асимметрии

Несмотря на вариабельность (возможно, вторичную) механизмов установления асимметрии у позвоночных, механизм, связанный с биением ресничек и током жидкости, имеет, по-видимому, глубокие эволюционные корни. Схожие способы установления лево-правой асимметрии обнаружены у низших хордовых и даже в пределах родственного хордовым типа иглокожих, которые также относятся к группе вторичноротых животных.

Асцидии: роль эктодермальных ресничек в установлении асимметрии

У личинок асцидий *C. intestinalis* и *H. roretzi* на стадии нейрулы на левой стороне тела наблюдается экспрессия гена *nodal*, который к стадии хвостовой почки запускает экспрессию гена *pitx* (Мо-

rokuma et al., 2002). Оба гена гомологичны таковым у позвоночных, хотя и экспрессируются не в мезодерме, а в эктодерме. Более того, стимулом для запуска сигнального каскада *Nodal*, как и у многих позвоночных, служит работа ресничек. На личинках четырех видов асцидий (*H. roretzi*, *C. intestinalis*, *P. mammillata*, *C. inflata*) показано, что к стадии нейрулы эктодермальные клетки по всей поверхности тела, кроме нервной борозды, отрачивают по одной ресничке на клетку. Эти реснички совершают медленные волнообразные движения с частотой 1/7 Герц (Yamada et al., 2018), за счет их работы вся личинка целиком поворачивается внутри вителлиновой оболочки против часовой стрелки (при взгляде сзади) (рис. 9а) и прекращает вращение, когда левая сторона тела оказывается внизу. Дальнейшему повороту физически препятствует выпуклая нервная трубка (рис. 9б).

За счет того, что вителлиновая оболочка вдвое больше самой личинки (560 мкм против 280 мкм), только левая сторона нейрулы непосредственно контактирует с вителлиновой оболочкой. Этот контакт и запускает экспрессию *nodal* на левой стороне тела личинки и ее дальнейшую асимметризацию: в случае искусственно вызванного (центрифугированием или сжатием) контакта вителлиновой оболочки с правой стороной тела эмбриона экспрессия *nodal* возникает также и справа (Nishide et al., 2012). Запуск каскада *Nodal* вызывается белками, локализованными на внутренней

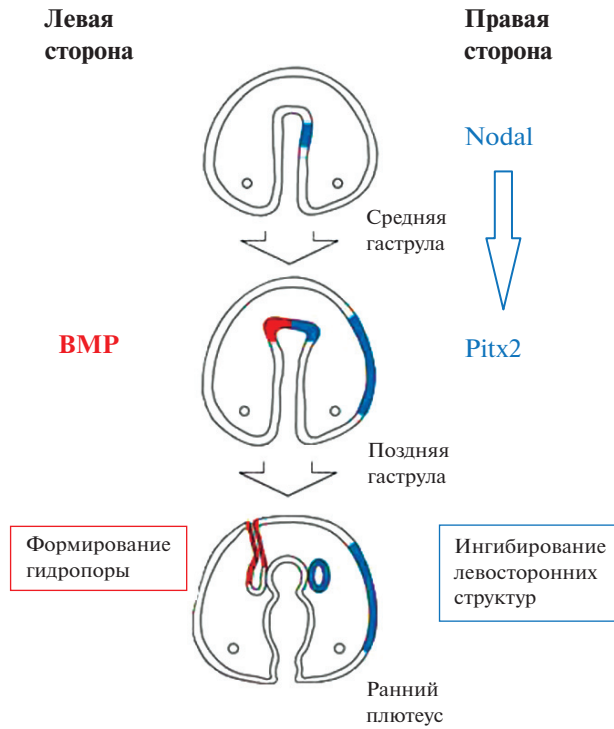


Рис. 10. Сигнальный каскад Nodal и асимметричное развитие личинки морского ежа. © 2014 Wiley. Используется с разрешения Su Y.H. Telling left from right: Left-right asymmetric controls in sea urchins // Genesis, John Wiley & Sons.

поверхности вителлиновой оболочки, а реснички не участвуют в этом процессе (Tanaka et al., 2019).

Морские ежи: лево-правый организатор асимметрии, расположенный в первичной кишке

Лево-правая асимметрия у билатерально-симметричной личинки морского ежа проявляется в формировании зачатка тела взрослого животного: левый целомический мешок прорывается на поверхность тела личинки отверстием-гидропорой, а в дальнейшем образует так называемый рудимент, закладку, из которой разовьется взрослое животное (Duboc et al., 2005). У личинок морских ежей *P. lividus* и *S. pallidus* обнаружена асимметричная экспрессия гена *nodal*, вначале в вентральной эндомезодерме архентерона личинки, а затем и в эктодерме. В отличие от хордовых, у которых *nodal* экспрессируется слева, у иглокожих *nodal* маркирует правую сторону тела, не позволяя ей развиваться по левостороннему сценарию и образовывать эктопическую закладку рудимента (Duboc et al., 2005). При этом важно отметить, что исходная область экспрессии *nodal* находится на вентральной стороне личинки, а не на дорзальной, как у хордовых. Это служит дополнительным аргументом в пользу гомологии дорзальной стороны хордовых и вентральной стороны иглокожих (Blum et al., 2009). Помимо *nodal*, у морского ежа найден его репрессор *lefty*, который не поз-

воляет сигналу *nodal* распространяться на левую сторону тела личинки (Molina et al., 2013), и ген *pitx2*, который находится под контролем *nodal* и вовлечен в регуляцию развития асимметрии тела (рис. 10) (Su, 2014).

На роль лево-правого организатора у морских ежей претендует участок архентерона. У личинок морских ежей на стадии гастрюлы обнаружены реснички, расположенные на мезентодермальных клетках переднего конца архентерона и обращенные в его полость (рис. 11б). Каждая клетка несет на апикальной поверхности по одной ресничке, смещенной к заднему краю клетки (рис. 11г), и эти реснички совершают вращательные движения. В случае удаления ресничек с клеток архентерона нарушается правильная экспрессия *nodal* (Tisler et al., 2016). Все это позволяет предположить наличие у морского ежа механизма запуска сигнального каскада Nodal при помощи подвижных ресничек и тока жидкости, схожего с таковым механизмом у позвоночных.

СПОСОБЫ УСТАНОВЛЕНИЯ АСИММЕТРИЗАЦИИ У ПЕРВИЧНОРОТЫХ ЖИВОТНЫХ

В группу двустороннесимметричных животных Bilateria, помимо таксона вторичноротых – Deuterostomia, входит обширная и разнообразнейшая группа первичноротых – Protostomia. Среди ее

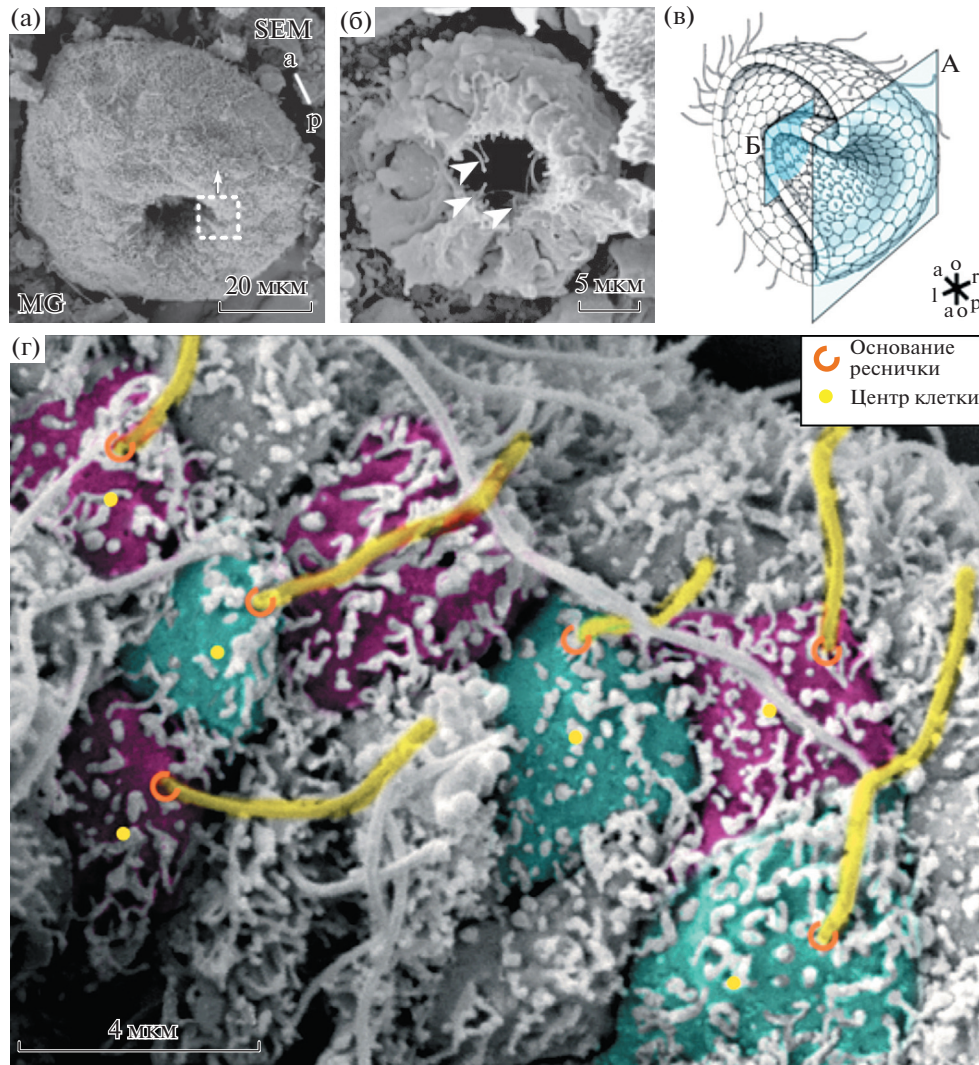


Рис. 11. Лево-правый организатор личинки морского ежа. (а) Срез через blastopore gastrula. (б) Срез через переднюю область архентерона, стрелками указаны реснички. (в) Схема gastrula морского ежа. (г) Заднее положение ресничек на апикальных поверхностях клеток передней области архентерона. Адаптировано из Tisler et al., 2016, согласно условиям Creative Commons Attribution 4.0 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

представителей также распространена внешняя и внутренняя асимметрия тела, чрезвычайно интересная для изучения. Protostomia делятся на группы Lophotrochozoa и Ecdysozoa, в каждой из которых представлены свои способы установления лево-правой асимметрии.

Моллюски Gastropoda: спиральное дробление и ген с материнским эффектом

Говоря о лево-правой асимметрии таксона Lophotrochozoa, следует в первую очередь рассмотреть брюхоногих моллюсков. Именно с них началось изучение асимметрии у животных (Boycott, Diver, 1923). Существуют виды с правозакрученной или левозакрученной раковиной, а также виды, у которых закрученность раковины индивидуально

изменчива. Помимо спиральной раковины, внутренние органы гастропод тоже асимметричны. Декстральные и синистральные особи являются зеркальным отражением друг друга, хотя зеркальность процессов эмбриогенеза оспаривается некоторыми авторами (Shibasaki et al., 2004). Показано, что хиральность улитки *Lymnaea stagnalis* обусловлена одним геном с материнским эффектом, причем декстральный аллель является доминантным. Таким образом, если в геноме матери хотя бы один аллель из двух декстральный, ее потомки будут правозакрученными, даже если их собственные аллели этого гена оба синистральны. Если в синистральную яйцеклетку ввести немного цитоплазмы из декстральной, то яйцеклетка сменит хиральность на декстральную, в то время

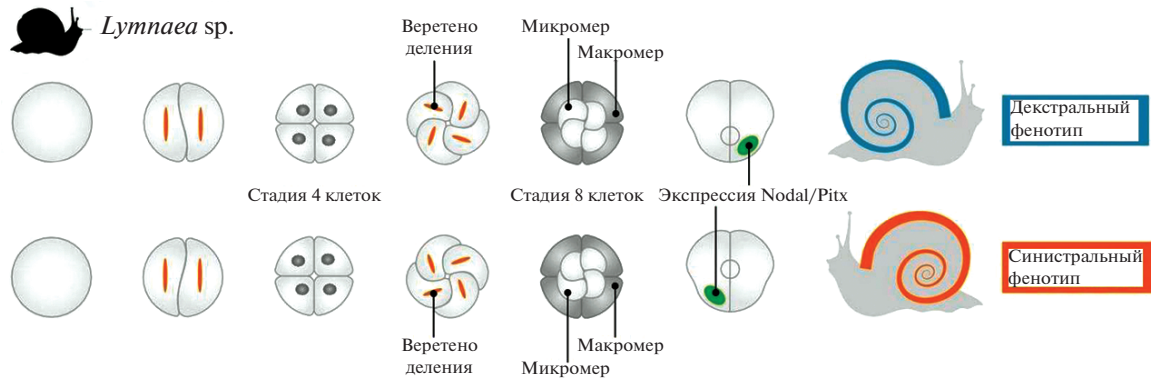


Рис. 12. Зеркальное развитие декстрального и синистрального фенотипов у гастропод. © 2014 Wiley. Используется с разрешения Coutelis et al. Diversity and convergence in the mechanisms establishing L/R asymmetry in metazoa // EMBO Reports, John Wiley & Sons.

как обратная операция не приведет к изменению хиральности (Coutelis et al., 2014).

На роль искомого фактора хиральности выдвигаются два гена, кодирующие формины – белки, участвующие в построении актинового цитоскелета (Kuroda et al., 2016). В пользу этой гипотезы говорит то, что разрушение микротрубочек на стадии 4 бластомеров не влияет на установление лево-правой оси, а разрушение актиновых микрофиламентов нарушает формирование этой оси (Shibazaki et al., 2004). По последним данным, полученным с помощью технологии CRISPR/Cas9, нокаут гена формина *lsdia1* у декстральных улиток приводит к появлению у них строго синистрального потомства, наследующего это изменение. Таким образом, именно *lsdia1* является искомым “геном хиральности”. Это ген с материнским эффектом: белковый продукт присутствует в яйцеклетке и определяет будущую хиральность эмбриона уже на стадии зиготы на внутриклеточном уровне (Abe, Kuroda, 2019).

Внешние признаки лево-правой асимметрии у гастропод проявляются при третьем делении дробления, когда митотические веретена четырех бластомеров отклоняются от вертикальной оси. Это приводит к визуальному повороту отделившегося квартета микромеров относительно макромеров – по или против часовой стрелки. Такое дробление называют спиральным, и оно характерно для группы Spiralia. Показано, что путем аккуратного искусственного поворота квартета микромеров можно добиться полного изменения хиральности улитки, причем полученные животные были здоровы и фертильны, однако подобные изменения хиральности не наследуются (Kuroda et al., 2009).

У моллюсков отмечены гомологи генов *nodal* и *pitx*, которые у хордовых отвечают за асимметрию. В результате дробления зародыша гомологи *nodal* и *pitx* тоже экспрессируются асимметрично: на правой стороне у декстральных особей и на ле-

вой – у синистральных (рис. 12). В дальнейшем эти белки обуславливают всю асимметрию взрослого организма, вероятно, через посредничество морфогена Dpp. При введении ингибитора, специфичного к суперсемейству TGF- β (к которому относятся *Nodal* и *Dpp*), асимметрия пропадала, и раковины улиток имели конусовидную незакрученную форму (Grande, Patel, 2009).

Характерный для брюхоногих моллюсков торсионный поворот (то есть разворот внутренностного мешка на 180° в ходе онтогенеза), являющийся одним из проявлений морфологической асимметрии, долгое время считался результатом мышечного усилия личинки, однако показано (Kurita, Wada, 2011), что он происходит из-за интенсивной пролиферации потомков клеток, экспрессировавших *nodal* на более ранних этапах эмбриогенеза. Воздействие на личинку морского блюдечка *Nipponacmea fuscoviridis* ингибитора к белкам суперсемейства TGF- β приводило к подавлению пролиферации этих клеток, и торсионного поворота не происходило.

НЕМАТОДА: ПОВОРОТЫ БЛАСТОМЕРОВ И НЕКАНОНИЧЕСКИЙ Wnt-ПУТЬ

Среди группы Ecdysozoa излюбленным модельным объектом биологов является нематода *Caenorhabditis elegans*. Нематоды относятся к организмам с хорошо выраженными клеточными линиями, и в многочисленных исследованиях прослежена судьба каждой клетки *C. elegans*. Несмотря на это, первичный стимул к нарушению билатеральной симметрии точно не известен. Первое проявление асимметрии приходится на стадию четырех клеток. При подготовке к делению передний и задний дорсальные бластомеры немного поворачиваются направо, и митотическая ось в каждом из них перестает быть перпендикулярной антериопостериорной оси. В результате после деления этих

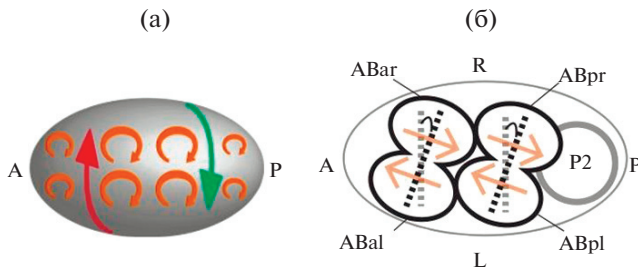


Рис. 13. Эмбрион нематоды на стадии зиготы (а) и шести клеток (б). А и Р – передняя и задние стороны тела эмбриона, L и R – левая и правая стороны. Стрелками показано направление потока кортикального актинового слоя. Адаптировано из Naganathan et al., 2014, согласно условиям Creative Commons Attribution 4.0 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

модействия миозина с актином в кортикальном слое вызывают механические напряжения и вращательные смещения актиновой сети по часовой стрелке (кортикальный ток). На стадии четырех blastomeres эти же хиральные вращательные моменты в кортикальном слое приводят к смещению веретена деления (Naganathan et al., 2014) (рис. 13б).

У Ecdysozoa не найдено гомологов гена *nodal*. Запуск поворота дорсальных blastomeres осуществляется через неканонический Wnt-путь. Закрепление ранее установленной морфологической лево-правой асимметрии и однозначное определение судьбы клеток происходит начиная со стадии 12 клеток, когда между парными blastomeres возникают различия в работе сигнального пути Notch (Pohl, 2011).

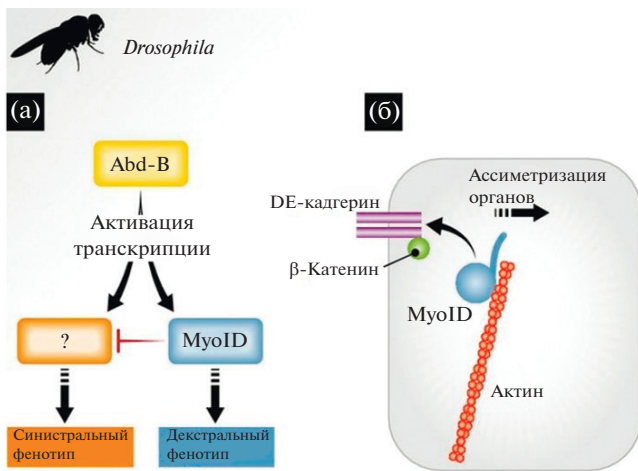


Рис. 14. Установление асимметрии у *D. melanogaster*. (а) Генетический путь определения асимметрии. (б) Взаимодействия белка Myosin1d с актиновым цитоскелетом. © 2014 Wiley. Используется с разрешения Coutelis et al. Diversity and convergence in the mechanisms establishing L/R asymmetry in metazoa // EMBO Reports, John Wiley & Sons.

ПРЕДСТАВИТЕЛЬ ARTHROPODA: МИОЗИН И НАТЯЖЕНИЯ МЕМБРАН КЛЕТОК

Во всех рассмотренных выше случаях асимметрия организма устанавливалась в ходе эмбриогенеза раз и навсегда, обуславливая определенный сценарий развития органов. Тем удивительнее случай дрозофилы *D. melanogaster* (членистоногие, как и нематоды, относятся к группе Ecdysozoa), у которой отдельные органы (кишечник, семенные протоки) приобретают асимметричное строение независимо друг от друга и на разных этапах онтогенеза. Их развитие контролируется одним геном *myosin 1d* (гомологичным гену позвоночных), эффекты которого приводят к “декстральному” фенотипу мух. Интересно, что выключение этого гена в конкретном органе приводит не к рандомизации асимметрии органа, как можно было бы ожидать, а к развитию локального “синистрального” фенотипа (Spéder et al., 2006). Сам ген *myosin 1d* контролируется одним из Нох-генов *abd-B*, и при выключении этого гена асимметрия вовсе не развивается (Coutelis et al., 2013). Подобные эффекты воздействия на сигнальный каскад позволяют предположить наличие еще не открытого “синистрального” пути, который активируется продуктом гена *abd-B* и ингибируется параллельным “декстральным” путем через *myosin 1d*, а в его отсутствие направляет орган по синистральному пути развития (рис. 14а).

Продукт гена *myosin 1d* – белок из семейства миозинов, способный перемещать грузы вдоль нити актина за счет энергии АТФ. Для установления асимметрии той или иной структуры в организме дрозофилы этот белок в клетках данной структуры связывается с клеточной мембраной через DE-кадгерин и β-катенин (рис. 14б). Также показана передача сигнала на мембрану через атипичный кадгерин Ds (González-Morales et al., 2015). За счет перемещения миозина вдоль актиновых микрофиламентов возникает асимметричное натяжение мембраны, которое, по-видимо-

blastomeres оказывается, что левый blastomer в каждой паре расположен ближе к будущей голове, чем правый (Pohl, 2011). В движениях blastomeres задействована система актиновых микрофиламентов и система микротрубочек: разрушение любой из них прекращает поворот blastomeres и асимметризацию эмбриона нематоды (Naganathan et al., 2014).

В движениях blastomeres участвуют PAR-белки и G-белки, совместное действие которых вызывает направленные смещения кортикального слоя клетки и митотического веретена (Pohl, Bao, 2010). Хиральные повороты кортикального слоя цитоплазмы отмечены у эмбриона *C. elegans* уже на стадии зиготы (рис. 13а). Показано, что взаи-

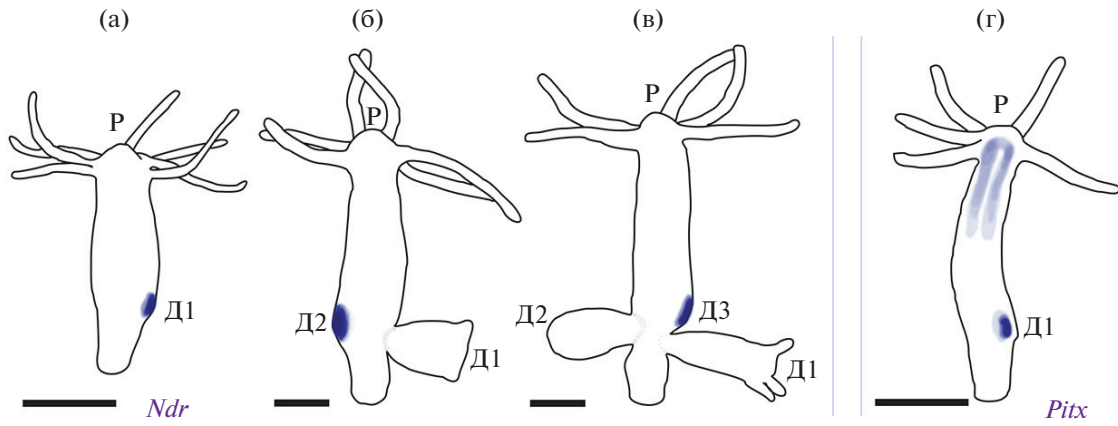


Рис. 15. Экспрессия *Ndr* и *Pitx* в зачатках боковых почек гидры. По данным Watanabe et al., 2014.

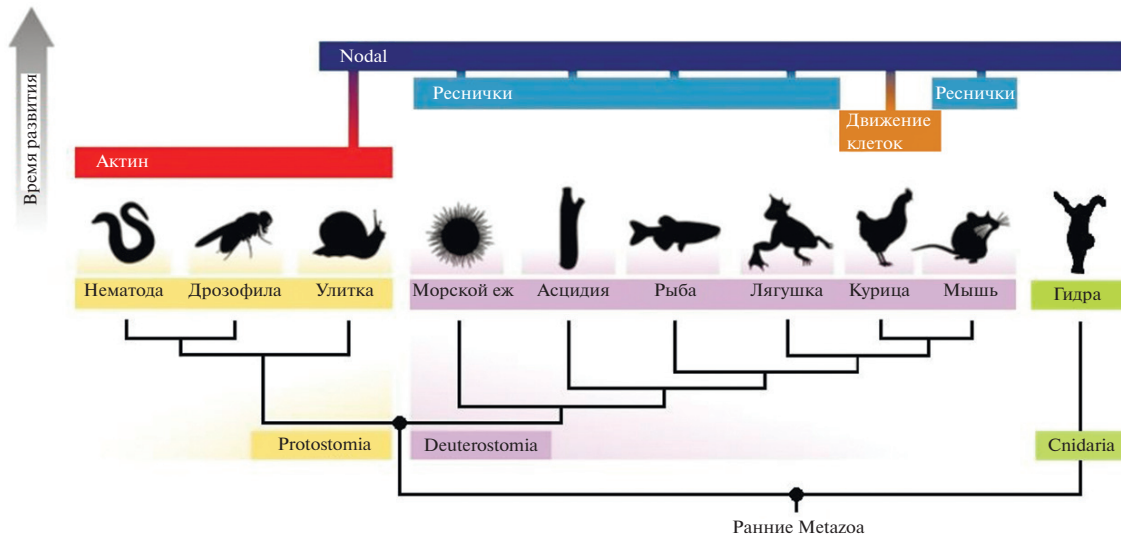


Рис. 16. Способы установления асимметрии на филогенетическом древе Metazoa. © 2014 Wiley. Используется с разрешения Coutelis et al. Diversity and convergence in the mechanisms establishing L/R asymmetry in metazoa // EMBO Reports, John Wiley & Sons.

му, и определяет дальнейшую латерализацию. Интересно, что в отсутствие миозина натяжения мембраны все равно наблюдаются, что указывает на сходную с миозином природу пока неизвестного “синистрального” фактора (Coutelis et al., 2014).

CNIDARIA: ЭКСПРЕССИЯ КОМПОНЕНТОВ СИГНАЛЬНОГО КАСКАДА NODAL ПРИ ПОЧКОВАНИИ

До сих пор асимметрию в строении тела было принято рассматривать у билатерий. Однако недавно было показано (Watanabe et al., 2014), что предпосылки к лево-правой асимметрии имеются и у сестринской с Bilateria группы – радиально-симметричных Cnidaria. Так, пресноводные по-

липы рода *Hydra* временно приобретают черты двусторонней симметрии при почковании. Было показано, что в зачатке почки дочернего полипа экспрессируется ген *ndr*, имеющий значительное сходство с *nodal* у билатерий. Более того, этот ген запускает экспрессию гена *pitx* (рис. 15). Помимо этого, в геноме гидры найдены гены-репрессоры *nodal*, принадлежащие семействам *Serberus* и *Dan*, и *smad2/3*, задействованные в передаче сигнала от *nodal*. Таким образом, уже у гидры присутствует как минимум часть сигнального каскада Nodal.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Механизмы установления асимметрии в разных группах животных можно сгруппировать по

нескольким характерным признакам. Биение ресничек, создающих направленный ток жидкости, как причина запуска асимметричной экспрессии генов характерна для всех групп позвоночных, кроме птиц (изученных на примере курицы) и отдельных видов млекопитающих (свинья). Обнаруживаются значительные сходства в морфогенезе, строении и функционировании лево-правого организатора асимметрии у млекопитающих, амфибий и рыб. Закономерно предположить, что ресничный лево-правый организатор асимметрии является базальным признаком позвоночных, бывшим у их общего предка, а случаи его отсутствия у курицы и свиньи являются результатом вторичной утраты этой структуры и, как следствие, утраты “ресничного” способа установления асимметрии.

Обнаружение “ресничных механизмов” установления асимметрии у асцидий и, главное, у иглокожих позволяет строить еще более смелые предположения. Ресничный организатор асимметрии иглокожих обнаруживает определенные сходства с таковым у позвоночных: расположение в первичной кишке, подвижные реснички, смещенные к заднему краю клеток, асимметрично направленный ток жидкости в первичной кишке, приводящий к экспрессии генов, регулирующих установление асимметрии. Вполне вероятно, что и иглокожие, и хордовые унаследовали сходный механизм асимметризации от общего предка, что отодвигает время возникновения ресничного лево-правого организатора асимметрии на еще более раннее эволюционное время, к предку всей клады вторичноротых.

Перестройки актинового цитоскелета необходимы для установления асимметрии, по крайней мере, у первичноротых. У нематоды *C. elegans*, дрозофилы *D. melanogaster* и улитки *L. stagnalis* натяжение актиновых филаментов вызывает механические напряжения в кортикальном слое клеток, приводящие к смещению веретен деления клеток. Интересно, что в этом процессе задействован ген *myosin Id*, гомологи которого у позвоночных также оказались необходимыми для установления асимметрии. Таким образом, роль актинового цитоскелета в установлении лево-правой асимметрии и эволюционная консервативность этой роли остаются интересными темами для изучения.

Сигнальный каскад Nodal является эволюционно консервативной генетической основой асимметрии у представителей всех изученных групп вторичноротых. Это позволяет с уверенностью заключить, что уже у предка вторичноротых этот каскад выполнял важную роль в установлении асимметрии.

В группе первичноротых ситуация не столь однозначная. У Ecdysozoa не найдено генов, гомологичных генам сигнального каскада Nodal, а в

группе Lophotrochozoa роль этого каскада изучена только у брюхоногих моллюсков, у которых механизм установления асимметрии на клеточном уровне отличается от такового у вторичноротых. Поэтому вопрос о том, участвовал ли сигнальный каскад Nodal в установлении асимметрии у общего предка первичноротых, остается в значительной степени открытым и требует дальнейших исследований. Тем не менее, факт участия одного и того же каскада в установлении асимметрии у представителей как первично-, так и вторичноротых позволяет предположить его сходную функцию и у их общих предков – базальных билатерий.

Недавняя находка сигнального каскада Nodal у представителя кишечнополостных, гидры, отодвигает его возникновение до общего предка Cnidaria и Bilateria, что позволяет предположить, что этот каскад был уже у ранних Metazoa, а его отсутствие в группе Ecdysozoa – результат вторичной утраты (рис. 16).

БЛАГОДАРНОСТИ

Я благодарю моего научного руководителя Станислава Валерьевича Кремнева за помощь в написании статьи, а также Юлию Александровну Краус за ценные замечания.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа сделана в рамках госзадания НИР “Клеточные и молекулярные основы морфогенетических реакций на механические напряжения”, номер договора: 30-2-16, номер ЦИТИС: АААА-А16-116021660089-6.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Abe M., Kuroda R.* The development of CRISPR for a mollusc establishes the formin *Lsdia1* as the long-sought gene for snail dextral/sinistral coiling // *Development*. 2019. V. 146. № 9. P. dev175976.
- Afzelius B.A.* A human syndrome caused by immotile cilia // *Science*. 1976. V. 193. № 4250. P. 317–319.
- Blum M., Andre P., Muders K. et al.* Ciliation and gene expression distinguish between node and posterior notochord in the mammalian embryo // *Differentiation*. 2007. V. 75. № 2. P. 133–146.
- Blum M., Weber T., Beyer T. et al.* Evolution of leftward flow // *Semin. Cell Dev. Biol. Academic Press*, 2009. V. 20. № 4. P. 464–471.
- Boycott A.E., Diver C.* On the inheritance of sinistrality in *Limnaea peregra* // *Proc. R. Soc. London, Ser. B*. 1923. V. 95. № 666. P. 207–213.
- Cartwright J.H.E., Piro O., Tuval I.* Fluid-dynamical basis of the embryonic development of left-right asymmetry in vertebrates // *PNAS*. 2004. V. 101. № 19. P. 7234–7239.
- Chen C., Norris D., Bhattacharya S.* Transcriptional control of left-right patterning in cardiac development // *Pediatr. Cardiol.* 2010. V. 31. № 3. P. 371–377.

- Coutelis J.B., Géminard C., Spéder P. et al.* Drosophila left/right asymmetry establishment is controlled by the Hox gene abdominal-B // *Dev. Cell.* 2013. V. 24. № 1. P. 89–97.
- Coutelis J. B., González-Morales N., Géminard C. et al.* Diversity and convergence in the mechanisms establishing L/R asymmetry in metazoa // *EMBO Rep.* 2014. P. e201438972.
- Duboc V., Röttinger E., Lapraz F. et al.* Left-right asymmetry in the sea urchin embryo is regulated by nodal signaling on the right side // *Dev. Cell.* 2005. V. 9. № 1. P. 147–158.
- Essner J.J., Amack J.D., Nyholm M.K. et al.* Kupffer's vesicle is a ciliated organ of asymmetry in the zebrafish embryo that initiates left-right development of the brain, heart and gut // *Development.* 2005. V. 132. № 6. P. 1247–1260.
- Esteban C.R., Capdevila J., Economides A.N. et al.* The novel Cer-like protein Caronte mediates the establishment of embryonic left-right asymmetry // *Nature.* 1999. V. 401. № 6750. P. 243.
- Field S., Riley K.L., Grimes D.T. et al.* Pkd111 establishes left-right asymmetry and physically interacts with Pkd2 // *Development.* 2011. V. 138. № 6. P. 1131–1142.
- González-Morales N., Géminard C., Lebreton G. et al.* The atypical cadherin dachsous controls left-right asymmetry in Drosophila // *Dev. Cell.* 2015. V. 33. № 6. P. 675–689.
- Grande C., Patel N.H.* Nodal signalling is involved in left-right asymmetry in snails // *Nature.* 2009. V. 457. № 7232. P. 1007–1011.
- Gros J., Feistel K., Viebahn C. et al.* Cell movements at Hensen's node establish left/right asymmetric gene expression in the chick // *Science.* 2009. V. 324. № 5929. P. 941–944.
- Hamada H.* Roles of motile and immotile cilia in left-right symmetry breaking // *Etiology and Morphogenesis of Congenital Heart Disease.* Springer, Tokyo, 2016. P. 57–65.
- Hojo M., Takashima S., Kobayashi D. et al.* Right-elevated expression of charon is regulated by fluid flow in medaka Kupffer's vesicle // *Dev. Growth Differ.* 2007. V. 49. № 5. P. 395–405.
- Kurita Y., Wada H.* Evidence that gastropod torsion is driven by asymmetric cell proliferation activated by TGF- β signalling // *Biol. Lett.* 2011. V. 7. № 5. P. 759–762.
- Kuroda R., Endo B., Abe M. et al.* Chiral blastomere arrangement dictates zygotic left-right asymmetry pathway in snails // *Nature.* 2009. V. 462. № 7274. P. 790–794.
- Kuroda R., Fujikura K., Abe M. et al.* Diaphanous gene mutation affects spiral cleavage and chirality in snails // *Sci. Rep.* 2016. V. 6. P. 34809.
- Lee J.D., Anderson K.V.* Morphogenesis of the node and notochord: the cellular basis for the establishment and maintenance of left-right asymmetry in the mouse // *Dev. Dyn.* 2008. V. 237. № 12. P. 3464–3476.
- Levin M., Johnson R.L., Sterna C.D. et al.* A molecular pathway determining left-right asymmetry in chick embryogenesis // *Cell.* 1995. V. 82. № 5. P. 803–814.
- Lin C.Y., Tsai M.Y., Liu Y.H. et al.* Klf8 regulates left-right asymmetric patterning through modulation of Kupffer's vesicle morphogenesis and spaw expression // *J. Biomed. Sci.* 2017. V. 24. № 1. P. 45.
- Logan M., Pagán-Westphal S.M., Smith D.M. et al.* The transcription factor Pitx2 mediates situs-specific morphogenesis in response to left-right asymmetric signals // *Cell.* 1998. V. 94. № 3. P. 307–317.
- Long S., Ahmad N., Rebagliati M.* The zebrafish nodal-related gene southpaw is required for visceral and dien-cephalic left-right asymmetry // *Development.* 2003. V. 130. № 11. P. 2303–2316.
- Mahaffey J.P., Grego-Bessa J., Liem K.F. et al.* Cofilin and Vangl2 cooperate in the initiation of planar cell polarity in the mouse embryo // *Development.* 2013. V. 140. № 6. P. 1262–1271.
- McGrath J., Somlo S., Makova S. et al.* Two populations of node monocilia initiate left-right asymmetry in the mouse // *Cell.* 2003. V. 114. № 1. P. 61–73.
- Meno C., Shimono A., Saijoh Y. et al.* lefty-1 is required for left-right determination as a regulator of lefty-2 and nodal // *Cell.* 1998. V. 94. № 3. P. 287–297.
- Molina M.D., de Crozé N., Haillot E. et al.* Nodal: master and commander of the dorsal-ventral and left-right axes in the sea urchin embryo // *Curr. Opin. Genet. Dev.* 2013. V. 23. № 4. P. 445–453.
- Morokuma J., Ueno M., Kawanishi H. et al.* HrNodal, the ascidian nodal-related gene, is expressed in the left side of the epidermis, and lies upstream of HrPitx // *Dev. Genes Evol.* 2002. V. 212. № 9. P. 439–446.
- Naganathan S.R., Fürthauer S., Nishikawa M. et al.* Active torque generation by the actomyosin cell cortex drives left-right symmetry breaking // *Elife.* 2014. V. 3. P. e04165.
- Nieuwkoop P.D., Faber J.* Normal Table of *Xenopus laevis*. 1994. P. 268.
- Nishide K., Mugitani M., Kumano G. et al.* Neurula rotation determines left-right asymmetry in ascidian tadpole larvae // *Development.* 2012. V. 139. № 8. P. 1467–1475.
- Nonaka S., Shiratori H., Saijoh Y. et al.* Determination of left-right patterning of the mouse embryo by artificial nodal flow // *Nature.* 2002. V. 418. № 6893. P. 96–99.
- Nonaka S., Tanaka Y., Okada Y. et al.* Randomization of left-right asymmetry due to loss of nodal cilia generating leftward flow of extraembryonic fluid in mice lacking KIF3B motor protein // *Cell.* 1998. V. 95. № 6. P. 829–837.
- Nonaka S., Yoshida S., Watanabe D. et al.* De novo formation of left-right asymmetry by posterior tilt of nodal cilia // *PLoS Biol.* 2005. V. 3. № 8. P. e268.
- Okada Y., Nonaka S., Tanaka Y. et al.* Abnormal nodal flow precedes situs inversus in iv and inv mice // *Mol. Cell.* 1999. V. 4. № 4. P. 459–468.
- Oki S., Hashimoto R., Okui Y. et al.* Sulfated glycosaminoglycans are necessary for Nodal signal transmission from the node to the left lateral plate in the mouse embryo // *Development.* 2007. V. 134. № 21. P. 3893–3904.

- Pagán-Westphal S.M., Tabin C.J.* The transfer of left-right positional information during chick embryogenesis // *Cell*. 1998. V. 93. № 1. P. 25–35.
- Pohl C., Bao Z.* Chiral forces organize left-right patterning in *C. elegans* by uncoupling midline and anteroposterior axis // *Dev. Cell*. 2010. V. 19. № 3. P. 402–412.
- Pohl C.* Left-right patterning in the *C. elegans* embryo: Unique mechanisms and common principles // *Commun. Integr. Biol.* 2011. V. 4. № 1. P. 34–40.
- Sajjoh Y., Oki S., Ohishi S. et al.* Left-right patterning of the mouse lateral plate requires nodal produced in the node // *Dev. Biol.* 2003. V. 256. № 1. P. 161–173.
- Saydmohammed M., Yagi H., Calderon M. et al.* Vertebrate myosin 1d regulates left-right organizer morphogenesis and laterality // *Nat. Commun.* 2018. V. 9. № 1. P. 3381.
- Schröder S.S., Tsikolia N., Weizbauer A. et al.* Paraxial nodal expression reveals a novel conserved structure of the left-right organizer in four mammalian species // *Cells Tissues Organs*. 2016. V. 201. № 2. P. 77–87.
- Schweickert A., Vick P., Getwan M. et al.* The nodal inhibitor Coco is a critical target of leftward flow in *Xenopus* // *Curr. Biol.* 2010. V. 20. № 8. P. 738–743.
- Schweickert A., Weber T., Beyer T. et al.* Cilia-driven leftward flow determines laterality in *Xenopus* // *Curr. Biol.* 2007. V. 17. № 1. P. 60–66.
- Shibazaki Y., Shimizu M., Kuroda R.* Body handedness is directed by genetically determined cytoskeletal dynamics in the early embryo // *Curr. Biol.* 2004. V. 14. № 16. P. 1462–1467.
- Shinohara K., Kawasumi A., Takamatsu A. et al.* Two rotating cilia in the node cavity are sufficient to break left-right symmetry in the mouse embryo // *Nat. Commun.* 2012. V. 3. P. 622.
- Shiraishi I., Ichikawa H.* Human heterotaxy syndrome // *Circ. J.* 2012. P. CJ-12-0957.
- Shiratori H., Hamada H.* The left-right axis in the mouse: from origin to morphology // *Development*. 2006. V. 133. № 11. P. 2095–2104.
- Spéder P., Ádám G., Noselli S.* Type ID unconventional myosin controls left-right asymmetry in *Drosophila* // *Nature*. 2006. V. 440. № 7085. P. 803–807.
- Su Y.H.* Telling left from right: Left-right asymmetric controls in sea urchins // *Genesis*. 2014. V. 52. № 3. P. 269–278.
- Sulik K., Dehart D.B., Inagaki T. et al.* Morphogenesis of the murine node and notochordal plate // *Dev. Dyn.* 1994. V. 201. № 3. P. 260–278.
- Supp D.M., Witte D.P., Potter S.S. et al.* Mutation of an axonemal dynein affects left-right asymmetry in *inversus viscerum* mice // *Nature*. 1997. V. 389. № 6654. P. 963–966.
- Tanaka Y., Okada Y., Hirokawa N.* FGF-induced vesicular release of Sonic hedgehog and retinoic acid in leftward nodal flow is critical for left-right determination // *Nature*. 2005. V. 435. № 7039. P. 172–177.
- Tanaka Y., Yamada S., Connop S.L. et al.* Vitelline membrane proteins promote left-sided nodal expression after neurula rotation in the ascidian, *Halocynthia roretzi* // *Dev. Biol.* 2019. V. 449. № 1. P. 52–61.
- Tingler M., Kurz S., Maerker M. et al.* A conserved role of the unconventional myosin 1d in laterality determination // *Curr. Biol.* 2018. V. 28. № 5. P. 810–816. e3.
- Tisler M., Wetzel F., Mantino S. et al.* Cilia are required for asymmetric nodal induction in the sea urchin embryo // *BMC Dev. Biol.* 2016. V. 16. № 1. P. 28.
- Tsikolia N., Schröder S., Schwartz P. et al.* Paraxial left-sided nodal expression and the start of left-right patterning in the early chick embryo // *Differentiation*. 2012. V. 84. № 5. P. 380–391.
- Watanabe H., Schmidt H.A., Kuhn A. et al.* Nodal signalling determines biradial asymmetry in *Hydra* // *Nature*. 2014. V. 515. № 7525. P. 112.
- Yamada S., Tanaka Y., Imai K.S. et al.* Wavy movements of epidermis monocilia drive the neurula rotation that determines left-right asymmetry in ascidian embryos // *Dev. Biol.* 2019. V. 448. № 2. P. 173–182.
- Yu J.K., Holland L.Z., Holland N.D.* An amphioxus nodal gene (AmphiNodal) with early symmetrical expression in the organizer and mesoderm and later asymmetrical expression associated with left-right axis formation // *Evol. Dev.* 2002. V. 4. № 6. P. 418–425.
- Yuan S., Zhao L., Brueckner M. et al.* Intraciliary calcium oscillations initiate vertebrate left-right asymmetry // *Curr. Biol.* 2015. V. 25. № 5. P. 556–567.
- Zhu L., Belmont J.W., Ware S.M.* Genetics of human heterotaxias // *Eur. J. Hum. Genet.* 2006. V. 14. № 1. P. 17.

Evolutionary Diversity of the Mechanisms Providing the Establishment of Left-Right Asymmetry in Metazoans

N. D. Petri*

*Department of Embryology, Faculty of Biology, Moscow State University,
Leninskie Gory 1-12, Moscow, 199923 Russia*

*e-mail: petri1543@inbox.ru

Received November 1, 2019; revised November 27, 2019; accepted December 1, 2019

Left-right asymmetry is an important feature of the bilaterian animals body plan. Malformations of left-right axis result in pathologies of varying severity, therefore, studying the mechanisms of its establishment in embryonic development is important for the fundamental science and for the medicine. The main question to answer in the course of research work is how and when the symmetry breakage in a developing organism oc-

curs. This area of research is intensely developing, and various mechanisms of left-right axis establishment have already been discovered in animals of different phylogenetic groups. Unfortunately, comparative studies of these mechanisms often focus on a few phylogenetically distant objects of developmental biology and do not analyse the diversity that exists within the taxonomic groups. Therefore, this review aims to show the variety of mechanisms for establishing left-right asymmetry in the early development of metazoans; to make assumptions about the evolutionary conservatism of these mechanisms; to find out which of the mechanisms is basal for the Bilateria and for the Metazoa in general. The article systematizes our knowledge about the establishment of left-right asymmetry on the basis of the Nodal signaling cascade activity; compares the morphology and functioning of the left-right organizers of different animals; compares the role of mechanical tensions in establishing asymmetry in different Protostomia. Generalization and analysis of data on the establishment of left-right asymmetry provides a new insight into the evolution of the development of multicellular animals.

Keywords: left-right asymmetry, asymmetry establishment, left-right organizer, body plan, metazoans, bilaterians, Nodal, development