

РАННИЕ ЭТАПЫ ЭВОЛЮЦИИ МЕЗОДЕРМЫ ЖИВОТНЫХ

© 2022 г. Н. Д. Озернюк^{а, *}, В. В. Исаева^{б, с}^аИнститут биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, ул. Вавилова, 26, Москва, 119334 Россия^бИнститут проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН,
ул. Ленинский проспект, 33, Москва, 119071 Россия^сИнститут биологии моря им. А.В. Жирмунского Национального научного центра морской биологии ДВО РАН,
ул. Пальчевского, 17, Владивосток, 690059 Россия

*e-mail: ozernyuk@mail.ru

Поступила в редакцию 07.07.2021 г.

После доработки 23.11.2021 г.

Принята к публикации 30.11.2021 г.

Секвенирование геномов одноклеточных эукариот Holozoa (*Monosiga brevicollis*, *Capsaspora owczarzakii*), базальных многоклеточных Porifera и Cnidaria, а также Bilateria показало, что генный репертуар и генные регуляторные сети, играющие ключевую роль в эволюции многоклеточных животных, в частности, в формировании мезодермы, имеют более раннее происхождение, чем предполагалось. Появление Cnidaria и Bilateria, произошло накануне Кембрийского взрыва, когда эволюционировало небывалое количество новых форм организмов. Предполагается, что молекулярно-генетическая основа Кембрийского взрыва была подготовлена *Нох*-генами, которые обеспечили принципиальное усложнение генетических программ развития Bilateria (Erwin, Davidson, 2002; Davidson, 2006; Carroll, 2008; Holland, 2015).

Ключевые слова: мезодерма, книдарии, Bilateria, генный репертуар, сигнальные пути, генные регуляторные сети, *Нох*-гены, Кембрийский взрыв

DOI: 10.31857/S0475145022020094

ВВЕДЕНИЕ

Зародышевые листки, формирующие план строения многоклеточных животных, впервые были описаны Карлом фон Бэрмом. В конце XIX в. впервые были описаны телобласты – стволовые клетки мезодермы. Имевшее место формирование элементов мезодермы на ранних этапах эволюции Metazoa, было крупномасштабным эволюционным новшеством – ароморфозом, изменившим характер индивидуального развития животных. Впервые мезодермальный листок у Bilateria формируется у плоских червей Plathelminthes (600–550 млн лет назад) из телобластов в заднем конце зародыша, которые дают начало соединительной ткани, заполняющей пространство между внутренними органами (Иванова-Казас, 1995; Рупперт и др., 2008; Salinas-Saavedra et al., 2018). Поскольку производными мезодермы являются мышечная, скелетная, кровеносная, половая и выделительная системы (Technau, Scholz, 2003), целомический эпителий, то формирование мезодермы стало источником интенсивных эволюционных преобразований. Переход от двуслойных животных к трехслойным билатерально-симметричным организмам и возникновение мезодермы связано с эволюцией осевой симметрии плана строения

Metazoa (Technau, Scholz, 2003; Isaeva, Kasyanov, 2021). В онтогенезе Bilateria мезодерма появляется в процессе гастрюляции.

Анализ геномов двуслойных Metazoa и представителей Bilateria показал, что генный “инструментарий”, характерный для билатерально-симметричных животных, появился на достаточно ранних этапах эволюции. Эта особенность касается в первую очередь эволюционного происхождения мезодермы. В последние десятилетия появились основания констатировать, что качественная сторона генного репертуара, охватывающая большинство признаков Bilateria, была уже сформирована у одноклеточных эукариот (хоанофлагеллята *Monosiga brevicollis*, филастерия *Capsaspora owczarzakii*), а также у Porifera. Использование современных методов анализа регуляции процессов развития, прежде всего, секвенирования геномов, биоинформатических подходов, генных регуляторных сетей и сигнальных путей, дало возможность проследить наиболее ранние этапы появления генов, определяющих формирование элементов мезодермы (Martindale et al., 2004; Putnam et al., 2007; Erwin, 2009; Technau, 2010; Hashimshony et al., 2015; Röttinger et al., 2012; Srivastava, 2015; Technau et al., 2015; Steinmetz et al.,

2017; Wijesena et al., 2017; Erwin, 2020; Ros-Rocher et al., 2021). Анцестральные функции этих генов связаны, по-видимому, с контролем процессов гаструляции и/или дифференцировки энтометодермы, а анцестральные генные сети у Bilateria были рекрутированы, вероятно, для дифференцировки мезодермы, в частности, процессов миогенеза (Technau, 2010). Очевидно, что анализ этой проблемы существенно осложняется отсутствием информации о строении последнего общего предка двуслойных Metazoa и Bilateria, а также общего предка Bilateria. Поэтому данные об эволюционных предпосылках происхождения мезодермы, имеющихся у Cnidaria, можно использовать только для осторожной экстраполяции на Bilateria.

ГЕННЫЙ РЕПЕРТУАР

Обнаружение раннего эволюционного появления генных ресурсов, необходимых для образования мезодермы, стало возможным после секвенирования геномов одноклеточных эукариотических организмов, губок и представителей двуслойных Metazoa. В частности, уже у одноклеточных хоанофлагеллят *Monosiga* и филастерий *Capsaspora* при секвенировании геномов были идентифицированы гены, ортологичные генам Metazoa, которые кодируют ряд транскрипционных факторов, а также гены, кодирующие белки клеточной адгезии, внеклеточного матрикса и некоторых сигнальных путей (Erwin, 2009, 2020; Suga et al., 2013). Характерные для Bilateria гены, кодирующие транскрипционные факторы, выявлены также у губки *Amphimedon queenslandica* и трихоплакса *Trichoplax adhaerens* (Placozoa) (Srivastava, 2008; Erwin, 2009, 2020). Речь идет о генах, которые кодируют транскрипционные факторы классов ANTP, Pax, POU, T-box, Sox, Mef2, PRD.

Из анализа геномов Cnidaria из класса Anthozoa (*Nematostella* и *Acropora*) следует, что их генный “инструментарий”, включая генные регуляторные сети, оказывается во многом общим с Bilateria, а его элементы возникли на ранних этапах эволюции многоклеточных (Putnam et al., 2007; Srivastava, 2008, 2015; Technau, 2010; Hashimshony et al., 2015; Technau et al., 2015; Steinmetz et al., 2017; Wijesena et al., 2017). Первоначально у актинии *Nematostella vectensis* было обнаружено не менее семи генов, кодирующих транскрипционные факторы, которые участвуют в дифференцировке мезодермы Bilateria (Erwin, 2009). В области бластопора *Nematostella* экспрессируются гены *brachyury*, *goosecoid* и *forkhead*, а в энтодерме — *snail* и *twist*. Генные регуляторные сети, содержащие эти гены, принимают участие и в регуляции дифференцировки мезодермы (в частности, миогенеза) у Bilateria (Technau, Scholz, 2003; Technau, 2010). В геноме *Nematostella* обнаружены также гены, участвующие в детерминации дорсо-вентраль-

ной оси у Bilateria. Это гены *decapentaplegic (dpp)*, *chordin* и некоторые другие (Technau, 2010; Technau et al., 2015). О масштабах этого сходства свидетельствуют данные о том, что у *Nematostella* было выявлено несколько десятков транскрипционных факторов, свойственных билатерально-симметричным животным (Ryan et al., 2007; Erwin, 2009). Следует отметить, что генный репертуар, определяющий процессы развития исследованных Metazoa, оказался общим, несмотря на огромное разнообразие планов строения этих животных (Erwin, 2009).

Более детальная информация о молекулярно-генетических основах появления предшественников мезодермы была получена при сравнении профилей экспрессии генов, кодирующих транскрипционные факторы в зародышевых листках Cnidaria и Bilateria (Steinmetz et al., 2017). В частности, обнаружено, что в энтодерме Cnidaria (на примере *Nematostella*) синтезируются транскрипционные факторы, свойственные как энтодерме, так и мезодерме билатерально-симметричных животных. В геноме этого вида были выявлены транскрипционные факторы, характерные для мезодермы представителей Bilateria: в висцеральной мезодерме это гены *foxC*, *nkx3*, *Six4/5*; в скелетных мышцах билатерий — *eyes*, *six1/2*, *six4/5*, *dachshund*; в сердечной мышце билатерий — *nk4*, *gata4/5*; *tbx4/5*; *tbx1/10*, *mef2*; в сомитах позвоночных — *paraxis*, *twist*, *mox*. Энтодерму Cnidaria эти авторы называют “мезэнтодермой”, указывая на наличие в данном зародышевом листке этих животных молекулярных маркеров мезодермы (Steinmetz et al., 2017). Следует также отметить, что сравнение геномов Cnidaria и отдельных ветвей билатерально-симметричных животных показало большее сходство геномов *Nematostella* с позвоночными, чем с геномами нематоды *Caenorhabditis elegans* и *Drosophila melanogaster* (Putnam et al., 2007; Levinton, 2008; Technau, 2010).

Для изучения филогенетического возраста зародышевых листков — временной последовательности их формирования в ходе эволюции, в качестве модели было предложено использовать данные о последовательности экспрессии экзо- и энтодермальных маркерных генов в процессе развития нематоды *Caenorhabditis elegans*, а также лягушки *Xenopus tropicalis*, актинии *Nematostella vectensis* и губки *Amphimedon queenslandica* (Hashimshony et al., 2015). Ортологи “энтодермальных” генов экспрессируются у этих видов раньше, чем ортологи “эктодермальных” генов. Таким образом, наиболее древними оказались “энтодермальные” гены, которые возникли, предположительно, до образования Metazoa (Hashimshony et al., 2015). Сформировавшийся в тот период “энтодермальный” генный репертуар сохранил, вероятно, и “мезодермальные” гены, поскольку другой путь их появления в процессе эволюции представляется менее вероятным.

HOX-ГЕНЫ

В регуляции онтогенетических процессов, в том числе формировании зародышевых листков у Bilateria на уровне спецификации и паттернирования, ведущая роль принадлежит гомеозисным генам. К этой группе относятся гены класса ANTP, осуществляющие разметку различных областей развивающихся зародышей вдоль антерио-постериорной оси тела. Речь идет об осевых структурах, прежде всего, сегментации тела и формировании конечностей. Гены группы ANTP, в состав которой входят *Hox*-гены, а также *ParaHox*- и *NK*-гены, появились, как предполагается, до Кембрийского взрыва у общего предка Cnidaria и Bilateria. Генетическая основа Кембрийского взрыва была подготовлена, как предполагается, гомеозисными генами за счет значительного увеличения их числа в кластере (Davidson, 2006; Laroux et al., 2008; Erwin, 2009; Holland, 2015).

Предполагается, что образование паралогичных кластеров *Hox*-, *ParaHox*- и *NK*-генов на регуляторном уровне послужило генетической основой образования и дивергенции билатерально-симметричных животных (Holland, 2001; Minelli, 2003; Davidson, 2006). Эти три группы гомеозисных генов в различной степени представлены в отдельных ветвях Bilateria (Ferrier, 2010). Таким образом *Hox*-гены – аппарат региональной идентификации морфогенетических процессов вдоль антериор-постериорной оси у Bilateria появился задолго до формирования этих организмов. Предполагается, что *Hox*-гены появились в результате тандемных дупликаций одного предкового гена *ProtoHox* (Holland, 2015). Для *Hox*-генов многих Metazoa, характерна пространственная и временная колинеарность экспрессии вдоль антериор-постериорной оси (Tschopp, Duboule, 2011; Mallo, Alonso, 2013).

Существенно, что в будущей закладке параксиальной мезодермы Bilateria происходит активация экспрессии *Hox*-генов, которая осуществляется при помощи разных механизмов: BMP- и Wnt-сигналинга, а также транскрипционных факторов Cdx (Alexander et al., 2009; Tschopp, Duboule, 2011; Mallo, Alonso, 2013). Экспрессия *Hox*-генов на начальных этапах сомитогенеза активируются при помощи ретиноевой кислоты и Fgf-сигналинга. В регуляции экспрессии *Hox*-генов у Bilateria участвуют также эпигенетические механизмы.

Гомеозисные гены, прежде всего, *Hox*-гены, были обнаружены и у представителей Cnidaria: Anthozoa (*Nematostella*, *Aiptasia*) и Hydrozoa (*Clytia*, *Chlorohydra*) (Schummer et al., 1992; Finnerty, Martindale, 1997; Ryan et al., 2007; Finnerty et al., 2004; Chiori et al., 2009; Genikhovich, Technau, 2017; DuBuc et al., 2018; He et al., 2018; Rentsch, Holdstein, 2018). Кластеры *Hox*-генов появились, как

предполагается (Ryan et al., 2007), до эволюционного расхождения Cnidaria и Bilateria 570–700 млн лет назад (Ryan et al., 2007). Количество *Hox*-генов у книдарий, как и у Bilateria, определяется соотношением дупликаций этих генов и их потерь (Ryan et al., 2007; DuBuc et al., 2018).

Следует отметить, что *Nematostella*, кроме орально-аборальной, обладает направительной осью и элементами билатеральной симметрии (билатеральным расположением септ и мезентериальных мышечных валиков), скрадываемыми радиальной симметрией шупалец. Вывод о билатеральности Anthozoa был подтвержден данными об асимметричной экспрессии ряда генов (*Nvdpp*, *Nvchd*) у *Nematostella* (Genikhovich, Technau, 2017). Обычно функция региональной идентификации вдоль антерио-постериорной оси тела ассоциируется с Bilateria. Однако приведенные выше данные об элементах билатеральной симметрии у *Nematostella*, а также обнаружение нескольких *Hox*-генов у представителей Cnidaria привели к исследованиям роли *Hox*-генов в паттернировании этих животных (Finnerty, Martindale, 1997; Jakob, Schierwater, 2007; Ryan et al., 2007; Chiori et al., 2009; DuBuc et al., 2012, 20018; Genikhovich, Technau, 2017; He et al., 2018; Rentsch, Holstein, 2018).

Если у Bilateria *Hox*-гены паттернируют антериор-постериорную ось, то активность *Hox*-генов у Cnidaria (Anthozoa) обеспечивает разметку орально-аборальной и направительной оси (Finnerty, Martindale, 1997; Ryan et al., 2007; Genikhovich, Technau, 2017; DuBuc et al., 2018; He et al., 2018; Rentsch, Holstein, 2018). Первоначально у *Nematostella* было обнаружено пять *Hox*-генов (Finnerty, Martindale, 1997). В этой работе поиск *Hox*-генов проводился на базе последовательностей, полученных при помощи ПЦР-анализа. Впоследствии при анализе на основе полного секвенирования генома этого вида книдарий было проанализировано три *Hox*-гена – *Hox1*, *Hox2* и *Hox9* (Ryan et al., 2007). Эти гены экспрессируются вдоль орально-аборальной оси *Nematostella*. Авторы данной работы делают также вывод о том, что *Hox*-гены участвовали в паттернировании как первичной, так и вторичной осей тела у общего предка Cnidaria и Bilateria. Поскольку основная функция *Hox*-генов книдарий сводится к паттернированию орально-аборальной оси тела, был необходим анализ экспрессии этих генов в разных зонах зародыша на ранних стадиях развития (Ryan et al., 2007).

На следующем этапе анализа роли этих генов в морфогенезах Cnidaria как сестринской группы Bilateria было предложено выделить *Hox*-гены антериорного и центрального/постериорного отделов по аналогии с Bilateria (DuBuc et al., 2018). В геноме *Nematostella* авторы выделяют гены *Hox1* (*NvAx6*) и *Hox2* (*NvAx7* и *NvAx8*), а также четыре дополнительных гена: центральных/постериорных

NvAx1, и *NvAx1a*, anteriор-подобного *Hox*-гена (*NvAx6a*) и псевдогена (*NvAx9*). Состав *Hox*-кластеров в геномах разных групп кишечнополостных показывает, что этот кластер у Anthozoa имеет относительно целостную структуру в отличие от фрагментированных кластеров у представителей других классов этих животных (Genikhovich, Technau, 2017; DuBuc et al., 2018; He et al., 2018; Rentsch, Holstein, 2018).

Hox-гены (*NvAx6*) и (*NvAx1*) патернируют орально-аборальную ось, поэтому анализ их экспрессии важен для понимания особенностей регуляции морфогенеза структур, участвующих в формировании данной оси. Применение гибридизации *in situ* на стадии бластулы *Nematostella* показало, что *Hox* (*NvAx6*) экспрессируется в презумптивной оральной части зародыша, а *Hox* (*NvAx1*) – в презумптивной аборальной части (Rentsch, Holstein, 2018). Эктопическая экспрессия аборального *Hox* (*NvAx1*) ограничивает гастрюляцию и спецификацию оральной части зародыша, что вызывает остановку формирования энтомерозодермы, а нокдаун орального *Hox* (*NvAx6*) приводит к серьезным дефектам гастрюляции и экспансии транскриптов гена (*NvAx1*), что тормозит развитие оральной части зародыша (DuBuc et al., 2018). *Hox*-гены (*NvAx6*) и (*NvAx1*) патернируют формирование орально-аборальной оси у Cnidaria через Wnt-сигналинг начиная с ранних стадий гастрюляции и последующего личиночного развития (Genikhovich, Technau, 2017; DuBuc et al., 2018; He et al., 2018; Rentsch, Holstein, 2018).

СИГНАЛЬНЫЕ ПУТИ

Теоретические концепции морфогенетических полей и организаторов как интегральных факторов, контролирующих план строения и регуляторные способности развивающегося организма, подтверждены данными о молекулярных носителях позиционной информации, функционирующих как морфогены-организаторы осевого плана строения животных, и тем самым переведены на язык молекулярной биологии и генетики (Niehrs, 2010; Neijts et al., 2016; Bier, De Robertis, 2015; Lapraz et al., 2015; Arias, Steventon, 2018; Isaeva, Kasyanov, 2021). Позиционная информация, обеспечиваемая сигнальными системами Wnt, BMP, Nodal, Hedgehog, играет ключевую роль в раннем развитии Metazoa, определяя осевой план строения организма и различия судьбы клеток в зависимости от их положения в системе эмбриона (DuBuc et al., 2012, 2018; Neijts et al., 2016; Dunn et al., 2017; Hogvall et al., 2019; Erwin 2020; Fields, Levin, 2020).

Показано, что организатор Шпеманна (Spemann, Mangold, 1924) и подобные ему центры зародышей позвоночных на стадии гастрюлы функционируют как источник “коктейля” различных моле-

кул сигнальных путей; помимо лигандов (Wnt, BMP и Nodal), синтезируется набор их рецепторов, антагонистов и транскрипционных факторов (Niehrs, 2010; Cavalieri, Spinelli, 2015; Lowe et al., 2015; Anderson, Stern, 2016; Arias, Steventon, 2018; Omori et al., 2018; Yasuoka, Taira, 2019). Эмбриональные структуры, подобные организатору Шпеманна, были найдены не только у зародышей позвоночных, но также у иглокожих, представителей первичноротых животных и кишечнополостных (Stern et al., 2006; Kraus et al., 2007, 2016; Bier, De Robertis, 2015; Cavalieri, Spinelli, 2015; Lapraz et al., 2015; Genikhovich, Technau, 2017; Arias, Steventon, 2018). Например, клетки губы бластопора кишечнополостных, развивающегося в оральный регион полипа, гомологичный гипостому гидры, подобно организатору Шпеманна у амфибий, экспрессируют лиганды Wnt и *brachyury* (см. Genikhovich, Technau, 2017).

Формирование при гастрюляции организационного центра, экспрессирующие Wnt и определяющего ориентацию первичной оси у изученных представителей Deuterostomia, Protostomia, кишечнополостных и губок, свидетельствует о консерватизме этого сигнального пути, лежащего в основе поляризованного развития всех Metazoa (Holstein, 2012; DuBuc et al., 2018). На полюсе, специфицируемом сигналом Wnt высокой интенсивности, формируется бластопор (при наличии), и этот же полюс становится задним, оральным (у кишечнополостных) или апикальным (у губок) полюсом первичной оси (Loh et al., 2016; Dunn et al., 2018; Hogvall et al., 2019). Таким образом, организатор Шпеманна и подобные ему структуры гастрюлы Metazoa, создают координатную систему позиционной информации, пространственная асимметрия которой транслируется в морфологически различные структуры развивающегося организма (Stern et al., 2006; Bier, De Robertis, 2015; Cavalieri, Spinelli, 2015; Lowe et al., 2015; Owlarn, Bartscherer, 2016). Получены свидетельства взаимосвязи различных сигнальных путей и регуляторных каскадов, формирующих генетические регуляторные сети, которые обладают и консерватизмом, и пластичностью, что обеспечивает способность системы к саморегуляции и преобразованиям (Bertrand et al., 2015; Cavalieri, Spinelli, 2015; Lapraz et al., 2015; Erwin, 2020).

Лабораторные эксперименты с применением ключевых молекул сигнальных путей, продуцируемых организаторами, либо с подавлением активности таких молекул, подтвердили их морфогенетическую эффективность. Например, ингибирование сигнализации Wnt у ранних зародышей позвоночных животных приводило к образованию лишь “обрубка” тела, состоящего из головы и передней части туловища; нокдаун β -катенина (внутриклеточного эффектора, регулирующего транскрипцию генов-мишеней сигнального каскада Wnt) блокировал гастрюляцию и все последующее развитие (см. Martin, Kimelman, 2009). Инъекция

смеси плазмид, содержащих *Wnt1* и *Wnt3*, в бластомеры на стадии 8 или 16 клеток зародыша книдарий *Nematostella*, вызывала образование эктопической оси у 50% первичных полипов (Kraus et al., 2016).

Архетипическое строение Bilateria характеризуется переднезадней, дорсовентральной и лево-правой осями тела; сигнальные пути Wnt и BMP специфицируют основные оси тела, переднезаднюю и дорсовентральную, создавая ортогональную Декартову систему координат плана строения (Stern et al., 2006; Niehrs, 2010; Holland, 2015). Лево-правая симметрия/асимметрия, весьма обычная у билатеральных животных, контролируется сигнальными системами Nodal и Hedgehog (Niehrs, 2010; Holstein, 2012; Bertrand et al., 2015; Loh et al., 2016; Cavodeassi et al., 2019; Fields, Levin, 2020). Таким образом, разнообразие форм животного мира, насколько можно судить, базируется на небольшом числе сигнальных путей, общих для всех основных типов Metazoa (обзоры Niehrs, 2010; Holstein, 2012; Hogvall et al., 2019; Isaeva, Kasyanov, 2021).

У билатеральных животных векторная позиционная информация вдоль переднезадней оси развивающегося организма специфицируется машинерией временной и пространственной экспрессии генов *Hox*-кластера в координации с сигнализацией Wnt и генами *ParaHox*-кластера — системой, наиболее совершенной и досконально исследованной у позвоночных (Deschamps, Duboule, 2017; DuBuc et al., 2018; Ferrer, 2019; Erwin, 2020; Zhong et al., 2020).

У книдарий патернирование орально-аборальной оси осуществляется *Hox*-генами, взаимодействующими с Wnt-сигналингом (DuBuc et al., 2018; He et al., 2018; Rentsch, Holstein, 2018). У *Nematostella* в этом процессе участвуют гены *NvWnt1*, *NvWnt3*, *NvWnt4* и *NvWntA*, экспрессирующиеся на оральном полюсе вокруг бластопора (DuBuc et al., 2018). Нокдаун *Hox (NvAx6)* и *Hox (NvAx1)* приводит к ингибированию экспрессии этих *NvWnt*. Не входящий в эту группу ген *NvWnt2* экспрессируется вдоль средней линии эктодермы зародыша и служит маркером оральной и аборальной территорий. Нокдаун *Hox (NvAx6)* приводит к смещению экспрессии *NvWnt2* в сторону орального полюса, тогда как оверэкспрессия *NvAx6* не влияет на экспрессию *NvWnt2* (DuBuc et al., 2018). Авторы предполагают, что *NvWnt2* служит промежуточным звеном между границей эктодермальных орально-аборальных *Hox*-генов и территорией экспрессии *Wnt*. В процессе гаструляции и последующего развития планулы включается Wnt/ β -катенин сигналинг, патернирующий орально-аборальную ось. В это время Vmp агонисты/антагонисты активируют *Hox* гены в энтомезодермальном слое вдоль вторичной оси. Патернирование напри-

вительной оси зародышей Anthozoa, названное аксиальным *Hox*-кодом, также осуществляется *Hox*-генами с участием BMP сигналинга (гена *Gbx*) (He et al., 2018).

ПРОИСХОЖДЕНИЕ МЕЗОДЕРМЫ НА КЛЕТОЧНОМ УРОВНЕ

При анализе функциональных особенностей клеток энтодермального слоя у Cnidaria было обнаружено определенное сходство как с энтодермой, так и с мезодермой Bilateria (Seipel, Schmidt, 2005, 2006; Steinmetz et al., 2017). В контексте эволюционного происхождения мезодермы следует отметить, что у Cnidaria (на примере Anthozoa и Medusozoa) энтодерма состоит из разных типов клеток, которые обладают несколькими функциями, в частности, функциями мышечной и половой систем, а также экзокринной и инсулинэргической функциями, которые у Bilateria имеют мезодермальное происхождение (Seipel, Schmid, 2006; Schmidt-Rhaesa, 2007; Steinmetz et al., 2017). Приведенные данные дают основание говорить о бифункциональности клеток энтодермы у Cnidaria (Steinmetz et al., 2017).

Формирование мезодермы на уровне клеток сводилось, вероятно, к обособлению от энтодермы (энтомезодермы) клеток миогенной природы, которые рассматриваются как древнейшие производные мезодермы (Rieger, Ladurner, 2003; Schmidt-Rhaesa, 2007). Сегрегация миогенных клеток происходила в районе бластопора и эти клетки вовлекались в дифференцировку, которую можно, вероятно, назвать первичной мезодермальной (Technau, Scholz, 2003; Burton, 2008).

Предполагается, что свободные мышечные клетки произошли в процессе эволюции от миоэпителия, встречающегося как у Cnidaria, так и у Protostomia и Deuterostomia (Burton, 2008). Таким образом, мезодерма Bilateria, по-видимому, берет свое начало от бифункциональной энтомезодермы Cnidaria (Technau, Scholz, 2003; Rieger, Ladurner, 2003; Schmidt-Rhaesa, 2007; Burton, 2008; Steinmetz et al., 2017; Wijesena et al., 2017). Предложена модель гомологов зародышевых листков книдарий, в которой их глоточная эктодерма соответствует энтодерме Bilateria, а энтодерма книдарий гомологична мезодерме этих животных (Steinmetz et al., 2017).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Формирование в процессе эволюции “мезодермального” генного репертуара, свойственного Bilateria, у одноклеточных эукариот, Porifera и Cnidaria послужило важным звеном при анализе происхождения мезодермы, появление которой обеспечило стремительное увеличение видового разнообразия. Обсуждается возможность, того, что общий предок Cnidaria и Bilateria уже имел генный инструмента-

рий, потенциально способный контролировать онтогенез билатерально-симметричных животных с их специфическими особенностями: трехслойностью, билатеральностью, глубокой специализацией отдельных клеточных типов, внутри- и межклеточной сигнализацией и др. (Putnam et al., 2007; Levinton, 2008; Erwin, 2009; Hashimshony et al., 2015; Steinmetz et al., 2017; Srivastava, 2015; Burke, 2021). Важный аспект этой проблемы связан с попытками определения времени появления “мезодермального” генного репертуара в процессе эволюции. Предполагается, что он появился накануне Кембрийского взрыва, когда появились *Hox*-гены, обеспечивающие большое разнообразие планов строения видов (Larroux et al., 2008; Erwin, 2009; Holland, 2015; Srivastava, 2015; Annunziata et al., 2019; Burke, 2021).

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда (проект № 19-14-00346).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит описания выполненных авторами исследований с участием людей или использованием животных в качестве объектов.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что какой-либо конфликт интересов отсутствует.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Иванова-Казас О.М. Эволюционная эмбриология животных. Санкт-Петербург: Наука, 1995. 566 с.
- Руннерт Э.Э., Фокс Р.С., Барнс Р.Д. Зоология беспозвоночных: Функциональные и эволюционные аспекты. Т. 1. Протисты и низшие многоклеточные. М.: Издательский дом “Академия”, 2008. 496 с.
- Alexander T., Nolte C., Krumlauf R. *Hox* genes and segmentation of the hindbrain and axial skeleton // *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 2009. V. 25. P. 431–456.
- Anderson C., Stern C.D. Organizers in development // *Curr. Top. Dev. Biol.* 2016. V. 117. P. 435–454.
- Annunziata R., Andrikou R., Perillo M. et al. Development and evolution of gut structures: from molecules to function // *Cell Tissue Res.* 2019. V. 377(3). P. 445–458.
- Arias A.M., Steventon B. On the nature and function of organizers // *Development.* 2018. V. 145. dev159525. <https://doi.org/10.1242/dev.159525>
- Bagaeva T.S., Kupaeva D.O., Vetrova A.O. et al. cWnt signaling modulation results in a change of the colony architecture in a hydrozoan // *Dev. Biol.* 2019. V. 456. P. 145–153.
- Bertrand S., Aldea D., Oulion S. et al. Evolution of the role of RA and FGF signals in the control of somitogenesis in chordates // *PLoS One.* 2015. V. 10(9). P. e0136587. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0136587>
- Bier E., De Robertis E.M. BMP gradients: A paradigm for morphogen-mediated developmental patterning // *Science.* 2015. V. 348. Issue 6242. aaa5838. <https://doi.org/10.1126/science.aaa5838>
- Bridge D., Cunningham C.W., De Salle R. et al. Class-level relationships in the phylum Cnidaria: molecular and morphological evidence // *Mol. Biol. Evol.* 1995. V. 12. P. 679–689.
- Broun M., Sokol S., Bode H.R. *Cngsc*, a homologue of *gooseoid*, participates in the patterning of the head, and is expressed in the organizer region of *Hydra* // *Development.* 1999. V. 126. P. 5245–5254.
- Broun M., Bode H.R. Characterization of the head organizer in hydra // *Development.* 2002. V. 129. P. 875–884.
- Burke A.C. Shifting the black box: Approaches to the development and evolution of vertebrate mesoderm // *Evol. Dev. Biol.* 2020.
- Burton P.M. Insights from diploblasts; the evolution of mesoderm and muscle // *J. Exp. Zool.* 2008. V. 310B. № 1. P. 5–14.
- Cavaliere V., Spinelli G. Symmetry breaking and establishment of dorsal/ventral polarity in the early sea urchin embryo // *Symmetry.* 2015. V. 7. P. 1721–1733.
- Cavodeassi F., Creuzet S., Etchevers H.C. The hedgehog pathway and ocular developmental anomalies // *Human Genet.* 2019. V. 138. P. 917–936.
- Chiori R., Jager M., Wincher P. et al. Are *Hox* genes ancestrally involved in axial patterning? // *PLoS One.* 2009. V. 4. e4231.
- Davidson E.H. *The Regulatory Genome: Gene Regulatory Network in Development and Evolution.* San Diego. Acad. Press, 2006. 304 p.
- Deschamps J., Duboule D. Embryonic timing, axial stem cells, chromatin dynamics, and the *Hox* clock // *Genes Devel.* 2017. V. 31. P. 1406–1416.
- DuBuc T.Q., Ryan J.F., Shinzato C. et al. Coral comparative genomics reveal expanded *Hox* cluster in the cnidarian-bilaterian ancestor // *Integr. Comp. Biol.* 2012. V. 52. P. 835–841.
- DuBuc T.Q., Stephenson T.B., Rock A.Q. et al. *Hox* and *Wnt* pattern the primary body axis of an anthozoan cnidarian before gastrulation // *Nature Commun.* V. 22. № 9(1). <https://doi.org/10.1038/S41467-018-04184>
- Dunn F.S., Liu A.G., Donoghue P.C.J. Ediacaran developmental biology // *Biol. Rev.* 2018. V. 93(2). P. 914–932. <https://doi.org/10.1111/brv.12379>
- Erwin D.H. Early origin of the bilaterian developmental toolkit // *Phil. Trans. R. Soc. B.* 2009. V. 364. P. 2253–2261.
- Erwin D.H. The origin of animal body plans: a view from fossil evidence and the regulatory genome // *Development.* 2020. V. 147. dev182899. <https://doi.org/10.1242/dev.182899>
- Ferrier D.E.K. Evolution of *Hox* complexes // *Hox Genes: Studies from the 20th to the 21st Century* / Ed. Deutsch J.S. N.Y.: Landes Bioscience and Springer Science + Business Media, 2010. P. 91–98.
- Ferrier D.E.K. Space and time in *Hox/ParaHox* gene cluster evolution // *Perspectives on Evolutionary and Develop-*

- mental Biology. Essays for Alessandro Minelli / Ed. Fusco G. Padova: Padova University Press, 2019. P. 245–258.
- Fields C., Levin M.* Does regeneration recapitulate phylogeny? Planaria as a model of body-axis specification in ancestral eumetazoa // *Comm. Integrat. Biol.* 2020. V. 13. P. 27–38.
- Finnerty J.R., Martindale M.Q.* Homeoboxes in sea anemones (Cnidaria: Anthozoa): a PCR-based survey of *Nematostella vectensis* and *Metridium senile* // *Biol. Bull.* 1997. V. 193. P. 62–76.
- Finnerty J.R., Pang K., Burton P. et al.* Origin of bilateral symmetry: Hox and Dpp expression in a sea anemone // *Science.* 2004. V. 304. P. 1335–1337.
- Genikhovich G., Technau U.* On the evolution of bilaterality // *Development.* 2017. V. 144. P. 3392–3404.
- Hashimshony T., Feder M., Levin M. et al.* Spatiotemporal transcriptomic reveals the evolutionary history of the endoderm germ layer // *Nature.* 2015. V. 519(7542). P. 219–222.
- He S., Del Viso F., Chen C.Y. et al.* An axial Hox code controls tissue segmentation and body patterning in *Nematostella vectensis* // *Science.* 2018. V. 361(6409). P. 1377–1380.
- Hogvall M., Vellutini B.C., Martín-Durán J.M. et al.* Embryonic expression of priapulid Wnt genes // *Devel. Genes. Evol.* 2019. V. 229. P. 125–135.
- Holland P.W.H.* Beyond the box: how widespread is homeobox gene clustering? // *J. Anat.* 2001. V. 199. P. 13–23.
- Holland P.W.H.* Did homeobox gene duplications contribute to the Cambrian explosion? // *Zool. Lett.* 2015. <https://doi.org/10.1186/s40851-014-0004-x>
- Holstein T.W.* The evolution of the Wnt pathway // *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2012. V. 4. a007922. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a007922>
- Isaeva V.V., Kasyanov N.V.* Symmetry transformations in metazoan evolution and development // *Symmetry.* 2021. V. 13. 160. <https://doi.org/10.3390/sym13020160>
- Jakob W., Schierwater B.* Changing hydrozoan bauplans by silencing Hox-like genes // *PLoS One.* 2007. V. 2(8). P. e694.
- Kraus Y., Fritzenwanker J.H., Genikhovich G., Technau U.* The blastoporal organizer of a sea anemone // *Curr. Biol.* 2007. V. 17. P. R874–R876.
- Kraus Y., Aman A., Technau U., Genikhovich G.* Pre-bilaterialian origin of the blastoporal axial organizer // *Nat. Commun.* 2016. V. 7. № 11694. P. 1–9.
- Kusserow A., Pang K., Sturm C. et al.* Unexpected complexity of the Wnt gene family in a sea anemone // *Nature.* 2005. V. 433. P. 156–160.
- Lapraz F., Haillot E., Lepage T.* A deuterostome origin of the Spemann organizer suggested by Nodal and ADMPS functions in Echinoderms // *Nature Comm.* 2015. 6:8434. www.nature.com/naturecommunications. <https://doi.org/10.1038/ncomms9434>
- Laroux C., Luke G.N., Koopman P. et al.* Genesis and expansion of metazoan transcription factor gene classes // *Mol. Biol. Evol.* 2008. V. 25. P. 980–996.
- Loh K.M., van Amerongen R., Nusse R.* Generating cellular diversity and spatial form: Wnt signaling and the evolution of multicellular animals // *Develop. Cell* 2016. V. 38. P. 643–655.
- Lowe C.J., Clarke D.N., Medeiros D.M. et al.* The deuterostome context of chordate origins // *Nature.* 2015. V. 520. P. 456–465.
- Lee P.N., Pang K., Matus D.Q. et al.* A WNT of things to come: evolution of Wnt signaling and polarity in cnidarians // *Cell Dev. Biol.* 2006. V. 17. P. 157–167.
- Levinton J.S.* The Cambrian explosion: How do we use the evidence? // *BioScience.* 2008. V. 58. P. 855–864.
- Mallo M., Alonso C.R.* The regulation of Hox gene expression during animal development // *Development.* 2013. V. 140. P. 3951–3963.
- Martin B.L., Kimelman D.* Wnt signaling and the evolution of embryonic posterior development // *Curr. Biol.* 2009. V. 19. P. R215–R219.
- Martindale M.Q., Pang K., Finnerty J.R.* Investigating the origin of triploblasty: “mesodermal” gene expression in a diploblastic animal, the sea anemone *Nematostella vectensis* (phylum, Cnidaria; class, Anthozoa) // *Development.* 2004. V. 131. P. 2463–2474.
- Matus D.G., Pang K., Marlow H. et al.* Molecular evidence for deep evolutionary roots of bilaterality in animal development // *PNAS USA.* 2006. V. 103. P. 11195–11200.
- Minelli A.* The Development of Animal Form. Ontogeny, Morphology, and Evolution. Cambridge Univ. Press, 2003. 323 p.
- Neijts R., Amin S., van Rooijen C. et al.* Polarized regulatory landscape and Wnt responsiveness underlie Hox activation in embryos // *Genes Devel.* 2016. V. 30. P. 1937–1942.
- Niehrs C.* On growth and form: a Cartesian coordinate system of Wnt and BMP signaling specifies bilaterian body axes // *Development.* 2010. V. 37. P. 845–857.
- Omori A., Kikuchi M., Kondo M.* Larval and adult body axes in echinoderms // *Reproductive and Developmental Strategies: The Continuity of Life* / Eds. Kobayashi K., Kitano T., Iwao Y., Kondo M. Springer Japan KK, part of Springer Nature: Tokyo, 2018. P. 760–789.
- Owlarn S., Bartscherer K.* Go ahead, grow a head! A planarian’s guide to anterior regeneration // *Regeneration.* 2016. V. 3. P. 139–155.
- Peterson K.J., Davidson E.H.* Regulatory evolution and the origin of the bilaterians // *PNAS USA.* 2000. V. 97. P. 4430–4433.
- Putnam N.H., Srivastava M., Hellsten U. et al.* Sea anemone genome reveals ancestral eumetazoan gene repertoire and genomic organization // *Science.* 2007. V. 317. P. 86–94.
- Rentzsch F., Holdstein T.W.* Making head or tail of cnidarian hox gene function // *Nature commun.* 2018. V. 9(1). P. 1–3.
- Rieger R.M., Ladurner P.* The significance of muscle cells for the origin of mesoderm in Bilateria // *Intern. Comp. Biol.* 2003. V. 43. № 1. P. 47–54.
- Röttinger E., Dahlin P., Martindale M.Q.* A framework for the establishment of a cnidarian gene regulatory network for “endomesoderm” specification: the inputs of β -catenin/TCF signaling // *PLoS Genet.* 2012. V. 8. P. e1003164.

- Ros-Rocher N., Pérez-Posada A., Leger M.M., Ruiz-Trillo I. The origin of animals: an ancestral reconstruction of the unicellular-to multicellular transition // *Open Biol.* 2021. V. 11(2). P. 200359. <https://doi.org/10.1098/rsob.200359>
- Ryan J.F., Mazza M.E., Pang K. et al. Pre-bilaterian origins of the Hox cluster and the Hox code: evidence from the sea anemone *Nematostella vectensis* // *PLoS One.* 2007. V. 1. P. 1–23.
- Salinas-Saavedra M., Rock A.Q., Mark Q. Martindale M.Q. Germ layer-specific regulation of cell polarity and adhesion gives insight into the evolution of mesoderm // *eLife.* 2018. V. 7. P. e36740. <https://doi.org/10.7554/eLife.36740>
- Schmidt-Rhaesa A. The Evolution of Organ Systems. Oxford. N.Y.: Oxford Univ. Press., 2007. 400 p.
- Sébe-Pedrós A., Ruiz-Trillo J., Mendoza A. et al. Unexpected repertoire of metazoan transcription factors in the unicellular holozoan *Capsaspora owczarzaki* // *Mol. Biol. Evol.* 2011. V. 28. P. 1241–1254.
- Seipel K., Schmid V. Evolution of striated muscle: jellyfish and the origin of triploblasty // *Dev. Biol.* 2005. V. 282. P. 14–26.
- Seipel K., Schmid V. Mesodermal anatomies in cnidarian polyps and medusae // *Int. J. Dev. Biol.* 2006. V. 50. P. 589–599.
- Spemann H., Mangold H. Induction of embryonic primordia by implantation of organizers from a different species // *Roux's Arch. Entwicklungsmech. Org.* 1924. V. 100. S. 599–638.
- Srivastava M.A. Comparative genomics perspective on the origin of multicellularity and early animal evolution // *Evolutionary Transitions to Multicellular Life. Principles and Mechanisms* / Eds. Ruiz-Trillo I., Nedelcu A.M. Dordrecht: Springer Science+Business Media, 2015. P. 269–300.
- Steinmetz P.R.H., Aman A., Kraus J.E.M., Technau U. Gut-like ectodermal tissue in a sea anemone challenges germ layer homology // *Nature. Ecology and Evolution.* 2017. V. 1. P. 1535–1542.
- Stern C.D., Charité J., Deschamps J. et al. Head-tail patterning of the vertebrate embryo: one, two or many unresolved problems? // *Int. J. Dev. Biol.* 2006. V. 50. P. 3–15.
- Suga H., Chen Z., de Mendoza A. et al. The *Capsaspora* genome reveals a complex unicellular prehistory of animals // *Nat. Commun.* 2013. V. 4. P. 2325–2330.
- Takada S., Stark K.L., Shea M.J. et al. Wnt-3a regulates somite and tailbud formation in the mouse embryo // *Gen. Dev.* 1994. V. 8. P. 174–189.
- Technau U. The sea anemone *Nematostella vectensis* as a model system for the study of the evolutionary origin of triploblasty and bilaterality // *Paleodiversity.* 2010. V. 3. P. 155–157.
- Technau U., Scholz C.B. Origin and evolution of entoderm and mesoderm // *Int. J. Dev. Biol.* 2003. V. 47. P. 531–539.
- Technau U., Gunikhovich G., Kraus J.E.M. Cnidaria // *Evolutionary Developmental Biology of Invertebrates* / Ed. Wanninger A. Wien: Springer, 2015. V. 1. P. 115–163.
- Tschopp P., Duboule D. A genetic approach to the transcriptional regulation of Hox gene clusters // *Ann. Rev. Genet.* 2011. V. 45. P. 145–166.
- Wijesena N., Simmons D.K., Martindale M.Q. Antagonistic BMP-cWNT signaling in the cnidarian *Nematostella vectensis* reveals insight into evolution mesoderm // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2017. P. 5608–E5615.
- Yasuoka Y., Tando Y., Kubokawa K., Taira M. Evolution of cis-regulatory modules for the head organizer gene goosecoid in chordates: comparisons between *Bran-chiostoma* and *Xenopus* // *Zool. Lett.* 2019. V. 5. P. 27. <https://doi.org/10.1186/s40851-019-0143-1>
- Zhong Y., Herrera-Úbeda C., Garcia-Fernández J. et al. Mutation of amphioxus Pdx and Cdx demonstrates conserved roles for ParaHox genes in gut, anus and tail patterning // *BMC Biology.* 2020. V. 18. P. 68. <https://doi.org/10.1186/s12915-020-00796-2>

Early Stages of Animal Mesoderm Evolution

N. D. Ozernyuk^{1, *} and V. V. Isaeva^{2, 3}

¹Koltzov Institute of Developmental Biology of Russian Academy of Sciences, ul. Vavilova 26, Moscow, 119334 Russia

²Severtsov Institute of Ecology and Evolution of Russian Academy of Sciences, Leninsky Prosp. 33, Moscow, 119071 Russia

³Zhirmunsky National Scientific Center of Marine Biology Far Eastern Branch of Russian Academy of Sciences, ul. Palchevskogo 17, Vladivostok, 690059 Russia

*e-mail: ozernyuk@mail.ru

Genome sequencing of unicellular eukaryotes Holozoa (*Monosiga brevicollis*, *Capsaspora owczarzaki*), Porifera, Cnidaria, and Bilateria showed that the gene repertoire and gene regulatory networks that play a key role in the mesoderm emergence have an earlier evolutionary origin than expected. The appearance of Cnidaria and Bilateria occurred on the eve of the Cambrian explosion, when a huge number of new organisms species appeared. It is assumed that the genetic basis of Cambrian explosion was prepared by Hox-genes, which provided a fundamental complication of Bilateria development genetic programs.

Keywords: mesoderm, Cnidaria, Bilateria, gene repertoire, gene regulatory networks, signaling, Hox-genes, Cambrian explosion