

ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ СКЕЛЕТА ИГЛОКОЖИХ

А.И. Кокорин, Г.В. Миранцев, С.В. Рожнов

Палеонтологический институт им. А.А. Борисяка РАН
korveng@gmail.com, gmirantsev@gmail.com, rozhnov@paleo.ru

По литературным данным подготовлен обзор современного состояния изученности процессов формирования скелета иглокожих. Описан процесс развития и особенности строения скелета у разных групп иглокожих, приведены морфологические, гистологические и молекулярно-генетические сведения по процессу скелетогенеза, а также современные данные по изучению генно-регуляторных сетей (GRN), управляющих этим процессом. В целом можно говорить о значительной консервативности механизмов скелетогенеза на уровне генов, генно-регуляторных сетей и популяций клеток, задействованных в нем. В то же время механизм формирования скелета иглокожих уникален и не встречается у других таксономических групп.

ВВЕДЕНИЕ

Скелет иглокожих уникален для животного мира. Его строение и структура – одна из самых характерных синапоморфий и часть плана строения типа Echinodermata. Как правило, скелет представлен большим количеством отдельных табличек, или склеритов. У голотурий склериты сильно уменьшены в размерах и почти не играют роли в питании и движении, но у всех остальных иглокожих таблички крупные, хорошо развиты и покрывают все тело животного. Они могут только прилегать друг к другу (тесселятное соединение) или черепицеобразно налегать краями друг на друга (имбрикатное соединение), иногда таблички полностью срастаются между собой, образуя прочный панцирь (как, например, у неправильных морских ежей). Часто скелетные элементы иглокожих соединяются между собой подвижно, посредством связок и мускулов, что позволяет скелету не только выполнять опорную функцию, но и принимать участие в движении и добывании пищи. Вдобавок иглокожие обладают так называемой мутабельной соединительной тканью, которая может по необходимости стано-

виться мягкой или жесткой без мускульных сокращений и, следовательно, почти без затрат энергии. Характер сочленения, тип возможных движений отражается на структуре скелета, поэтому его детальное изучение важно для функционально-морфологических исследований и реконструкции образа жизни ископаемых иглокожих.

Скелет иглокожих хорошо распознается в ископаемом состоянии и обладает следующими характерными особенностями:

1) Химический состав. В отличие от филогенетически близких хордовых, которые для построения скелета используют фосфат кальция $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, иглокожие обладают скелетом из кальцита CaCO_3 с высоким процентным содержанием магния (до 15 %; последнее может варьировать в разных таксонах и частях скелета).

2) Кристаллические свойства. Скелетные элементы иглокожих представляют собой монокристаллы и поэтому раскалываются согласно характерной кальцитовой спайности.

3) Строение. Скелет иглокожих пористый, он организован в виде стереома, трехмерной кальцитовой решетки. Это позволяет обеспечить высокую прочность скелетных элементов при низком весе.

4) Происхождение. В отличие от других групп животных, скелет иглокожих формируется в мезодерме, причем иногда его формирование начинается до появления собственно мезодермы.

Среди современных животных скелет с такими свойствами встречается только у иглокожих, и все ископаемые скелетные остатки с такими свойствами также относят обычно к иглокожим. Но у некоторых раннепалеозойских животных, например, у стилофор, такой скелет является единственным признаком, который позволяет их отнести к этому типу. Предположение, что такой скелет мог быть и у животных с признаками хордовых, привело к созданию кальцихордатной теории, разные варианты которой активно развивал английский палеонтолог Р. Джеффрис (Jefferies, 1986). Можно по-разному относиться к убедительности филогенетических и морфологических построений этого автора, но трудно отрицать, что при становлении типов животных признаки их планов строения (в том числе и стереомный скелет) могли комбинироваться в разных сочетаниях. Скелетные элементы иглокожих хорошо сохраняются в ископаемом состоянии, нередко играя порообразующую роль (например, они слагают криноидные известняки). Массовость, хорошая сохранность и богатство морфологии скелетных элементов иглокожих определяют важное значение этой группы для изучения эволюции живого мира, филогенетических построений и некоторых задач эволюционной биологии развития. Хотя большая часть исследований ископаемых иглокожих касается взрослых животных, необходимо понимать механизмы построения их скелета в индивидуальном развитии, механизмы регуляции его развития и генетические факто-

ры, ответственные за образование скелета. Краткому обзору этих вопросов и посвящена данная работа.

Следует отметить, что вопросы молекулярных механизмов и генетической регуляции образования скелета изучены явно недостаточно, несмотря на то, что морские ежи уже больше столетия являются излюбленным модельным объектом для эмбриологов. Те немногие сведения, которыми мы располагаем, почерпнуты в основном из работ по этой группе; сведения о других классах еще более отрывочны.

ПРОЦЕСС ФОРМИРОВАНИЯ СКЕЛЕТА

Как было указано выше, за формирование скелета у иглокожих отвечают мезодермальные клетки. В зависимости от группы, это либо клетки первичной мезенхимы, так называемые РМС, *primary mesenchyme cells* (у неправильных морских ежей, выселяются на стадии бластулы), либо вторичной мезенхимы (SMC, *secondary mesenchyme cells*) – у всех остальных. Процесс образования скелета можно разделить на следующие стадии:

- формирование синцития;
- образование интрасинцитиальной вакуоли;
- выделение органического матрикса в вакуоль;
- отложение карбоната кальция, формирование спиккулы;
- рост спиккулы;
- формирование стерома (рис.1).

Процесс образования скелета у иглокожих начинается с объединения нескольких клеток. Амебоидные клетки скелеобразующей мезенхимы (мы подробно остановимся на ее происхождении ниже) образуют выросты, и выросты разных клеток соединяются друг с другом. Тела клеток при этом не сливаются, т.е. клетки участвуют в образовании синцития только псевдоподиями (Gliznitsa, Dautov, 2011).

Затем в области соединенных псевдоподий образуется так называемая интрасинцитиальная вакуоль. Существует две основные точки зрения на природу интрасинцитиального пространства: с одной стороны, это пространство очень похоже на вакуоль и, возможно, ей и является; с другой



Рис. 1. Формирование решетки стерома из спиккулы; по: Федотов, 1951, с изм.

стороны, в ряде работ утверждается, что мембрана вокруг спикулы фактически является наружной клеточной мембраной и, следовательно, топологически спикула находится вне клетки, хотя и обернута плазматическими мембранами нескольких скелетогенных клеток (Gilbert, Wilt, 2011). Стоит отметить, что в любом случае спикула в ходе своего роста сравнительно быстро выходит за пределы клетки, и уже сформированный скелет является внеклеточным, органическое вещество только заполняет поры в стереоме.

После образования вакуоли начинается выделение органического матрикса. Несмотря на

то, что он играет огромную роль в формировании скелета, его структура, функции и состав изучены недостаточно. Известно, что пространственная организация и химический состав матрикса – ключевые параметры, определяющие процесс биоминерализации. В состав органического матрикса входит несколько десятков различных белков (в основном N-гликозилированных), в частности, SM27, SM30, SM50 (Ameye et al., 2001). Большинство из них имеют лектиновый домен С-типа; такие белки широко распространены в природе, как правило, они связывают углеводы в присутствии ионов кальция. Белки органического матрикса формируются в клетках первичной мезенхимы. Исследования показывают, что в клетке все белки, которые имеют отношение к формированию спикулы, находятся либо в аппарате Гольджи, либо в везикулах, которые направляются к интрасинцитиальной вакуоли. В отличие от кальция, белки выделяются в той части вакуоли, которая находится ближе к конкретной клетке, и не транспортируются далеко. Кроме того, скелетообразующие клетки выделяют белки и коллаген в бластоцель, однако по составу они полностью отличны от белков спикулы: коллаген, к примеру, выделяется в бластоцель, но не найден в составе органического матрикса (Wilt et al., 2008). Пространственно органический матрикс организован в несколько концентрических слоев из фибриллярного материала (обычно в три), которые, как правило, окружают сайт кальцификации (Ameye et al., 1998).

После формирования органического матрикса начинается отложение кальцита и собственно формирование спикулы (рис. 2). Непосредствен-

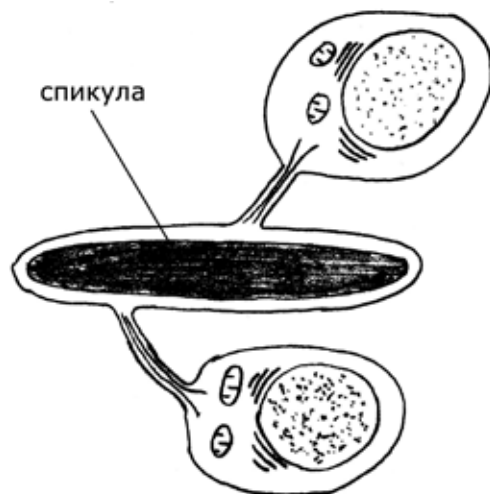


Рис. 2. Формирование спикулы в интрасинцитиальной вакуоли; по: Märkel et al., 1986, схематизировано.

но начало кальцификации запускается сигналом лиганда VEGF (vascular endothelial growth factor, фактор роста эндотелия сосудов, сигнальный белок, у млекопитающих отвечающий за образование сосудов в эмбриональном развитии) и FGF (fibroblast growth factor, фактор роста фибробластов) который продуцируется небольшим числом эктодермальных клеток, пространственно ассоциированных с центрами скелетогенеза (Gilbert, Wilt, 2011). Скелетогенные клетки продуцируют рецепторы VEGF.

Кальций и, по всей видимости, магний, присутствующие в скелете, происходят из морской воды, в которой плавает личинка; исследования указывают на резкое повышение потребления кальция из окружающей воды в ходе гастрюляции и на повышение концентрации кальция в бластоцели перед началом скелетогенеза (Nakano et al., 1963). Введенный в среду радиоактивный изотоп кальций-45 поглощается клетками и выделяется в спикуну, причем это выделение продолжается долгое время после отмывки среды от изотопа, следовательно, внутриклеточное депо кальция (по всей видимости, это гладкий эндоплазматический ретикулум) в РМС способно запасать внушительные его количества (Wilt et al., 2008). В случае, если личинка развивается в воде, обедненной кальцием, вместо нормального скелета развивается масса неорганизованных спикул (Okazaki, 1956) и нарушается формирование самого эмбриона.

Перед началом формирования спикунулы в клетках отмечается наличие значительного числа вакуолей, содержащих аморфный карбонат кальция (amorphous calcium carbonate, ACC), нестабильную фазу CaCO_3 , стабилизированную, однако, белками и присутствием магния. Затем содержимое этих вакуолей начинает выделяться в интрасинцитиальное пространство. В нем ACC сперва откладывается в виде ромбоэдра, из которого затем начинают расти и удлиняться три луча, после чего в определенный момент аморфный карбонат кальция кристаллизуется. Этот процесс регулируется белками органического матрикса (Raz et al., 2003). Вакуоли, содержащие аморфный карбонат кальция, перестают встречаться в клетках после того, как начинается формирование спикунулы; вероятно, после этого кальций накапливается в вакуолях, содержащих перенасыщенный раствор солей. Во время роста спикунулы в основном нарастают по концам, и немного – в объеме. Интересно, что изолированные микромеры формируют *in vitro* спикунулы таким же образом и такими же темпами, как и в интактном эмбрионе (Okazaki, 1975).

Исходя из общих соображений ясно, что скелетообразующие клетки должны иметь очень активные транспортеры кальция с высокой емкостью и низким сродством к нему. Ингибиторы ионных транспортов действительно полностью останавливают рост спикунулы, кроме того, ингибиторы металлопротеаз останавливают удлинение спикунулы, хотя и не влияют на начальное образование кальцитовых элементов, однако конкретные бел-

ки-переносчики до сих пор не выделены. Заслуживает внимания тот факт, что у млекопитающих металлопротеазы также функционально связаны с VEGF, способствуя прорастанию сосудов в тканях.

ФОРМИРОВАНИЕ СКЕЛЕТА В ЭМБРИОНАЛЬНОМ РАЗВИТИИ

Развитие скелета у иглокожих изучено преимущественно на представителях подкласса Euechinoidea, у которых оно протекает следующим образом. Непосредственно перед инвагинацией архентерона (первичной кишки) часть эпителиальных клеток (потомки больших микромеров, клеток, расположенных на вегетативном полюсе зародыша) преобразуются в подвижные амeboидные и выселяются из стенки бластулы в бластоцель (рис. 3.4), после чего несколько часов ползают по ней, а также сопровождают архентерон во время его роста. Эти клетки называются первичными мезенхимальными клетками (PMC), в отличие от вторичных мезенхимальных клеток (SMC), которые выселяются из крыши архентерона после его инвагинации (рис. 3.5). PMC позже формируют массив в вегетативной части бластоцеля, после чего соседние клетки соединяются, формируя синцитий, в котором начинается образование спикул. У некоторых видов появление сайтов кальцификации в PMC начинается еще раньше, фактически на стадии бластулы (Wilt, 1999). Сформировавшиеся спикулы выполняют роль личиночного скелета, поддерживая длинные руки эхиноплютеуса, облегчающие его парение в толще воды (морские ежи имеют планктонную личинку).

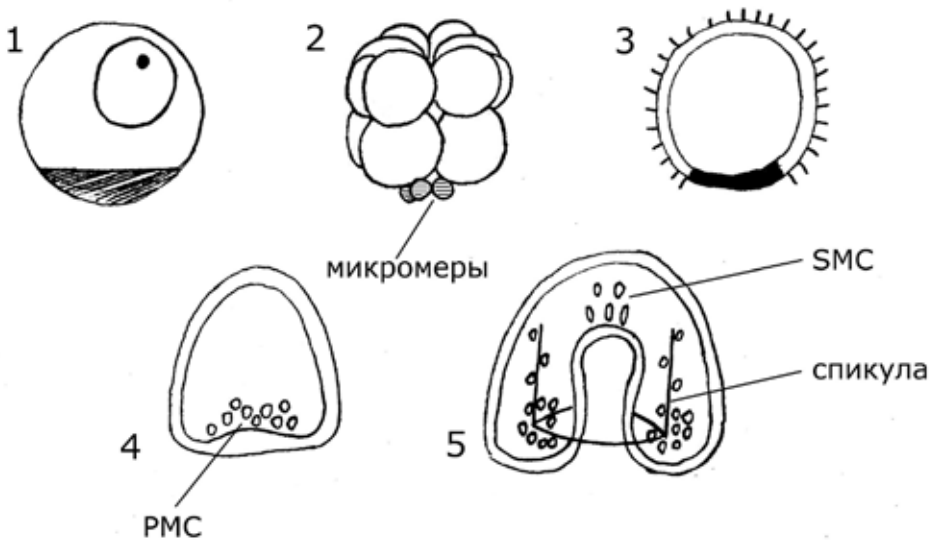


Рис. 3. Раннее эмбриональное развитие неправильного морского ежа: 1 – зигота, 2 – стадия 16 клеток, 3 – бластула (черным отмечены потомки микромеров), 4 – выселение первичных мезенхимальных клеток, 5 – ранняя гастрюла; PMC – первичные мезенхимальные клетки, SMC – вторичные мезенхимальные клетки; по: Gilbert, Wilt, 2011, схематизировано.

На стадии восьмирукого плютеуса личинка начинает метаморфоз, в ходе которого часть ларвальной передней кишки и часть клеток-потомков «малых микромеров» формируют зачаток ювенильной особи. Личиночные же структуры при этом начинают резорбироваться, в конце концов оставляя только ювенильную особь. Дефинитивные скелетные структуры (пластинки панциря, иглы) появляются в зачатке довольно рано, еще до полной резорбции личинки.

Ясно, однако, что эта схема, характерная для эуэхиноидей, не может быть общей не только для всех иглкожих (многие из которых, как морские звезды, голотурии, морские лилии, не имеют личиночного скелета, а офиуры, хотя и имеют последний, лишены микромеров), но и для всех морских ежей. Вторая их современная группа, подкласс *Perischoechinoidea* (представлен четырьмя вымершими и одним современным отрядом *Cidaroida*, он древнее и, по всей видимости, примитивнее, чем *Euechinoidea*), не имеют первичных мезенхимальных клеток (то есть клетки не выселяются в blastocoel до гастрюляции). Таким образом, возник сложный вопрос о соотношении РМС и клеток дефинитивного скелетогенеза и возникновении РМС.

Одна из первых попыток ответить на него была предпринята в 1988 году, когда были получены свидетельства того, что клетки, образующие эмбриональный скелет цидароидного морского ежа *Eucidaris tribuloides*, гомологичны первичным мезенхимальным клеткам эуэхиноидных ежей (Wray, McClay, 1988), с теми отличиями, что *Eucidaris* имеет гораздо меньше скелетообразующих клеток и они формируют иначе устроенный скелет. В 2007 году в опытах по трансплантации (Yajima, 2007) было показано, что в случае пересадки РМС от одного вида другому (виды намеренно отличались по структуре скелета) скелет донорского типа формировался только на стадии четырехрукого плютеуса; в случае же пересадки SMC, то есть вторичных мезенхимальных клеток, донорский скелет формировался на стадии шести-, восьмирукого плютеуса и частично переходил в дефинитивный скелет. Таким образом, было показано, что клетки первичной мезенхимы участвуют в образовании скелета только на очень ранних стадиях, не позднее четырехрукого плютеуса, а дефинитивный скелет, по всей видимости, формируется клетками вторичной мезенхимы (и, возможно, какими-то еще). По крайней мере часть молекул, специфических для РМС и принимающих участие в скелетогенезе, в частности, антигены P4, msp130 и ряд белков органического матрикса спикюлы, экспрессируются и в дефинитивных скелетообразующих клетках (Yajima, Kiyomoto, 2006), следовательно, по крайней мере часть механизмов скелетообразования универсальна для всего жизненного цикла морских ежей. Неясным однако, остается, являются ли клетки дефинитивного скелетогенеза потомками тех же больших микромеров или же механизмы кальцификации запускаются у них независимо.

В значительной степени свет на родословную скелетообразующих клеток пролило изучение генно-регуляторных сетей, GRN (gene regulatory network). Эти сети представляют собой совокупность большого числа фрагментов ДНК, опосредованно (при помощи мРНК, различных транскрипционных факторов или других продуктов экспрессии генов) взаимодействующих друг с другом. Эти исследования достаточно трудоемки, однако позволяют установить реальные механизмы клеточной дифференцировки, а также детали осуществления тех или иных функций клеток. Именно благодаря этим исследованиям удалось показать, что в РМС целиком активируется и используется точно та же генно-регуляторная сеть, которая отвечает за биоминерализацию в клетках дефинитивного скелетогенеза, в частности, хорошо исследованные гены *Sm27*, *Sm30*, *Sm50*, *Msp130* (Gao, Davidson, 2008). Другой сети, которая отвечала бы за биоминерализацию, в клетках первичной мезенхимы не обнаружено. Таким образом, перед нами классический пример гетерохронии, механизм которой был выявлен на молекулярном уровне: уже существующая генетическая программа, отвечающая за формирование дефинитивного скелета, запускается в гораздо более ранней линии клеток, позволяя раньше начать формирование личиночных спикул (они выполняют опорную функцию, поддерживая руки эхиноплютеуса, помогающие ему парить в толще воды). Так, в эмбриогенезе цидароидного морского ежа *Cidaris blakei* формирование скелета начинается на восьмые сутки (и это относительно быстро), тогда как у большинства эуэхиноидей до этого момента проходит не более 72 часов (Bennett et al., 2012).

РМС подявляют формирование скелета во всей остальной, нескелетообразующей мезодерме (NSM, non-skeletogenic mesoderm); показано, что нарушения экспрессии одного гена, *Lvalx1*, может быть достаточно для того, чтобы запустить программу формирования скелета в NSM (Ettensohn et al., 2007).

В работе Эттенсона (Ettensohn, 2009) предполагается, что в линии морских ежей подобный эволюционный скачок (включение генно-регуляторной сети на более ранней стадии развития) произошел два раза. Сначала предковая программа дефинитивного скелетогенеза была встроена в поздний эмбрион, благодаря чему и появилась такая личинка, как эхиноплютеус; свидетельством этого перехода являются цидароидные морские ежи, которые имеют личиночный скелет, но лишены первичных мезенхимальных клеткок. Вышеописанная же гетерохрония была вторым скачком, который неясным пока образом связан с происхождением подкласса Euechinoidea.

В упоминавшейся выше работе Гао и Дэвидсона (Gao, Davidson, 2008) приводятся также сравнительные данные по экспрессии ряда генов в центрах биоминерализации Echinoidea и Asteroidea на ювенильной стадии развития. Они идентичны: и в той, и в другой группе экспрессируются гены *Ets1*, *Alx1*, *Neh* и не экспрессируется *Tbr*. Ранее были получены данные о том, что некоторые базовые, фундаментальные элементы GRN морских

ежей присутствуют у морских звезд в почти идентичном виде (трехгенная петля усиления, состоящая из генов *Bra*, *FoxA* и *GataE*), и что в общих чертах генетическая регуляторная сеть не менялась в обоих филетических линиях по меньшей мере с кембрия (Hinman et al., 2003).

Недавнее прочтение полных геномов некоторых видов иглокожих, в частности, *Strongylocentrotus purpuratus*, позволяют утверждать, что многие из генов, отвечающих за биоминерализацию, связаны в тесные кластеры и, по всей видимости, в недавнем прошлом были многократно дублированы (Bottjer et al., 2006). Однако пока неясно, происходила ли такая дубликация в других группах иглокожих, и если да, то не могла ли она происходить независимо.

СТРУКТУРА СТЕРЕОМА КАК ОТРАЖЕНИЕ ЕГО ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ

Трехлучевые спикулы своими концами соединяются в стереомный скелет каждого скелетного элемента в соответствии с кристаллографическими осями кальцита и с будущими функциональными особенностями данного участка скелета. Поэтому каждый скелетный элемент обладает свойствами монокристалла кальцита, а его стереомная структура обладает особенностями, отражающими конкретные функции данного участка скелетного элемента и особенности его роста.

Структура стереома, как правило, неоднородна: размеры пор и толщина стержней, формирующих стереом, варьируются в зависимости от типа мягких тканей, которые крепятся к этой части скелета. Кроме того, пространственное расположение стереома с разной архитектурой в скелерите зависит от направления и скорости роста таблички. При жизни животного поровое пространство стереома заполняется соединительной тканью – стромой. В целом строение стереома хорошо отображает строение прилегающих мягких тканей, благодаря чему, имея только изолированные (в том числе и фоссилизированные) таблички с сохранившейся структурой стереома, можно реконструировать расположение некоторых мягких тканей, а также выявить особенности роста скелетных элементов.

Со скелетными элементами морских лилий ассоциированы по меньшей мере четыре типа тканей: мускульная, нервная, лигаментная и недифференцированная мезодермальная ткань. М. Ру (Roux, 1975) были выделены два основных типа микроструктуры стереома в стеблях современных морских лилий, которые соответствовали разным лигаментным тканям: 1) регулярная сетчатая структура, или альфа (α) стереом; 2) неправильной сетчатой структурой, или бета (β) стереом. Альфа-стереом состоит из параллельных галерей, которые пронизаны коллагеновыми волокнами, идущими параллельно вдоль всего скелетного элемента. В стебле эти галереи параллельны осевому каналу. Из альфа-стереома состоит большин-

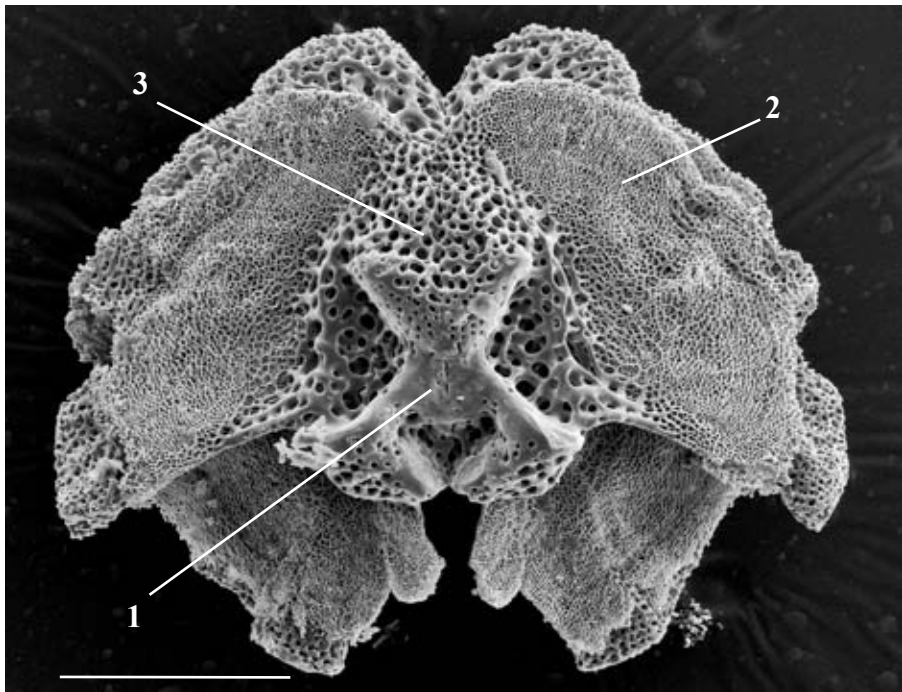


Рис. 4. Позвонок *Ophiura robusta* с проксимальной стороны: 1 – сочленовная поверхность, 2 – область прикрепления межпозвонковых мускулов, 3 – нормальный стереом; масштабная линейка 200 мкм; SEM, ориг.

ство типов сочленений брахиолой рук и члеников стеблей. Бета-стереом преимущественно слагает среднюю часть стебля, он растет неравномерно и поэтому в нем иногда проявляются линии нарастания. Помимо этого, их бета-стереома состоит сизигиальный кренулярый (тип неподвижного сочленения с хорошо развитыми радиальными ребрами).

В скелетных элементах морских ежей было выявлено десять различных типов строения стереома: прямолинейный, микроперфорированный, лабиринтный, ламинарный, галерейный, пучковый, неперфорированный, сетевидный, просто перфорированный и неравномерно перфорированный (Smith, 1980).

Склериты офиур также достаточно ярко демонстрируют неоднородность структуры стереома в зависимости от функциональной нагрузки конкретного участка. На примере позвонков (они составляют внутренний осевой скелет луча, каждый является гомологом пары слитых амбулакров) видно, что наиболее плотный, почти сплошной стереом наблюдается в местах сочленения с соседними склеритами (рис. 4.1). В местах прикрепления межпозвонковых мышц стереом также характеризуется мелкими ячейками (рис. 4.2); также на этих участках иногда заметны кольца нарастания (Gage,

1990). Наиболее рыхлая структура наблюдается в местах, где к скелетному элементу примыкает соединительная или покровная ткань (рис. 4.3).

Несмотря на обычно плохую сохранность структуры стереома у нижнепалеозойских иглокожих из-за диагенетических изменений, уже у самых ранних форм удалось обнаружить дифференциацию и вариацию в строении стереома. На изолированных табличках стилокона кембрийской стилофоры *Ceratocystis* было отмечено присутствие шести различных типов структур стереома (Clausen, Smith, 2005). В этой же работе было показано, что придаток (стилофор) не являлся пищесборной рукой, хотя при этом отдельные слагающие его скелетные элементы, судя по сходству со структурой стереома у современных иглокожих, обладали мускульным сочленением.

На данный момент предполагается, что мускульное сочленение впервые появилось у морских лилий в начале девона. Для подтверждения присутствия мускульного типа сочленения в руках нижнекаменноугольных кладидных морских лилий В. Аусичем и Т. Баумиллером (Ausich, Baumiller, 1993) был предложен метод, основанный на тафономии. Время распада мускулов и связок после смерти животного различается: мускулы распадаются значительно быстрее, чем связки. Таким образом, в ходе посмертных изменений у морских лилий с мускульным сочленением рук они должны были разъединяться до распада члеников стебля (которые обладают лигаментным сочленением), в то время как у морских лилий с лигаментным сочленением рук время распада кроны и стебля должно быть приблизительно одинаковым.

Рядом авторов было также предложено присутствие мускульного сочленения в стеблях ископаемых морских лилий. Однако у современных морских лилий сократительные волокна обнаружены только в боковых придатках стебля – в циррах. С. Donovan (Donovan, 1989) пришел к выводу, что мускульное сочленение вряд ли присутствовало в стеблях ископаемых морских лилий. Единственными стебельчатыми иглокожими, имевшими мускульные сочленения в стебле, были, по-видимому, глиптоцистидные ромбиферы.

Ископаемые скелетные элементы иглокожих всегда подвержены диагенетическим изменениям, затрудняющим изучение их микроструктуры. Поэтому было разработано несколько методик для выявления структуры стереома ископаемых склеритов, основанных, как правило, на их обработке различными кислотами. В ходе разработки одной из методик было использовано 12 различных кислот, и наилучшие результаты дало использование разбавленной (1/6) муравьиной кислоты (Lapham, Ausich, Lane, 1976). Для скелетных элементов, добытых из глинистых отложений, была разработана особая методика, связанная с обработкой их в плавиковой кислоте (Sevastopulo, Keegan, 1980). Данная методика была успешно опробована на нижнекаменноугольном материале из Северной Америки.

Строение микроструктуры стереома некоторых элементов скелета, например, игл морских ежей может служить диагностическим признаком при определении некоторых близкородственных родов. Так, были показаны различия в ультраструктуре первичных игл двух близких родов семейства Strongylocentrotidae: *Strongylocentrotus* и *Mesocentrotus* (Винникова, Дроздов, 2011). Представители рода *Mesocentrotus* отличаются от остальных видов структурой сердцевины иглы, ширина которой больше высоты ребер, сердцевина у них более однородная, не образует правильных концентрических колец.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На сегодняшний день существует достаточно данных по биоминерализации у позвоночных, иглокожих, моллюсков и некоторых других групп, чтобы заключить, что основные белки органического матрикса одной группы не присутствуют в других (Gilbert, Wilt, 2011); так, например, белки SM30 и SM50 не найдены ни у позвоночных, ни у моллюсков. Механизм формирования скелета, присутствующий у иглокожих, уникален для этого типа и не встречается у других. Однако имеющиеся данные не дают оснований предполагать, что скелет возник в жесткой связи с другими синапоморфиями иглокожих, как то амбулакральная система и пятилучевая симметрия. В пользу этого свидетельствуют и палеонтологические данные: ряд групп, обладающих несомненно иглокожным скелетом, не имеют всех или некоторых других синапоморфий типа (различные Nomalozoa, в частности, билатерально-симметричный *Stenoimbricata spinosa*). Исходя из того, что планы строения основных подтипов иглокожих формировались в раннем кембрии, логично предположить, что планы строения самих типов формировались еще раньше и, вероятно, очень быстро. А до того, как эти планы строения были сформированы, признаки высокого ранга (то есть признаки, которые сегодня характеризуют тип) могли комбинироваться довольно свободно в разных группах, тем более что их генетическая основа была, во-первых, в высшей степени пластичной, а во-вторых, сходной для всех вторичноротых. Поэтому, вероятно, не имеет особого смысла спорить о принадлежности того или иного организма к определенному типу – этих типов еще не было как таковых, и группы, близкие к предкам хордовых, могли обладать стереомным скелетом.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 12-04-01750-а и Программы фундаментальных исследований Президиума РАН № 28 «Проблемы происхождения жизни и становления биосферы».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Винникова В.В., Дроздов А.И. 2011. Ульстраструктура игл правильных морских ежей семейства Strongylocentrotidae // Зоол. журнал. Т. 90. № 5. С. 573–579.
- Федотов Д.М. 1951. Тип иглокожих. Руководство по зоологии. Т. 3. Ч. 2. М.: Советская наука. С. 460–591.
- Ameys L., Compère P., Dille J., Dubois P. 1998. Ultrastructure and cytochemistry of the early calcification site and of its mineralization organic matrix in *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinoidea) // Histochem. and Cell Biol. V. 110. P. 285–294.
- Ameys L., De Becker G., Killian C. et al. 2001. Proteins and Saccharides of the Sea Urchin Organic Matrix of Mineralization: Characterization and Localization in the Spine Skeleton // J. of Struct. Biol. V. 134. P. 56–66.
- Ausich W.I., Baumiller T.K. 1993. Taphonomic method for determining muscular articulations in fossil crinoids // Palaios. V. 8. № 5. P. 477–484.
- Bennett K.C., Young C.M., Emler R.B. 2012. Larval development and metamorphosis of the deep-sea cidaroid urchin *Cidaris blakei* // The Biol. Bull. V. 222. № 2. P. 105–117.
- Bottjer D.J., Davidson E.H., Peterson K.J., Cameron R.A. 2006. Paleogenomics of echinoderms // Science. V. 314. № 5801. P. 956–960.
- Clausen S., Smith A.B. 2005. Palaeoanatomy and biological affinities of a Cambrian deuterostome (Stylophora) // Nature. V. 438. № 7066. P. 351–354.
- Donovan S.K. 1989. The improbability of a muscular crinoid column // Lethaia. V. 22. №. 3. P. 307–315.
- Ettensohn C.A., Kitazawa C., Cheers M.S. et al. 2007. Gene regulatory networks and developmental plasticity in the early sea urchin embryo: alternative deployment of the skeletogenic gene regulatory network // Development. V. 134. № 17. P. 3077–3087.
- Ettensohn C.A. 2009. Lessons from a gene regulatory network: echinoderm skeletogenesis provides insights into evolution, plasticity and morphogenesis // Development. V. 136. № 1. P. 11–21.
- Gage J.D. 1990. Skeletal growth markers in the deep-sea brittle stars *Ophiura ljunmani* and *Ophiomusium lymani* // Marine Biol. V. 104. №. 3. P. 427–435.
- Gao F., Davidson E.H. 2008. Transfer of a large gene regulatory apparatus to a new developmental address in echinoid evolution // Proc. of the Nat. Acad. of Sci. V. 105. № 16. P. 6091–6096.
- Gilbert P.U.P.A., Wilt F.H. 2011. Molecular aspects of biomineralization of the echinoderm endoskeleton // Molecular Biomineralization. Berlin, Heidelberg: Springer. P. 199–223.
- Gliznitsa L.A., Dautov S.Sh. 2011. Cell Differentiation during the Larval Development of the Ophiuroid *Amphipholis kochii* Lütken, 1872 (Echinodermata: Ophiuroidea) // Rus. J. of Marine Biol. V. 37. № 5. P. 384–400.
- Hinman V.F., Nguyen A.T., Cameron R.A., Davidson E.H. 2003. Developmental gene regulatory network architecture across 500 million years of echinoderm evolution // Proc. of the Nat. Acad. of Sci. V. 100. №. 23. P. 13356–13361.
- Jefferies R.P.S. 1986. The ancestry of the vertebrates. London: British Museum (Natural History). 376 p.

- Lapham K.E., Ausich W.I., Lane N.G.* 1976. A technique for developing the stereom of fossil crinoid ossicles // *J. Paleont.* V. 2. № 50. P. 245–248.
- Märkel K., Röser U., Mackenstedt U., Klostermann M.* 1986. Ultrastructural investigation of matrix-mediated biomineralization in echinoids (Echinodermata, Echinoidea) // *Zoomorphology.* V. 106. №. 4. P. 232–243.
- Nakano E., Okazaki K., Iwamatsu T.* 1963. Accumulation of Radioactive Calcium in Larvae of the Sea Urchin *Pseudocentrotus depressus* // *Biol. Bull.* V. 125. P. 125–132
- Okazaki K.* 1956. Skeleton formation of sea urchin larvae. I. Effect of Ca concentration of the medium // *Biol. Bull.* V. 110. № 3. P. 320–333.
- Okazaki K.* 1975. Spicule formation by isolated micromeres of the sea urchin embryo // *Amer. Zoologist.* V. 15. № 3. P. 567–581.
- Raz S., Hamilton P.C., Wilt F.H.* et al. 2003. The transient phase of amorphous calcium carbonate in sea urchin larval spicules: the involvement of proteins and magnesium ions in its formation and stabilization // *Adv. Funct. Mater.* V. 13. № 6. P. 480–486.
- Roux M.* 1975. Microstructural analysis of the crinoid stem // *Univ. Kansas Paleont. Contrib.* V. 75. P. 1–7.
- Sevastopulo G.D., Keegan J.B.* 1980. A technique for revealing the stereom structure of fossil crinoids // *Palaeontology.* V. 23. №. 4. P. 749–756.
- Smith A.B.* 1980. The structure and arrangement of echinoid tubercles // *Phil. Trans. of the Royal Soc. of London. Series B, Biol. Sci.* V. 289. № 1033. P. 1–54.
- Wilt F.H.* 1999. Matrix and mineral in the sea urchin larval skeleton // *J. of Struct. Biol.* V. 126. № 3. P. 216–226.
- Wilt F.H., Killian C.E., Hamilton P., Croker L.* 2008. The dynamics of secretion during sea urchin embryonic skeleton formation // *Exp. Cell Res.* V. 314. P. 1744–1752.
- Wray G.A., McClay D.R.* 1988. The origin of spicule-forming cells in a ‘primitive’ sea urchin (*Eucidaris tribuloides*) which appears to lack primary mesenchyme cells // *Development.* V. 103. № 2. P. 305–315.
- Yajima M., Kiyomoto M.* 2006. Study of larval and adult skeletogenic cells in developing sea urchin larvae // *The Biol. Bull.* V. 211. № 2. P. 183–192.
- Yajima M.* 2007. A switch in the cellular basis of skeletogenesis in late-stage sea urchin larvae // *Dev. Biol.* V. 307. № 2. P. 272–281.

GENERAL FEATURES OF ECHINODERM SKELETON FORMATION

A.I. Kokorin, G.V. Mirantsev, S.V. Rozhnov

According to literature, a brief review of the contemporary data on the echinoderm skeleton formation was prepared. Process of embryonic development and peculiarities of the skeleton structure in different groups of echinoderms are described, using the morphological, histological and molecular data. Recent studies on the gene regulatory networks and their influence on the biomineralization and skeleton formation are also included. In general we can say that skeletogenic mechanisms are highly conservative within echinoderms, both on molecular and cellular levels of embryo. But at the same time skeleton formation mechanism of echinoderms is unique and could not be found outside this phylogenetic line.