

УДК 595.132

ПЕРВАЯ НАХОДКА ПОДОЦИТОВ В КРОВЕНОСНОЙ СИСТЕМЕ ЗАГАДОЧНЫХ ЧЕРВЕЙ – ЭХИУРИД (ANNELIDA: THALASSEMATIDAE)

© 2024 г. П. А. Кузнецов^{1,2}, А. В. Ересковский^{1,2,3}, Е. Н. Темерева^{1,*}

Представлено академиком РАН В. В. Малаховым

Поступило 15.03.2024 г.

После доработки 25.03.2024 г.

Принято к публикации 30.03.2024 г.

Тонкое строение кровеносных сосудов хобота эхиурид известно в деталях, однако кровеносная система в туловище остается исследованной лишь на уровне общей анатомии. В результате изучения кровеносной системы туловища самок *Bonellia viridis* впервые для эхиурид были обнаружены специализированные клетки – подоциты. Они образуют стенку кольцевого и передней части вентрального кровеносных сосудов. Для подоцитов *B. viridis* характерна типичная клеточная архитектура, описанная для таких клеток у других Bilateria: они состоят из клеточного тела, первичных отростков и отходящих от них цитоподий, которые соединены друг с другом специализированными щелевыми диафрагмами. Наличие подоцитов в составе стенки брюшного и кольцевого сосудов свидетельствует о том, что именно эти участки кровеносной системы эхиурид выполняют функцию сайтов ультрафильтрации, где плазма крови фильтруется через базальную пластинку в полость туловищного целома.

Ключевые слова: подоцит, морфология, кровеносная система, ультрафильтрация, метанефридии, анальные мешки

DOI: 10.31857/S2686738924040055

Эхиуриды – это небольшая группа несегментированных морских бентосных червей [1, 2]. Систематическое положение этой группы неоднократно менялось, однако сейчас эхиурид безоговорочно относят к кольчатым червям (Annelida) [3]. В отличие от большинства других представителей типа, эхиуриды утратили метамерное строение и полностью лишились дисеппиментов [1]. Их туловище, таким образом, содержит единый целомический мешок, не подразделенный на компартменты [1]. Утрата метамерии повлекла за собой и преобразования других систем органов. Так, у эхиурид отсутствуют метамерные метанефридии, а выделительные органы представлены необычными анальными мешками, которые несут многочисленные ренальные воронки и открываются в клоака.

Известно, что большинство эхиурид имеют замкнутую кровеносную систему, которая была изучена на общем анатомическом уровне [4]

и с использованием 3D реконструкции по сериям срезов [2]. В кровеносной системе эхиурид так же, как и у остальных кольчатых червей можно выделить восходящий дорсальный сосуд и нисходящий вентральный сосуд [5]. Однако у эхиурид дорсальный кровеносный сосуд присутствует только в передней части туловища и отсутствует в средней и задней частях туловища, где его заменяет синус вокруг пищеварительной трубки [1]. В хоботе есть три кровеносных сосуда: один аксиальный, который является продолжением дорсального сосуда, и два латеральных сосуда, которые сливаются вместе в туловище, образуя вентральный кровеносный сосуд. Строение кровеносных сосудов, проходящих в хоботе, хорошо известно [6, 7], однако тонкое строение кровеносной системы в туловище остается почти неизученным. Новые данные о локализации подоцитов в кровеносной системе и деталях их строения прольют свет на особенности функционирования метанефридиальной системы эхиурид в целом и расширят наши представления о физиологии этих необычных аннелид.

Цель настоящей работы – изучить тонкое строение подоцитов в кровеносной системе самок *B. viridis*.

Материалом для работы послужили взрослые самки *B. viridis* Rolando, 1822, которые были собраны у берегов Марселя на побережье Прованса,

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

²Institut Méditerranéen de Biodiversité et d'Ecologie Marine et Continentale (IMBE), Aix Marseille University, CNRS, IRD, Avignon University, Marseille, 13007 France

³Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова Российской академии наук, Москва, Россия.

*e-mail: temereva@mail.ru

Франция, 43°16'38" СШ, 5°18'24" ВД. Морфология особей была изучена с помощью стереомикроскопа Leica M165C, оснащенного цифровой камерой Leica DFC420 (Leica Microsystems GmbH). После анатомирования отдельные части кровеносной системы были зафиксированы в 2,5% глутаровом альдегиде на 0,05 М какодилатном буфере, содержащем NaCl, в течение 8 ч при +4°C. Затем образцы промывали в какодилатном буфере (трижды в течение 4 ч) и повторно фиксировали в 1%-ном тетроксиде осмия в том же буфере. Образцы обезвоживали в возрастающих концентрациях этанола и заливали в смолу Embed-812 (Electron Microscopy Science). Полутонкие и тонкие срезы изготовили с помощью ультрамикротомы Leica UC7 (Leica Microsystems GmbH). Ультратонкие срезы контрастировали растворами уранил ацетата (0.5%) и цитрата свинца (0.4%), а затем исследовали с помощью электронного микроскопа JEOL JEM-1011 (JEOL Ltd.).

В составе кровеносной системы туловища эхиурид можно выделить нисходящую часть, которая представлена брюшным кровеносным сосудом, восходящую часть, которую составляют околокишечный синус и дорсальный кровеносный сосуд, и поперечные кровеносные сосуды, соединяющие обе части.

В передней трети туловища от вентрального кровеносного сосуда отходит нейро-интенстиальный сосуд, который заканчивается в кольцевом сосуде (рис. 1а). Стенки вентрального кровеносного сосуда в его передней трети и кольцевого сосуда образованы подоцитами. Эти клетки имеют как общие черты строения, так и незначительные различия в зависимости от их локализации. На уровне клеточной архитектуры у каждого подоцита можно выделить расширенное клеточное тело, первичные отростки и цитоподии (рис. 1б). В клеточном теле находится крупное ядро с выраженным ядрышком, комплекс Гольджи, многочисленные фагосомы и мультивезикулярные тельца (рис. 1б). Тело клетки и первичные отростки несут многочисленные апикальные выросты, направленные в полость тела. Первичные отростки имеют диаметр от 3 до 0.5 мкм и распластаны на поверхности базальной пластинки. В цитоплазме первичных отростков проходят тонкие пучки миофиламентов (рис. 1б-с). Первичные отростки дают начало многочисленным тонким цитоподиями, которые в свою очередь ветвятся и лежат между цитоподиями соседних подоцитов, вместе образуя характерный лабиринтоподобный рисунок (рис. 1б-с). Цитоподии в среднем достигают ширины от 0.1 до 0.25 мкм (рис. 1д). Между цитоподиями соседних подоцитов обнаруживаются контакты, которые могут быть описаны как щелевые диафрагмы: тонкая пластинка электронно-плотного вещества. Расстояние между цитоподиями и соответственно ширина щелевой диафрагмы не превышает 20 нм. Цитоподии лежат на плотной базальной пластинке, под которой находится толстый слой внеклеточного матрикса,

пронизанный коллагеновыми волокнами (рис. 1с-д). Несмотря на общие черты в строении подоцитов вентрального кровеносного сосуда и кольцевого сосуда, между ними есть и заметные различия. Цитоподии подоцитов кольцевого сосуда (рис. 1е) имеют гораздо больший диаметр и образуют менее сложный и менее разветвленный лабиринт, базальная пластинка выражена слабее, а апикальные выросты заметно длиннее и многочисленнее.

Считается, что подоциты находятся на определенных участках кровеносных сосудов, где формируются зоны ультрафильтрации [8]. Одна из главных особенностей подоцитов, которая позволяет отличить их от любых других клеток, — это наличие цитоподий, которые связаны друг с другом специализированными щелевыми диафрагмами. Через базальную пластинку кровеносных сосудов и щелевые диафрагмы между цитоподиями подоцитов происходит ультрафильтрация жидкости из полости сосудов в полость целома [9]. В результате ультрафильтрации в полости целома формируется первичная моча, которая за счет работы ресничных воронок метанефридиев попадает в выделительный канал, где подвергается вторичному всасыванию [10]. Подоциты, обнаруженные нами у *B. viridis* (рис. 1ф), цитологически соответствуют подоцитам, которые описаны у других Bilateria. Это позволяет предполагать, что зоны ультрафильтрации у *B. viridis* и, возможно, других эхиурид находятся в области передней части брюшного сосуда и кольцевого сосуда, т.е. в передней трети туловища, тогда как специализированные метанефридии — анальные мешки — расположены в задней части туловища [11].

Обнаруженные у подоцитов *B. viridis* многочисленные фагосомы и производные лизосом свидетельствуют о высокой эндоцитозной активности, которая характерна и для подоцитов других кольчатых червей [12]. Миофиламенты в основании первичных отростков (рис. 1ф) указывают на неполное разделение функций с миоэпителиальными клетками сосудов. Миофиламенты в базальных участках подоцитов описаны у многих кольчатых червей и других билатерий, например *Phoronida* [13, 14]. Одной из ярких особенностей подоцитов у *B. viridis* является наличие многочисленных апикальных выростов. Подобные выросты ранее были описаны для клеток целомического эпителия латеральных каналов и миоэпителия аксиального и латерального сосудов хобота самок *B. viridis* [7]. Таким образом, подоциты сохраняют ряд цитологических признаков, указывающих на их общее происхождение с миоэпителием сосудов и целомелием.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа П.А. Кузнецова выполнена при финансовой поддержке гранта Вернадского от посольства Франции в Российской Федерации.

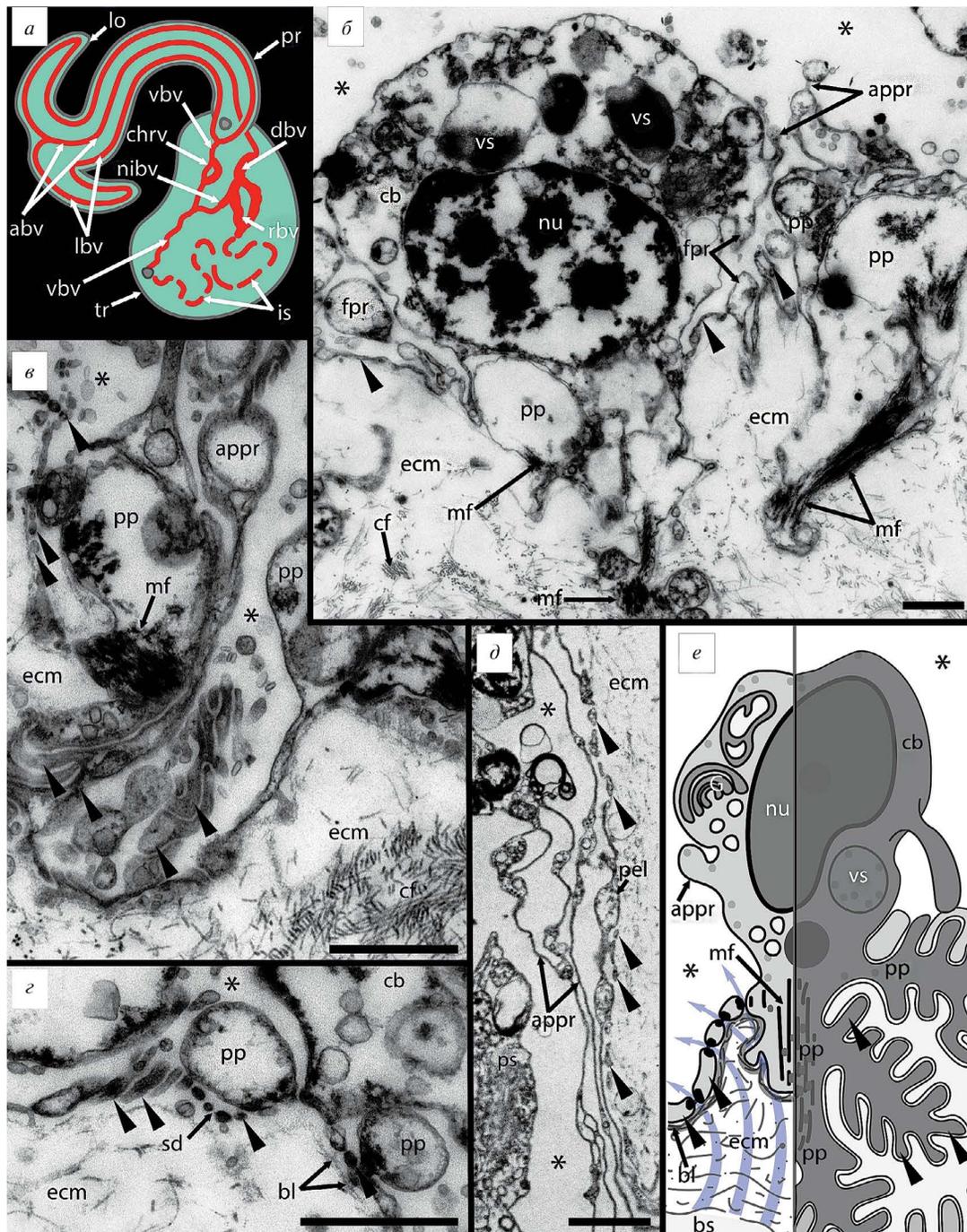


Рис. 1. Подоциты в кровеносной системе самцов *Bonellia viridis*: (а) – схема организации кровеносной системы (б) – подоцит на поперечном срезе вентрального кровеносного сосуда, ТЕМ, (в) – первичные отростки и цитоподии подоцита вентрального кровеносного сосуда, ТЕМ, (г) – цитоподии подоцитов в вентральном кровеносном сосуде, ТЕМ, (д) – цитоподии подоцитов в кольцевом сосуде, ТЕМ, (е) – схема строения подоцита с цитоподиями: стрелками показано направление движения жидкости из кровеносной системы в полость туловищного целома. Обозначения: (abv) – аксиальный кровеносный сосуд, (appr) – апикальный вырост, (bl) – базальная пластинка, (bs) – полость сосуда, (cb) – клеточное тело, (cf) – коллагеновые филаменты, (chrv) – кольцевой сосуд щетинок, (dbv) – дорсальный кровеносный сосуд, (ecm) – внеклеточный матрикс, (g) – комплекс Гольджи, (is) – околоткишечный синус, (lbv) – латеральный кровеносный сосуд, (lo) – лопасть хобота, (mf) – миофиламенты, (nu) – ядро, (nibv) – нервно-кишечный кровеносный сосуд, (nu) – ядро, (pp) – первичный отросток подоцита, (pr) – хобот, (rbv) – кольцевой кровеносный сосуд, (tr) – туловище, (sd) – шелевая диафрагма, (vbv) – вентральный кровеносный сосуд, (vs) – везикулы. Звездочки (*) обозначают целомическую полость, наконечники стрелок указывают на цитоподии подоцитов. Масштаб – 1 мкм.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ И СТАНДАРТОВ

Работа проведена на беспозвоночных животных, представителях типа Annelida. В соответствии с пунктом 3 главы 1 директивы 2010/63/ЕС от 22 сентября 2010 г. о защите животных, используемых в научных целях, требования по биоэтике не распространяются на беспозвоночных животных, за исключением класса Cephalopoda (головоногие моллюски).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Pilger J.F.* Echiura. In *Microscopic anatomy of invertebrates*. New York: Wiley-Liss Inc. 1993. Vol. 12 P. 186–236.
2. *Maierova A.S., Adrianov A.V.* Biodiversity of echiurans (Echiura) of the Kuril-Kamchatka Trench area // *Prog. Oceanogr.* 2020. Vol. 180. 102216.
3. *Goto R., Monnington J., Sciberras M., et al.* Phylogeny of Echiura updated, with a revised taxonomy to reflect their placement in Annelida as sister group to Capitellidae // *Invertebr. Syst.* 2020. Vol. 34. No. 1. 101.
4. *Amor A.* Modelos de sistema vascular en Echiura // *Asociación Argentina de Ciencias Naturales, Buenos Aires. Physis.* 1973. Vol. 32. Vol. 84. P. 115–120.
5. *Schmidt-Rhaesa A.* The evolution of organ systems. Oxford: Oxford University Press. 2007.
6. *Bosch C.* Les vaisseaux sanguins de la trompe chez *Bonellia viridis* (Echmrien) et leur musculature a fonction multiple // *Annales Des Sciences Naturelles: Zoologie Et Biologie Animale.* 1984. Vol. 6. P. 3–32.
7. *Kuznetsov P., Temereva E.* Ultrastructure of proboscis blood vessels in females of *Bonellia viridis* (Annelida: Bonellinae): New reconstructions // *J. Morphol.* 2022. Vol. 283. No. 6 P. 771–782.
8. *Peters W.* Possible site of ultrafiltration in *Tubifex tubifex* (Annelida, Oligochaeta) // *Cell. Tiss. Res.* 1977. Vol. 179. P. 367–375.
9. *Bunke D.* Ultrastructure of the metanephridial system in *Aeolosoma bengalense* (Annelida) // *Zoomorphol.* 1994. Vol. 114. P. 247–258.
10. *Smith P.R.* Polychaeta: Excretory system. In *Microscopic anatomy of invertebrates*. New York: Wiley-Liss Inc. 1992. Vol. 7. P. 71–108.
11. *Lehrke J., Bartolomaeus T.* Ultrastructure of the anal sacs in *Thalassema thalasseum* (Annelida, Echiura) // *Zoomorphol.* 2011 Vol. 130 P. 39–49.
12. *Bunke D.* Ultrastructure of the metanephridial system in *Aeolosoma bengalense* (Annelida) // *Zoomorphol.* 1994. Vol. 114. P. 247–258.
13. *Storch V., Hermann K.* Podocytes in the blood vessel linings of *Phoronis muelleri* (Phoronida, Tentaculata) // *Cell. Tiss. Res.* 1978. Vol. 190. P. 553–556.
14. *Temereva E.N., Malakhov V.V.* Ultrastructure of the blood system in phoronid *Phoronopsis harmeri* Pixell, 1912: 1. Capillaries // *Russian Journal of marine biology.* 2004. Vol. 30. No. 1. P. 28–36.

FIRST DISCOVERY OF THE PODOCYTES IN THE CIRCULATORY SYSTEM OF ENIGMATIC ECHIURIDS (ANNELIDA: THALASSEMATIDAE)

P. A. Kuznetsov^{a, b}, A. V. Ereskovsky^{a, b, c}, E. N. Temereva^{a, #}

Presented by Academician of the RAS V.V. Malakhov

^aLomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

^bInstitut Méditerranéen de Biodiversité et d'Ecologie Marine et Continentale (IMBE), Aix Marseille University, CNRS, IRD, Avignon University, Marseille, France

^cKoltzov Institute of Developmental Biology of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

[#]e-mail: temereva@mail.ru

Fine structure of echiurid blood vessels in the proboscis is known in details, but the circulatory system of the trunk remains studied mainly at the level of general anatomy. The investigation of the trunk circulatory system in *Bonellia viridis* females revealed the presence of specialized podocytes in the ring vessel and anterior part of the ventral vessel. This study allowed to describe podocytes in echiurid circulatory system for the first time. Podocytes of *B. viridis* are characterized by a typical cellular architecture, which is known for other bilaterians: they consist of a cell body, primary processes, and pedicels that are interconnected via specialized slit diaphragms. The presence of podocytes in the ventral and ring vessels indicates these parts of circulatory system as sites of ultrafiltration in echiurids, i.e., exactly in these places, the filtration of plasma occurs through the basal lamina to the body cavity.

Key words: podocyte, morphology, circulatory system, ultrafiltration, metanephridia, anal sac