

ГЕРМИНАЛЬНЫЕ ГРАНУЛЫ ИНТЕРСТИЦИАЛЬНЫХ КЛЕТОК КОЛОНИАЛЬНЫХ ГИДРОИДОВ *OBELIA LONGISSIMA* PALLAS, 1766 И *ECTOPLEURA CROCEA* AGASSIZ, 1862¹

© 2011 г. В. В. Исаева^{1, 2}, А. В. Ахмадиева¹, Я. Н. Александрова¹,
А. И. Шукалюк³, А. В. Чернышев¹

¹Учреждение Российской академии наук Институт биологии моря им. А. В. Жирмунского ДВО РАН,
Владивосток 690041;

²Учреждение Российской академии наук Институт проблем экологии и эволюции им. А. Н. Северцова РАН,
Москва 119071;

³Institute of Biomaterials and Biomedical Engineering, University of Toronto, Toronto, ON, Canada
e-mail: vv_isaeva@mail.ru

Статья принята к печати 30.09.2010 г.

В интерстициальных стволовых клетках колониальных гидроидов *Obelia longissima* и *Ectopleura crocea* найдены электронно-плотные герминальные гранулы, обычно рассматриваемые как маркеры и ключевые органоиды клеток половой линии. В интерстициальных клетках *O. longissima* выявлена интенсивная экспрессия активности щелочной фосфатазы, гистохимического маркера эмбриональных стволовых и первичных половых клеток позвоночных животных, а также положительная реакция на ядерный антиген пролиферирующих клеток (PCNA) – иммунохимический маркер клеточной репродукции. Полученные данные и литературные сведения свидетельствуют о консерватизме и общности морфофункциональной организации потенциально гаметогенных стволовых клеток беспозвоночных с бесполом размножением и половых клеток всех многоклеточных животных. Самообновляющийся пул таких стволовых клеток – источник клеточного материала для бластогенеза и гаметогенеза, клеточная основа реализации жизненной стратегии, включающей и бесполое, и половое размножение.

Ключевые слова: колониальные гидроиды, интерстициальные клетки, герминальные гранулы, зародышевая плазма.

Germinal granules in interstitial cells of the colonial hydroids *Obelia longissima* Pallas, 1766 and *Ectopleura crocea* Agassiz, 1862. V. V. Isaeva^{1, 2}, A. V. Akhmadieva¹, Ya. N. Aleksandrova¹, A. I. Shukalyuk³, A. V. Chernyshev¹
(¹A. V. Zhirmunsky Institute of Marine Biology, Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences, Vladivostok 690041; ²A. N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution, Russian Academy of Sciences, Moscow 119071; ³Institute of Biomaterials and Biomedical Engineering, University of Toronto, Toronto, ON, Canada)

Electron-dense germinal granules, which are usually regarded as markers and key organelles of germline cells, were found in the interstitial (stem) cells of the colonial hydroids *Obelia longissima* and *Ectopleura crocea*. The interstitial cells of *O. longissima* showed intense expression of alkaline phosphatase activity, a histochemical marker for vertebrate embryonic stem and primary germ cells, as well as positive reaction to proliferating cell nuclear antigen (PCNA) – an immunochemical marker for cell reproduction. Our findings and literature data suggest the evolutionary conservatism and commonality of the morphological and functional organization of potentially gametogenic stem cells in asexually reproducing invertebrates and germ cells in all studied Metazoa. A self-renewing pool of such stem cells provides the cell source for blastogenesis and gametogenesis and the cellular basis for realization of the life strategy including both asexual and sexual reproduction. (Biologiya Morya, Vladivostok, 2011, vol. 37, no. 4, pp. 292–299).

Key words: colonial hydroids, interstitial cells, germinal granules, germ plasm.

У размножающихся половым путем организмов происходит спецификация клеток половой линии либо в раннем эмбриогенезе путем преформации (асимметричного распределения материнских цитоплазматических детерминантов), либо в более поздний период развития путем эпигенеза под воздействием индуктивных сигналов окружения (Extavour, Akam 2003; Extavour et al., 2005; Extavour, 2008; Frank et al., 2009). У беспозвоночных животных с чередованием полового и бесполого

размножения в течение всей жизни индивида или колонии поддерживается линия стволовых клеток, способных к дифференциации и в половые, и в соматические клетки организма. Таковы археоциты губок, интерстициальные клетки книдарий, необласты турбеллярий, стволовые клетки колониальных корнеголовых ракообразных и асцидий (Исаева и др., 2007, 2008, 2009; Frank et al., 2009; Rinkevich et al., 2009; Sköld et al., 2009). Половая линия у взрослых животных с бесполом размножением не се-

¹ Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 09–04–00019).

грегирована (Buss, 1999; Sköld et al., 2009). Клональный морфогенез с последующей дифференциацией гамет из стволовых клеток именуется соматическим эмбриогенезом (Blackstone, Jasker, 2003; Rinkevich et al., 2009; Sköld et al., 2009). Термин "соматический эмбриогенез", введенный Б. П. Токиным (1959) при разработке концепции развития целого организма из группы соматических клеток, становится широко используемым, однако без ссылки на автора. Морфогенез при бесполом размножении животных обычно именовался бластогенезом (Berrill, 1961; Бриан, 1968; Иванова-Казас, 1977, 1996), у растений же – и соматическим эмбриогенезом, и эмбриоидогенезом (Батыгина, Виноградова, 2007; Batygina, 2010).

Проблема происхождения линии потенциально гаметогенных клеток с широким или неограниченным морфогенетическим потенциалом восходит к классической общепроизводной теории "зародышевой плазмы" А. Вейсмана. В результате исследования 29 родов и еще большего числа видов колониальных гидроидов, включая *Tubularia mesembryanthemum* (= *Ectopleura crocea*), *Obelia dichotoma* и *O. geniculata*, Вейсман (Weismann, 1883) впервые описал стволовые клетки ("Stammzellen") многоклеточных животных. Стволовые клетки как предшественники первичных половых ("Ur-Keimzellen") изучены им главным образом у *Hydractinia echinata* и *Coryne pusilla* (Weismann, 1883; см. также: Frank et al., 2009). Исследование *T. mesembryanthemum*, *O. dichotoma* и *O. geniculata* изложено этим автором менее детально, без иллюстраций: кратко рассмотрены формирование гонад гонофоров и медузоидных почек и дифференциация половых клеток (Weismann, 1883, S. 127–128, S. 155–157). А. Вейсман наблюдал, что половые клетки гидроидов возникают из резерва недифференцированных мигрирующих стволовых клеток, сохранивших характеристики эмбриональных клеток, полагая, что линия половых клеток обособлена от соматических. Эти исследования стали основой для создания теории "зародышевой плазмы" (Keimplasma, germ plasm – ядерного наследственного вещества, содержащего детерминанты половых клеток), передающейся от поколения к поколению (Weismann, 1892, 1893). А. Вейсман не связывал представление о линии половых клеток с ее ранним обособлением (Weismann, 1883, 1892, 1893). Он показал, что у гидроидов половые клетки дифференцируются не в период эмбрионального развития, а значительно позже, у поколений, развившихся путем почкования ("Knospen-Generationen": Weismann, 1883, S. 279). Идея раннего обособления половых клеток и непрерывности этих клеток в ряду поколений впервые сформулирована Нуссбаумом (Nussbaum, 1880), который приписывал интерстициальным клеткам гидры поддержание зародышевого пути. Вейсман (Weismann, 1883) рассматривал интерстициальные клетки, в частности, у гидроидов из рода *Corydendrium*, как предшественники нематоцитов.

К настоящему времени экспериментально доказано, что интерстициальные клетки гидроидов дают начало и гаметам, и некоторым типам соматических клеток (Bosch, David, 1987; Bode, 1996; Bosch, 2008; Frank et al., 2009). Таким образом, гидроиды с поздним обособлением клеток половой линии, которые на протяжении всей жизни колонии дифференцируются из интерстициальных клеток, дающих и соматические производные, парадоксальным образом оказались основным объектом исследований для создателей теорий зародышевого пути (Nussbaum, 1880) и зародышевой плазмы (Weismann, 1883, 1892, 1893). Гидроиды, в частности *Ectopleura crocea* (= *T. mesembryanthemum*), послужили также объектом экспериментального изучения регенерации и полярности гидрантов двумя другими знаменитыми учеными – Морганом (Morgan, 1903, 1904) и Чайлдом (Child, 1907).

Несмотря на множество проведенных на гидроидах исследований, интерстициальные клетки книдарий изучены в основном на представителях лишь двух родов Hydrozoa: *Hydra*, пресноводных гидрах, и морском колониальном гидроиде *Hydractinia echinata* (Frank et al., 2009). Показано, что система стволовых клеток гидры включает три линии, непрерывно проходящие митотический цикл: две линии эпителиальных клеток с унипотентными стволовыми клетками эпидермы и гастродермы, а также линию потенциально гаметогенных интерстициальных клеток, способных дифференцироваться и в соматические клетки нескольких типов (Bosch, David, 1987; Bode, 1996; Bosch, 2008; Frank et al., 2009). У двух видов рода *Obelia*, *O. flexuosa* и *O. loveni*, описаны интерстициальные клетки и исследована их дифференциация в половые (Айзенштадт, Полтева, 1981, 1982). В других группах книдарий типичные интерстициальные клетки не описаны (Frank et al., 2009), но у актинии *Nematostella vectensis* найдены и исследованы подобные стволовые клетки (Extavour et al., 2005).

Морфология клеток половой линии всех исследованных многоклеточных животных характеризуется высоким ядерно-цитоплазматическим отношением, относительно крупным ядром с диффузным хроматином, отчетливо выраженным ядрышком и базофильной цитоплазмой, включающей так называемую зародышевую плазму (Houston, King, 2000; Matova, Cooley, 2001; Kloc et al., 2004; Extavour, 2008; Frank et al., 2009; Rinkevich et al., 2009; Ewen-Campen et al., 2010). Подобной морфологией обладают и потенциально гаметогенные стволовые клетки беспозвоночных с бесполом размножением, в том числе интерстициальные клетки гидроидов (Mochizuki et al., 2001; Исаева и др., 2007, 2009; Bosch, 2008; Extavour, 2008; Frank et al., 2009; Rinkevich et al., 2009; Sköld et al., 2009). "Зародышевая плазма", в современном понимании содержащая "зародышевые (половые) детерминанты", структурированные в виде герминальных гранул или дисперсного материала (nuage), – специфический ультраструктурный маркер и ключевой органоид клеток

половой линии (Matova, Cooley, 2001; Seydoux, Braun, 2006; Strome, Lehman, 2007). Термин А. Вейсмана, означавший генетический материал ядра, ныне переосмыслен и стал метафорой.

"Зародышевые детерминанты" в стволовых клетках беспозвоночных с бесполом размножением были обнаружены в интерстициальных клетках гидры *Pelmatohydra robusta* (Noda, Kanai, 1977), а также необластах планарий (Coward, 1974; Hori, 1982; Hori, Kishida, 2003; Isaeva et al., 2005) и стволовых клетках колониальных корнеголовых ракообразных (Shukalyuk et al., 2005; Исаева, Шукалюк, 2007). Первичные половые клетки и плюрипотентные стволовые клетки, обладая многими общими морфологическими чертами, характеризуются экспрессией специфического набора родственных генов; постулируется их эволюционная и онтогенетическая связь (Extavour, Akam, 2003; Extavour et al., 2005; Travis, 2007; Extavour, 2008).

На основании литературных и собственных данных мы предполагаем эволюционный консерватизм структурной и функциональной организации клеток половой линии и тотипотентных (мультипотентных), потенциально гаметогенных стволовых клеток. Целью проведенной нами работы был поиск специфических электронно-плотных гранул зародышевой плазмы интерстициальных клеток колониальных гидроидов *Obelia longissima* Pallas, 1776 и *Ectopleura crocea* Agassiz, 1862, а также сравнение некоторых цитохимических и иммунохимических характеристик интерстициальных клеток *O. longissima* с таковыми стволовых и гониальных клеток представителей других таксонов многоклеточных животных.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Колонии *Obelia longissima* были собраны на побережье Уссурийского залива (зал. Петра Великого Японского моря) в районе б. Сухопутная в феврале–марте, когда происходит почкование колоний и образование новых зооидов. Колонии *Ectopleura crocea* собраны в б. Анна (зал. Петра Великого Японского моря) в июле.

Для гистологического исследования участки колоний фиксировали жидкостью Буэна, обезжировали в спиртах, заливали в парафин; срезы толщиной около 5 мкм окрашивали гематоксилином.

Для электронно-микроскопического анализа участки колоний фиксировали 2.5% раствором глутаральдегида в какодилатном буфере (pH 7.4), дофиксировали в 2% растворе тетрахлороксида осмия (OsO_4), дегидратировали этанолом и ацетоном и заключали в эпон-аралдит. Полутонкие срезы, окрашенные толудиновым синим, также использовали для гистологических наблюдений. Тонкие срезы, полученные с помощью ультратома Ultracut-E (Reichert), контрастировали 2% раствором уранилацетата и цитрата свинца и изучали с помощью трансмиссионного электронного микроскопа JEM 100B.

Для выявления активности щелочной фосфатазы использовали принятый для эмбриональных стволовых клеток млекопитающих протокол с некоторыми модификациями методики применительно к данному материалу (Исаева и др., 2003). Для идентификации пролиферирующих клеток использовали

фиксированный Буэном и заключенный в парафин материал; срезы толщиной 4 мкм были обработаны антителами к ядерному антигену пролиферирующих клеток (monoclonal mouse anti-PCNA, proliferating cell nuclear antigen, DAKO, USA) и затем подвергнуты стандартной процедуре с использованием стрептавидина-биотида-пероксидазы и в качестве хромогена – диаминобензидина (Shukalyuk et al., 2005).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Клеточный состав столонов колоний *Obelia longissima* типичен для гидроидов и включает интерстициальные клетки, эпителиально-мышечные эпидермальные и гастродермальные клетки, а также обычный набор других дифференцированных соматических клеток: нематоциты, железистые и нервные клетки. В почкующейся колонии среди эпителиальных клеток эпидермы и гастродермы видны многочисленные интерстициальные клетки типичной морфологии: с узким ободком цитоплазмы, интенсивно окрашивающейся толудиновым синим или гематоксилином, с крупным светлым ядром и большим ядрышком (рис. 1А–В). Размер интерстициальных клеток *O. longissima* – 7–11 мкм. Множество интерстициальных клеток мигрирует по мезоглее ценозарка столонов к местам формирования почек и развивающимся зооидам (рис. 1А, Г, Д).

Цитохимическая реакция выявления активности щелочной фосфатазы вызывала интенсивное окрашивание интерстициальных клеток, мигрирующих к формирующимся гидрантам, и самих развивающихся зооидов, содержащих множество интерстициальных клеток (рис. 1Г, Д). Характерен кирпично-красный цвет продукта этой цитохимической реакции, подобный окраске эмбриональных стволовых клеток мыши *in vitro*, использованных в качестве контроля (Исаева и др., 2003; Shukalyuk et al., 2005). Такое избирательное окрашивание выделяло интерстициальные клетки среди дифференцированных соматических клеток колонии, приобретавших диффузную окраску желтого или коричневатого цвета.

Клетки почек и формирующихся гидрантов проявляют заметную митотическую активность: на одном срезе можно видеть 3–4 митоза (различить эпителиальные и интерстициальные клетки во время митоза практически невозможно). Применение иммунохимической реакции для выявления ядерного антигена пролиферирующих клеток (PCNA) показало, что интерстициальные клетки отличались интенсивной позитивной реакцией (рис. 1Е) от дифференцированных клеток, проявлявших негативную либо слабую реакцию.

Применение трансмиссионной электронной микроскопии показало присутствие электронно-плотных герминальных гранул в интерстициальных клетках *O. longissima* и *Ectopleura crocea* (рис. 2). Герминальные гранулы клеток *O. longissima* представлены плотными компактными телами диаметром около 0.5–1 мкм (рис. 2А, Б). У *E. crocea* гранулы приблизительно такого же размера, но их материал более рыхлый, сходный

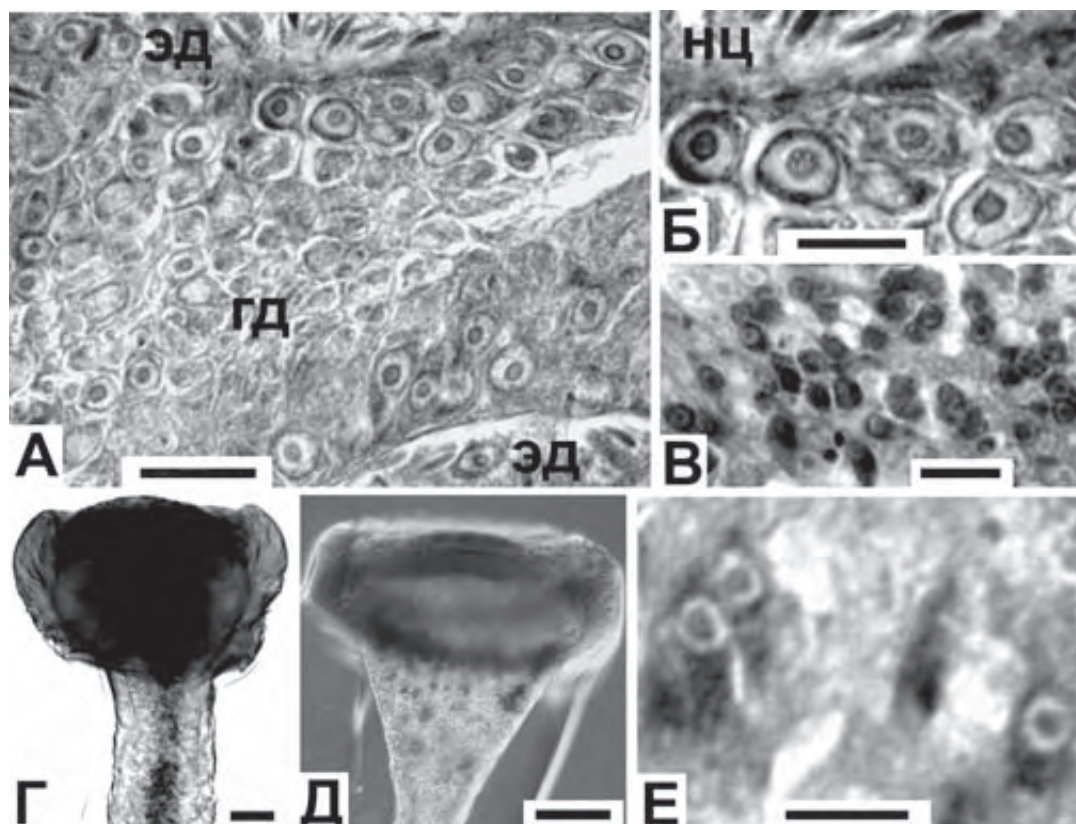


Рис. 1. Локализация и морфология интерстициальных клеток *Obelia longissima*. А – участок ценосарка вблизи развивающейся почки *O. longissima* (полутонкий срез, окраска толуидиновым синим); Б – группа интерстициальных клеток при большем увеличении; В – базофилия цитоплазмы интерстициальных клеток при окраске гематоксином (гистологический препарат); Г, Д – цитохимическая реакция выявления активности щелочной фосфатазы, окрашивание мигрирующих интерстициальных клеток столона (Г) и развивающегося гидранта (Д); Е – позитивная реакция цитоплазмы интерстициальных клеток на иммунохимическое выявление ядерного антигена пролиферирующих клеток (тест PCNA). Обозначения: гд – гастродермис; нц – нематоциты; эд – эпидермис. Масштаб: А, В – 20 мкм; Б, Е – 10 мкм; Г, Д – 50 мкм.

с материалом nuage; гранулы располагаются в комплексе с митохондриями (рис. 2В, Г) и нередко непосредственно контактируют с ядерной оболочкой (рис. 2Г).

ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно общепринятым представлениям, стволовые клетки – это клоногенные клетки, способные к самообновлению и дифференциации (Weissman, 2000; Rinkevich et al., 2009). Интерстициальные клетки гидроидов обычно определяют как мигрирующие недифференцированные клетки, способные к самообновлению и дифференциации в специализированные типы клеток (Bode, 1996; Bosch, 2008; Frank et al., 2009).

В зависимости от широты потенциального спектра клеточной дифференциации различают тотипотентные, плюрипотентные, мультипотентные, олигопотентные и унипотентные стволовые клетки, причем эта терминология не унифицирована и ее понимание нередко противоречиво (Исаева и др., 2009; Frank et al., 2009; Rinkevich et al., 2009; Sköld et al., 2009). У размножающихся бесполом путем беспозвоночных тотипотентными обычно называют стволовые клетки, способные генерировать все типы дифференцированных клеток

организма. Интерстициальные клетки гидроидов, способные дифференцироваться в гаметы и несколько типов соматических клеток, чаще всего именуются мультипотентными (Bosch, David, 1987; Bode, 1996; Mochizuki et al., 2001; Bosch, 2008; Frank et al., 2009; Rinkevich et al., 2009), иногда плюрипотентными (Extavour et al., 2005) и полипотентными (Айзенштадт, Полтева, 1981). Интерстициальные клетки *Hydractinia echinata* признаны тотипотентными (Müller et al., 2004; Frank et al., 2009).

Стволовые интерстициальные клетки гидроидов традиционно идентифицируют по их морфологии и окрашиванию: это округлые или веретеновидные клетки с относительно крупным ядром и менее плотным по сравнению с дифференцированными клетками хроматином; цитоплазма содержит много рибосом, окрашивается основными красителями, характерно окрашивание толуидиновым синим (Frank et al., 2009).

Наши данные об интерстициальных клетках *Obelia longissima*, подтверждая сведения, полученные другими исследователями, дают новую информацию о цитохимических, иммунохимических и некоторых ультраструктурных особенностях этих клеток. Интерстициальные клетки *O. longissima* отчетливо выявляются при окра-

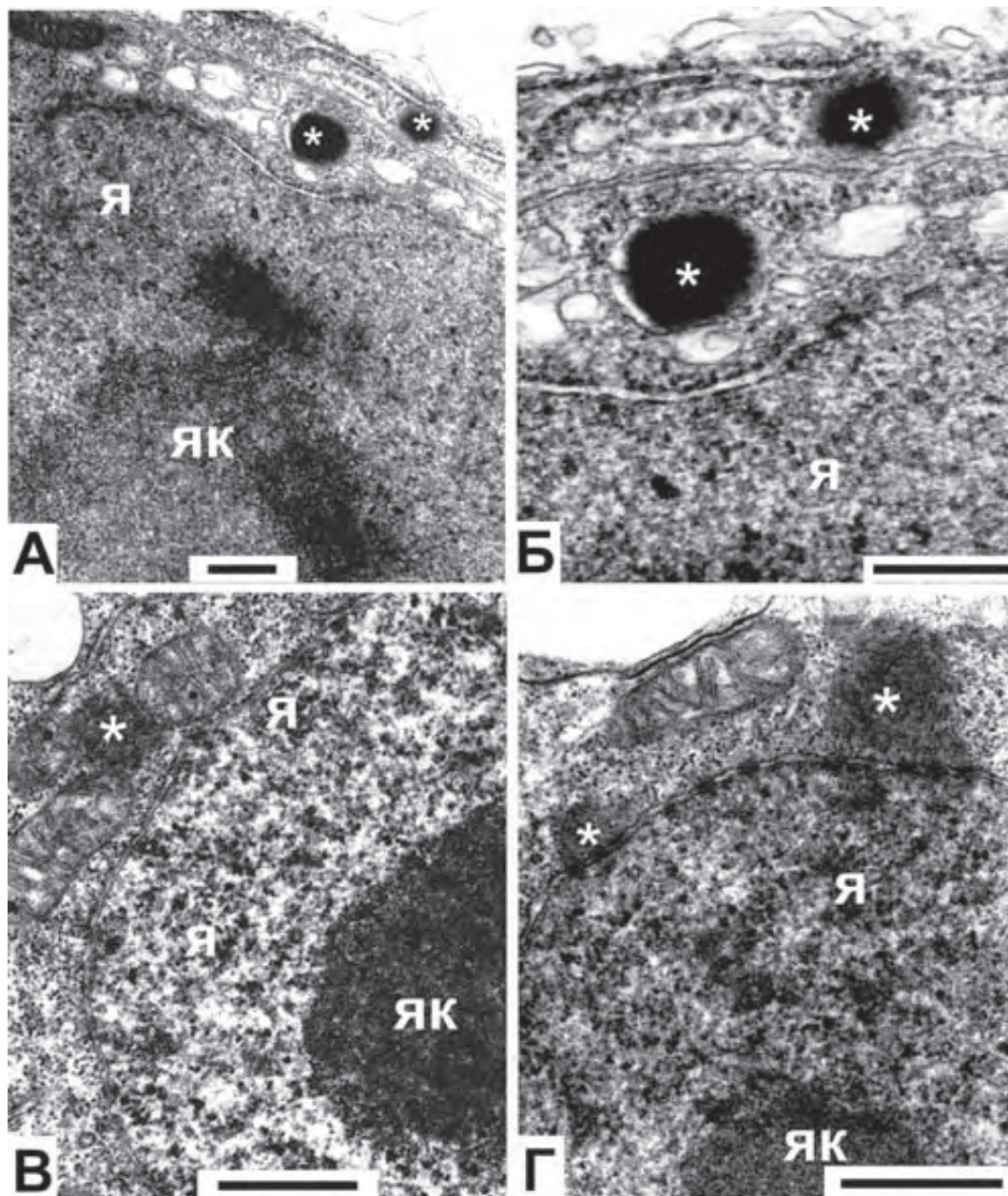


Рис. 2. Ультраструктура герминальных гранул интерстициальных клеток. А – интерстициальная клетка *Obelia longissima* с герминальными гранулами; Б – герминальные гранулы при большем увеличении; В, Г – герминальные гранулы интерстициальных клеток *Ectopleura crocea*. Обозначения: я – клеточное ядро; як – ядрышко; звездочки – герминальные гранулы. Масштаб: А–Г – 1 мкм.

шивании толуидиновым синим или гематоксилином, их веретеновидная или каплевидная форма свидетельствует о подвижности клеток, направленной к развивающимся почкам гидрантов. Способность интерстициальных клеток гидроидов к активной миграции показана многократно (Müller et al., 2004; Bosch, 2008; Frank et al., 2009). Стволовые клетки размножающихся бесполом путем беспозвоночных сходны с первичными половыми клетками своей способностью к амебоидной подвижности и обширным миграциям в пределах организма, направленным соответственно к местам бесполого размножения и регенерации или гонадам (Исаева и др., 2009).

Стволовые клетки размножающихся бесполом путем животных, как все стволовые клетки, характеризуются способностью к самообновлению, идентифицируясь такими маркерами клеточной репродукции, как позитивная реакция на PCNA, теломеразная активность, включение бромдезоксигуанидина (Gschwentner et al., 2001; Laird et al., 2005; Shukalyuk et al., 2005; Исаева и др., 2007, 2009; Rinkevich et al., 2009; Sköld et al., 2009). У изученных представителей кишечнополостных, в частности у *Hydractinia echinata*, интерстициальные клетки включают бромдезоксигуанидин и метятся антителами к нему (Müller et al., 2004; Frank et al., 2009). Иммунореактивность на анти-

ген пролиферирующих клеток (вспомогательный белок ДНК-полимеразы δ) выявляет клетки, не покидающие митотический цикл (Hall, Woods, 1990; Shukalyuk et al., 2005). Интерстициальные клетки *O. longissima* проявляли позитивную реакцию при использовании антител к PCNA мыши, однако способность к репродукции эпителиальных клеток эпидермы и гастродермы гидроидов ограничивает избирательность окрашивания интерстициальных клеток.

Высокий уровень активности щелочной фосфатазы служит классическим маркером эмбриональных стволовых клеток и первичных половых клеток млекопитающих, а также других представителей позвоночных (Исаева и др., 2003, 2009; Shukalyuk et al., 2005; Extavour, 2008; Sköld et al., 2009). Разработанный на млекопитающих метод идентификации эмбриональных стволовых клеток успешно применен для выявления стволовых клеток беспозвоночных животных, высокая активность щелочной фосфатазы оказалась цитохимическим маркером стволовых клеток беспозвоночных (Исаева и др., 2003; Laird et al., 2005; Shukalyuk et al., 2005; Ахмадиева и др., 2007; Rinkevich et al., 2009; Sköld et al., 2009). Высокая активность щелочной фосфатазы выявлена в интерстициальных клетках *O. longissima*, причем специфическая кирпично-красная окраска интерстициальных клеток гидроида по цвету и интенсивности подобна окраске культивируемых эмбриональных стволовых клеток мыши, использованных в качестве стандартного эталона. Полученные данные – первое свидетельство общности этой функциональной характеристики плюри-(мульти-)потентных стволовых клеток животных столь отдаленных таксонов, как млекопитающие и книдарии.

Экспериментально доказано, что гаметы у гидроидов развиваются из интерстициальных клеток (Bosch, 2008; Frank et al., 2009). У *Obelia flexuosa* и *O. loveni* описана, в частности, дифференциация половых клеток из крупных интерстициальных (Айзенштадт, Полтева, 1981). Клетки половой линии могут быть идентифицированы и прослежены в ходе развития организма благодаря присутствию зародышевой (половой) плазмы, содержащей плотные структурированные "зародышевые (половые) детерминанты" (Houston, King, 2000; Исаева, Реунов, 2001; Matova, Cooley, 2001; Kloc et al., 2004; Seydoux, Braun, 2006; Lim, Kai, 2007; Strome, Lehman, 2007; Frank et al., 2009). Для наименования гранулярного материала половых детерминантов использовали терминологию, первоначально прямо связанную с вейсмановской (Keimbahnchromidien, Keimbahnplasma), затем разнородную англоязычную (germ plasm, germ cell determinants, polar, perinuclear, chromatoid, germinal, germ granules, dense bodies, ectosomes), французский термин "nuage" и т.д. (Mahowald, 2001; Kloc et al., 2004; Lim, Kai, 2007; Frank et al., 2009; Исаева и др., 2009; Исаева, 2010). В богатых желтком ооцитах описаны крупные комплексы, включающие электронно-плотный материал и митохондрии и называемые Balbiani body, vitelline (yolk) body,

mitochondrial cloud, mitochondrial cement, yolk nucleus, oosome, – возник хаос в номенклатуре (Kloc et al., 2004). Мы предпочитаем называть электронно-плотные тела, найденные вблизи ядерной оболочки в интерстициальных клетках *O. longissima* и *Ectopleura crocea*, герминальными гранулами, используя тем самым достаточно широко употребляемую современными авторами терминологию, отражающую функцию этих гранул как маркера и детерминанта линии зародышевых и половых (germ) клеток.

Айзенштадт и Полтева (1981) на всех этапах гаметогенеза *O. flexuosa* и *O. loveni* обнаружили фиброгранулярный "интермитохондриальный цемент", или nuage. В ооцитах *Hydractinia* найден перинуклеарный материал nuage (Frank et al., 2009). Электронно-плотные тела описаны в ооцитах *Hydra carnea* (см.: Honegger et al., 1989) и других представителей книдарий (Thomas, Edwards, 1991). У гидры *Pelmatohydra robusta* и интерстициальные клетки, и клетки половой линии содержат в зародышевой плазме "плотные тела", ассоциированные с ядерными порами и митохондриями; на начальных этапах оогенеза число и размер плотных телец (герминальных гранул) увеличиваются, а по мере дифференциации соматических клеток (книдобластов) из интерстициальных клеток уменьшаются (Noda, Kanai, 1977).

Найденные нами в интерстициальных клетках *O. longissima* и *E. crocea* электронно-плотные герминальные гранулы сходны по своей ультраструктуре с "плотными телами" половых и интерстициальных клеток *Pelmatohydra robusta* (см.: Noda, Kanai, 1977) и ооцитов *Hydra carnea* (см.: Honegger et al., 1989), с "хроматиновыми гранулами" и "псевдохроматиновыми телами" оогенных клеток других исследованных книдарий (Thomas, Edwards, 1991). Обнаружена и ассоциация герминальных тел *E. crocea* с порами ядерной оболочки и митохондриями. Мы предполагаем участие митохондрий в биогенезе герминальных гранул наряду с материалом ядерного происхождения (Исаева, Реунов, 2001; Исаева et al., 2005; Исаева и др., 2009).

Термин "соматический эмбриогенез" свидетельствует о признании стволовых клеток, обеспечивающих бесполое размножение животных, соматическими; стволовые клетки животных с бесполом размножением действительно нередко называют соматическими (Blackstone, Jasker, 2003; Extavour et al., 2005; Rinkevich et al., 2009; Sköld et al., 2009). Однако стволовые клетки, предшественники половых и соматических клеток у животных с бесполом размножением, как и первичные половые клетки, не принадлежат какой-либо дифференцированной ткани или популяции соматических клеток – это не соматические клетки в обычном понимании. Популяция таких стволовых клеток, характеризующихся, подобно первичным половым клеткам, амебоидной подвижностью и отсутствием контактного ингибирования клеточной репродукции и движения, представлена рассеянными в организме клетками.

Вейсман (Weismann, 1883) писал о неотличимости гаметогенных и сохраняющих "зародышевую плазму" недифференцированных клеток. В наше время Ринкевич (Rinkevich et al., 2009) пишет о неясности и размытости границы между этими двумя типами стволовых клеток в тех случаях, когда половая линия поздно отделяется в онтогенезе или вовсе не отделяется. Половые клетки, возникающие из интерстициальных клеток гидроидов, сначала отличимы от них только несколько большим размером (Айзенштадт, Полтева, 1981; Thomas, Edwards, 1991). Отмечены принципиальное тождество, неотличимость и предполагаемая эволюционная и онтогенетическая связь первичных половых и тотипотентных (плюрипотентных) стволовых клеток (Weissman, 2000; Extavour, Akam, 2003; Travis, 2007; Extavour, 2008). Недавно стволовые клетки животных с бесполом размножением удачно названы "первичными стволовыми" клетками, которые могут служить предшественниками первичных половых клеток (Sköld et al., 2009).

Литературные данные свидетельствуют об эволюционном консерватизме морфофункциональной организации клеток половой линии всех Metazoa (Matova, Cooley, 2001; Extavour et al., 2005; Seydoux, Braun, 2006; Rebscher et al., 2008; Ewen-Campen et al., 2010). Подобными чертами обладают и стволовые клетки животных с бесполом размножением, включая гидроидов (Mochizuki et al., 2001; Müller et al., 2004; Исаева и др., 2007, 2009; Shukalyuk et al., 2007; Rebscher et al., 2008; Frank et al., 2009; Rinkevich et al., 2009; Sköld et al., 2009).

Вероятно, стволовые клетки животных с бесполом размножением, как и клетки половой линии, происходят в раннем эмбриогенезе от тотипотентных бластомеров раннего зародыша, способных после изоляции развиваться в целый организм, или от их производных, сохранивших тотипотентность. Мы полагаем, что онтогенетически и эволюционно родственные клетки ранних эмбрионов, первичные стволовые и первичные половые клетки относятся к популяциям клеток, способных к реализации полной программы развития, включающей у животных с бесполом размножением гаметогенез и бластогенез (Исаева и др., 2009; Исаева, 2010). Поэтому термин "соматический эмбриогенез" не вполне корректен, предпочтительным кажется термин "бластогенез" (Berrill, 1961), относящийся именно к бесполому размножению животных.

При бесполом размножении животных происходит естественное клонирование организма путем бластогенеза; клеточным ресурсом как бластогенеза, так и гаметогенеза служат первичные стволовые клетки, которые обладают эволюционно консервативными чертами морфофункциональной организации, свойственными и клеткам половой линии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Айзенштадт Т. Б., Полтева Д. Г. Происхождение половых клеток и ранние стадии оогенеза у морского гидроидного полипа *Obelia* // Онтогенез. 1981. Т. 12, № 3. С. 243–250.

- Айзенштадт Т. Б., Полтева Д. Г. Исследование вителлогенеза у гидроидных полипов *Obelia flexuosa* и *Obelia loveni* // Онтогенез. 1982. Т. 13, № 1. С. 28–33.
- Ахмадиева А. В., Шукалюк А. И., Александрова Я. Н., Исаева В. В. Стволовые клетки в бесполом размножении колониальной асцидии *Botryllus tuberatus* // Биол. моря. 2007. Т. 33, № 3. С. 217–222.
- Батыгина Т. Б., Виноградова Г. Ю. Феномен полиэмбрионии. Генетическая гетерогенность семян // Онтогенез. 2007. Т. 38, № 3. С. 166–191.
- Бриан П. Бластогенез и гаметогенез // Происхождение и развитие половых клеток в онтогенезе позвоночных и некоторых групп беспозвоночных. Л.: Медицина. 1968. С. 17–67.
- Иванова-Казас О. М. Бесполое размножение животных. Л.: Изд-во ЛГУ. 1977. 240 с.
- Иванова-Казас О. М. Бластогенез, кормогенез и эволюция // Биол. моря. 1996. Т. 22, № 5. С. 285–294.
- Исаева В. В. Разнообразие онтогенезов у животных с бесполом размножением и пластичность раннего развития // Онтогенез. 2010. Т. 41, № 5. С. 340–352.
- Исаева В. В., Реунов А. А. Половая плазма и детерминация линии половых клеток: роль митохондрий // Биол. моря. 2001. Т. 27, № 4. С. 231–237.
- Исаева В. В., Шукалюк А. И. Колониальные корнеголовые ракообразные (Crustacea: Rhizocephala): бесполое размножение, стволовые клетки, репродуктивная стратегия. М.: Наука. 2007. 132 с.
- Исаева В. В., Ахмадиева А. В., Александрова Я. Н., Шукалюк А. И. Морфофункциональная организация стволовых резервных клеток, обеспечивающих бесполое и половое размножение беспозвоночных животных // Онтогенез. 2009. Т. 40, № 2. С. 83–96.
- Исаева В. В., Шукалюк А. И., Ахмадиева А. В. Стволовые клетки беспозвоночных животных с репродуктивной стратегией, включающей бесполое размножение // Биол. моря. 2007. Т. 33, № 1. С. 3–10.
- Исаева В. В., Шукалюк А. И., Ахмадиева А. В. Бесполое размножение и репродуктивная стратегия колониальных представителей корнеголовых ракообразных (Cirripedia: Rhizocephala) // Зоол. журн. 2008. Т. 87, № 3. С. 268–279.
- Исаева В. В., Шукалюк А. И., Кизилова Е. А. Выявление стволовых клеток в колониальной интерне корнеголовых ракообразных *Peltogasterella gracilis* и *Sacculina polygenea* на паразитической стадии жизненного цикла // Цитология. 2003. Т. 45, № 8. С. 758–763.
- Токин Б. П. Регенерация и соматический эмбриогенез. Л.: Изд-во ЛГУ. 1959. 268 с.
- Batygina T. B. Stem cells and morphogenetic developmental programs in plants // Daughter cells: properties, characteristics, and stem cells. New York: Nova Science Publishers. 2010. P. 51–128.
- Berrill N. J. Growth, development, and pattern. San Francisco; London: Freeman and Company. 1961. 556 p.
- Blackstone N. W., Jasker B. D. Phylogenetic consideration of clonality, colonality, and mode of germline development in animals // J. Exp. Zool. 2003. Vol. 287. P. 35–47.
- Bode H. R. The interstitial cell lineage of hydra: a stem cell system that arose early in evolution // J. Cell Sci. 1996. Vol. 109. P. 1155–1164.
- Bosch T. C. G. Stem cells in immortal *Hydra* // Stem cells: from hydra to man. Berlin: Springer. 2008. P. 37–57.

- Bosch T. C. G., David C. N. Stem cells of *Hydra magnipapillata* can differentiate into somatic cells and germ line cells // *Dev. Biol.* 1987. Vol. 121. P. 182–191.
- Buss L. W. Slime molds, ascidians and the utility of evolutionary theory // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1999. Vol. 96. P. 8801–8803.
- Child C. M. An analysis of form regulation in *Tubularia* // *Roux Arch. Entw. Mech. Organ.* 1907. Bd. 23. S. 396–414.
- Coward S. J. Chromatoid bodies in somatic cells of the planarian: observation on their behavior during mitosis // *Anat. Rec.* 1974. Vol. 180. P. 533–546.
- Ewen-Campen B., Schwager E., Extavour C. G. M. The molecular machinery of germ line specification // *Mol. Reprod. Dev.* 2010. Vol. 77. P. 3–18.
- Extavour C. G. M. Urbisexuality: the evolution of bilaterian germ cell specification and reproductive systems // *Evolving pathways. Key themes in evolutionary developmental biology.* Cambridge: Cambridge Univ. Press. 2008. P. 321–342.
- Extavour C. G., Akam M. Mechanisms of germ cell specification across the metazoans: epigenesis and preformation // *Development.* 2003. Vol. 130. P. 5869–5884.
- Extavour C. G., Pang K., Matus D. Q., Martindale M. Q. *vasa* and *nanos* expression patterns in a sea anemone and the evolution of bilaterian germ cell specification mechanisms // *Evol. Dev.* 2005. Vol. 7. P. 201–215.
- Frank U., Plickert G., Müller W. A. Cnidarian interstitial cells: the dawn of stem cell research // *Stem cells in marine organisms.* Dordrecht; Heidelberg: Springer. 2009. P. 33–59.
- Gschwentner R., Ladurner P., Nimeth K., Rieger R. Stem cells in a basal bilaterian. S-phase and mitotic cells in *Convolutriloba longifissura* // *Cell Tissue Res.* 2001. Vol. 304. P. 401–408.
- Hall P. A., Woods A. L. Immunohistochemical markers of cellular proliferation: achievements, problems and prospects // *Cell Tissue Kinet.* 1990. Vol. 23. P. 23–55.
- Honegger T. G., Zürcher D., Tardent P. Oogenesis in *Hydra carnea*: a new model based on light and electron microscopic analyses of oocyte and nurse cell differentiation // *Tissue Cell.* 1989. Vol. 21, no. 3. P. 381–193.
- Hori I. An ultrastructural study of the chromatoid body in planarian regenerative cells // *J. Electron Microsc.* 1982. Vol. 31. P. 63–72.
- Hori I., Kishida Y. Quantitative changes in nuclear pores and chromatoid bodies induced by neuropeptides during cell differentiation in the planarian *Dugesia japonica* // *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.* 2003. Vol. 35. P. 439–444.
- Houston D. W., King M. L. Germ plasm and molecular determinants of germ cell fate // *Curr. Top. Dev. Biol.* 2000. Vol. 50. P. 155–181.
- Isaeva V., Alexandrova Ya., Reunov A. The interaction between chromatoid bodies and mitochondria in neoblasts and gonial cells of asexual and spontaneously sexualized planarian *Girardia (Dugesia) tigrina* // *Invertebr. Reprod. Dev.* 2005. Vol. 48. P. 119–128.
- Kloc M., Bilinski S., Etkin L. D. The Balbiani body and germ cell determinants: 150 years later // *Curr. Top. Dev. Biol.* 2004. Vol. 59. P. 1–36.
- Laird D. J., De Tomaso A. W., Weissman I. L. Stem cells are units of natural selection in a colonial ascidian // *Cell.* 2005. Vol. 123. P. 1351–1360.
- Lim A. K., Kai T. Unique germ-line organelle, nuage, functions to repress selfish genetic elements in *Drosophila melanogaster* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2007. Vol. 104. P. 6714–6719.
- Mahowald A. P. Assembly of the *Drosophila* germ plasm // *Int. Rev. Cytol.* 2001. Vol. 203. P. 187–213.
- Matova N., Cooley L. Comparative aspects of animal oogenesis // *Dev. Biol.* 2001. Vol. 16. P. 1–30.
- Mochizuki K., Nishimiya-Fujisawa C., Fujisawa T. Universal occurrence of the *vasa*-related genes among metazoans and their germline expression in *Hydra* // *Dev. Genes Evol.* 2001. Vol. 211. P. 299–308.
- Morgan T. H. Some factors in the regeneration of *Tubularia* // *Roux Arch. Entw. Mech. Organ.* 1903. Bd. 16. S. 125–154.
- Morgan T. H. An attempt to analyse the phenomena of polarity in *Tubularia* // *J. Exp. Zool.* 1904. Vol. 1. P. 587–591.
- Müller W. A., Teo R., Frank U. Totipotent migratory stem cells in a hydroid // *Dev. Biol.* 2004. Vol. 275. P. 215–224.
- Noda K., Kanai C. An ultrastructural observation of *Pelmatohydra robusta* at sexual and asexual stages, with a special reference to "germinal plasm" // *J. Ultrastruct. Res.* 1977. Vol. 61. P. 284–294.
- Nussbaum M. Zur Differenzierung des Geschlechts im Tierreich // *Arch. Mikr. Anat.* 1880. Bd. 18. S. 1–121.
- Rebscher N., Volk C., Teo R. *Vasa* protein is a component of the germ plasm in the cnidarian *Hydractinia echinata* // *Dev. Dyn.* 2008. Vol. 237. P. 1736–1745.
- Rinkevich Y., Matranga V., Rinkevich B. Stem cells in aquatic invertebrates: common premises and emerging unique themes // *Stem cells in marine organisms.* Dordrecht; Heidelberg: Springer. 2009. P. 61–104.
- Seydoux G., Braun R. E. Pathway to totipotency: lessons from germ cells // *Cell.* 2006. Vol. 127. P. 891–904.
- Shukalyuk A., Golovnina K., Baiborodin S. et al. *vasa*-related genes and their expression in stem cells of colonial parasitic rhizocephalan barnacle *Polyascus polygenea* (Arthropoda: Crustacea: Cirripedia: Rhizocephala) // *Cell Biol. Int.* 2007. Vol. 31, no. 2. P. 97–108.
- Shukalyuk A., Isaeva V., Kizilova E., Baiborodin S. Stem cells in reproductive strategy of colonial rhizocephalan crustaceans (Crustacea: Cirripedia: Rhizocephala) // *Invertebr. Reprod. Dev.* 2005. Vol. 48. P. 41–53.
- Sköld H. N., Obst M., Sköld M., Åkesson B. Stem cells in asexual reproduction of marine invertebrates // *Stem cells in marine organisms.* Dordrecht; Heidelberg: Springer. 2009. P. 105–137.
- Strome S., Lehman R. Germ versus soma decisions: lessons from flies and worms // *Science.* 2007. Vol. 316. P. 392–393.
- Thomas M. B., Edwards N. C. Cnidaria: Hydrozoa // *Microscopic anatomy of invertebrates.* Vol. 2: Placozoa, Porifera, Cnidaria, and Ctenophora / Eds F. W. Harrison, J. A. Westfall. New York: Wiley-Liss. 1991. P. 91–183.
- Travis J. A close look at urbisexuality // *Science.* 2007. Vol. 316. P. 390–391.
- Weismann A. Die Entstehung der Sexualzellen bei den Hydromedusen. Zugleich ein Beitrag zur Kenntniss des Baues und der Lebenserscheinungen dieser Gruppe. Jena: Fischer. 1883. 295 S.
- Weismann A. Das Keimplasma. Eine Theorie der Vererbung. Jena: Verlag von Gustav Fischer. 1892. 628 S.
- Weismann A. The germ plasm. A theory of heredity. New York: Charles Scribner's Sons. 1893. 468 p.
- Weissman I. L. Stem cells: units of development, units of regeneration, and units in evolution // *Cell.* 2000. Vol. 100. P. 157–168.