

СИСТЕМА КРОВООБРАЩЕНИЯ БРАХИОПОД

BLOOD CIRCULATION IN BRACHIOPODS

Кузьмина Татьяна Валерьевна, Кузьмин Владислав Стефанович*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва***Kuzmina Tatyana Valerievna, Kuzmin Vladislav Stephanovich***M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow***Введение**

Брахиоподы (плеченогие) – группа морских беспозвоночных, тело которых заключено в двустворчатую раковину. Створки раковины выстланы мантией, ограничивающей мантийную полость (Williams et al., 1997). Большинство брахиопод прикрепляются к субстрату ножкой и питаются за счет фильтрации взвешенных в воде частиц при помощи щупальцевого органа – лофофора, расположенного в мантийной полости. Брахиоподы – целомические животные с хорошо развитыми лофофоральным и туловищным целомами (Кузьмина и др., 2006). Лофофоральный целом состоит из больших и малых каналов, которые расположены внутри лофофора. Малые каналы дают слепые ответвления в каждое щупальце, а в околоротовой области впадают в периззофагеальный целом, который в свою очередь окружает пищевод и содержит густую сеть кровеносных сосудов (Kuzmina and Malakhov, 2011). Внутри туловищного целома расположены основные органы: пищеварительный тракт, сердце и основные кровеносные сосуды, мышцы и метанефридии. Туловищный целом дает ответвления в мантию, где у большинства брахиопод расположены гонады. Пищеварительная система состоит из короткой глотки, пищевода, желудка и пилорического отдела, который у большинства брахиопод (представителей подтипа Rhynchonelliformea) замыкается слепо. В желудок впадают протоки пищеварительной железы (Williams et al., 1997).

Кровеносная система брахиопод крайне своеобразна и образована длинным спинным кровеносным сосудом, который имеет слепозамкнутые разветвления на переднем и заднем концах. Вплоть до настоящей работы оставалось неизвестным, каким образом происходит циркуляция крови в такой необычной кровеносной системе.

В данной работе мы приводим новые сведения об организации системы кровообращения у брахиопод на примере *Hemithiris psittacea* (Gmelin, 1791), используя комплекс методов: ручное анатомирование, контрастирование с помощью инъекции красителя, микротомография, сканирующая электронная микроскопия, а также видеорегистрация движения камер сердца *in vivo*.

Материал и методы:

Материалом для настоящей работы послужило 37 взрослых особей брахиоподы *H. psittacea*, собранных на глубине 9-10 м в августе 2015 и 2020 гг. на Беломорской биологической станции МГУ (Кандалакшский залив Белого моря). Длина дорсальных створок раковины животных составляла от 8 до 15 мм.

Особенности анатомии кровеносной системы были изучены с помощью метода ручного анатомирования и микроинъекционного окрашивания, для которого использовали пигментный раствор следующего состава: 1% раствор частиц модифицированного пигментного углерода "Raven 7000", 1% краситель "прямой черный 168", растворенный в дистиллированной воде с добавлением 0,5% 2,3-бутандиола. Осмолярность красителя была отрегулирована путем добавления сахарозы. Животных с предварительно удаленной дорсальной створкой раковины фиксировали в экспериментальной камере, установленной на штативе стереомикроскопа (SZ51; Olympus). Стекланную микропипетку, заполненную красителем, вводили в основное сердце при помощи микроманипулятора (MM-3; Narishige) и шприцевого микроасоса (PHD Ultra; Harvard Apparatus). Затем 1-5 мкл раствора красителя постепенно вводили в сердце до заполнения сосудов кровеносной системы. Препараты изучали и фотографировали с помощью стереомикроскопа Leica M165C, оснащенного цифровой камерой Leica DFC420.

Строение сердца и расположение основных кровеносных сосудов также были изучены с помощью микротомографии и сканирующей электронной микроскопии. Четыре особи брахиопод были анатомированы вручную. Мягкие ткани были удалены из раковины и зафиксированы в 2,5% глутаральдегиде на 0,1M PBS (pH 7,4) в течение 12 часов при температуре 4°C. После отмывки в буфере материал был дополнительно фиксирован в 1% четырехокиси осмия на 0,1M PBS (pH 7,4) в течение 2 часов при температуре 20°C. Затем материал трижды промывали в дистиллированной воде в течение 15 минут, после чего обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации и ацетоне. Наконец, материал был высушен в критической точке в диоксиде углерода на аппарате сушки Hitachi Critical Point Dryer HCP-2. Образцы были исследованы с помощью рентгеновской микротомографии на микротомографе SkyScan 1272 (Bruker MicroCT). Сканирование проводили при разрешении 1,74 мкм с шагом вращения 0,1°, без фильтра, при напряжении 65 кВ и силе тока 135 мА. Полученные данные были обработаны в программах NRecon, DataViewer и CTVox. После этого материал напыляли сплавом золота и исследовали на сканирующих электронных микроскопах (Hitachi S-405A и Tescan Vega II XMU SEM).

Сократительная активность сердца брахиопод была зарегистрирована у 19 животных с помощью отслеживания движения стенки сердца. Животных фиксировали в экспериментальной камере объемом 15 мл, установленной на штативе стереомикроскопа (SZ51; Olympus). Дорсальную створку раковины и дорсальный участок стенки тела аккуратно удаляли с помощью микрохирургических инструментов. Температуру в камере была установлена на уровне 10-11°C

Сокращения сердца записывали с помощью камеры микроскопа M-Shot MS60 с частотой 30 кадров в секунду. Частота сердечных сокращений (ЧСС) была рассчитана на основе временных интервалов между моментами, когда регистрировали смещения стенок сердца. Для анализа записей использовали программу ImageJ. Кроме того, мы рассчитывали продолжительность систолы, как интервал времени между началом и окончанием смещения стенок сердца, соответствующего укорочению сердца; а продолжительность диастолы, как интервал времени, в течение которого стенка сердца неподвижна. Также мы рассчитывали скорость смещения сердечной стенки (dL/dt) во время систолы.

Результаты и обсуждения:

Центральным элементом кровеносной системы *H. psittacea* является основное сердце, которое расположено на дорсальной стороне желудка. Основное сердце является выростом дорсального сосуда и разделяет его на переднюю и заднюю части. Передний дорсальный сосуд проходит вдоль желудка, где дает две пары эпигастрических сосудов, которые идут к протокам пищеварительной железы и сообщаются с окологлоточным кровеносным плексусом. В области начала пищевода передний дорсальный сосуд дает начало сосудам, формирующим периэзофагеальный кровеносный плексус. В окологлоточной области передний дорсальный сосуд разделяется на два лофофоральных сосуда, которые тянутся вдоль малых каналов лофофора и слепо замыкаются на концах брахиальной оси. От лофофоральных сосудов отходят щупальцевые кровеносные сосуды, которые тянутся вдоль щупальцевых целомических каналов и слепо замыкаются на их концах.

Задний дорсальный сосуд отходит от основного сердца и делится на два латеральных сосуда, каждый из которых, в свою очередь, раздваивается, так что образуется пара дорсолатеральных и пара вентролатеральных сосудов. Дорсолатеральные сосуды идут вдоль боковых сторон желудка, проходят вдоль воронок передних метанефридиев и образуют сеть половых сосудов в дорсальной мантии. Вентролатеральные сосуды проходят вдоль воронок задних метанефридиев и дают начало сети половых сосудов в вентральной мантии. Мантийные сосуды заканчиваются слепо на периферии гонад. Поперечный сосуд соединяет левый и правый вентролатеральные сосуды и располагается на дорсальной стороне кишечника. На дорсолатеральных и вентролатеральных сосудах расположены дополнительные сердца. На каждом латеральном сосуде может располагаться около 6-7 дополнительных сердец, часть из них расположена перед метанефридием, а часть – на половых сосудах. Число и расположение дополнительных сердец варьирует у разных особей. Основное и дополнительные сердца имеют форму ампул с узким отверстием, которое соединяет полость сердца с сосудом.

Таким образом, у брахиопод отсутствует вентральный кровеносный сосуд, развитый у всех остальных представителей билатерально симметричных животных с развитой кровеносной системой. Редукция вентрального кровеносного сосуда, вероятно, связана с формированием плана тела брахиопод путем складывания предка на вентральную сторону и, соответственно, уменьшения вентральной стороны тела (Nielsen, 1991; Кузьмина и Малахов, 2006).

Эксперименты *in situ* показали, что основное сердце демонстрирует непрерывное ритмичное сокращение. Во время систолы длина сердца достигает 0,6 мм, а диаметр сокращается до 0,2 мм. При этом стенка сердца образует несколько складок, и его внутренний объем значительно уменьшается. Во время диастолы сердце сильно увеличивается в размерах: его длина достигает около 2 мм, а диаметр - 0,5 мм. Продолжительность систолической фазы сердечного цикла более чем десять раз короче, чем продолжительность диастолы. При температуре 10°C продолжительность систолы составляла $7,4 \pm 2,91$ с, а продолжительность диастолы $135 \pm 28,2$ с ($n = 6$). Несмотря на относительно небольшую продолжительность, систолу можно разделить на начальную низкоскоростную ($dL/dt < 50$ мкм/с) и последующие ($dL/dt > 100$ мкм/с) высокоскоростные фазы на основании скорости укорочения сердца. Наполнение основной части сердца происходит очень медленно в течение всей чрезвычайно длинной диастолы. Конечный диастолический объем основного сердца значительно превышает конечный систолический объем.

Эксперименты *in situ* показали, что ЧСС у *H. psittacea* была крайне низкой (< 1 уд/мин). Это наблюдение предполагает низкий сердечный выброс, скорость метаболизма и потребление кислорода у брахиопод.

Кровообращение у брахиопод. В кровеносной системе брахиопод можно выделить две части - переднюю и заднюю. Сосуды передней части снабжают

кровью лофофор и окружены плотным внеклеточным матриксом, который расположен в узких целомических каналах (Kuzmina et al., 2018). Поэтому сосуды лофофоральной части не способны существенно изменять диаметр просвета. В задней части кровеносной системы сосуды располагаются в обширных туловищном и мантийных целомах и не имеют плотной оболочки (Kuzmina and Malakhov, 2009; Kuzmina et al., 2024). Поэтому эти сосуды более растяжимы и могут значительно изменять диаметр просвета. Кроме того, в задней части кровеносной системы располагается группа дополнительных сердец, которые могут выполнять функцию депо крови. Функциональные эксперименты показали, что систолу основного сердца можно разделить на первую медленную и вторую быструю фазу. Циркуляцию крови, а точнее колебательные перемещения объемов крови, в сосудистой системе брахиопод можно разделить на три последовательных этапа: ток крови в передний дорсальный сосуд, ток крови в задний дорсальный сосуд и ретроградный ток крови из обоих отделов сосудистой системы с заполнением основного сердца (Kuzmina et al., 2024):

1) Ток крови в передний дорсальный сосуд происходит во время первой фазы систолы основного сердца. Ампулярное строение основного сердца, направленного назад, позволяет предположить, что в первой фазе систолы кровь преимущественно поступает в передний дорсальный сосуд. Так как сосуды передней лофофоральной части кровеносной системы расположены в узких малых целомических каналах с плотной оболочкой, даже небольшое увеличение объема крови в лофофоральных сосудах приводит к значительному повышению давления в них. Повышение давления в свою очередь облегчает проникновение жидкости в узкие, удлинённые сосуды щупалец. Высокое сопротивление лофофоральных сосудов способствует формированию в них распространяющейся пульсовой волны, которая способствует "взбалтыванию", "перемешиванию" крови в слепо замкнутых сосудах щупалец.

2) Ток крови в задний дорсальный сосуд происходит во время второй фазы систолы основного сердца. Приток крови в заднюю часть кровеносной системы, по-видимому, совершается после того, как передняя часть кровеносной системы заполняется, и давление в ней повышается. Поскольку сеть кровеносных сосудов гонад расположена в целомической полости большого объема и не имеет развитой мышечной стенки или плотной оболочки, увеличение притока крови во время систолы главного сердца не приводит к заметному повышению давления в сети половых сосудов. Кроме того, дополнительные сердца, сосредоточенные исключительно в задней части кровеносной системы, могут выполнять роль депо, принимая часть объема крови, изгоняемой во время второй фазы систолы основного сердца. При этом, основное и дополнительные сердца работают в противофазе: во время второй фазы систолы основного сердца дополнительные сердца находятся в диастоле. Сокращение дополнительных сердец может способствовать циркуляции крови в анастомозирующих сосудах гонад.

3) Наполнение основного сердца происходит во время его диастолы. Фаза диастолы более 10 раз длиннее систолы, увеличение объема сердца происходит медленно, а скорость смещения сердечной стенки одинакова на протяжении всей фазы наполнения. Это позволяет предположить, что наполнение основной части сердца происходит преимущественно за счет активного притока жидкости из периферических отделов кровеносной системы, а не за счет эластических свойств сердечной стенки. Большая часть крови к сердцу, вероятно, поступает из задней части кровеносной системы через задний дорсальный сосуд. Этому способствуют ритмичные сокращения многочисленных дополнительных сердец в задней части кровеносной системы. Сигналом к сокращению дополнительных сердец может служить растяжение их стенок. Во время диастолы кровь поступает в сердце также и из передней части кровеносной системы, то есть из переднего дорсального сосуда. Пульсовая волна, характерная для этого отдела, вероятно, приводит к синхронному или перистальтическому сокращению мышечного слоя стенки сосуда в ответ на его механическое растяжение. Сокращение мышечного слоя стенки сосуда, в свою очередь, приводит к ретроградному (обратному) току жидкости из "лофофоральной"

части кровеносной системы. Важно отметить, что отсутствие дополнительных сердец в передней части, вероятно, связано с тем, что отток в них возможен за счет перистальтической волны сокращения мышечного слоя.

Заключение:

Появление своеобразной кровеносной системы у брахиопод можно объяснить двумя причинами. Первая - редукция вентральной стороны тела и, соответственно, редукция вентральных кровеносных сосудов. Это привело к тому, что у брахиопод отсутствует собственно циркуляция крови, т.е. однонаправленное круговое движение, как в системах кровообращения большинства беспозвоночных, где кровь течет по дорсальному сосуду вперед, а по вентральному назад. Вторая причина необычной кровеносной системы брахиопод - развитие крупного лофофора с крайне протяженными кровеносными сосудами. В такой ситуации не может возникнуть трубчатое сердце, которое представляет собой симметричное круговое расширение мышечной стенки дорсального сосуда. У брахиопод возникает другой тип сердца - ампулярное. В этом случае сердце работает не только как пропульсаторный орган, но и в первую очередь как депо крови. При этом кровь движется в сосудах в двух направлениях в колебательном режиме. Ампулярными являются и небольшие дополнительные сердца в задней части кровеносной системы. Обширный лофофор с его длинными тонкими сосудами способствует локализации наиболее крупного главного ампулярного сердца на дорсальном сосуде вблизи его разветвления на лофофоральные сосуды. Наличие ампулярного основного сердца, вероятно, является эволюционной инновацией для брахиопод, имеющих наиболее сложный лофофор среди лофофорат. Кроме того, ампулярное строение сердец и удлиненная диастола основного сердца способствуют процессу ультрафильтрации через базальную пластинку между ножками подоцитоподобных клеток (Kuzmina and Malakhov, 2015; Kuzmina et al., 2016).

Финансирование:

Исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ № 23-14-00020.

Список литературы:

1. Кузьмина Т.В., Малахов В.В., Темерева Е.Н. Анатомия целомической системы замковой брахиоподы *Hemithyris psittacea* (Brachiopoda, Articulata) // Зоологический журнал. — 2006. — Т. 85, № 2. — С. 1118-1127.
2. Малахов В.В., Кузьмина Т.В. О метамерной природе латеральных мезентериев у брахиопод (Brachiopoda) // Доклады Академии Наук. — 2006. — Т. 409, № 5. — С. 1-3.
3. Kuzmina T.V., Kuzmin V.S., Bogomolova E.V., Malakhov V.V. Organization of the blood system of rhynchonellid brachiopod *Hemithyris psittacea* (Brachiopoda: Rhynchonelliformea) // Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological and Integrative Physiology. — 2024. — V. 341, No. 7. — P. 766-782.
4. Kuzmina T.V., Malakhov V.V. The periesophageal celom of the articulate brachiopod *Hemithyris psittacea* (Rhynchonelliformea, Brachiopoda) // Journal of Morphology. — 2011. — V. 272. — P. 180-190.
5. Kuzmina T.V., Malakhov V.V. Structure of the ovary of the articulate brachiopod *Hemithyris psittacea* (Rhynchonelliformea, Brachiopoda) with special reference

