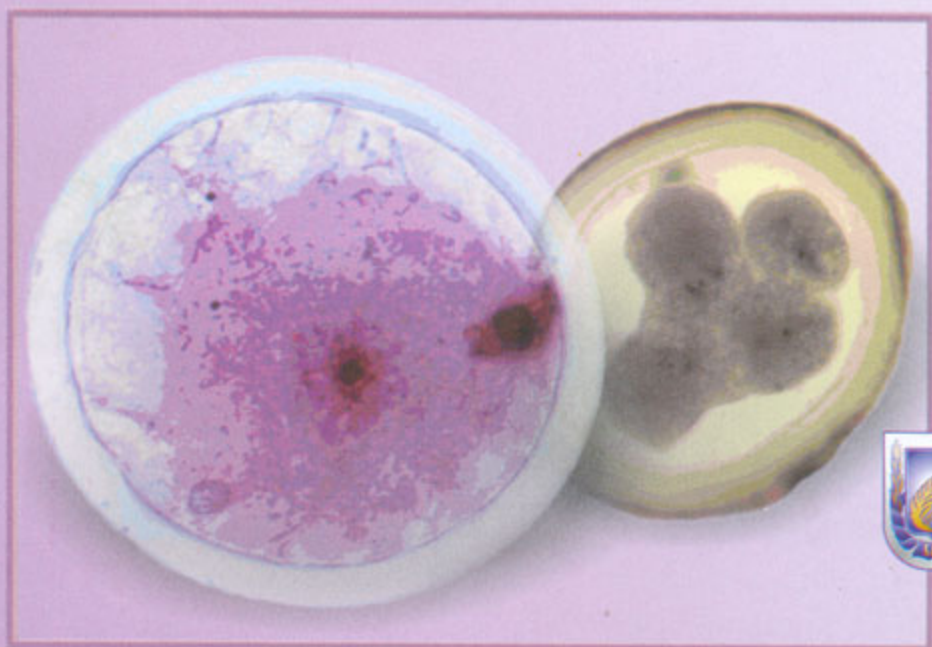


КУРС ЛЕКЦИЙ

Г. Т. МАСЛОВА  
А. В. СИДОРОВ

# БИОЛОГИЯ РАЗВИТИЯ:

## РАННИЕ СТАДИИ



УДК 591.3(075.8)  
ББК 28.03я73  
МЗ1

*Печатается по решению  
Редакционно-издательского совета  
Белорусского государственного университета*

Р е ц е н з е н т ы :  
доктор биологических наук, профессор *Л. И. Арчакова*;  
кандидат биологических наук, доцент *С. В. Глушен*

**Маслова, Г. Т.**  
МЗ1 Биология развития: ранние стадии : курс лекций / Г. Т. Маслова,  
А. В. Сидоров. — Минск : БГУ, 2008. — 95 с.  
ISBN 978-985-485-823-4.

В курсе лекций изложены современные представления о ранних стадиях эмбрионального развития животных.  
Предназначено для студентов биологического факультета БГУ.

УДК 591.3(075.8)  
ББК 28.03я73

ISBN 978-985-485-823-4

© Маслова Г. Т., Сидоров А. В., 2008  
© БГУ, 2008



## ПРЕДИСЛОВИЕ

**Биология развития** — стремительно прогрессирующая биологическая дисциплина, представляющая науку о становлении организма в ходе онтогенеза. Динамично развиваясь, она приближается к пониманию молекулярно-клеточных механизмов возникновения живых организмов, дает основу для интеграции молекулярной биологии, физиологии, биохимии, иммунологии, а также эволюционных и экологических исследований. Об успехах биологии развития свидетельствует тот факт, что в течение 10 лет (с 1995 по 2005 г.) Нобелевский комитет трижды принимал решение о присуждении премии по физиологии или медицине за решение проблем в области эмбриологии.

Задачей биологии развития является изучение закономерностей и механизмов онтогенеза. Большинство биологических дисциплин изучают, как правило, статические, относительно неизменные структуры, либо обратимые циклические процессы. Основное же свойство эмбриональных процессов — их необратимость, приводящая к образованию совершенных природных систем. При этом сложнейшие организмы возникают исключительно за счет внутренних факторов, почти не требуя внешних источников информации и управления.

Настоящее издание представляет собой курс лекций, читаемых на биологическом факультете БГУ в рамках программного курса «Биология индивидуального развития». Основу изложенной информации составляет материал классических руководств по эмбриологии, список которых приводится в конце работы.

В первой части пособия рассмотрены вопросы, посвященные ранним стадиям эмбрионального развития: строение и развитие половых клеток, оплодотворение, дробление и гастрюляция. Кратко изложена история становления эмбриологии, методы эмбриологических исследований.

Авторы выражают искреннюю благодарность рецензентам доктору биологических наук, профессору Л. И. Арчаковой и кандидату биологических наук, доценту С. В. Глушену, коллективу кафедры физиологии человека и животных БГУ за высказанные советы и замечания по содержанию рукописи, а также сотрудникам Управления редакционно-издательской работы БГУ за помощь при подготовке рукописи к печати.

# ВВЕДЕНИЕ

## Краткая история эмбриологии

Зачатки эмбриологических знаний были уже в Древнем Египте, Вавилоне, Индии, Китае. Тем не менее они не оказали существенного влияния на развитие представлений о становлении организмов.

Первые систематические данные о развитии млекопитающих и птиц были получены учеными Древней Греции. Знаменитый врач и философ **Гиппократ** (460—370 гг. до н. э.) предложил двухсеменную теорию, согласно которой плод образуется через смешение мужского и женского семени (никакого представления о половых клетках в то время не существовало). Он также явился зачинателем идей *преформизма*, согласно которым дифференцировка частей организма происходит в некоторый начальный момент развития, а в дальнейшем наблюдается лишь их рост. Существенный вклад в становление эмбриологии как науки внес **Аристотель** (384—322 гг. до н. э.), изложивший свои взгляды в сочинении «О возникновении животных». Исследования строения и развития зародышей птиц (кур), рыб (акул), моллюсков (каракатиц) и других животных позволили ему впервые сформулировать теорию *эпигенеза*. Согласно ей органы возникают не все сразу, а постепенно, друг за другом из вначале бесструктурной массы. Другим важным следствием его естественно-научных изысканий явилось создание учения о причинности и целесообразности, оказавшего мощное влияние на последующее развитие науки.

Научная революция XVI—XVII вв. (Новое время) привела к господству механистических принципов в естествознании. В начале XVII века появились первые описания и рисунки развития куриного и человеческого зародыша (**Д. Фабриций**). Создание первых микроскопов способствовало накоплению огромного фактического материала в области биологии, даже с учетом известной доли бессистемности, присущей первым микроскопистам. **А. Левенгук** (1632—1723) открывает сперматозоиды, **Я. Сваммердам** (1637—1680) проводит исследования по метаморфозу насекомых, **М. Мальпиги** (1628—1694) изучает развитие куриного эмбриона, работает

в области микроскопической анатомии. В этот период в эмбриологии господствует теория преформизма (предвосхищения). Несовершенство микроскопов «позволяло разглядеть» зачатки всех частей будущего организма в сперматозоидах (преформисты-анималькулисты) или в яйцеклетках (преформисты-овисты). Логическим завершением данных взглядов стало формирование гипотезы «вложения», согласно которой тела потомков вложены друг в друга. Даже авторитет **У. Гарвея** (1578—1657), предложившего сам термин «эпигенез» и писавшего, что «ни одна часть будущего плода не существует в яйце актуально, но все части находятся в нем потенциально», не мог поколебать уверенности преформистов в своей правоте.

В XVIII веке сторонники преформизма одержали свои последние победы. **Ш. Бонне** (1720—1793) открывает партеногенез у тлей и даже способность низших беспозвоночных к регенерации объяснялась им как результат наличия дремлющих «яиц», рассеянных в теле животных. **А. Галлер** (1708—1777) впервые применил количественные методы в исследованиях по эмбриологии, уделял большое внимание изучению процессов роста эмбрионов. Первый серьезный удар по концепции преформизма, к тому же подкрепленный экспериментальными данными, нанес **К. Ф. Вольф** (1734—1794). Его работы по изучению развития кишечника, нервной трубки и кровеносной системы у цыпленка показали, что зачатки указанных органов представляют собой пласти, которые через формирование желобков превращаются в замкнутые трубки. Таким образом, в ходе развития образуются новые формы. К сожалению, огромный авторитет А. Галлера, в полемику с которым вступил К. Ф. Вольф, воспрепятствовал признанию правоты последнего, а его работы были на некоторое время забыты.

В первой половине XIX века ведущую роль в развитии эмбриологии сыграли русские естествоиспытатели. **Х. Пандер** (1794—1865) описывает и вводит в обиход эмбриологии понятие о трех зародышевых листках (серозный, кровяной и слизистый по терминологии того времени). **К. Бэр** (1792—1876) правильно описывает яйцеклетку у млекопитающих и человека, распространяет учение Х. Пандера о зародышевых листках на всех позвоночных, формулирует закон «зародышевого сходства», названный впоследствии его именем. Создание клеточной (**Т. Шванн**, 1839) и эволюционной (**Ч. Дарвин**, 1859) теорий дало новый толчок к развитию эмбриологии. Работы **Ф. Мюллера** (1821—1897) и **Э. Геккеля** (1834—1919) позволили последнему сформулировать *основной биогенетический закон*, согласно которому «онтогенез есть краткое повторение филогенеза». Среди пионеров филогенетического направления в эмбриологии стоит упомянуть об

**А. О. Ковалевском** (1840—1901), установившем общие закономерности в развитии беспозвоночных и позвоночных, доказавшем родство органического мира. **И. И. Мечников** (1845—1916) сформулировал теорию фагоцителлы, дал объяснение расслоению ткани первичных многоклеточных организмов на экто- и энтодермальные листки.

В противовес филогенетическому направлению в конце XIX века начала зарождаться *механика развития*, ставившая целью выяснить причины, вызывающие формообразовательные процессы в зародыше. **В. Ру** (1850—1924) внедряет экспериментальные методы в практику исследований по эмбриологии, ратует за объяснение наблюдаемых процессов через выяснение его непосредственных причин. Ру предлагал подойти к зародышу как к сложному механическому устройству, которое нужно разобрать, чтобы выяснить причины развития. **Г. Дриш** (1867—1941) открывает феномен развития целого организма из частей (отдельных бластомеров) — *эмбриональную регуляцию*. Выдающимся экспериментатором проявил себя **Г. Шпеман** (1869—1941), разработавший множество методик микрохирургического вмешательства в организм зародышей, теорию организационных центров, открывший явление *эмбриональной индукции* (Нобелевская премия, 1936).

Стремительное развитие генетики в начале XX века положило начало ее прочному союзу с эмбриологией. **А. Вейсман** (1834—1914) предложил концепцию зародышевой плазмы, указывающей на принципиальное различие половых и соматических клеток. Работы **Т. Моргана** (1866—1945), а особенно **К. Уоддингтона** (1905—1975) заложили основу теории самоорганизации развивающегося зародыша. Развивая сравнительно-эволюционное направление **А. Н. Северцов** (1866—1936) провозглашает первичность онтогенетических изменений по отношению к филогенетическим (учение о филэмбриогенезе).

Наращение связей эмбриологии с цитологией, генетикой, молекулярной биологией привело к возникновению в XX веке новой комплексной науки — **биологии развития**.

Важным этапом ее формирования стало развитие прикладных направлений исследований. В 1973 г. **Л. Шеттлз** извлек предовуляторную яйцеклетку из яичника бесплодной женщины и оплодотворил ее сперматозоидами мужа (*экстракорпоральное оплодотворение*), а в 1978 г. в результате успешной пересадки зародыша человека на стадии 8 бластомеров после 2,5-суточного культивирования родился первый в мире «пробирочный ребенок» весом 2700 г — Луиза Браун.

Пересадка зародышей, зачатых в пробирке, в матку составляет основу лечения бесплодных браков.

Исследования последних десятилетий направлены на выяснение генетических основ развития — Э. Льюис, Э. Вейсхаус, К. Нюслейн-Фолхард (Нобелевская премия, 1995), механизмов регуляции клеточного цикла — Л. Хартвелл, Т. Хант, П. Нёрз (Нобелевская премия, 2001) и программируемой гибели клеток (апоптоза) — С. Бреннер, Р. Хорвитц и Дж. Салстон (Нобелевская премия, 2002).

## Методы эмбриологических исследований

На современном этапе в распоряжении биологии развития имеется достаточно полный набор методов, позволяющих всесторонне исследовать ход онтогенеза. К ним относятся:

- экспериментальное наблюдение за живыми зародышами с применением кино-, видеосъемки;
- изучение фиксированных срезов зародышей с помощью световой и электронной микроскопии, гисторадиоавтографии, гисто- и иммуноцитохимии.

Первые два метода позволяют анализировать динамику тканевых и внутриклеточных изменений развития частей зародыша, его размеров и формы. С помощью гисто- и иммуноцитохимических методов исследуются особенности биохимических процессов, происходящих в клетках зародышей, — синтез ДНК, РНК, специфических рецепторных и регуляторных белков. С применением этих методов была получена важная информация о клеточной и тканевой дифференцировке в эмбриогенезе позвоночных.

**Маркировка частей зародыша витальными красителями.** Метод предложен В. Фогтом (1925) и позволяет изучать перемещение клеток в развивающемся зародыше. Для окраски зародыша используются нетоксичные маркеры (нейтральный красный, нильский голубой, древесный уголь), а также антитела к определенным белкам.

**Методы микрохирургии.** Разрабатывались представителями школы Г. Шпемана. Включают в себя снятие оболочек яиц животных, пересадку частей одного зародыша другому и т. п. Используются для изучения последствий разрушения частей зародыша или отдельных его клеток. *Трансплантация* — пересадка маркированного участка зародыша на место ранее удаленного (используется для выявления путей миграции клеток и источников развития тканей). *Эксплантация* — иссечение участка зародыша и

выращивание его в искусственной среде (позволяет получить данные об источниках развития тканей из данного участка эмбриона и выявлять гистогенетические закономерности развития).

**Трансплантация ядер.** Лежит в основе **клонирования**. Опыты Ж. Гердон по пересадке ядер клеток эпителия кишки головастика шпорцевой лягушки в яйцеклетку, ядро которой было инактивировано ультрафиолетом, убедительно показали, что ядра соматических клеток содержат полный набор генетической информации, необходимой для развития нового организма. Они заложили основу создания генетической копии высших позвоночных (появление в 1997 г. знаменитой овечки Долли).



# Лекция 1

---

## СТРОЕНИЕ И РАЗВИТИЕ МУЖСКИХ ПОЛОВЫХ КЛЕТОК

### История вопроса

Существование **спермиев** было открыто в 1678 году микроскопистами А. ван Левенгуком и Н. Хартсекером. Левенгук первоначально считал их паразитическими животными, живущими в сперме (отсюда происходит название *сперматозоиды* (sperma — семя, зерно; zoos — животные), т. е. животные спермы). Позднее оба автора пришли к мысли, что каждый спермий содержит преформированное животное, а самка только предоставляет «питательную почву» для его развития. Однако, несмотря на все старания, ни Левенгуку, ни Хартсекеру не удалось найти в спермии преформированного человечка — «гомункулюса». Следует отметить, что представление, согласно которому в спермии содержится целый зародыш, никогда не имело множества приверженцев, так как оно подразумевает огромное и бессмысленное растрачивание потенциальной жизни. Роль, выполняемая спермием в процессе оплодотворения, была выяснена только в XIX столетии.

В конце 1700-х гг. Л. Спалланцани показал, что профильтрованная сперма жабы, из которой удалены спермии, не оплодотворяет яиц. Однако он заключил, что действующим началом в оплодотворении является вязкая жидкость, задерживаемая фильтровальной бумагой, а не спермии. Последние по-прежнему считались не чем иным, как паразитическими животными. В 1824 году Ж. Прево и Ж. Дюма установили неизменное присутствие спермиев у половозрелых самцов и их отсутствие у не достигших зрелости или старых особей. Это в сочетании с известным фактом отсутствия спермиев у стерильных мулов позволило ученым заявить, что спермии — не паразиты, а активные участники оплодотворения. В 1840-х гг. А. фон Кёлликер описал образование спермиев из клеток семенника. Тем не менее он считал, что спермий побуждает яйцо к развитию без наличия между ними физического контакта.

Только в 1876 году О. Гертвиг наглядно продемонстрировал проникновение спермия в яйцо и соединение их ядер. В определенной степени решению этого вопроса способствовал выбор объекта исследований: морского ежа (*Toxopneustes lividus*), яйца которого были доступны в большом количестве и достаточно прозрачны для наблюдений даже при больших увеличениях. Помимо проникновения спермия в яйцо и слияния их ядер, Гертвиг заметил, что в каждое яйцо проникает только один спермий и все ядра зародыша являются потомками ядра, возникшего в результате слияния ядер спермия и яйца при оплодотворении. Наблюдения Гертвига были дополнены Г. Фолем, детально проследившим механизм проникновения спермия. Соединение гамет у морского ежа до сих пор остается наиболее изученным примером оплодотворения.

## Первичные половые клетки

Клетки организма подразделяются на половые и соматические. У большинства животных обособление половых клеток происходит на ранних этапах эмбриогенеза. В основе этого процесса лежит ооплазматическая сегрегация цитоплазмы.

Половые клетки у всех животных, имеющих морфологически выраженные гонады, закладываются вне их (экстрагонадно). С момента выделения и до вселения в гонаду их называют первичными половыми клетками (ППК). У большинства животных ППК — единственный источник зрелых гамет. ППК попадают в область зачатка гонады с током жидкости или активно мигрируя через клеточные пласты на большие расстояния посредством амебоидного движения. Миграция клеток на дальние дистанции может происходить посредством гаптотаксиса (движение по градиенту адгезии к белкам внеклеточного матрикса), контактного ориентирования и хемотаксиса (движения по градиенту концентрации какого-либо вещества).

У некоторых видов ППК можно распознать по своеобразной морфологии (размеры, форма) либо по специфическим гистохимическим реакциям цитоплазмы. Так, для ППК млекопитающих и птиц характерен высокий уровень активности щелочной фосфатазы. ППК могут нормально дифференцироваться в половые клетки только в том случае, если попадут в половые валики и вступят в контакт с соматическими клетками гонад, получая при этом необходимую информацию для последующей дифференцировки в оогонии или сперматогонии. Если же на своем пути ППК оказываются в окружении других зачатков и не достигают гонад, то либо гибнут, либо становятся источником тератом.

Мужские и женские ППК неотличимы. Несмотря на то, что пол зародыша определяется хромосомным набором, полученным зиготой при опло-

дотворении, различия в их строении становятся заметными лишь при дифференцировке половой железы. Зачатки мужских и женских гонад состоят из корковой и мозговой области. В случаях развития семенников (яичников) возникают различия в положении половых клеток: у самцов они располагаются в мозговой, а у самок в корковой области, давая начало соответственно сперматогониям или оогониям.

Основные отличия половых клеток от соматических:

- сперматозоиды и яйцеклетки имеют гаплоидный набор хромосом, а не диплоидный, как это свойственно соматическим клеткам;

- половые клетки тотипотентны, т. е. они сохраняют способность формировать любые (все) органы и ткани организма;

- у половых клеток по сравнению с соматическими резко изменено ядерно-плазменное отношение: у яйцеклеток оно снижено благодаря увеличенному объему цитоплазмы, в которой размещен питательный материал (желток) для развития зародыша, а у сперматозоидов благодаря малому количеству цитоплазмы ядерно-цитоплазматическое отношение высокое. Это находится в соответствии с главной функциональной задачей мужской гаметы — транспортировкой наследственного материала к яйцеклетке. Впоследствии при развитии зародыша ядерно-плазменное отношение делящихся клеток восстанавливается до свойственного соматическим клеткам. Это происходит у разных животных в неодинаковое время, но большей частью к 5—7 делению яйца;

- различный уровень метаболизма: яйцевая клетка в отношении обмена веществ находится в состоянии депрессии, а у сперматозоидов столь малое количество цитоплазмы и питательных веществ, что нормальный метаболизм и вовсе исключается. В половых железах или половых протоках самца сперматозоиды находятся в неподвижном анабиотическом состоянии. Оказавшись вне мужской половой системы, они живут очень короткое время. Однако есть исключения и из этого правила. Например, у летучей мыши спаривание происходит осенью, но оплодотворения при этом не происходит. Вскоре животные впадают в спячку, при этом сперматозоиды сохраняются в течение зимнего периода в половых путях самок, а лишь весной происходит оплодотворение;

- яйцеклетки и сперматозоиды представляют собой высокоорганизованные клетки, обладающие многими специальными, выработанными в процессе эволюции приспособлениями для выполнения специфических функций (жгутик, оболочка яйцеклеток);

- сперматозоиды неспособны развиваться и доходить до итогового этапа в жизни клетки — митоза. Яйцеклетки также не могут делиться без влияния особых факторов: если не произойдет оплодотворение или если они не будут активированы к развитию партеногенетическими агентами.

## Строение спермия

Каждый спермий содержит: гаплоидное ядро; двигательную систему, обеспечивающую перемещение ядра, и пузырек, заполненный ферментами, необходимыми для проникновения ядра в яйцо (рис. 1).

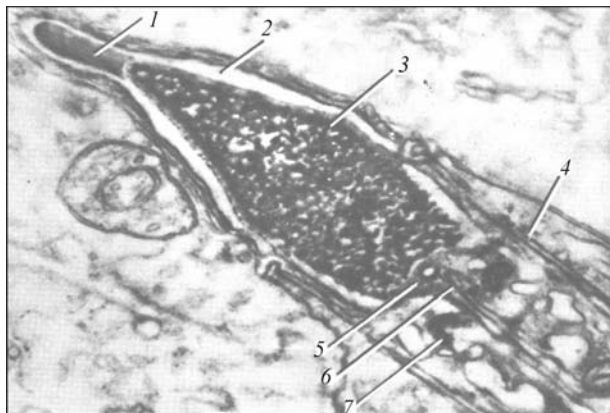


Рис. 1. Строение поздней сперматиды (по Алмазову, Сутулову, 1978):

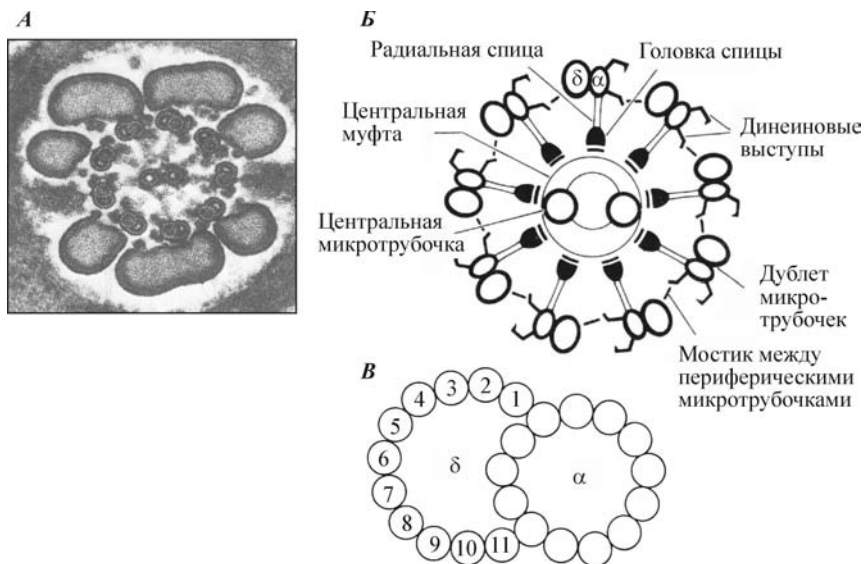
1 — акросома; 2 — головной колпачок; 3 — ядро; 4 — цитоплазма; 5 — проксимальная центриоль; 6 — осевые нити; 7 — дистальная центриоль

Большая часть цитоплазмы спермия элиминируется при его созревании. Сохраняются только некоторые органеллы, видоизмененные для выполнения своей функции. В период созревания спермия его гаплоидное ядро приобретает обтекаемую форму, а ДНК уплотняется. Впереди от такого конденсированного гаплоидного ядра лежит акросомный пузырек, образующийся из аппарата Гольджи и содержащий ферменты, которые переваривают белки и полисахариды. Запас ферментов в акросомном пузырьке служит для проникновения спермия через наружные покровы яйца. У морских ежей между ядром и акросомным пузырьком находится область, содержащая глобулярный актин. Он используется для образования пальцеобразного выроста. У таких видов молекулы на поверхности акросомного выроста участвуют в узнавании спермием и яйцом друг друга. Акросома и ядро образуют вместе головку спермия. **Акросома**, производное аппарата Гольджи, имеет свою мембрану, в которой выделяют следующие части: наружную, промежуточную, внутреннюю (прилежащую к ядру), в последней выделяют инвагинационные трубочки, их 15. Внутри акросомы находится акросомальная гранула, она не имеет своей мембраны. Внутри акросомы есть

ферменты: гиалуронидаза и трипсин. Они воздействуют на оболочку яйцеклетки: гиалуронидаза растворяет блестящую оболочку яйцеклетки, трипсин нарушает целостность фолликулярной оболочки.

У большинства видов спермии способны передвигаться на большие расстояния благодаря биению своих жгутиков (рис. 2).

Главная двигательная основа жгутика — **аксонема**. Она берет начало от дистальной центриоли, которая находится в шейке. Осевая нить проходит через весь вставочный отдел и через весь хвостик. Во вставочном отделе вокруг аксонемы находится спиральная структура, которая образуется 12—15 витками митохондрий. Стержень аксонемы состоит из двух центральных одиночных микротрубочек, окруженных кольцом из девяти двойных микротрубочек (дуплетов). При этом только одна микротрубочка каждого дуплета имеет законченное строение и содержит 13 протофиламентов, тогда как вторая состоит из 11 протофиламентов димерного белка **тубулина**. С микротрубочками связан белок **динеин**. С его помощью гидролизуются молекулы АТФ и преобразуется выделившаяся при этом химическая



*Рис. 2.* Строение хвостика сперматозоида (по Гилберту, 1993): **А** — поперечный срез жгутика млекопитающего. Видны центрально расположенная аксонема и наружные волокна; **Б** — схема строения аксонемы. Комплекс микротрубочек «9+2», радиальные спицы, динеиновые выступы и др.; **В** — расположение микрофиламентов тубулина в дуплете микротрубочек. Часть дуплета  $\alpha$  является нормальной микротрубочкой, содержащей 13 микрофиламентов. Часть  $\delta$  содержит 11 микрофиламентов

энергия в механическую, за счет которой осуществляется движение спермиев. Мужчины с генетическим синдромом отсутствия динеина во всех клетках, обладающих ресничками и жгутиками, характеризуются следующим (триада Картедженера): они стерильны (из-за неподвижности спермиев), подвержены респираторным инфекциям (из-за неподвижности ресничек мерцательного эпителия, выстилающего дыхательные пути), у них в 50 % случаев сердце располагается с правой стороны.

На поперечном срезе через аксонему видны фибриллы — в центре 2 центральные фибриллы, по периферии 9 пар периферических субфибрилл, всего их 20, они связаны между собой структурами, которые называются спицами. Центральные субфибриллы выполняют функцию проведения, периферические — сокращения. Так как во вставочном отделе имеются митохондрии, сперматозоиды способны к самостоятельным движениям. Скорость движения составляет 2—5 мм/мин. Движение сперматозоидов против тока секрета носит название реоаксиса. Направление движения: вперед-вверх или вперед-вниз, вращение вокруг собственной оси. Размеры сперматозоидов составляют: морской свинки — 100 мкм, быка — 65 мкм, воробья — 200 мкм, крокодила — 20 мкм, человека — 60 мкм. Для обеспечения оплодотворения необходимо, чтобы в 1 мл спермы человека содержалось около 60 млн сперматозоидов.

## Развитие и созревание сперматозоидов

Осуществляется в мужских половых железах — семенниках, в извитых семенных канальцах (рис. 3).

**Семенник** — парный дольчатый орган, который разделен на дольки за счет ответвлений, отходящих от белковой оболочки семенников (рис. 3, А). В каждом яичке от 250 до 300 долек, в каждой дольке 3—4 извитых канальца, в которых и происходит развитие сперматозоидов — сперматогенез.

Семенники расположены вне брюшной полости, в мошонке. Спермии развиваются при температуре, которая на 2—3 °С ниже температуры внутренних областей тела. Более низкая температура мошонки частично определяется ее положением, а частично — сосудистым сплетением, образуемым артерией и веной семенника и действующим как противоточный теплообменник.

Температура в мошонке поддерживается на уровне, оптимальном для образования спермы за счет сокращения особых мышц, способных перемещать семенники ближе либо дальше от тела. При крипторхизме (состояние, когда семенники не опустились в мошонку из брюшной полости) мужчина, достигший половой зрелости, остается стерильным. У ряда млекопитающих (киты, слоны) семенники всю жизнь находятся в брюшной полости.

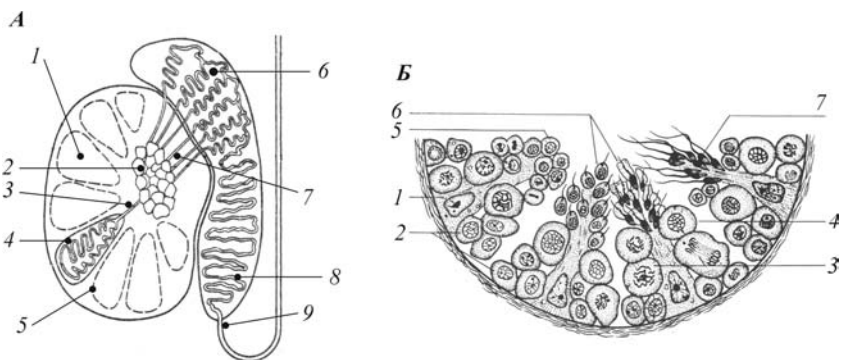


Рис. 3. Строение мужских половых желез:

*А* — упрощенная схема строения семенника (по Грину и др., 1992): 1 — долька яичка; 2 — сеть яичка (rete testis); 3 — прямой семенной каналец; 4 — извитой семенной каналец; 5 — белочная оболочка; 6 — головка придатка; 7 — выносящие канальцы; 8 — основание придатка; 9 — семявыносящий проток. *Б* — поперечный разрез семенного канальца (по Алмазову и Сутолову, 1978): 1 — фолликулярная клетка (клетка Сертоли); 2 — сперматогонии; 3 — сперматоциты I порядка; 4 — сперматоциты II порядка; 5 — сперматиды; 6 — последовательные стадии формирования спермиев; 7 — спермии

Семенные канальцы достигают в длину 50 см и 200 мкм в диаметре и расположены в **дольках** семенника. Оба конца канальцев соединяются с центральной областью семенника — **сетью семенника** (rete testis) короткими **прямыми семенными канальцами**. Сперма собирается в 10—20 выносящих канальцах и по ним переносится в головку **придатка**, где концентрируется в результате обратного всасывания жидкости, выделяемой семенными канальцами. В головке придатка спермии созревают и по извитому 5-метровому выносящему канальцу попадают в основание придатка. Здесь они остаются в течение короткого времени, а затем переносятся в **семявыносящий проток**, который переносит сперму в мочеиспускательный канал, а оттуда наружу (в половые пути женщины). Процесс образования спермия у человека занимает примерно 70 дней. На 1 г веса яичка образуется  $10^7$  спермиев в сутки. В половых путях самок длительность жизни сперматозоидов у разных животных неодинаковая — у пчел они могут сохраняться 2—2,5 года (но в неактивном состоянии), в яйцеводах кур — 30—40 дней, у кролика — 8—12 часов, в матке и яйцеводах женщин — 1—3 дня (остаются высокофертильными лишь 12—24 ч). Сперматозоид способен оплодотворить ооцит только после того, как он проведет в половых путях несколько часов, претерпевая процесс капацитации.

Стенки канальцев состоят из соединительнотканной основы и слоя сертолиевых клеток (см. ниже) с включенными в него половыми клетками на



различных стадиях развития, не совсем корректно называемого **сперматогенным эпителием** (рис. 3, Б).

В центре канальца имеется просвет. По периферии располагаются самые молодые, недифференцированные мужские половые клетки — сперматогонии.

**Сперматогонии** имеют округлую форму, относительно большое ядро и большое количество цитоплазмы. В результате серии митотических делений количество сперматогоний может стать очень большим. Особенности сперматогониальных делений заключаются в том, что в их ходе цитогенез не доходит до конца и в результате незавершенных делений формируется синцитий, в котором клетки сообщаются друг с другом посредством цитоплазматических мостиков (образуются клоны взаимосвязанных клеток). Такие мостики (**фузомеры**) обнаружены в семенном эпителии почти у всех животных от кишечнополостных до млекопитающих и остаются до самого конца дифференцировки спермиев, т. е. до того момента, когда отдельные сперматозоиды переходят в просвет канальцев. Благодаря им каждый развивающийся гаплоидный спермий может получать весь набор продуктов полного диплоидного генома. Так как большинство сперматогониев находятся на той или иной стадии митотического деления, то на окрашенных гематоксилином препаратах многие из них темные в силу интенсивного окрашивания хроматина и хромосом.

Ближе к центру канальца расположены **сперматоциты I порядка**, затем **сперматоциты II порядка**, еще ближе к центру находятся овальной формы **сперматиды**, около самого просвета канальца сперматозоиды (хвост смотрит в просвет канальца). Сперматоциты II порядка вдвое, а сперматиды вчетверо мельче по объему сперматоцитов I порядка. На препаратах они отличаются от сперматогониев более светлой окраской и имеют большее количество цитоплазмы.

Соматические клетки сперматогенного пласта — **сустиноциты (клетки Сертоли)** имеют чрезвычайно сложную трехмерную конфигурацию, не выявляющуюся с помощью световой микроскопии. Они обладают цилиндрической формой, большим количеством длинных цитоплазматических отростков и занимают пространство от базальной мембраны до просвета семенного канальца. Их ядро располагается у базальной мембраны, имеет овоидную или треугольную форму и глубокие инвагинации цитолеммы. В совокупности в пределах сперматогенного пласта сустиноциты не только поддерживают и питают половые клетки разных стадий развития, но и упорядочивают их расположение.

Клетки Сертоли у взрослого человека относятся к непролиферирующим клеткам. Свою митотическую активность они прекращают, по-видимому, еще внутриутробно и дальше не делятся ни при каких условиях. Это



не связано с изменением гормонального статуса организма, так как ни гипофизэктомия, ни инъекции гормонов гипофиза, ни культивирование с гонадотропинами не влияют на блок пролиферации сустеноцитов. Предполагается, что утрата способности к пролиферации связана с периодическими потерями цитоплазмы (до 40 %) этими клетками в процессе спермации. Клетки Сертоли — наиболее устойчивая и стабильная популяция клеток сперматогенного пласта. После различных внешних воздействий (температура, ионизирующее излучение) сустеноциты остаются единственными клетками внутри извитого канальца. Наличие столь прочных, разграничивающих каналец структур необходимо для изоляции поздно появляющихся в онтогенезе клеточных форм — начиная со сперматоцита I порядка, вступившего в мейоз.

Физиологические и морфологические данные позволили установить, что сертоли-сертолиевы соединения вместе с оболочкой извитого семенного канальца в совокупности образуют очень прочную гистогематическую преграду — **гемато-тестикулярный барьер**. Клеткам Сертоли присуща и гормональная функция, так как они секретируют антимюллеровский гормон (АМГ), белковый по своей природе, который обеспечивает формирование мужского фенотипа за счет стимуляции развития вольфовых и атрофии мюллеровых каналов.

Между соседними извитыми канальцами расположена рыхлая соединительная ткань, кровеносные сосуды, нервные волокна и интерстициальные **клетки Лейдига**, вырабатывающие мужской половой гормон тестостерон. Этот гормон обеспечивает дифференцировку вольфовых каналов в придаток семенника, семявыносящий канал и семенные пузырьки. Из мочевого бугорка под воздействием тестостерона развивается мошонка и половой член.

Сперматозоиды, находясь в составе извитого канальца, не способны к оплодотворению и не обладают подвижностью. Подвижность они приобретают тогда, когда смешаются с секретом мужских половых желез (предстательная железа, семенные пузырьки, бульбоуретральная железа).

## Стадии сперматогенеза

**Стадия размножения.** Первичные половые клетки позвоночных, оказавшись в половом гребне мужских зародышей, включаются в состав половых тяжей. Здесь они остаются до созревания, к этому времени в половых тяжях формируются полости и тяж перемещается в семенные канальцы, эпителий которых дифференцируется в клетки Сертоли, в углублениях поверхности которых происходит сперматогенез.

Стадии сперматогенеза представлены на рис. 4.

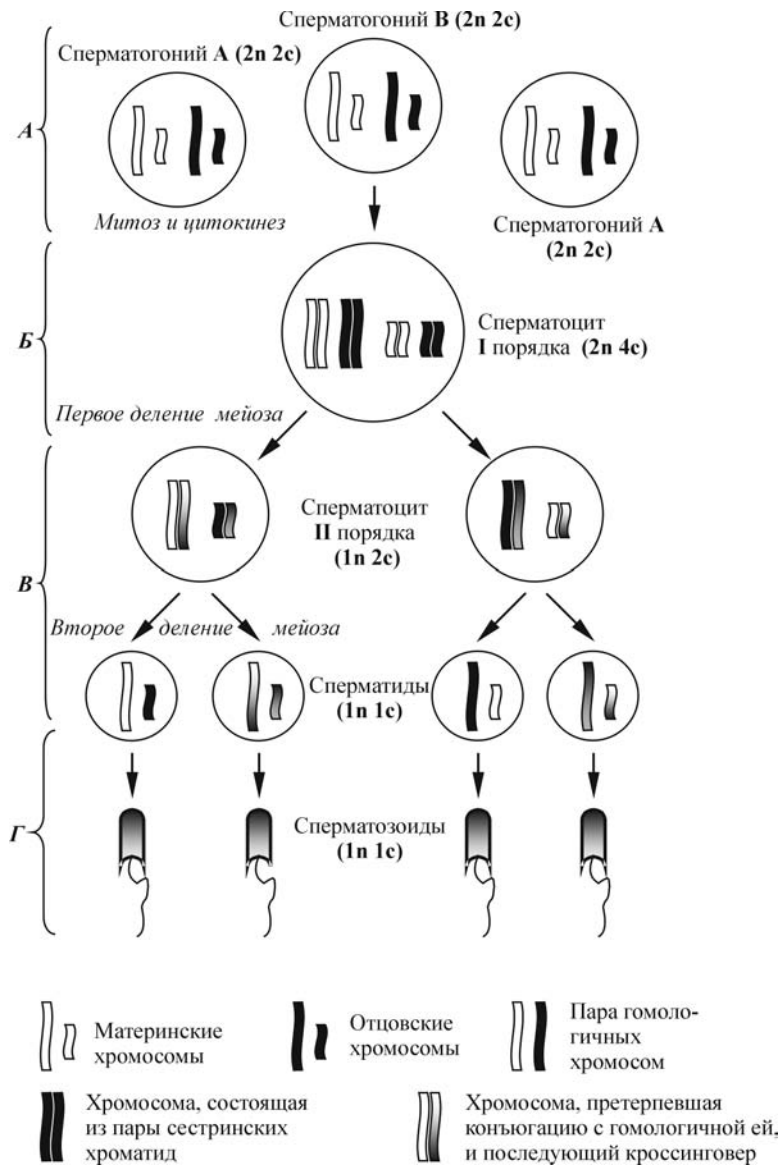


Рис. 4. Схема процесса сперматогенеза:  
 А — стадия размножения; Б — стадия роста;  
 В — стадия созревания; Г — стадия формирования

По достижении гонады ППК делятся и образуют сперматогонии А1. Они характеризуются меньшими по сравнению с ППК размерами и овальным ядром, хроматин которого соединен с ядерной мембраной.

Каждый сперматогоний типа А1 является стволовой клеткой, способной как к самопроизводству, так и к образованию клетки нового типа — бледнее окрашивающейся сперматогонии А2. Эти клетки делятся, давая начало сперматогониям А3, которые, в свою очередь, дают начало сперматогониям типа А4, а последние — промежуточным сперматогониям.

Промежуточные сперматогонии делятся, формируя сперматогонии типа В, их деление называют сперматогониальным. Сперматогониальные деления постоянно происходят у половозрелых самцов, число делений отдельного сперматогония невелико (1—14) и строго генетически определено.

Большое количество сперматозоидов обеспечивается за счет деления стволовых клеток. После определенного числа делений сперматогоний передвигается ближе к просвету канальца и вступает в период роста.

**Стадия роста.** Во время данной стадии в ядрах клетки осуществляется профаза мейоза, и она (клетка) называется сперматоцит I порядка. Сперматоциты растут, увеличиваясь в размерах в 4 и более раз. Они отличаются от сперматогониев положением в стенке канальцев (ближе к просвету), более крупными размерами и более светлой окраской.

В этот период они готовятся к делениям созревания, в ядрах идет репликация ДНК, вместо диад образуются тетрады хромосом.

**Стадия созревания.** Период созревания заключается в двух последовательных делениях мейоза. В результате первого деления из сперматоцита I порядка образуются 2 сперматоцита II порядка. Из них в результате второго деления образуются 4 сперматиды.

В сперматогониях и сперматоцитах I порядка диплоидное число хромосом, в сперматиде число хромосом гаплоидное. При оплодотворении происходит соединение ядерного материала мужской и женской половых клеток. В результате зигота имеет диплоидный набор хромосом.

Мейоз создает возможности для возникновения в гаметах новых генных комбинаций. Это приводит к изменениям в генотипе и фенотипе потомства, получаемого в результате слияния гамет.

Механизмы мейоза, участвующие в создании изменчивости, сводятся к следующему:

Уменьшение числа хромосом от диплоидного до гаплоидного сопровождается расхождением (разделением) аллелей, так что каждая гамета несет только один аллель по данному локусу.

Расположение бивалентов в экваториальной пластине веретена в метафазе I и хромосом в метафазе II определяется случайным образом. Последующее их разделение в анафазах I и II соответственно создает новые комби-

нации аллелей в гаметах. **Независимое распределение** приводит к случайному распределению материнских и отцовских хромосом между дочерними ядрами. Оно лежит в основе второго закона Менделя.

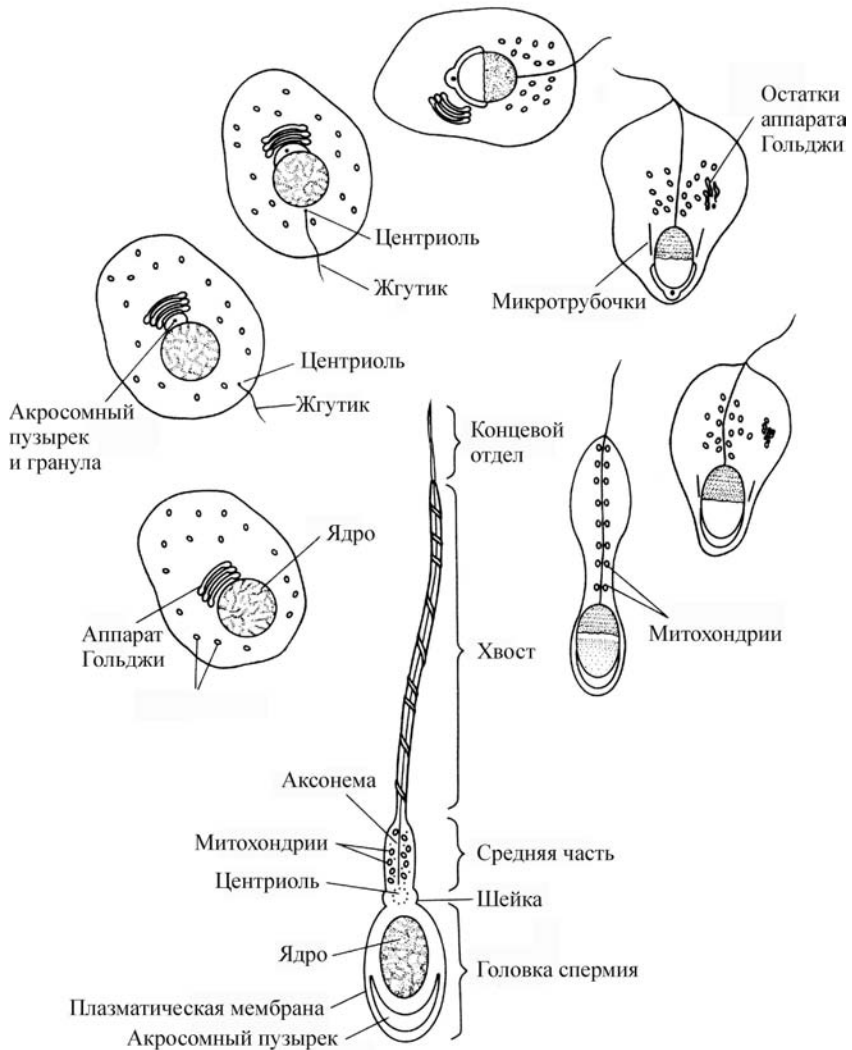


Рис. 5. Формирование сперматозоида и его строение (по Гилберту, 1993).  
 Размер зрелого спермия увеличен

В результате образования хиазм между гомологичными хромосомами в профазе I происходит кроссинговер, ведущий к возникновению новых комбинаций аллелей в хромосомах половых клеток.

**Стадия формирования.** Следующая стадия сперматогенеза — спермиогенез, или стадия формирования, в результате которой сперматиды преобразуются в сперматозоиды (рис. 5).

На этой стадии ядро уплотняется, хроматин конденсируется и становится генетически совершенно инертным. Происходит перемещение органелл клетки: аппарат Гольджи уплотняется, прижимается к ядру и формирует акросому, смещаясь на апикальный конец, центриоли смещаются на противоположный полюс и располагаются одна ближе к ядру, другая дальше.

Из дистальной центриоли начинает расти жгутик, вокруг основания жгутика в виде спиралей располагаются митохондрии. Проксимальная участвует в формировании веретена деления. Почти вся цитоплазма отторгается, зрелый сперматозоид практически ее лишен.

Время, необходимое для полного превращения сперматогония в сперматозоид, у человека составляет 74 дня. Завершение сперматоцитом мейоза и превращение его в сперматиду занимает у человека немногим более трех недель, и еще пять недель требуется на превращение сперматиды в спермий.

## Регуляция сперматогенеза

Нейрогуморальная регуляция сперматогенеза является хорошо изученной к настоящему времени.

Гипоталамус вырабатывает ключевой фактор регуляции сперматогенеза — люлиберин. Он активирует клетки аденогипофиза, которые импульсно выделяют в кровь гонадотропные гормоны (фоллитропин и лютропин). При этом основная роль принадлежит фоллитропину. Клетками-мишенями, опосредующими его стимулирующие влияния на протекание сперматогенеза, являются суспенцициты (клетки Сертоли). Под влиянием фоллитропина они синтезируют ряд биологически активных соединений: ингибин, активин, трансферин, цитокины и андрогенсвязывающий белок.

Гормоны ингибин и активин являются физиологическими антагонистами. Ингибин по принципу отрицательной обратной связи подавляет секрецию фоллитропина в аденогипофизе и таким образом тормозит сперматогенез. Действие активина противоположно и менее выражено.

Изоформы интерлейкинов, которые синтезируются в суспенцитах под влиянием фоллитропина, оказывают на сперматогенез разнохарактерное действие. Будучи по своей природе цитокинами, интерлейкины влияют только на фазу размножения сперматогоний: интерлейкин 1 стимулирует ее, а интерлейкин 6 — тормозит.

Важным фактором регуляции фазы размножения сперматогенеза служит белок трансферин. Это естественный митоген, стимулирующий пролиферацию сперматогониев и, вероятно, мейоз и сперматогенез, поскольку специфические рецепторы к трансферину помимо сперматогониев обнаружены у сперматочитов I порядка и сперматид.

Андрогенсвязывающий белок поддерживает высокую концентрацию мужского полового гормона тестостерона, который выделяют под влиянием лютропина клетки Лейдига.

После наступления половой зрелости гипофиз мужчины начинает выделять лютеинизирующий гормон (ЛГ). Под воздействием ЛГ клетки Лейдига выделяют большие количества мужского полового гормона тестостерона. Последний, в свою очередь, инициирует сперматогенез, возможно благодаря действию на клетки Сертоли.

Тестостерон оказывает прямой эффект на сперматиды, стимулируя их к трансформации в сперматозоиды. Важнейший эффект тестостерона заключается также в репрессии генов апоптоза в половых клетках, что крайне важно для формирования полноценного количества зрелых спермиев. Недавно открыто действие тестостерона на миоидные (гладко-мышечные) клетки извитых семенных канальцев. Кроме тестостерона клетки Лейдига выделяют небольшое количество эстрогенов. Помимо половых гормонов они вырабатывают b-эндорфин, небольшие количества окситоцина (стимулирующего сокращения перитубулярных миоидных клеток извитых семенных канальцев), а также интерлейкин 1, действующий как фактор роста на сперматогонии типа В.

### **Контрольные вопросы**

1. Отличия половых клеток от соматических.
2. Субмикроскопическое строение головки и хвостика сперматозоида.
3. Стадии сперматогенеза.
4. Формирование зрелого сперматозоида из сперматиды.
5. Регуляция сперматогенеза.

## Лекция 2

---

# СТРОЕНИЕ И РАЗВИТИЕ ЖЕНСКИХ ПОЛОВЫХ КЛЕТОК

### История вопроса

Многими важными открытиями биологическая наука обязана исследованиям голландского ученого Ренье де Граафа (1641—1673). Он установил, что женская половая железа млекопитающих, подобно яичнику птиц, продуцирует яйца (в отношении млекопитающих это не было ранее известно).

Однако Грааф несколько ошибся, приняв пузырьки в яичнике — фолликулы — за яйца млекопитающих. Данное заблуждение оказалось весьма живучим. Лишь по прошествии полутора веков знаменитый Карл Бэр обнаруживает истинные яйцеклетки у млекопитающих и человека (1827). Сначала у собаки, а затем и у других млекопитающих (коровы, свиньи, овцы и кролика, а также у человека) Бэр установил, что истинным яйцом является маленькое округлое тельце, прилежащее изнутри к стенке фолликула яичника, или Граафова пузырька. Им же было высказано предположение, что ядро ооцита «есть действенная часть яйца, посредством которой женский принцип обнаруживает свою силу...» (само ядро яйцеклетки было открыто при изучении развития птиц в 1825 году чешским ученым Яном Пуркинью).

К середине XIX века окончательно сложилось представление о том, что именно яйцо является материальным началом образования зародыша в женском организме. Тем не менее бытовало представление о том, что выделение яиц из фолликулов (овуляция) происходит у млекопитающих в результате полового акта, а оплодотворение осуществляется непосредственно в яичниках.

В 1847 году Ф. А. Пуше публикует монографию «Положительная теория спонтанной овуляции и оплодотворения у млекопитающих и человека». В ней окончательно было доказано, что овуляция у подавляющего большинства млекопитающих наступает спонтанно в период половой активности самок, независимо от полового акта и оплодотворения, которое происходит после выделения яиц и продвижения их по яйцеводам к матке.

## Строение яйцеклетки

Все материалы, необходимые для начальных стадий роста и развития зародыша, должны быть запасены в зрелом яйце. Если спермий избавляется от большей части своей цитоплазмы, то развивающееся яйцо не только сохраняет содержащиеся в нем запасные материалы, но и активно увеличивает их количество — либо синтезирует само, либо поглощает белки желтка, который служит источником питания развивающегося зародыша.

Объем яйца, как правило, превосходит объем спермия во много раз (у морского ежа их отношение составляет 10 000 : 1). Ядерные гаплоидные компоненты у них примерно равны, а вот по содержанию цитоплазматических компонентов различия велики. Цитоплазма яйца представляет собой огромную кладовую запасов, накопленных в период вителлогенеза. Эти запасы включают белки, рибосомы, транспортную и матричную РНК, морфогенетические факторы. Это молекулы, которые направляют процессы дифференцировки клеток, необходимые для образования различных тканей и органов. Они рассеяны по всему яйцу и распределяются между разными клетками при дроблении. Внутри этого огромного объема цитоплазмы располагается большое ядро.

Слой цитоплазмы, располагающийся непосредственно под плазматической мембраной, называется кортикальным слоем или кортексом. Кортикальная цитоплазма гораздо более вязкая, чем расположенная глубже основная масса цитоплазмы. В кортексе заключены кортикальные гранулы. Эти мембранные структуры гомологичны акросомному пузырьку спермия, поскольку они содержат протеолитические ферменты и формируются аппаратом Гольджи. Однако если каждый спермий имеет только один акросомный пузырек, то каждое яйцо содержит приблизительно 15 000 кортикальных гранул. Кроме того, в кортикальных гранулах помимо протеолитических ферментов содержатся мукополисахариды и белок гиалин. Ферменты и мукополисахариды участвуют в защите яйца от проникновения многочисленных спермиев (предотвращают полиспермию).

## Оболочки яйцеклетки

Поверх плазматической мембраны яйцеклетка может быть окружена еще несколькими оболочками. Различают:

- первичную оболочку, представляющую собой производную плазматической мембраны яйцеклетки;
- вторичную, являющуюся продуктом деятельности фолликулярных клеток;



- третичные оболочки, которыми яйцо окружается во время прохождения по яйцеводу.

Первичная оболочка иногда называется желточной, она присуща яйцеклеткам почти всех животных (за исключением губок и большинства стрекающих). Образованная гликопротеинами, эта оболочка играет важную роль в обеспечении видовой специфичности прикрепления спермия. У позвоночных, в том числе млекопитающих и человека, первичная оболочка входит в состав прозрачной оболочки (*zona pellucida*), образуя ее внутреннюю часть (такое название ей дано за оптические свойства). Внешняя часть прозрачной оболочки продуцируется фолликулярными клетками и является, по сути, вторичной оболочкой. Прозрачная оболочка (рис. 6) внутри пронизана микроворсинками яйцеклетки, а снаружи — микроворсинками фолликулярных клеток, отчего при большом увеличении она выглядит исчерченной и поэтому называется лучистой оболочкой (*corona radiata*).

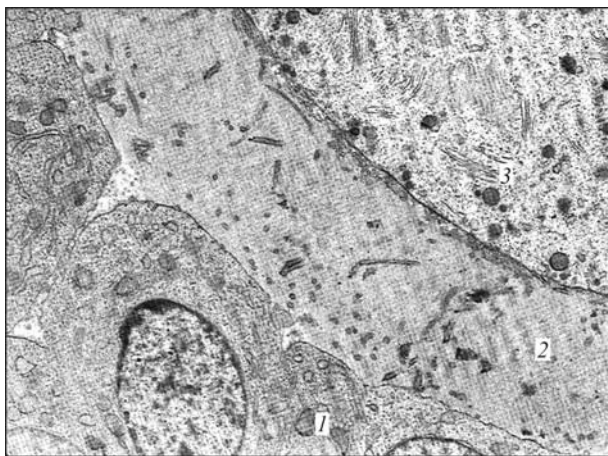


Рис. 6. Блестящая оболочка яйцеклетки млекопитающих (по Волковой и др., 1996):  
1 — слой фолликулярных клеток; 2 — блестящая оболочка;  
3 — яйцеклетка

Вторичные оболочки (хорион) образуются в яичниках и представляют собой исключительно продукт выделения фолликулярных клеток. Они есть не у всех яиц, но наиболее развиты у насекомых. В хорионе имеется одно или несколько узких отверстий (микропиле), через которые сперматозоид проникает в ядро. Фолликулярные клетки млекопитающих продолжают доставлять питательные вещества яйцеклетки вплоть до ее овуляции.

Третичные оболочки хорошо развиты у хрящевых рыб и амфибий, но особенную сложность они приобретают у наземных позвоночных — пресмыкающихся, птиц и низших млекопитающих. Образуясь из секретов желез яйцевода, эти оболочки не имеют клеточного строения. У всех позвоночных они выполняют функцию защиты зародыша от механических повреждений и действия вредных биотических факторов: бактериальных, грибковых и протозойных. Кроме того, у наземных позвоночных они выполняют принципиально новые функции запаса воды и питательных веществ для обеспечения нужд зародыша. У пресмыкающихся скорлуповая оболочка действует как насос, забирая воду из почвы и воздуха. У птиц третичные оболочки представлены белковой, двумя слоями подскорлуповой пергаментной оболочки и скорлуповой оболочкой. Запас воды находится в белковой оболочке. Поглощение и испарение воды регулируется порами в скорлуповой оболочке. Скорлупа также содержит большое количество минеральных солей, необходимых для развития скелета зародыша. К третичным оболочкам относится и студенистая оболочка. Она выполняет функцию привлечения или активации спермиев, а также служит для прикрепления яйца к какой-либо поверхности.

## Развитие яйцеклеток

Яйцевые клетки образуются в женской половой железе — яичнике. Они проходят долгий путь развития, который начинается в эмбриональном и продолжается в репродуктивном периоде онтогенеза особей женского пола (рис. 7).

Первичные половые клетки возникают на ранних этапах эмбриогенеза из энтодермальных клеток вегетативного полюса, как, например, у бесхвостых амфибий, или из энтодермальных клеток желточного мешка, как у всех амниот — пресмыкающихся, птиц и млекопитающих. ППК очень рано отличаются от других клеток благодаря крупным размерам и прозрачной цитоплазме. Половые железы в этот момент только начинают формироваться. Экспериментально было показано, что первичные половые клетки мигрируют из места возникновения в развивающиеся гонады и заселяют их. У млекопитающих они перемещаются по дорсальной брыжейке, будучи способными в этот период к амебoidalному движению. У птиц миграция происходит пассивно по кровяному руслу. У высших позвоночных не обнаружено веществ, стимулирующих миграцию первичных половых клеток к гонадам. Существует мнение, что первичные половые клетки, оказавшись в каких-либо других участках зародыша, как правило, гибнут, но иногда могут перерождаться в опухоли. Попав в гонады, первичные половые клетки

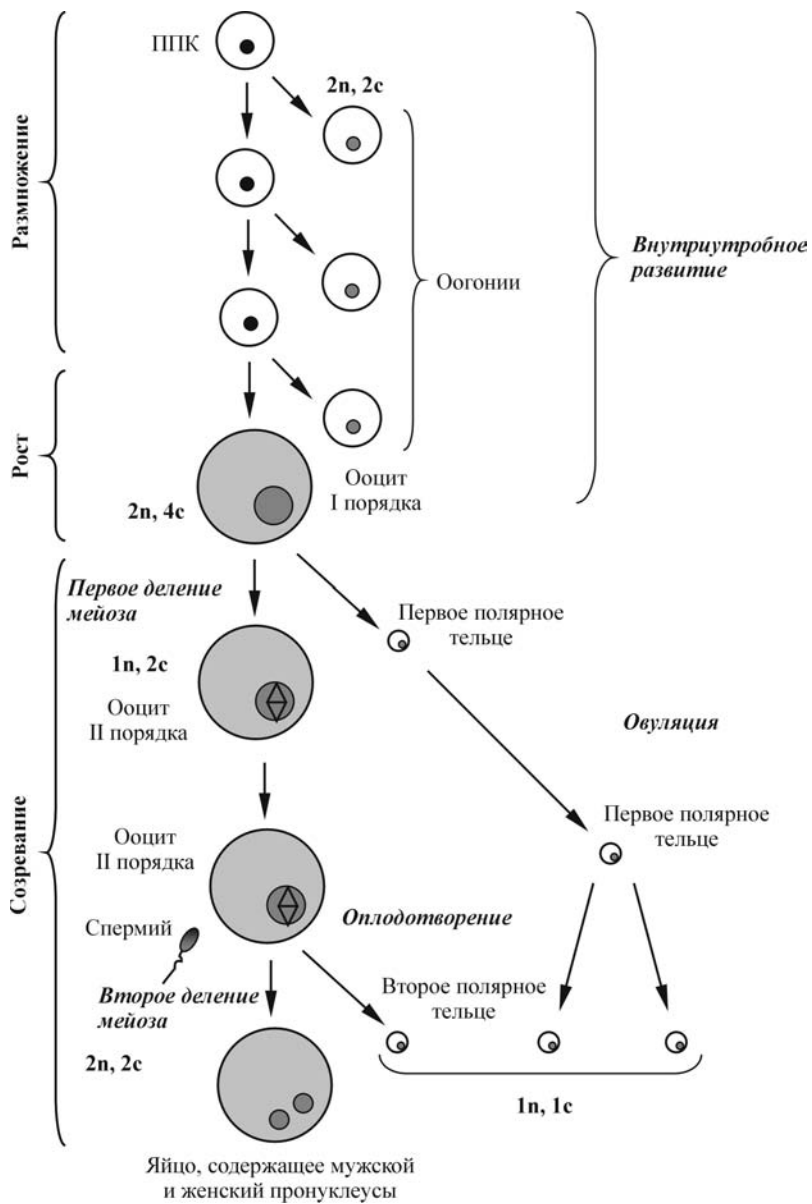


Рис. 7. Схема процесса оогенеза человека

начинают пролиферировать. Они делятся митозом и называются оогониями. Наступает стадия размножения. У большинства низших позвоночных оогонии сохраняют способность к делению на протяжении всего репродуктивного периода, например, рыбы за один нерест выделяют тысячи яиц, земноводные — сотни (животные с наружным оплодотворением).

Виды, для которых характерно внутреннее оплодотворение, продуцируют половые клетки более экономно. У млекопитающих размножение овогониев протекает только в эмбриональном периоде и к концу внутриутробного развития прекращается. Так, у человека максимальное количество овогониев (6—7 млн) наблюдается у пятимесячного плода. Далее следует массовая дегенерация половых клеток, количество которых у новорожденной девочки составляет около 1 млн, а к семи годам сокращается до 300 тысяч.

Женская половая клетка, прекратившая размножение, называется ооцит I порядка. Начинается свойственный только этой клетке период роста. Он связан с поступлением в яйцеклетку питательных веществ извне и с синтезом их в самой яйцеклетке. Масса и объем яйцеклетки увеличиваются в огромное количество раз (у насекомых — в 90 000 раз, у млекопитающих — более чем в 40 раз).

Рост ооцитов принято разделять на два периода:

- малого, или цитоплазматического, роста (**превителлогенез**): происходит относительно небольшое пропорциональное увеличение массы ядра и цитоплазмы;
- большого, или трофоплазматического, роста (**вителлогенез**): резко интенсифицируется рост цитоплазматических компонентов, в ооците откладывается желток.

Весь период превителлогенеза проходит на фоне подготовки ооцита I порядка к последующим делениям созревания (мейоза). Подготовка к первому делению созревания начинается с того, что ооцит вступает в S-период редукционного деления (фаза удвоения ДНК). Затем следует профазы первого деления мейоза, которая продолжается у ооцитов млекопитающих несколько дней.

По достижении фазы диплотены, когда гомологичные хромосомы уже прошли конъюгацию и начали расходиться к противоположным полюсам ядра, наступает стадия диакинеза. На ней дальнейшее течение мейоза сильно замедляется. Остановка мейоза продолжается до достижения особью половозрелости, т. е. длится много лет, применительно к некоторым млекопитающим и человеку. В период диакинеза ядерный материал ооцита не остается инертным: у большинства яйцеклеток он выполняет роль матрицы для синтеза всех видов РНК — информационных, транспортных, матричных и

рибосомальных. Все эти типы РНК синтезируются впрок и используются уже оплодотворенной яйцеклеткой. Синтез рРНК связан с уникальным процессом амплификации генов (т. е. временного увеличения числа генов, кодирующих данный вид РНК). Амплификация осуществляется путем избирательного копирования рибосомальных генов, расположенных вдоль нити ДНК. Отделившиеся копии обособляются морфологически в виде ядрышек, которых может насчитываться несколько тысяч.

После созревания ооцита ядрышки выходят в его цитоплазму и там лигируются. Синтез рРНК протекает в течение 3—6 месяцев. Низкомолекулярные рРНК и тРНК синтезируются без амплификации — их быстрое накопление обусловлено тем, что кодирующие их гены многократно повторены. Усиливающаяся синтетическая активность нуклеиновых кислот приводит к образованию хромосом типа ламповых щеток, что связано с наличием деспирализованных участков ДНК, на которых идет синтез мРНК. В зрелой яйцеклетке насчитывается до 25—50 тыс. различных типов мРНК.

В период вителлогенеза в ооците I порядка образуется желток, а также жиры и гликоген. Желток — это высокофосфорилированный кристаллический белок. Его количество в клетке строго детерминировано генетически и не зависит от условий питания самки. Вителлогенез может осуществляться за счет синтеза желтка внутри ооцита (эндогенный желток), либо желток синтезируется вне яичника (экзогенный желток). Синтез эндогенного желтка происходит в эндоплазматическом ретикулуме из концевых цистерн аппарата Гольджи. Накопление желтка может идти и в митохондриях, которые при этом перерождаются в желточные гранулы. Большинству видов животных присуще образование экзогенного желтка. Он строится на основе белка, предшественника вителлогенина, поступающего в ооцит извне.

У позвоночных вителлогенин синтезируется в печени матери, транспортируется к содержащему ооцит фолликулу по кровеносным сосудам и поглощается ооцитом путем пиноцитоза. В дальнейшем, при формировании гранул желтка, он распадается на липовителлин и фосфовитин, входящие в состав экзогенного желтка. Синтез вителлогенина клетками печени находится под гормональным контролем. Выделяемый гипоталамусом люлиберин стимулирует продукцию гонадотропных гормонов гипофиза (ФСГ, ЛГ) в кровь. Под их воздействием клетки фолликула синтезируют в кровотоке эстроген. Последний индуцирует, а впоследствии и контролирует, как на уровне транскрипции, так и на уровне трансляции, синтез вителлогенина клетками печени.

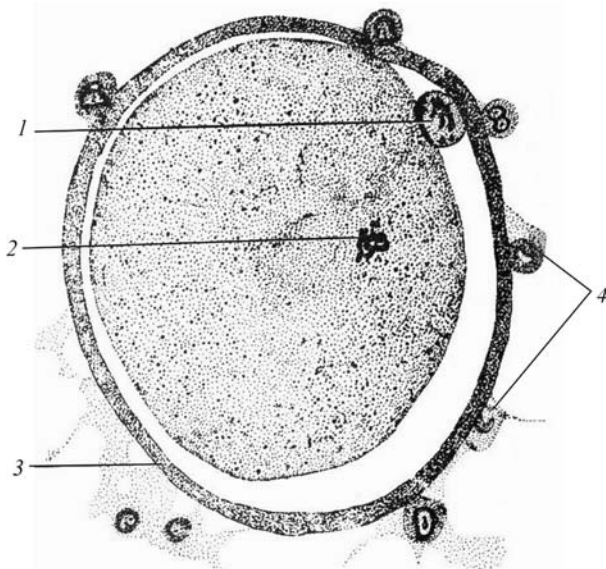
Созревание ооцита — это процесс последовательного прохождения двух делений мейоза (делений созревания). При подготовке к первому деле-

нию ооцит длительное время находится в фазе диакинеза, когда и происходит его рост и вителлогенез. Начало собственно делений созревания приурочено к достижению самкой половой зрелости и определяется половыми гормонами.

Контроль за процессом созревания яйцеклетки лучше всего изучен у амфибий. У этих животных гонадотропины, находящиеся под контролем гипофиза, действуя на окружающие ооциты фолликулярные клетки, инициируют выделение последними стероидного гормона прогестерона. Подобно другим стероидным гормонам, прогестерон способен диффундировать через плазматические мембраны большинства клеток-мишеней и связываться с внутриклеточными рецепторными белками, регулирующими транскрипцию специфических генов. Однако при созревании ооцита прогестерон, по-видимому, действует иначе. Он связывается с рецепторными белками плазматической мембраны. При этом происходит инактивация плазматической аденилатциклазы, в результате чего снижается концентрация циклического АМФ в цитозоле и соответственно активность цАМФ-зависимой протеинкиназы (А-киназы). Поскольку А-киназа отвечает за фосфорилирование N-концевых участков белков, то ее инактивация приводит к дефосфорилированию фактора созревания яйцеклеток (фактор инициации М-фазы, ФИМ), находящегося в цитоплазме. При этом он деблокируется, т. е. переходит в активное состояние.

В норме ФИМ запускает переход из профазы первого деления мейоза в метафазу второго деления. Зрелые ооциты задерживаются на стадии метафазы II, когда уровень ФИМ высок. Инактивация А-киназы инициирует активацию небольших количеств ФИМ, которые, в свою очередь, активируют новые порции ФИМ (положительная обратная связь). Замечательное свойство ФИМ — его способность к автокаталитическому саморазмножению, т. е. он может фосфорилировать сам себя и, следовательно, активировать. Фактор созревания вызывает разрушение оболочки ядра ооцита, разрушение ядрышек и миграцию хромосом к будущему анимальному полюсу, где и произойдут деления созревания.

Основная особенность деления созревания в ооцитах состоит в том, что эти деления резко неравномерны. В результате первого деления созревания половина хромосомного набора выталкивается в очень маленькую клетку — редукционное (полярное или направительное) тельце. Впоследствии эта клетка делится на две столь же малые, и никакого участия в дальнейшем развитии они не принимают. Яйцеклетка после выделения первого редукционного тельца называется ооцитом II порядка. Второе деление созревания осуществляется путем выделения второго редукционного тельца таких



*Рис. 8.* Ооцит II порядка после овуляции  
(по Алмазову, Сутулову, 1978):  
1 — первое редукционное тельце; 2 — веретено второго деления созревания; 3 — блестящая зона; 4 — фолликулярные клетки

же размеров, как и первое. После его выделения ооцит II порядка превращается в зрелое яйцо (рис. 8).

Количество яиц, созревающих одновременно, редко достигает 15, обычно их бывает меньше, иногда только одно (человек). У большинства животных течение мейоза останавливается на некотором этапе созревания (блок мейоза), а для дальнейшего его протекания требуется оплодотворение яйцеклетки сперматозоидом (исключение составляют морские ежи и некоторые кишечнополостные). Различают три типа блока мейоза (именно на этом этапе происходит овуляция яйцеклетки):

- на стадии диакинеза (губки, моллюски, отдельные представители плоских, круглых, кольчатых червей, млекопитающие: собака, лиса, лошадь);
- метафазы 1-го деления созревания (губки, немуртины, кольчатые черви, насекомые);
- метафазы 2-го деления созревания (хордовые; у летучих мышей блок мейоза наступает в анафазе 2-го деления созревания).



## Поляризация яйцеклетки

Полос яйцеклетки, на котором выделяются редуционные тельца, называется анимальным, а противоположный ему — вегетативным.

Анимально-вегетативная ось ориентирует последующие морфогенетические процессы: первые две борозды дробления оплодотворенной яйцеклетки, как правило, проходят по взаимно перпендикулярным меридианам, пересекающимся на анимальном и вегетативном полюсах.

Первые морфологические проявления поляризации приурочены к периоду вителлогенеза. У большинства яйцеклеток желток откладывается преимущественно в вегетативном полушарии, а ядро ооцита оттесняется в анимальное полушарие, где больше свободной цитоплазмы. Поляризация становится устойчивой и необратимой в период выделения второго редуционного тельца.

## Строение яичника млекопитающего

Развитие яйцеклетки млекопитающих происходит в основном в яичнике (рис. 9).

**Яичник** — парный орган, покрытый с поверхности брюшиной и эндотелием. Собственно яичник покрыт специальным типом эпителия — герминативным, или зародышевым, эпителием. Именно он является поставщиком молодых недифференцированных половых клеток.

По периферии яичника расположены **примордиальные фолликулы**, представляющие собой ооцит I порядка, находящийся в диплоте профазы первого деления мейоза, покрытый слоем плоских фолликулярных клеток. Примордиальные фолликулы — это резерв половых клеток, в которых завершение профазы первого деления мейоза и дальнейшее развитие происходит лишь при половом созревании.

Примордиальные фолликулы порциями вступают в стадию роста в течение всей жизни самки. По мере роста фолликулов увеличивается и размер самой половой клетки. Фолликулярные клетки млекопитающих образуются из коркового слоя яичника. Ооциты, окруженные тяжами фолликулярных клеток, внедряются в соединительнотканную строму яичника.

Постепенно вокруг их цитолеммы появляется блестящая зона, снаружи от которой на базальной мембране в 1—2 слоя располагаются кубические фолликулярные клетки. Фолликулы, состоящие из растущего ооцита, блестящей оболочки и слоя кубического фолликулярного эпителия, называются **первичными фолликулами**.



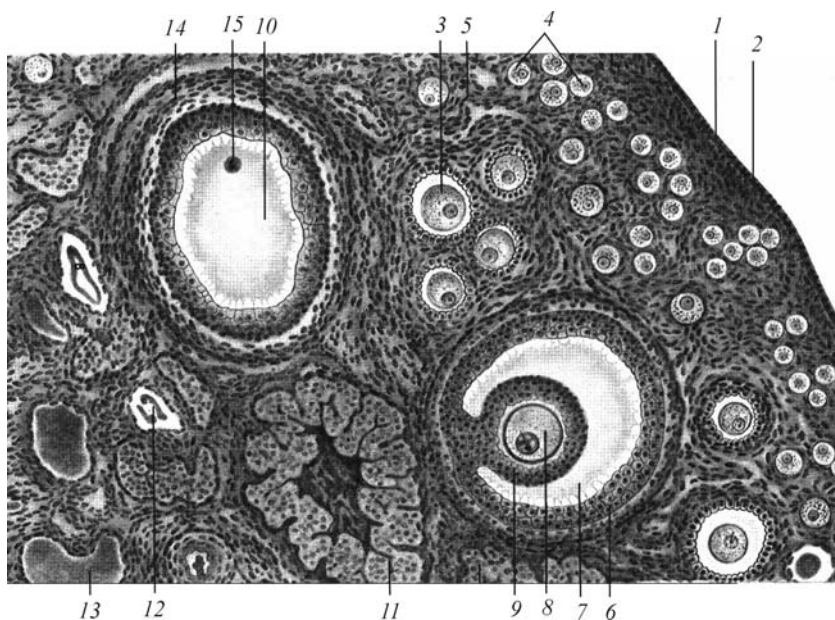


Рис. 9. Строение яичника человека (по Алмазову, Сутулову, 1978): 1 — зачатковый (герминативный) эпителий; 2 — белочная оболочка; 3 — корковое вещество; 4 — первичные, примордиальные фолликулы; 5 — растущий фолликул; 6 — Граафов пузырек; 7 — полость Граафова пузырька; 8 — яйцеклетка; 9 — *corona radiata*; 10 — пузырчатый фолликул, в котором яйценосный бугорок и ооцит не полностью попали в срез; 11 — желтое тело; 12 — атретическое тело; 13 — соединительная ткань и кровеносные сосуды; 14 — соединительнотканная оболочка фолликула; 15 — ооцит II порядка

Характерная их особенность — наличие блестящей зоны, состоящей из кислых и нейтральных гликозаминогликанов. Блестящая оболочка — это неклеточное образование, состоящее из гликопротеинов и гликозаминогликанов, поэтому она кажется прозрачной. Если произошло оплодотворение овоцита, то она сохраняется у зародыша вплоть до его имплантации в стенку матки и выполняет ряд важнейших функций.

Будучи проницаемой для микромолекул и барьером для макромолекулярных соединений, блестящая оболочка обеспечивает защиту как самой половой клетки, так и зародыша. Ее протективная функция по отношению к зародышу особенно важна в тех случаях, когда организм матери сенсибилизирован к отцовским аллоантигенам.

Главная функция фолликулярного эпителия — избирательный транспорт к ооциту необходимых питательных веществ, синтезируемых в печени

или других органах материнского организма. Фолликулярные клетки выделяют белки, идущие на построение вторичной оболочки яйцеклетки. Как со стороны плазматической мембраны, так и со стороны фолликулярных клеток имеются ворсинки, они увеличивают плотность соприкосновения, обеспечивают условия для трофики.

После образования первичного фолликула та часть соединительной ткани, которая окружает фолликул, уплотняется и формируется внешняя соединительнотканная оболочка — **тека**. Фолликулярные клетки играют роль не только опорных, трофических элементов, но вместе с соединительнотканными клетками теки являются железой внутренней секреции, вырабатывающей эстроген. Кроме того, на них расположены рецепторы к гонадотропным гормонам гипофиза, под воздействием которых осуществляются развитие фолликулов и оогенез.

Фолликулы, однослойные вначале, в результате размножения фолликулярных клеток становятся многослойными. Затем фолликулярные клетки начинают выделять фолликулярную жидкость и постепенно резорбироваться. На их месте возникают полости, которые затем сливаются в одну. В наружную оболочку фолликула врастают многочисленные кровеносные капилляры, и она дифференцируется на два слоя (внутренний и наружный). Такие фолликулы называют **вторичными**. Ооцит во вторичном фолликуле все еще находится на стадии диплотены профазы первого деления мейоза.

На заключительной стадии резорбции фолликул называется зрелым (третичным) или **Граафовым пузырьком**. Фолликулярные клетки образуют стенку Граафова пузырька (зернистая оболочка) и секретируют фолликулярную жидкость, в состав которой входят эстрогены. Сама яйцеклетка находится в Граафовом пузырьке на ножке — яйценосном бугорке. Фолликулярные клетки также окружают яйцеклетку — лучистый венец (*corona radiata*).

Снаружи третичный фолликул покрыт тонкой базальной мембраной и текальной оболочкой, содержащей сосуды во внутренней части и мышечные клетки в наружной. Пузырчатый фолликул достигает такого размера, что выпячивает поверхность яичника, причем яйценосный бугорок с ооцитом оказывается в выступающей части пузырька (стигма).

Затем стенка Граафова пузырька разрывается, яйцеклетка освобождается и выходит в брюшную полость, окруженная слоем прилипших фолликулярных клеток (рис. 10).

В ооците третичного фолликула реиницируется мейоз, завершается первое и начинается второе деление созревания, возникает ооцит II порядка и первое редукционное тельце. Общая продолжительность развития примордиального фолликула до стадии преовуляторного фолликула у человека составляет около 120 суток.

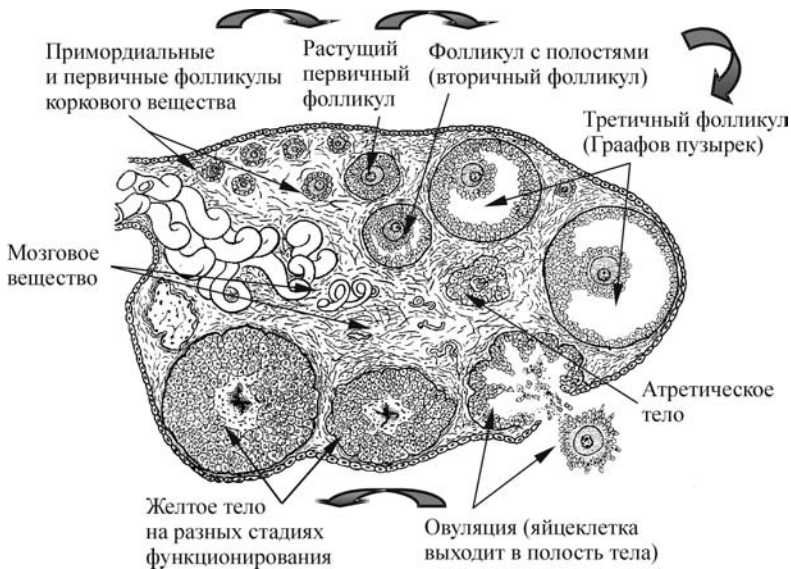


Рис. 10. Развитие фолликулов в яичнике человека (по Алмазову, Сутулову, 1978)

Процесс выхода яйцеклетки из Граафова пузырька в брюшную полость называется **овуляцией**. У большинства млекопитающих она происходит на стадии метафазы второго деления созревания ооцита. Завершение второго деления созревания, при котором образуется яйцеклетка, и образование второго редукционного тельца происходит только в процессе оплодотворения.

Лишь некоторые из вступивших в рост ооцитов и фолликулов достигают преовуляторного размера, созревают, вступают в фазу второго деления созревания и могут быть оплодотворены. Большинство ооцитов в растущих и созревающих фолликулах в разные периоды своего роста претерпевают обратное развитие (**атрезию**). Для таких фолликулов характерны прогрессирующее уплотнение яйцеклетки, утолщение прозрачной зоны, регрессия фолликулярного эпителия, лизис органелл, кортикальных гранул, сморщивание ядра. Блестящая зона утрачивает свою шаровидную форму и становится складчатой, утолщается и гиалинизируется.

Характерный признак **атретического тела** — наличие в его центре блестящей оболочки ооцита. В центре атретического тела может быть расположен погибающий ооцит, либо только остатки уплотненной прозрачной зоны, либо соединительнотканый рубец (на конечной стадии развития).

Завершающие этапы периода большого роста ооцита и фолликула, созревание и овуляция происходят периодически и зависят от циклической деятельности системы гипоталамус — гипофиз — яичники.

Помимо указанных структур в яичнике млекопитающих находятся различные виды **желтых тел**. Под влиянием лютеинизирующего гормона, вызвавшего овуляцию, элементы стенки лопнувшего пузырька претерпевают изменения, приводящие к формированию желтого тела. Клетки фолликулярного эпителия гипертрофируются и в них накапливается желтый пигмент лютеин — образуются лютеиновые клетки. К стенке Граафова пузырька подходят кровеносные сосуды, которые способствуют сохранению и росту соединительной ткани.

Существует два типа желтых тел.

**Овариальное желтое тело.** Существует в течение второго периода менструального цикла (с 14—16 по 26—28-й день). В различные периоды овариального цикла оно обладает гормональной активностью — выделяет прогестерон (гормональная активность снижается к концу цикла).

**Желтое тело беременности.** Формируется, когда наступает беременность. Оно существует гораздо дольше, более активно в функциональном плане и имеет большие размеры (более 5 см), чем овариальное желтое тело (1,5—2 см). Начиная с 3—4 месяцев беременности функцию образования прогестерона берет на себя плацента. До этого момента нарушение деятельности желтого тела и как следствие низкий уровень прогестерона может вызвать прерывание беременности (выкидыш). В последующем желтое тело беременности подвергается обратному развитию.

Инволюцию претерпевает и овариальное желтое тело. В обоих случаях железистые клетки атрофируются, а соединительная ткань центрального рубца разрастается. В результате на месте бывшего желтого тела формируется **белое тело**. Оно сохраняется в яичнике на протяжении нескольких лет, а затем практически полностью рассасывается.

## Регуляция полового цикла млекопитающих

Рост фолликулов начинается еще в яичниках зародыша. Первичный (малый) рост не зависит от гормонов гипофиза и приводит к возникновению фолликулов с небольшой полостью. Для дальнейшего роста (большого) необходимо стимулирующее влияние аденогипофизарного фолитропина, направленное на выработку фолликулярными клетками эстрогенов, и добавочное влияние небольшого количества лютропина, который активизирует интерстициальные клетки.

К окончанию роста фолликула возрастающее содержание лютропина в крови вызывает овуляцию и образование желтого тела. Фаза расцвета жел-

того тела, в течение которого оно продуцирует прогестерон, усиливается и удлиняется благодаря добавочному влиянию аденогипофизарного пролактина. Прогестерон подготавливает матку для последующей имплантации зародыша и ингибирует рост новых фолликулов. Наряду с выработкой прогестерона в желтом теле сохраняется в слабой степени выработка эстрогенов. Поэтому в конце фазы расцвета желтого тела вновь отмечается поступление небольших количеств эстрогена в циркуляторное русло. Наконец, в фолликулярной жидкости растущих фолликулов в зрелых пузырьчатых наряду с эстрогенами обнаруживается еще и белковый гормон гонадотропин (идентичный ингибину семенников), который угнетает рост овоцитов и их созревание. Гонадотропин, как и эстрогены, вырабатывается клетками зернистой оболочки Граафова пузырька. Очевидно, он действует на другие фолликулы, вызывает в них гибель овоцита и дальнейшую атрезию этого фолликула. Атрезию следует рассматривать как механизм, направленный на предотвращение образования избыточного количества яйцеклеток. Если же овуляция зрелого фолликула по какой-либо причине не происходит, то выработанный гонадотропин обеспечит его собственную атрезию.

В отличие от семенника, непрерывно вырабатывающего огромное количество сперматозоидов, половозрелый яичник только раз в 28 дней выделяет зрелую яйцеклетку, созревающую из ооцитов, заложенных на ранних стадиях эмбриогенеза.

Таким образом, чем выше возраст женщины, тем больше вероятность повреждения генетического материала ее яйцеклеток мутагенными факторами. У мужчин наблюдается постоянное обновление, а в некоторых случаях и репарация генетического материала сперматогониев, благодаря интенсивно протекающим митозам. Поэтому возраст мужчин существенно не влияет на частоту наследственных заболеваний у потомства.

Несмотря на то что молекулярные механизмы, лежащие в основе важнейших моментов в процессе развития и созревания ооцитов, по всей видимости, весьма сходны у всех позвоночных, временные параметры этих процессов и характер запускающих их внеклеточных сигналов могут варьировать весьма значительно.

## Классификация яйцеклеток

По количеству желтка яйцеклетки делятся:

- на **алецитальные**, т. е. практически безжелтковые (плацентарные млекопитающие, некоторые беспозвоночные — первичнотрахейные);
- **олиголецитальные** или маложелтковые (большинство червей моллюсков, иглокожих);

- **мезолецитальные**, содержащие среднее количество желтка (амфибии, осетровые рыбы);

- **полилецитальные** либо многожелтковые (большинство членистоногих, рыбы, птицы).

В процессе эволюционного развития выявляется закономерность: чем длиннее эмбриональный период, тем больше желтка должно быть накоплено в яйцеклетке. Продолжительность эмбрионального периода также зависит от стадии, на которой зародыш переходит к самостоятельному существованию во внешней среде. Если постэмбриональное развитие идет прямым путем без личинки и метаморфоза, то желтка в яйцеклетке должно быть много.

У ланцетника, представителя низших хордовых, яйцеклетка олиголецитальная. У большинства позвоночных в яйцеклетках содержится значительное количество желтка.

Среди низших позвоночных (*Anamnia*) наибольшее количество желтка содержат яйца миксин, акул, химеровых и безногих амфибий. У осетровых рыб, а также остальных амфибий яйцеклетки включают уже среднее количество желтка.

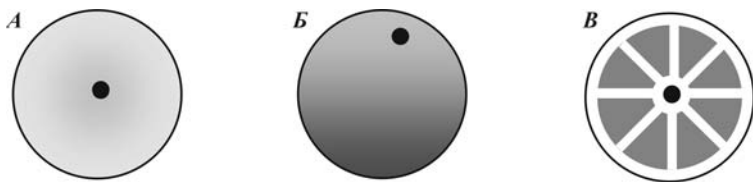
У высших позвоночных (*Amniota*), таких как пресмыкающиеся, птицы и яйцекладущие млекопитающие, в яйцеклетке очень много желтка. Эмбриональное развитие у них протекает особенно долго. Эта закономерность нарушена у сумчатых и плацентарных млекопитающих, которые имеют олиго- и алецитальные яйцеклетки соответственно. У сумчатых млекопитающих эмбрион выходит из яйцевых оболочек и матки при незавершенном органогенезе. Затем он переносится в сумку, где и продолжает развитие. У плацентарных млекопитающих и человека зародыш выходит из яйцевых оболочек еще раньше, в стадии бластоцисты, но затем переходит к внутриутробному существованию, где и завершает все основные периоды развития. Уменьшение количества желтка в яйцеклетках млекопитающих можно назвать вторичным, поскольку их предки, освоившие наземную среду, имели, как и все амниоты, полилецитальные яйца.

По расположению желтка относительно полярной оси яйцеклетки делятся (рис. 11):

- на **гомо- (изо-) лецитальные**;
- **анизолецитальные клетки**.

При малом количестве желтка в яйцеклетке он обычно распределен в цитоплазме равномерно и ядро располагается примерно в центре. Такие яйцеклетки и называют изолецитальными. У большинства позвоночных желтка много, и он распределен в цитоплазме яйцеклетки неравномерно. Анизолецитальные яйца подразделяются на телолецитальные и центроле-





*Рис. 11.* Схема строения изо- (*А*), тело- (*Б*) и центро- (*В*) лещитальной яйцеклетки. Черным цветом обозначено ядро, серым — желток, белым — цитоплазма, свободная от желтка

цитальные. Если основная масса желтка скапливается у одного из полюсов клетки — вегетативного, то такие яйцеклетки называют телолещитальными. Противоположный полюс, к которому оттесняется свободная от желтка активная цитоплазма, именуется анимальным.

К центролещитальному типу относятся яйца многих членистоногих. Вместо анимального и вегетативного полюсов у этих яиц говорят о переднем и заднем полюсах. В центре яйца расположено ядро, а по периферии — свободный от желтка ободок цитоплазмы. Центр и периферия яйца связаны тонкими цитоплазматическими мостиками, а все промежуточное пространство заполнено желтком.

Наиболее крупные яйца встречаются у сельдевых акул и птиц — свыше 20 см в диаметре, наименьшие — у некоторых насекомых (до 7 мкм). У человека яйцеклетка имеет размер около 150—200 мкм в диаметре, у мыши — 60 мкм, у коровы — 100 мкм, у лягушки — 2 мм (величина типичной соматической клетки составляет около 20 мкм).

## Способы питания яйцеклеток

Лишь немногие яйцеклетки развиваются исключительно за счет эндогенного желтка. В зависимости от способа доставки к клетке веществ, необходимых для синтеза желтка, выделяют следующие способы питания яйцеклеток:

**Диффузный**, или фагоцитарный. Наиболее примитивный способ питания у многоклеточных. Встречается у губок и пресноводной гидры. Растущий ооцит питается, перемещаясь по межклеточному пространству. Основной биохимический процесс, протекающий в цитоплазме диффузно питающегося ооцита, — синтез гидролитических ферментов для переваривания фагоцитированного материала. Фагоцитированный материал откладывается в фаголизосомах. Настоящих желточных гранул не образуется.

**Солитарный** (одиночный). В этом случае растущий ооцит непосредственно не связан с какими-либо другими клетками и получает все необходимые для синтеза желтка вещества из окружающей среды в низкомолекулярной форме. Такой способ присущ колониальным гидроидным полипам, морским звездам, ланцетнику. При этом желток и все типы РНК синтезируются самими ооцитами.

**Нутриментарный.** В яичниках данных животных (различные группы червей и членистоногие) ооцит окружен специальными питающими клетками — **трофоцитами**, связанными с ооцитом цитоплазматическими мостиками. Основная функция трофоцитов — синтез в них рРНК, поступающей по цитоплазматическим мостикам в виде комплекса с рибосомными белками в яйцеклетку. Основная часть желточных белков при этом способе питания синтезируется в соматических клетках и поступает в ооцит посредством пиноцитоза.

**Фолликулярный.** Наиболее распространенный и совершенный способ питания. Он связан с образованием из соматических клеток гонад одного или нескольких слоев фолликулярного эпителия, окружающего ооцит. Особо развит у млекопитающих. Фолликулярные клетки отделены от ооцита узкой щелью — периоцитным пространством, которое пересекается множеством их отростков, контактирующих с плазматической мембраной ооцита. Функции фолликулярных клеток различны. Прежде всего они обеспечивают формирование избирательно проницаемого барьера для белков, синтезированных в печени материнского организма и перенесенных к яичнику с током крови. Выполняют гормональную функцию (синтез эстрогенов и андрогенов), синтезируют внутриклеточные регуляторные молекулы (цАМФ). На поздних стадиях оогенеза фолликулярные клетки выделяют белки, используемые для строительства вторичной оболочки яйцеклетки.

## Отличия оогенеза от сперматогенеза

В завершение приведем сравнительную характеристику процессов оогенеза и сперматогенеза:

- стадия формирования присуща сперматогенезу и отсутствует в ходе оогенеза;
- из ооцита I порядка в противоположность сперматоциту I порядка получается не четыре, а лишь одна полноценная половая клетка;
- яйцеклетки образуются периодически, а сперматогенез идет постоянно на протяжении жизни индивида;
- стадия размножения при оогенезе заканчивается в пренатальном периоде или сразу же после рождения, при сперматогенезе идет постоянно;



- стадия роста при оогенезе длиннее, чем при сперматогенезе;
- стадия созревания оогенеза имеет свои особенности, заключающиеся в неравномерности делений созревания, приводящих к выделению полярных телец;
- ход сперматогенеза более подвержен влиянию факторов внешней среды, нежели ход овогенеза, вследствие различия в расположении половых органов (семенники, как правило, находятся вне брюшной полости).

### **Контрольные вопросы**

1. Строение яйцеклетки. Оболочки яйцеклеток.
2. Развитие яйцеклеток.
3. Строение яичника млекопитающих и регуляция полового цикла.
4. Классификация яйцеклеток. Способы питания яйцеклеток.
5. Отличия оогенеза от сперматогенеза.

## Лекция 3

---

---

# ОПЛОДОТВОРЕНИЕ

### История вопроса

К. Бэр в «Комментарии» к сочинению «Об образовании яйца млекопитающих и человека» (1828) предвосхитил правильное понимание сущности процесса оплодотворения, правда в форме натурфилософского обобщения. Бэр, в частности, указывал, что сперматозоид, «победивший в неустанной борьбе», стремится к «соединению с яйцом». Это, по сути, верное утверждение не нашло признания, так как в то время не были установлены происхождение и природа сперматозоидов, так же как и факт проникновения сперматозоида внутрь яйца и соединения с ним.

В 1841 году К. Лаллеман в книге «Наблюдение над ролью сперматозоидов при зарождении» высказал мнение (основанное на данных по изучению образования и развития сперматозоидов), что зародыш может образоваться лишь в результате слияния яйца и сперматозоида. Материал классических работ А. Кёлликера (1841, 1847) послужил толчком к изучению роли сперматозоидов в процессе оплодотворения яйца. На основании обобщения результатов изучения оплодотворения у различных видов животных, проведенных многими учеными, а также собственных данных Ф. А. Пуше пришел (1847) к выводу, что сперматозоиды, проникнув в матку, а затем в яйцеводы, оплодотворяют яйца.

Однако и после этих работ правильное представление о сущности процесса оплодотворения часто оспаривалось. Данные исследований Т. Бишофа (1847) показывали, что сперматозоиды, накапливаясь в большом количестве в наружной прозрачной оболочке яйца, вступают в контакт с его желточной оболочкой, не проникая внутрь. Это явилось основой для создания А. Кёлликером контактно-каталитической теории оплодотворения, получившей широкое распространение. Согласно ей оплодотворяющим началом служит некое гипотетическое вещество, выделяемое сперматозоидами при контакте с желточной оболочкой яйца. Главным недостатком указанной теории было то, что она не объясняла, каким образом наследственные задатки самца могут передаваться образуемому из яйца зародышу.

Однако еще в 1843 году, а потом и по прошествии нескольких лет (1850 г.) М. Берри описал свои наблюдения за процессом внедрения сперматозоида в яйцо кролика, утверждая, что после объединения мужского и женского зарождающего начала происходит дробление яйца на две части.

В монографии «О размножении аскарид» (1851—1852) Х. Нельсон также описывал, что сперматозоиды при встрече в яйцевом с яйцом прилипают к его оболочке по всей поверхности и постепенно внедряются в желток яйца. Ученые того времени единодушно отмечали, что после проникновения сперматозоидов в яйцо их едва можно обнаружить под микроскопом. Это привело к очередным сомнениям в правильности описанных наблюдений за процессом оплодотворения.

Лишь в 1854 году появились монографии Ф. Кебера и Р. Вагнера, а годом позже обстоятельное экспериментальное исследование Г. Мейснера. В них убедительно доказывалось проникновение сперматозоидов в яйца, описывались их последующие превращения и протекающие одновременно сложные изменения в структуре яиц, за которыми происходили последовательные дробления яйца.

Таким образом, в 50-х гг. XIX столетия факт проникновения сперматозоида в яйцо был окончательно доказан. Было также дано первоначальное описание картины превращений сперматозоидов и яиц при их соединении.

## Общая характеристика оплодотворения

После своего выхода из гонад как яйцеклетка, так и спермий обречены на гибель в течение считанных часов, если они не отыщут друг друга и не сольются в единое целое в ходе процесса оплодотворения. Впоследствии, активированная проникновением сперматозоида, яйцеклетка приступает к осуществлению своей программы развития.

**Оплодотворение** — слияние сперматозоида с яйцеклеткой, завершающееся объединением их ядер в единое ядро оплодотворенного яйца (**зиготы**). У подавляющего большинства животных при нормальном развитии именно оплодотворение служит толчком к выходу яйцеклетки из анабиотического состояния, в котором она находится на последнем этапе стадии созревания (подробнее см. «Строение и развитие женских половых клеток»).

Готовность яйцеклеток к оплодотворению определяется выделением направительных телец. Сперматозоиды проникают в яйцеклетку на разных этапах этого процесса: до выделения (круглые черви), в момент выделения (млекопитающие, включая человека) и после их выделения (иглокожие).

Оплодотворение осуществляет две разные функции:

- половую (комбинирование генов двух родителей) — включает передачу генов от родителей потомкам;

- репродуктивную (создание нового организма) — включает инициацию в цитоплазме яйца тех реакций, которые позволяют продолжать развитие.

Важная роль в процессе оплодотворения принадлежит сперматозоиду, он необходим:

- для активации яйца, побуждения его к началу развития (данная функция неспецифична: в качестве активирующего фактора сперматозоид может быть заменен рядом физических или механических агентов, см. также «Партеногенез»);

- внесения в яйцеклетку генетического материала отца.

Существует несколько принципов классификации процесса оплодотворения:

*по месту проникновения сперматозоида в яйцеклетку:*

- наружное (оплодотворение происходит во внешней среде);
- внутреннее (оплодотворение происходит в половых путях самки);

*по количеству сперматозоидов, участвующих в оплодотворении:*

- моноспермное (один сперматозоид);
- полиспермное (два и более сперматозоидов).

У ряда беспозвоночных, рыб, хвостатых амфибий и птиц возможна полиспермия, когда в яйцо проникает несколько сперматозоидов, однако с ядром яйцеклетки сливается ядро *одного* спермия.

Продолжительность жизни сперматозоидов и яйцеклеток относительно невелика как при наружном, так и при внутреннем оплодотворении. Яйцеклетки многих беспозвоночных, а также рыб и амфибий должны быть оплодотворены сразу же после овуляции.

К моменту встречи с яйцеклеткой сперматозоид должен сохранять не только активное движение, но и свою оплодотворяющую способность. Как правило, они теряют ее раньше, чем способность к движению. Так, у морского ежа оплодотворяющая способность сперматозоидов сохраняется в течение 30 часов, а жизнеспособность в течение двух суток.

Оплодотворяющая способность спермы зависит от многих факторов: концентрации в ней сперматозоидов, температуры, рН среды (в щелочной среде спермии более активны, но быстро растрачивают энергию и раньше погибают, а в кислой их активность меньше, но продолжительность жизни больше).

Конкретные особенности оплодотворения очень сильно варьируют у различных видов. Взаимодействие половых клеток (гамет) канонически подразделяют на четыре стадии (фазы):

- дистантные взаимодействия;
- контактные взаимодействия;
- проникновение сперматозоида в яйцеклетку;
- слияние генетического материала.

## Дистантные взаимодействия гамет

Осуществляются на некотором расстоянии, до соприкосновения гамет друг с другом. Они направлены на повышение вероятности встречи сперматозоидов и яйцеклетки. Характерны для водных организмов с наружным типом оплодотворения. При этом животные сталкиваются со следующими проблемами:

- осуществление встречи спермиев и яиц при их низкой концентрации в среде;
- предотвращение оплодотворения яиц спермиями другого вида.

В ходе эволюции выработалось соответственно два механизма для решения поставленных задач. Это видоспецифичное привлечение спермиев и видоспецифичная их активация.

Уже в ходе ранних исследований процесса оплодотворения возникло представление о **гамонах** — веществах, обеспечивающих активацию или блокирование отдельных его этапов. Яйцеклетка способна продуцировать *гиногамоны*, а сперматозоид — *андрогамоны*. Полагали, что гиногамон I — низкомолекулярное вещество небелковой природы, которое активировывает движение сперматозоидов (повышая тем самым вероятность их встречи с яйцом), преодолевая действие андрогамона I, подавляющего подвижность спермия. Гиногамон II, часто именуемый *фертилизин*ом, — гликопротеин, расположенный в периферической области яйца и вызывающий связывание его со сперматозоидами при взаимодействии с комплементарным ему андрогамонном II (*антифертилизин*ом), встроенным в поверхностную оболочку спермия, способным разжижать студенистое вещество и растворять оболочку яйца, из-за чего его зачастую отождествляют с гиалуронидазой. Гипотезы оплодотворения, основанные на идее о взаимодействии фертилизина с комплементарным ему антифертилизином, сыграли положительную роль, поскольку позволили обнаружить существование целого семейства специфических молекул на поверхности взаимодействующих гамет (см. далее).

Видоспецифичное привлечение спермиев доказано для многих животных: кишечнополостных, моллюсков, иглокожих и первичнохордовых. Оно представляет собой род **хемотаксиса** — движения по градиенту концентрации какого-либо вещества. В 80-х гг. XX века удалось идентифицировать два видоспецифичных аттрактанта сперматозоидов морских ежей — **сперакт** и **резакт**. Оба вещества, выделенные из студенистой оболочки яиц, относятся к пептидам и содержат 10 и 14 аминокислотных остатков соответственно. При взаимодействии со спермиями они стимулируют их метаболизм и увеличивают подвижность мужских гамет.

## Контактные взаимодействия гамет

Как следует из названия, данная стадия начинается с момента контакта сперматозоида с третичной оболочкой яйцеклетки.

Первым ее этапом является **акросомная реакция** (рис. 12).

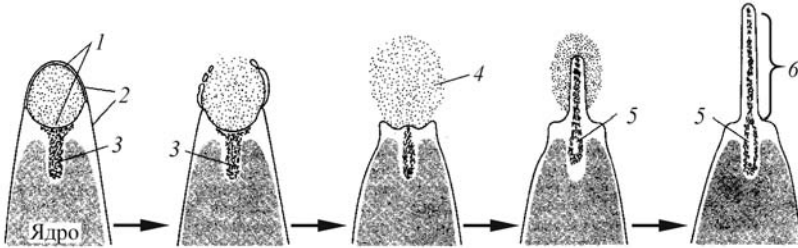


Рис. 12. Акросомная реакция спермия морского ежа  
(по Гилберту, 1993):

1 — акросомная мембрана; 2 — плазматическая мембрана спермия; 3 — глобулярный актин; 4 — акросомные ферменты; 5 — актиновые микрофиламенты; 6 — акросомный вырост

У морского ежа ее инициируют сульфатированные полисахариды студенистой оболочки — вызывают поступление  $\text{Ca}^{2+}$  в головку спермия. Это приводит к запуску процесса экзоцитоза, в результате которого акросомная мембрана сливается с цитоплазматической мембраной спермия и содержимое акросомного пузырька (прежде всего литические ферменты) выделяется в окружающую среду. Помимо этого активируется  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -обменник, что приводит к снижению внутриклеточной концентрации протонов.

В результате повышения внутриклеточного pH наблюдается усиление полимеризации глобулярного актина и формирование актиновых филаментов, т. е. образование **акросомного выроста**. Помимо этого высокий уровень pH активирует динеиновую АТФ-азу в шейке спермия, что приводит к увеличению подвижности спермия. Однако удлинение акросомального выроста связано не только с полимеризацией актина. Приток внутрь клетки ионов кальция, натрия и хлора повышает количество осмотически активных молекул в головке спермия, что приводит к притоку в него воды. Вызванное этим резкое повышение гидростатического давления, вероятно, также способствует удлинению акросомального выроста.

*Второй* этап контактного взаимодействия гамет связан с узнаванием спермия и яйца.

На поверхности формирующегося акросомного выроста располагается белок (**биндин**), ответственный за видоспецифичное узнавание у морских ежей. На желточной оболочке яйца находится гликопротеиновый ком-

плекс, способный образовывать связи с биндином. Таким образом, узнавание гамет у морского ежа происходит на двух уровнях: активации акросомной реакции и прикрепления спермия к желточной оболочке.

Контактные взаимодействия гамет у млекопитающих имеют ряд особенностей, связанных с наличием у них внутреннего оплодотворения. При этом половые пути самки принимают активное участие в процессе оплодотворения.

Спермии млекопитающих сразу после эякуляции не способны к акросомной реакции, для этого они должны какое-то время находиться в половых путях самки. Так, лизин, содержащийся в сперматозоидах всех млекопитающих и разрушающий прозрачную оболочку (так называемый **акролизин**), активируется только под действием гликопротеина из половых путей самки. Условия, требующиеся для **капацитации** (приобретение спермием оплодотворяющей способности), варьируют в зависимости от вида.

Природа процесса капацитации заключается:

- в изменении структуры клеточной мембраны;
- удалении с поверхности спермия особых факторов, так называемых coating factors, которые, оставаясь на поверхности, препятствуют оплодотворению.

Перестройки клеточной мембраны связаны с изменением соотношения холестерин : фосфолипиды. Снижение этого соотношения в ходе капацитации обусловлено уменьшением содержания холестерина — молекулы альбумина, имеющиеся в половых путях самки, способны отнимать холестерин у спермия. В результате происходит дестабилизация мембраны акросомного пузырька и как следствие возникает возможность осуществления акросомной реакции.

Поверхность спермия содержит фермент гликозилтрансферазу, способную узнавать концевые остатки N-ацетилглюкозамина на прозрачной оболочке яйцеклетки (рис. 13).

В спермиях, не прошедших капацитации, активные центры этого фермента блокированы связанными с их поверхностью углеводами, включающими остатки N-ацетилглюкозамина (NAc) и галактозы (Гал). При капацитации эти углеводы отделяются от поверхности спермия, освобождая активные центры галактозилтрансфераз.

Теперь галактозилтрансферазы могут узнавать N-ацетилглюкозаминовые остатки в молекуле гликопротеина, расположенного на поверхности прозрачной оболочки и представляющего, по сути, рецептор спермия.

У млекопитающих активация сперматозоида не сопровождается ни образованием микроворсинок, ни образованием акросомного выроста. У них акросомная реакция заключается в диссоциации наружной мембраны головки сперматозоида и мембраны акросомы, но не на апикальной поверх-

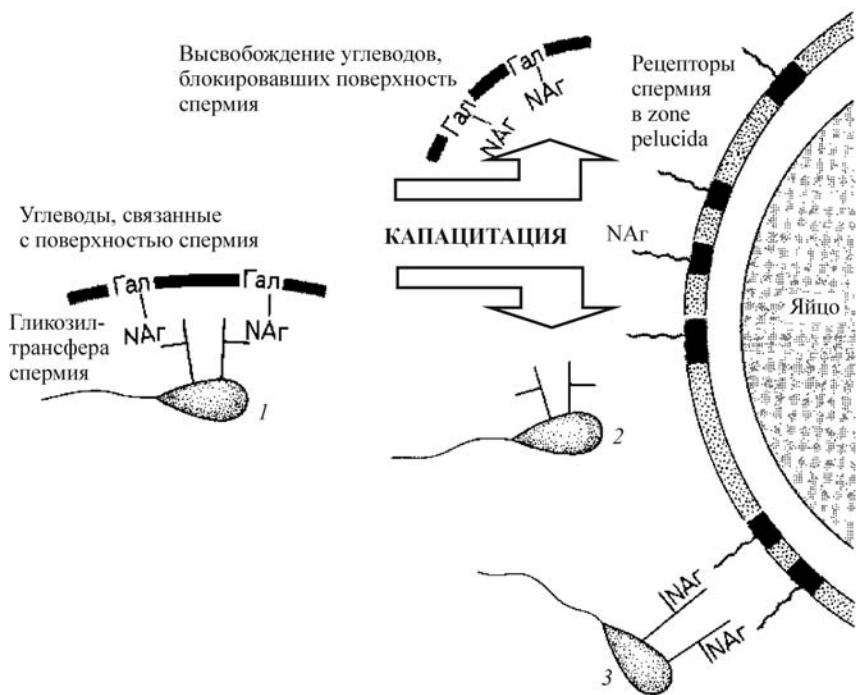


Рис. 13. Модель узнавания спермием и яйцом друг друга у млекопитающих (модель капацитации) (по Гилберту, 1993):

1 — спермий, не прошедший капацитации; 2 — капацитированный спермий со свободной гликозилтрансферазой; 3 — капацитированный спермий, прикрепляющийся к NAG-остаткам гликопротеина *zona pellucida*

ности, а на поверхности, расположенной вдоль головки сперматозоида. Это связано с тем, что сперматозоид контактирует с яйцом не вершиной, а боком. Далее ферменты акросомы растворяют клетки лучистого венца, после чего сперматозоид вступает в контакт с блестящей оболочкой.

Блестящая оболочка яйцеклетки образована тремя типами белков: ZP1, ZP2 и ZP3. Последние два белка расположены параллельно поверхности яйца, а ZP1 сшивает эти белки, находясь перпендикулярно по отношению к ZP2 и ZP3. Контакт с ZP3 осуществляется при взаимодействии с тремя типами рецепторов спермия: терминальной галактозой, N-ацетилглюкозаминном, гликопротеином плазматической мембраны и составляет первую часть акросомной реакции. Затем происходит выделение *проакрозина* (протеолитический фермент акросомы), который, взаимодействуя с ZP2, лизирует блестящую оболочку.



Таким образом достигается контакт задней мембраны акросомы и мембраны яйца. Молекулы, участвующие в процессе распознавания у млекопитающих, локализованы в плазматической мембране спермия, тогда как у морских ежей они располагаются в мембране акросомы. Заканчивается реакция активации сперматозоида слипанием задней мембраны акросомы спермия и мембраны яйцеклетки, их разрывом и соединением свободных концов.

В результате у яйца и сперматозоида формируется единая наружная мембрана, ограничивающая канал, через который ядро и проксимальная центриоль сперматозоида проникают в цитоплазму яйцеклетки.

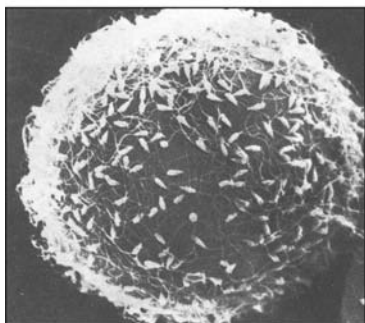
### Проникновение сперматозоида в яйцеклетку

Вслед за узнаванием спермия желточной (прозрачной) оболочкой яйца происходит лизис части этой оболочки в области головки спермия, в результате чего плазматические мембраны спермия и яйца сливаются. Поверхность яйца покрыта микроворсинками, контакт между сперматозоидом и яйцом вызывает полимеризацию актина и увеличение размеров микроворсинок, которые формируют **воспринимающий бугорок**.

Временно существующий воспринимающий бугорок в значительной степени гомологичен акросомному выросту. У морских ежей воспринимающий бугорок может возникать в любой области яйца (рис. 14).

У некоторых амфибий и многих беспозвоночных узнавание спермия и слияние с ним происходит в специализированных областях. Слияние представляет собой активный процесс, часто опосредуемый специфическими «фузогенными» (*fusogenic*) белками. Известно, что такие белки, как НА-бе-

**А**



**Б**

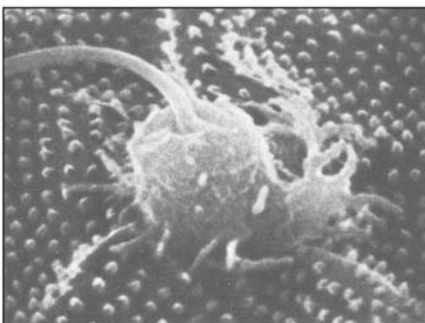


Рис. 14. Оплодотворение у морского ежа (по Гилберту, 1993):  
**А** — спермии, прикрепленные к желточной оболочке яйца; **Б** — спермий вовлекается в яйцо

лок вируса гриппа и F-белок вируса Сендай, способствуют слиянию клеток. Не исключено, что биндин относится к белкам именно такого типа.

**Предотвращение полиспермии.** При нормальном моноспермном оплодотворении гаплоидные ядра спермия и яйца соединяются, образуя диплоидное ядро зиготы, при этом восстанавливается присущее виду число хромосом. Полиспермия (проникновение множества спермиев) приводит у большинства животных к губительным последствиям. Например, у морских ежей при оплодотворении двумя спермиями возникает триплоидное ядро, в котором каждая хромосома представлена *тремя*, а не двумя копиями. Вместо нормального процесса — разделения хромосом с помощью биполярного веретена между двумя дочерними клетками — происходит распределение триплоидного набора между четырьмя клетками. В результате одни клетки получают лишние копии некоторых хромосом, тогда как у других эти хромосомы отсутствуют. Такие клетки либо погибают, либо развиваются атипично.

Существуют механизмы защиты яйцеклетки от полиспермии.

**Быстрый блок полиспермии.** Сразу после контакта первого спермия с плазматической мембраной яйца она (мембрана) должна утрачивать способность сливаться с плазматической мембраной спермия. Быстрый блок полиспермии достигает этой цели путем изменения электрического потенциала плазматической мембраны яйца (рис. 15).

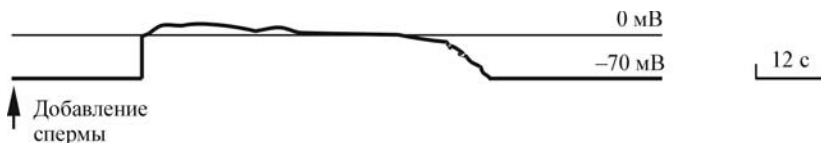


Рис. 15. Мембранный потенциал в яйце морского ежа до и после оплодотворения (по Гилберту, 1993)

В нормальном состоянии на мембране ооцита поддерживается потенциал, равный  $-70$  мВ. В течение  $0,1$  с после прикрепления первого спермия мембрана яйца деполяризуется, при этом мембранный потенциал достигает положительных величин ( $+20$  мВ). Это является следствием резкого изменения  $\text{Na}^+$  проницаемости мембраны, в результате чего положительно заряженные ионы натрия поступают внутрь яйцеклетки (по градиенту концентрации), «уничтожая» отрицательный заряд внутренней стороны цитоплазматической мембраны, тем самым уменьшая исходную ( $-70$  мВ) разность потенциалов.

Открытие натриевых каналов в яйце индуцируется, по-видимому, прикреплением к нему спермия. В настоящее время из спермиев морского ежа выделен акросомный белок, способный открывать натриевые каналы в неоплодотворенном яйце.

**Медленный блок полиспермии.** Быстрый блок полиспермии действует недолго. Мембранный потенциал яйца морского ежа остается положительным только около 1 мин. Это кратковременное смещение потенциала может быть недостаточно для предотвращения полиспермии. Удаление избыточных спермиев, прикрепленных к желточной оболочке, осуществляется посредством **кортикальной реакции**. Этот более медленный блок полиспермии начинает действовать примерно через 1 мин после прикрепления спермия к яйцу.

В яйце морского ежа непосредственно под плазматической мембраной располагаются около 15 000 кортикальных гранул. После контакта спермия с яйцом в присутствии  $\text{Ca}^{2+}$  эти кортикальные гранулы сливаются с плазматической мембраной и выделяют содержимое в область между плазматической мембраной и желточной оболочкой (рис. 16).

Белки, связывающие желточную оболочку и поверхность яйца, разрушаются высвобождающимися пептидазами:

- *вителлиновая деламиназа* — отделяет желточную оболочку от цитоплазматической мембраны яйцеклетки;
- *сперморецепторная гидролаза* — освобождает поверхность яйца от осевших на желточной оболочке сперматозоидов, лизируя сайты их соединения.

Выделяемые мукополисахариды и осмотически активный гликопротеид создают осмотический градиент, обуславливающий поступление воды из цитоплазмы яйца в пространство между желточной оболочкой и плазматической мембраной (**перивителлиновое пространство**). В результате объем яйцеклетки несколько уменьшается, желточная оболочка отделяется от поверхности яйца и с этого момента называется **оболочкой оплодотворения**. В процессе кортикальной реакции она претерпевает ряд изменений:

- воздействие протеаз приводит к изменению свойств биндиновых рецепторов или к их отделению вместе с прикрепленными к ним спермиями;

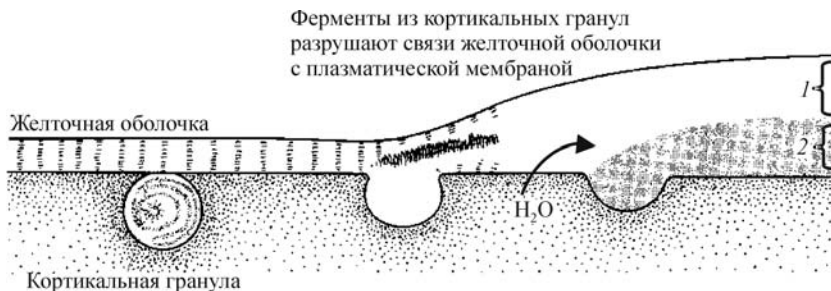


Рис. 16. Формирование оболочки оплодотворения (по Гилберту, 1993):

1 — оболочка оплодотворения; 2 — гиалиновый слой

- пероксидаза, содержащаяся в кортикальных гранулах, вызывает за- твердевание оболочки путем образования поперечных связей между остат- ками тирозина соседствующих белков.

Образование оболочки оплодотворения начинается в месте проникно- вения спермия (примерно через 20 с после прикрепления) и отсюда рас- пространяется по всей поверхности яйца, завершаясь к концу первой мину- ты после прикрепления оплодотворяющего спермия. Одновременно про- исходит выделение **гиалина** — белка, запасенного в кортикальных грану- лах, который образует сплошной слой вокруг яйца. Плазматическая мем- брана взаимодействует с этим белком, и гиалиновый слой поддерживает бластомеры в период дробления.

У млекопитающих кортикальная реакция не вызывает образования обо- лочки оплодотворения, но результат ее оказывается таким же, как и у морских ежей: рецепторы спермиев изменяются, и они больше не удерживают сперма- тозоиды на поверхности яйца. Этот процесс изменения свойств рецепторов спермиев носит название **реакции прозрачной оболочки** или **реакции зона**.

У млекопитающих частота полиспермии бывает минимальной благода- ря малому числу спермиев, достигающих места, где происходит оплодотво- рение. Механизмы защиты от полиспермии, наблюдаемой при оплодотво- рении богатых желтком яиц (некоторые птицы, рептилии, амфибии), когда в цитоплазму проникает несколько сперматозоидов, неясны. При этом все спермии, за исключением одного, разрушаются, после того как женский пронуклеус сольется с мужским.

**Механизм кортикальной реакции** сходен с механизмом акросомной реакции. Прикрепление спермия к плазматической мембране яйца через активацию находящегося в мембране G-белка стимулирует активность друго- го мембраносвязанного фермента — фосфолипазы C. Она, в свою очередь, расщепляет находящийся здесь же фосфатидилинозитол-4,5-бифосфат на диацилглицерол — ДАГ (остаётся связанным с мембраной), и инозитолтри- фосфат — ИТФ (диффундирует в цитоплазму).

Диацилглицерол посредством протеинкиназы C активирует  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -ан- типортер, что приводит к увеличению внутриклеточного pH (натрий входит в клетку, а протон ее покидает) и как следствие активации белкового синте- за, репликации ДНК и перемещения морфогенетических детерминант в ци- топлазме (при участии  $\text{Ca}^{2+}$ ). ИТФ вызывает высвобождение  $\text{Ca}^{2+}$  из внут- риклеточных депо (эндоплазматического ретикулама), что приводит к экзо- цитозу кортикальных гранул и включению медленного блока полиспермии, а также образованию гиалинового слоя вокруг яйца.

Другим  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимым эффектом является активация НАД-киназы, которая катализирует превращение НАД в  $\text{НАДФ}^+$ , что в конечном итоге обеспечивает синтез новых липидных компонентов плазматической мем- браны, необходимых для последующего протекания процесса дробления.

## Слияние генетического материала

У морских ежей головка спермия проникает в яйцо перпендикулярно его поверхности. После слияния мембран сперматическое ядро и центриоль отделяются от митохондрий и жгутика, которые разрушаются и в цитоплазме развивающихся взрослых организмов не обнаруживаются.

Таким образом, митохондрии зародышу передаются только от материнского организма, а центриоли достаются от отцовского, поскольку яйцеклетка утрачивает свои центриоли при последнем делении мейоза.

Ядро яйца после завершения второго деления созревания и приобретения пузыревидной формы называется **женским пронуклеусом**. Сперматическое ядро в цитоплазме яйца деконденсируется и преобразуется в **мужской пронуклеус**.

Ядерная оболочка сперматического ядра распадается на мелкие пузырьки, что делает возможным воздействие цитоплазмы яйца на компактный хроматин спермия. После проникновения спермия в цитоплазму яйца мужской пронуклеус совершает поворот на  $180^\circ$  так, что центриоль спермия оказывается расположенной между мужским и женским пронуклеусом. Ее микротрубочки удлиняются, вступая в контакт с женским пронуклеусом, после чего пронуклеусы перемещаются навстречу друг другу.

У морского ежа в результате слияния пронуклеусов возникает диплоидное ядро **зиготы**. Синтез ДНК инициируется на стадии пронуклеусов (в период их миграции) либо после образования ядра зиготы.

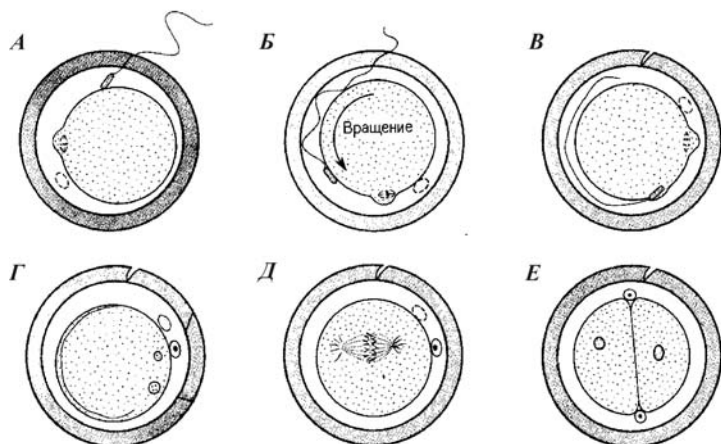
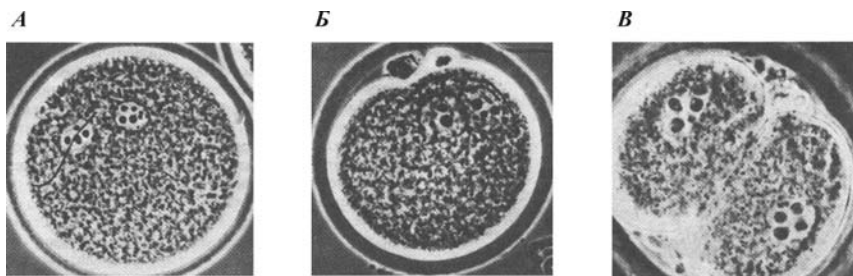


Рис. 17. Схема процесса оплодотворения у хомячка (по Гилберту, 1993):

*А* — спермий прикрепляется к яйцу; *Б* — прикрепление спермия к яйцу и взмахи его хвоста вызывают вращение яйца; *В* — плазматические мембраны спермия и яйца сливаются; *Г* — формируются пронуклеусы; *Д* — начинается первое деление дробления; *Е* — двухклеточный зародыш



*Рис. 18.* Оплодотворение у хомячка (по Гилберту, 1993):  
**А** — проникновение спермия в яйцо и набухание мужского пронуклеуса; **Б** — установление контакта между мужским и женским пронуклеусами; **В** — двухклеточная стадия

У млекопитающих процесс сближения пронуклеусов (рис. 17) продолжается около 12 часов (у морского ежа — всего 1 час). Головка спермия у млекопитающих проникает не перпендикулярно поверхности яйца, а почти по касательной к ней, сливаясь с многочисленными микроворсинками. Пока ядро ооцита млекопитающего завершает второе мейотическое деление, мужской пронуклеус увеличивается в размерах. Затем оба пронуклеуса перемещаются навстречу друг другу, реплицируя ДНК в процессе миграции.

Когда пронуклеусы приходят в контакт, их ядерные оболочки разрушаются (рис. 18). Происходит конденсация хроматина с образованием видимых хромосом, которые (у большинства животных) располагаются на общем митотическом веретене первого деления дробления (центриоли присутствуют в яйцеклетках млекопитающих изначально, а не передаются зародышу от спермия). Таким образом, у млекопитающих истинно диплоидное ядро впервые появляется не у зиготы, а у двухклеточного зародыша.

## Преобразование цитоплазмы яйца

После проникновения сперматозоида скорость метаболизма увеличивается в 70—80 раз, начинаются интенсивные перемещения слоев цитоплазмы яйцеклеток друг относительно друга. Иногда при этом происходит расслоение различных частей ооплазмы — **ооплазматическая сегрегация**. В ходе этого процесса намечаются основные, хотя далеко не все, элементы пространственной организации зародыша. Поэтому данный этап называют *проморфогенезом*, так как именно тогда расставляются вехи для будущих морфогенетических процессов.

У некоторых кишечнополостных сегрегация ограничивается процессом разделения ооплазмы на внешний ободок **эктоплазмы** (содержащий



различные пигменты и бедный питательными включениями) и внутреннюю массу **эндоплазмы** (богата желтком и другими питательными включениями). Уже такое достаточно простое расслоение влияет на последующие процессы развития, определяя в яйцах радиальную установку веретен делений дробления. Так, в яйцеклетках амфибий положение сагиттальной плоскости и проходящей в ней дорсо-вентральной оси определяется именно процессами ооплазматической сегрегации, которые протекают в первые десятки минут после оплодотворения. Реорганизации цитоплазмы зиготы способствуют микротрубочки спермия (при добавлении колхицина перемещения цитоплазматических масс не происходит). В большинстве случаев ооплазматическая сегрегация влияет не на конечную дифференцировку клеток, а на ближайшие этапы развития — дробление и гастрюляцию.

## Партеногенез

Яйца многих животных могут быть активированы естественно или искусственно без участия сперматозоида.

**Партеногенез** — развитие, происходящее без оплодотворения (участия сперматозоида). *Естественный партеногенез* обнаружен у ос, пчел, ряда чешуекрылых, у некоторых видов ящериц и змей, типичен для летних поколений ряда ракообразных и коловраток. Успешные опыты по *искусственному партеногенезу* были выполнены А. А. Тихомировым в 1886 году. Ему удалось стимулировать развитие неоплодотворенных яиц тутового шелкопряда кратковременным нагреванием или потиранием их щеткой. Естественный партеногенез чаще всего случается при незавершенном оплодотворении, т. е. в тех случаях, когда имела место активация яйцеклетки, но ядро сперматозоида не участвовало в оплодотворении. В активированных яйцах используется генетическая информация, содержащаяся только в женском пронуклеусе (**гиногенез**). При искусственном партеногенезе, когда существует возможность экспериментально удалить женский пронуклеус, развитие зародыша может осуществиться только за счет мужского пронуклеуса (**андрогенез**). В указанных случаях потомки целиком наследуют либо признаки матери (при гиногенезе), либо отца (при андрогенезе). Это лишнее раз свидетельствует о том, что наследственные свойства особи определяются в основном ядром, а не цитоплазмой. В большинстве случаев после партеногенетической активации яйцеклетки в ней восстанавливается диплоидный набор хромосом.

У млекопитающих также отмечались случаи вступления яйцеклеток на путь партеногенетического развития — самопроизвольно либо под влиянием активирующего агента (электростимуляция, тепловой шок, этанол). Однако развитие таких зародышей всегда останавливалось на ранних стади-



ях — рождения партеногенетически развившихся особей никогда не наблюдалось. Полноценное развитие партеногенетиков у млекопитающих невозможно, по-видимому, вследствие того, что в женских хромосомах заблокированы (в результате метилирования) определенные участки ДНК, присутствующие в активной форме в мужских хромосомах. Именно поэтому самец не может быть заменен партеногенетическим агентом. Экспериментально показано, что если у мыши при мейозе подавить отделение полярного тельца, то возникнут и начнут развиваться диплоидные яйцеклетки, в которых весь наследственный материал берет начало от материнского организма. Такие клетки делятся и образуют зародышей с хордой, мышцами, скелетом и разными органами, включая бьющееся сердце. Но развитие продолжается недолго — уже на 10—11-е сутки между нормальными и партеногенетическими зародышами обнаруживаются глубокие различия.

Таким образом, хотя у многих животных оба пронуклеуса эквивалентны, у млекопитающих между ними имеются важные функциональные различия. Для завершения развития млекопитающих необходимы оба пронуклеуса: материнский и отцовский.

### **Контрольные вопросы**

1. Общая характеристика, классификация и стадии процесса оплодотворения.
2. Дистантные взаимодействия гамет.
3. Контактные взаимодействия гамет: акросомная реакция и капацитация.
4. Быстрый и медленный блоки полиспермии. Их молекулярные механизмы.
5. Слияние генетического материала. Ооплазматическая сегрегация.

## Лекция 4

---

### ДРОБЛЕНИЕ

#### Биологическое значение и определения

Оплодотворение играет чрезвычайно важную роль в развитии, но оно лишь только первая его ступень. Зигота с ее новым генетическим потенциалом и новым распределением цитоплазмы приступает к созданию многоклеточного организма. У всех известных животных это начинается с процесса **дробления** — серии митотических делений, в результате которых огромный объем цитоплазмы яйца разделяется на многочисленные содержащие ядро клетки меньшего размера. Такие клетки называются **бластомерами**. После объединения хромосомных наборов, являющегося следствием оплодотворения, без всякого перерыва начинается митотическое деление зиготы. За этим первым делением следует серия следующих делений ядер и цитоплазмы, общие свойства которых таковы:

- разделившиеся клетки зародыша не растут, т. е. в промежутке между делениями масса их цитоплазмы не увеличивается — в результате суммарный объем и масса всех возникших клеток не превышает объема и массы яйцеклетки во время оплодотворения;

- количество ДНК в ядре удваивается после каждого деления, как и при обычном митозе, так что все клетки сохраняют диплоидность.

Перетяжки, разделяющие дробящуюся яйцеклетку на все более мелкие клетки (бластомеры), называются **бороздами дробления**. Дробление — это многократные митотические деления зиготы, в результате которых зародыш становится многоклеточным, не меняя при этом существенно своего объема.

Образование многоклеточности — первая и основная биологическая роль дробления. Вторая роль состоит в восстановлении ядерно-плазматического отношения, которое падает в ходе стадии большого роста ооцита. Видовые особенности процесса дробления определяются двумя основными параметрами:

- количеством и распределением желточных белков в цитоплазме (желток подавляет дробление);

- присутствием в цитоплазме факторов, которые влияют на ориентацию митотического веретена и время его образования.

Дробление начинается вскоре после оплодотворения и заканчивается, когда у зародыша достигается новое равновесие между ядром и цитоплазмой. Дробление — строго координированный процесс, находящийся под генетическим контролем.

## **Отличие дробления от деления соматических клеток**

В большинстве других случаев клеточной пролиферации в период между митозами происходит рост клеток. Клетка увеличивается в объеме почти вдвое и затем делится. Такой рост приводит к увеличению общего объема клеток при сохранении относительно постоянного отношения объема ядра к объему цитоплазмы.

В период дробления зиготы объем цитоплазмы не возрастает: огромная масса цитоплазмы зиготы разделяется на все более мелкие клетки. Это деление цитоплазмы яйца, не сопровождающееся ростом, осуществляется путем выпадения  $G_1$ -периода в интерфазе, тогда как митозы следуют друг за другом с большой скоростью.

Темпы увеличения числа клеток в период дробления намного выше, чем на стадии гастрюляции. Одним из последствий высокой интенсивности делений в процессе дробления является постепенное уменьшение отношения объема цитоплазмы к объему ядра. Изменение скорости, с которой происходит снижение отношения объема цитоплазмы к объему ядра, у многих типов зародышей является решающим фактором, определяющим время активации некоторых генов.

От митотического деления соматических клеток дробление отличается тем, что полученные в результате дробления клетки не растут, а поэтому с каждым следующим делением становятся всё более мелкими, при этом увеличивается только их количество, а зародыш в целом не растет. Получающиеся при дроблении клетки малодифференцированы и сравнительно однородны.

Период синхронных делений дробления характеризуется укороченными клеточными циклами, из которых фактически выпадает пресинтетический, или  $G_1$ -период, а также постсинтетический, или  $G_2$ -период (рис. 19).

Глубокие изменения в клеточном метаболизме частично связаны с циклическим чередованием окисленной и восстановленной конформации белков, обусловленной S-S и S-N группами. Свободные сульфгидрильные группы в наибольшем количестве имеются в делящихся бластомерах и в наименьшем в то время, когда клетки не делятся.

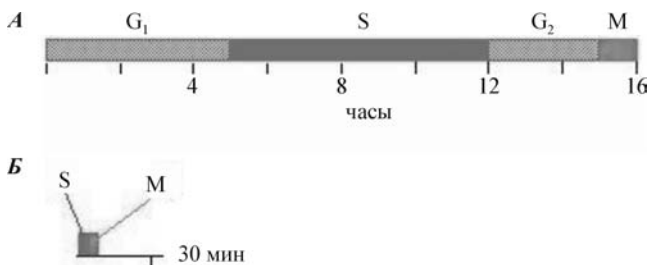


Рис. 19. Изменение клеточного цикла при дроблении у амфибий: *A* — нормальный клеточный цикл; *B* — клеточный цикл при дроблении

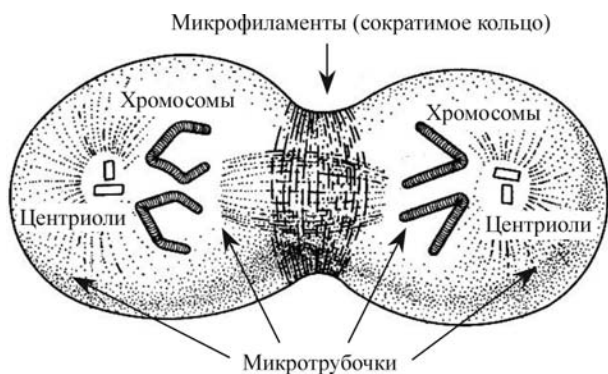


Рис. 20. Схема расположения микротрубочек и микрофиламентов при клеточном делении (по Гилберту, 1993)

Высокая скорость делений яйцеклеток объясняется следующим:

- в яйцеклетках заранее запасены (в период оогенеза) непосредственные предшественники ДНК (цитидин, тимитидин-3-фосфаты, а также ядерные белки гистоны) и мРНК, а в других клетках таких запасов нет;
- ДНК синхронно делящихся бластомеров имеет значительно больше точек инициации репликации, нежели у других клеток эукариот.

Дробление является результатом двух координированных процессов — кариокинеза (митотическое деление ядра) и цитокинеза (деление клетки). Механическим аппаратом кариокинеза является митотическое веретено с его микротрубочками, состоящими из тубулина, а цитокинеза — сократимое кольцо микрофиламентов, состоящих из актина. Микротрубочки распределяют хромосомы по центриолям, тогда как в результате сокращения микрофиламентов происходит перешнуровывание цитоплазмы (рис. 20).

Обычно кариокинез и цитокинез координированы между собой. Локализация борозд дробления определяется положением звезд митотического веретена, а число борозд зависит от числа последних. Дробление протекает нормально, если яйцо содержит две звезды.

При дроблении зародыша происходит образование новых клеточных мембран посредством двух механизмов:

- синтез мембран *de novo*;
- растягивание плазматической мембраны ооцита.

За невероятным многообразием типов дробления скрывается общность функций и механизмов. Во всех случаях кариокинез и цитокинез должны быть скоординированы и яйцо разделено на клеточные области. В итоге восстанавливается характерное для соматических клеток ядерно-плазменное отношение и важная для развития информация распределяется между разными клеточными областями.

## Механизм дробления

Клеточный цикл соматических клеток делится на четыре стадии (фазы). За митозом (М) следует пресинтетический период ( $G_1$ ), после которого происходит синтез ДНК (S). Затем наступает премитотическая фаза ( $G_2$ ), за которой опять следует митоз.

Высокая пролиферативная активность во время дробления обусловлена прежде всего укороченными клеточными циклами. В период синхронных делений дробления они отличаются отсутствием  $G_1$  периода, составляющего у обычных делящихся клеток значительную часть клеточного цикла.

Фаза синтеза ДНК занимает непродолжительный отрезок времени, а удельная доля митоза составляет, как правило, около 50 % (в отдельных случаях до 70—75 %) генерационного времени. Таким образом, главные синтетические процессы, протекающие в синхронно делящихся бластомерах, — синтез ДНК и гистонов.

Укорочение клеточных циклов при дроблении происходит потому, что в  $G_1$  фазе дробящихся эмбрионов отсутствует экспрессия генов, т. е. геном зародыша полностью неактивен. Все синтетические процессы, в том числе и синтез гистоновых белков, идут за счет материнских матричных РНК, накопленных еще в оогенезе. Исключение из этого правила составляют животные с асинхронным дроблением. Так, у млекопитающих некоторые гены эмбриона начинают экспрессироваться уже на стадии двух бластомеров.

Клеточный цикл бластомеров на ранних стадиях дробления в отличие от нормального клеточного цикла может быть гораздо более простым — двухфазным.



Рис. 21. Модель регуляции клеточного цикла бластомеров (по Гилберту, 1993)

Факторы, регулирующие этот цикл, локализованы в цитоплазме. Это те же самые факторы, которые регулировали деления созревания при оогенезе: фактор, стимулирующий созревание (maturation promoting factor, MPF), цитостатический фактор (cytostatic factor, CSF) и ионы кальция.

Показано, что в делящихся клетках уровень активности MPF претерпевает циклические изменения. Активность MPF в бластомерах лягушки на ранних стадиях дробления наивысшая в М-фазе и не выявляется в S-фазе.

Действие MPF осуществляется путем изменения структуры ядерной оболочки. Цитостатический фактор стабилизирует фактор созревания, задерживая клетки в состоянии митоза, а кальций инактивирует цитостатический фактор, стимулируя переход к S-фазе за счет инактивации MPF. При добавлении CSF прекращаются также циклические сокращения кортикального слоя цитоплазмы, а последующая инъекция ионов кальция их стимулирует (рис. 21).

На ранних стадиях развития цитоплазма определяет скорость клеточных делений и продолжительность S- и М-фаз. В период асинхронных делений дробления появляется фаза G<sub>1</sub>, удлиняется продолжительность всех остальных фаз цикла. Начинается синтез различных видов РНК на матрицах ДНК, т. е. пробуждается транскрипционная активность генома зародыша.

Считается, что потеря синхронности дробления связана именно с активацией генома зародыша. В развитии всех животных наступает момент, начиная с которого темпы клеточной репродукции замедляются и происходит десинхронизация делений дробления. Изменение структуры клеточного цикла сопровождается увеличением подвижности бластомеров во время удлинившейся интерфазы и началом транскрипции собственных генов за-

родыща. Этот процесс контролируется ядерно-цитоплазматическим отношением, которое постепенно увеличивается при дроблении.

Гены, внесенные в геном зародыща со сперматозоидом, проявляют свое действие именно в этот период и, во всяком случае, не раньше окончания периода синхронного дробления. Именно в это время зародыш берет свою судьбу в собственные руки и перестает быть генетической копией матери. Поскольку период асинхронности начинается после разного числа делений дробления, то и пробуждение транскрипционной активности начинается при соответственно разном количестве бластомеров: у млекопитающих и круглых червей практически с самого начала развития, у иглокожих — со стадии 32 бластомеров, у амфибий — со стадии бластулы.

## Пространственная организация зародыща во время дробления. Борозды дробления

Закономерности, связанные с наличием и распределением желтка в яйцеклетке и направлением хода борозд дробления, определяются двумя правилами Гертвига — Сакса:

- клеточное ядро стремится расположиться в центре чистой, свободной от желтка цитоплазмы;
- веретено клеточного деления стремится расположиться по направлению наибольшего протяжения свободной от желтка цитоплазмы.

Наиболее общей закономерностью голобластического (см. ниже) дробления мезо- и олиголецитальных яиц является взаимная перпендикулярность (ортогональность) первых трех борозд, причем две проходят по меридианам яйца, а третья — по экватору.

Борозды дробления (рис. 22):

- меридиональная — проходит от анимального полюса зиготы к вегетативному;

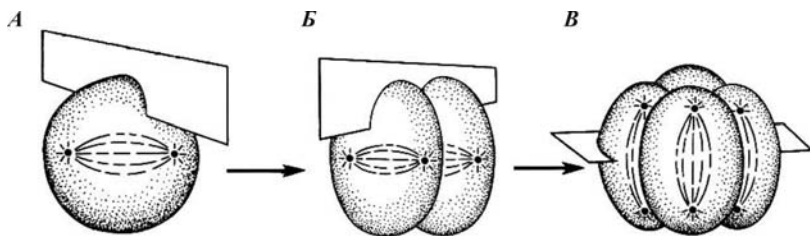


Рис. 22. Ход борозд дробления (по Гилберту, 1993):

*A* — первая меридиональная борозда; *B* — вторая меридиональная борозда; *V* — широтная борозда



- экваториальная (ее аналогом является широтная борозда, смещенная по отношению к экваториальной в направлении к анимальному полюсу из-за перегруженности желтком вегетативного полюса) — проходит по экватору зиготы;

- тангенциальная — проходит параллельно поверхности зиготы, в результате чего образуется многослойный зародыш.

Следует заметить, что скорость прохождения борозд дробления всегда обратно пропорциональна количеству желтка в клетке (иногда данное положение называют третьим правилом дробления). Дробление у разных многоклеточных протекает различно. Это зависит от особенностей строения яйцеклеток, прежде всего от количества и расположения в них желтка, что и лежит в основе классификации типов дробления.

## Классификация типов дробления

Существует несколько типов классификации процесса дробления.

По характеру образования и расположению бластомеров:

- полное (**голобластическое**) — характерно для зигот, содержащих мало желтка (мезо- и изолецитальные яйца), при этом борозды дробления проходят через все яйцо, а имеющийся у них желток включается в вегетативные бластомеры;

- неполное (**меробластическое**) — характерно для зигот, содержащих большие запасы белков желтка (полилецитальные яйца), при этом борозды дробления не проникают в богатую желтком область цитоплазмы.

В зависимости от размеров образовавшихся бластомеров:

- равномерное — бластомеры на анимальном и вегетативном полюсе имеют одинаковые размеры;

- неравномерное — на анимальном полюсе сосредоточены более мелкие бластомеры, чем на вегетативном.

По скорости формирования бластомеров:

- синхронное — при одинаковой скорости образования бластомеров на обоих полюсах зиготы;

- асинхронное — на анимальном полюсе скорость образования бластомеров выше, чем на вегетативном.

Выделяют четыре основных типа голобластического дробления. Данная классификация основана на взаимном пространственном расположении бластомеров:

- радиальное;
- спиральное;
- билатерально-симметричное;
- неправильное (анархическое).

*Радиальный* тип дробления присущ голобластическим хордовым (ланцетник, круглоротые, осетровые рыбы, амфибии), иглокожим и некоторым другим группам.

При этом типе дробления blastomeres разных широтных ярусов располагаются, по крайней мере на ранних стадиях, довольно точно один над другим, так что полярная ось яйца служит осью поворотной симметрии.

Радиальный равномерный тип дробления характерен для яиц иглокожих (рис. 23).

У яйца лягушки наблюдается радиальный неравномерный тип дробления. Борозда первого деления дробления еще не завершила разделения богатой желтком цитоплазмы вегетативного полушария, а борозды второго деления уже закладываются вблизи от анимального полюса. Из-за большой концентрации желтка в вегетативной области борозды третьего деления дробления располагаются значительно ближе к анимальному полюсу (рис. 24).

В результате возникают область быстро делящихся blastomeres вблизи анимального полюса и область более медленно делящихся blastomeres вегетативного полюса.

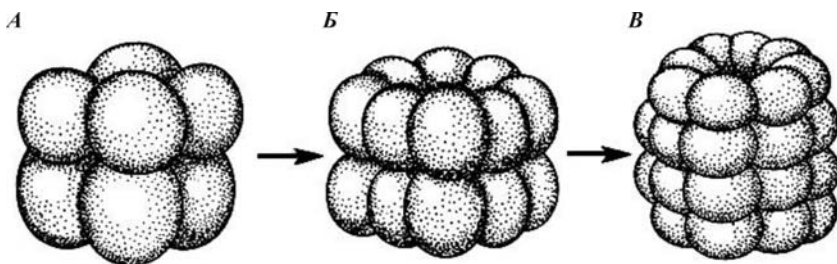


Рис. 23. Голобластическое дробление иглокожих (по Гилберту, 1993):  
*А, Б, В* — последовательные стадии процесса

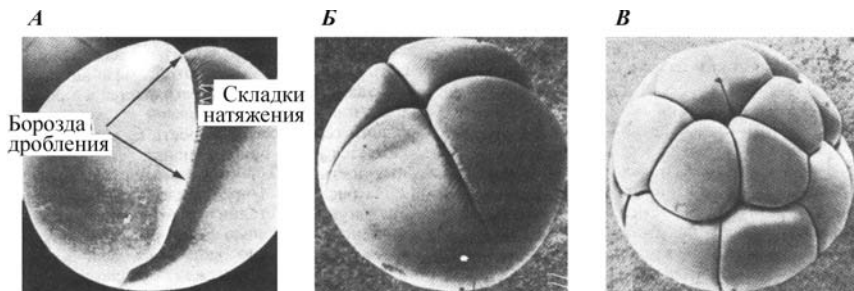


Рис. 24. Дробление яйца лягушки (по Гилберту, 1993):  
*А* — первое деление; *Б* — второе деление; *В* — четвертое деление

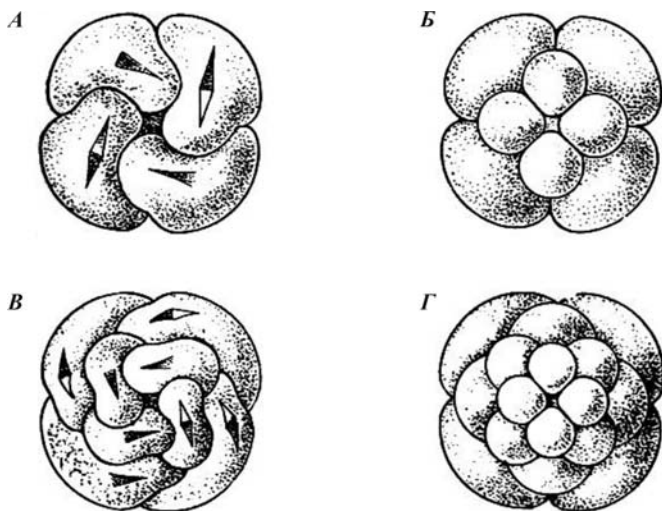


Рис. 25. Схема начальных стадий спирального дробления  
(по Мануиловой, 1973):

*A* — переход от 4 к 8 blastомерам (в клетках видны веретена деления); *Б* — стадия 8 blastомеров; *В* — переход от 8 к 16 blastомерам; *Г* — стадия 16 blastомеров

*Спиральный* тип дробления характеризуется утерей элементов симметрии уже на стадии четырех, а иногда и двух blastомеров и присущ беспозвоночным (моллюски, кольчатые и ресничные черви), объединяемым в группу *Spiralia*.

Свое название этот тип дробления получил из-за того, что при взгляде с анимального полюса последовательно отделяющиеся четверки (квартеты) blastомеров поворачиваются относительно анимально-вегетативной оси то в правую, то в левую сторону, как бы образуя при наложении друг на друга спираль (рис. 25).

Знак спирального дробления, его дексио-(право-) или лео-(лево-) тропность, т. е. «закрученность», определяется геномом матери данной особи. Оно во многом отличается от радиального типа дробления.

Во-первых, яйца не делятся параллельно или перпендикулярно анимально-вегетативной оси. Плоскости делений дробления ориентированы наклонно, что приводит к спиральному расположению дочерних blastомеров.

Во-вторых, число контактов между клетками больше, чем при радиальном дроблении. В-третьих, зародыши со спиральным типом дробления проходят меньше делений до начала гаструляции. Возникающие таким образом blastулы обычно не имеют blastоцели (стерробlastула).

*Билатеральный* тип дробления (круглые черви, оболочники) характеризуется наличием одной плоскости симметрии. Наиболее примечательная особенность этого типа дробления заключается в том, что плоскость первого деления устанавливает единственную плоскость симметрии зародыша (рис. 26).

Каждое последующее деление ориентируется по отношению к этой плоскости симметрии так, что половина зародыша по одну сторону от первой борозды представляет собой зеркальное отражение половины зародыша по другую ее сторону.

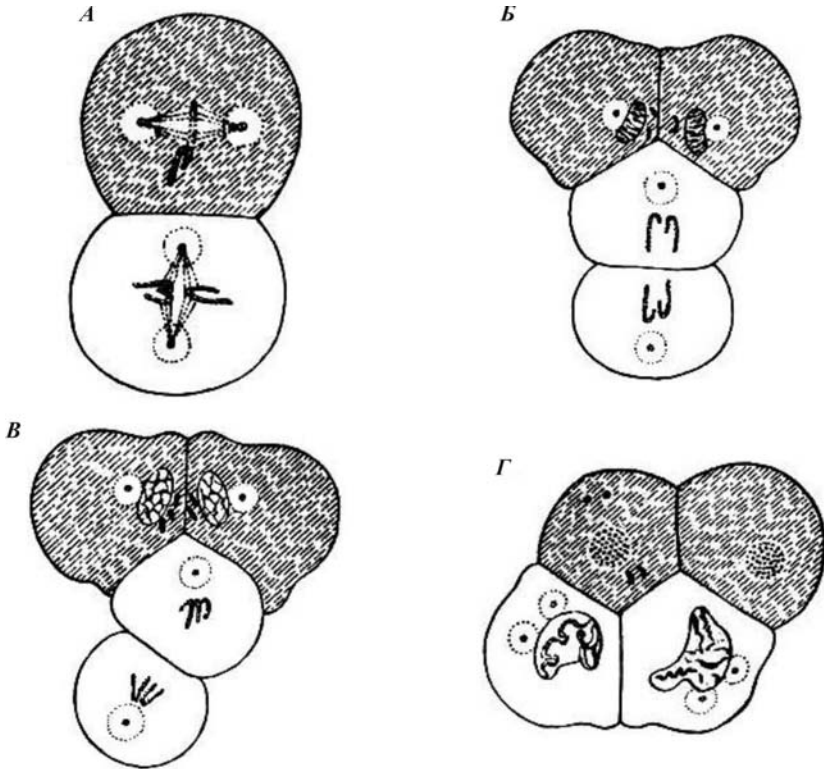


Рис. 26. Дробление яйца аскариды (по Мануиловой, 1973): *А* — стадия двух бластомеров (в клетках видны веретена следующих делений); *Б* — стадия четырех бластомеров до поворота вегетативной пары; *В* — начало поворота вегетативной пары бластомеров; *Г* — ромбическая фигура из четырех бластомеров после завершения поворота (последовательные поколения предков половых клеток —  $P_n$ , где  $n$  — номер поколения)

При билатеральном типе дробления формируется одна плоскость симметрии: первая борозда проходит экваториально, далее анимальный бластомер делится меридиональной бороздой, а вегетативный — широтной. В результате получается Т-образная фигура из четырех бластомеров, не обладающая поворотной симметрией.

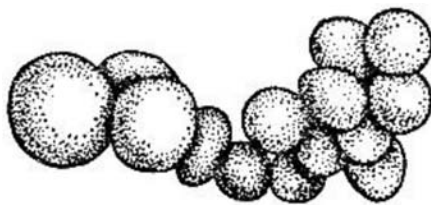


Рис. 27. Анархическое дробление  
(по Токину, 1987)

Путем поворота вегетативной пары бластомеров Т-образная фигура преобразуется в ромбическую. Этот поворот происходит в промежутке между делениями, в интерфазе.

*Анархический* тип дробления присущ кишечноротовым и паразитическим плоским червям. Он характеризуется тем, что бластомеры слабо связаны между собой и располагаются неправильными цепочками (рис. 27).

При этом они могут распадаться, например под ударами волн, но из отдельных участков образуются полноценные зародыши. В результате плотного объединения бластомеров друг с другом в конце дробления образуется морула.

Основными типами меробластического дробления являются:

- поверхностное;
- дискоидальное.

При *поверхностном* дроблении после слияния пронуклеусов ядро зиготы делится на много ядер, которые с небольшим количеством цитоплазмы по цитоплазматическим мостикам переходят во внешний слой свободной от желтка цитоплазмы (периплазму) и равномерно там распределяются (речь идет о централецитальных яйцеклетках). Здесь ядра еще несколько раз синхронно делятся, располагаясь довольно близко друг к другу (рис. 28).

На этой стадии, еще до возникновения клеточных перегородок (так называемой синцитиальной бластодермы), ядра окружаются особыми структурами из микротрубочек, затем деление ядер становится асинхронным, между ними формируются клеточные перегородки и образуется базальная мембрана, отделяющая периплазму от центральной массы желтка. Борозды дробления появляются, но они не заходят глубоко в яйцо. Возникший поверхностный слой клеток называется клеточной бластодермой. Этот тип дробления характерен для большинства насекомых.

*Дискоидальный* тип дробления присущ оплодотворенным полилецитальным и телолецитальным яйцеклеткам рыб, рептилий и птиц (рис. 29).

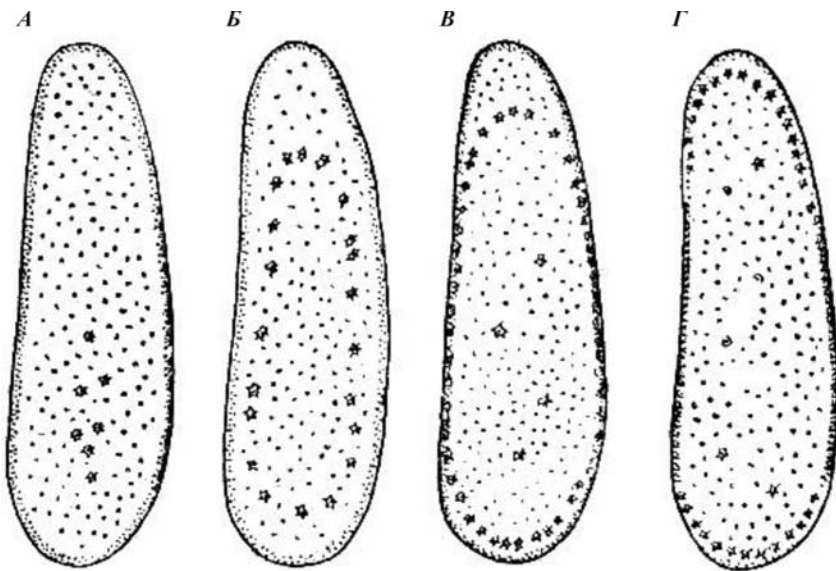


Рис. 28. Стадии поверхностного дробления (по Белоусову, 1993):  
 А, Б — ядра дробления постепенно переходят на поверхность клетки;  
 В, Г — образование перибласта

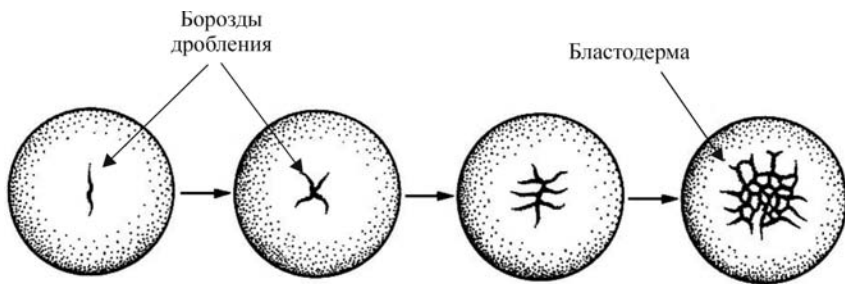


Рис. 29. Дискоидальное дробление куриного яйца  
 (по Гилберту, 1993).

Представлен вид со стороны анимального полюса. Борозды дробления не распространяются на желток, а возникающая бластодерма состоит из одного слоя клеток

Первые две борозды проходят перпендикулярно друг другу, но далее строгий порядок прохождения борозд нарушается. При этом на бластомеры делится лишь тонкий диск цитоплазмы (бластодиск), расположенный на анимальном полюсе.



## Бластула

У многих яйцеклеток еще на ранних стадиях дробления внутренние концы бластомеров расходятся и между ними возникает небольшая, постепенно увеличивающаяся полость дробления (бластоцель). У некоторых типов яйцеклеток бластоцель может достигать значительных размеров. Зародыш на этой стадии развития называется **бластулой**. В ходе дальнейшего развития бластоцель превращается в первичную полость тела, которая является основной полостью тела у низших беспозвоночных. У высших беспозвоночных и позвоночных она почти полностью вытесняется возникающей позже вторичной полостью тела (целомом).

Бластоцель выполняет две функции:

- дает возможность клеткам при гастрюляции мигрировать внутрь зародыша;
- существование бластоцели предотвращает взаимодействие между клетками, которые находятся выше и ниже ее.

Бластоцель — первый возникающий по ходу развития отсек внутренней среды организма, отличающийся по ионному составу от наружной среды. Клетки стенок бластоцели, отгораживающие его от наружной среды, образуют между собой плотные контакты. В обращенной к внешней среде мембране клеток расположены ионные каналы для натрия, хлора и других ионов, обеспечивающие их перенос по градиентам концентрации, а в мембране, обращенной в бластоцель, — ионные насосы, работающие против градиента. В результате  $\text{Na}^+$  и СГ перекачиваются в бластоцель, где возникает их избыток, что создает в бластоцеле повышенное осмотическое давление и обеспечивает перенос воды, повышая в ней тургорное давление. Это давление растягивает поверхность зародыша, что важно для его последующего развития. Избыток  $\text{Na}^+$  в бластоцеле может оказывать влияние на скорость клеточных циклов и стимулировать экспрессию генов в клетках бластулы.

## Типы бластул

Имеется 5 основных типов бластул:

- целобластула;
- бластоциста;
- амфибластула;
- дискобластула;
- перибластула.

**Целобластула** (от греч. *koilos* — пустой) характерна для иглокожих и ланцетника (рис. 30, А). Этот тип бластул отличается тем, что бластомеры на анимальном и вегетативном полюсе почти одинаковы по размеру, тон-

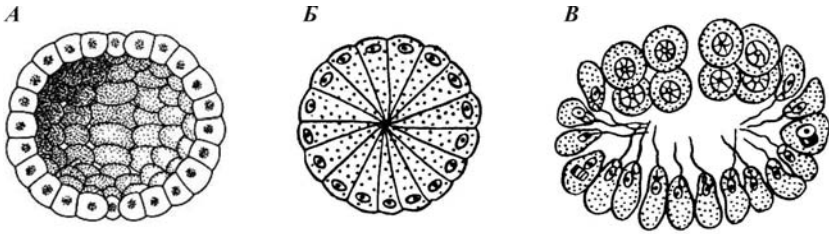


Рис. 30. Типы бластул (по Мануиловой, 1973; Токину, 1987; Белоусову, 1989): *A* — целобластула, поперечный разрез (морской огурец); *Б* — стерробластула, поперечный разрез (ставромедуза); *В* — стомобластула, поперечный разрез (известковые губки)

кую бластодерму формирует один слой клеток. Полость внутри — бластоцель. Выделяют в целобластуле следующие зоны: крыша на анимальном полюсе, дно — на вегетативном, между ними находится краевая, или промежуточная, зона.

Бластула со стенкой равномерной толщины и очень маленьким центрально расположенным бластоцелом (рис. 30, *Б*), встречаемая у некоторых кишечнополостных, моллюсков и червей, называется *стерробластулой* (от греч. *sterros* — твердый, плотный).

Зародышевое развитие некоторых червей, асцидий приводит к образованию *плакулы*. Она имеет вид двухслойной пластинки, образованной однородными клетками. Между слоями располагается полость дробления (бластоцель).

У некоторых кишечнополостных, а также у млекопитающих на ранних стадиях развития бластоцель вообще не возникает, и дробление приводит к образованию плотного скопления клеток — *морулы* (от лат. *morum* — туповая ягода) (рис. 31, *А*).

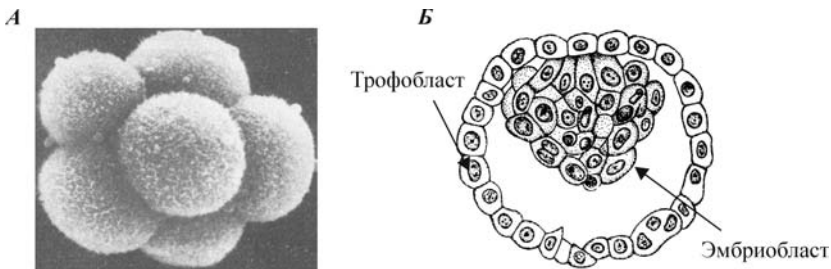


Рис. 31. Типы бластул (по Токину, 1987 и Белоусову, 1993): *A* — морула, внешний вид (мышь); *Б* — бластоциста, поперечный разрез (летучая мышь)



Своеобразным типом бластулы является **стомобластула** (от греч. *stoma* — рот), характерная для зародышевого развития известковых губок (рис. 30, **В**). Она имеет полость в центре и отверстие (*фиалопор*) на анимальном полюсе. Жгутикообразующие полюсы клеток обращены внутрь. По окончании дробления стомобластула выворачивается наизнанку через фиалопор (*экскурвация*), в результате чего образуется покрытая жгутиками амфибластула.

**Бластоциста** характерна для млекопитающих (рис. 31, **Б**). Образуется после прохождения стадии морулы. Она представлена в виде пузырька (от греч. *kystis* — пузырь). Причем в составе этого пузырька имеются две части. Стенку формирует один слой клеток — *трофобласт*. Клетки эти очень светлые, другая часть — темноокрашенные клетки *эмбриобласта*. Трофобласт обеспечивает питание, а эмбриобласт идет на построение тела зародыша.

**Амфибластула** характерна для амфибий и некоторых представителей известковых губок. В отличие от целобластулы бластоцель в амфибластуле смещена к анимальному полюсу вследствие большего количества желтка на вегетативном полюсе. На анимальном полюсе находятся меньшие по размеру клетки — *микромеры*. В области вегетативного полюса располагаются *макромеры*. Так же как и в целобластуле, в амфибластуле выделяют крышу, дно и промежуточную (краевую) зону (рис. 32).

**Дискобластула** характерна для костистых рыб, рептилий и птиц. В результате дискоидального дробления образуется однослойная бластодерма (бластодиск), из которого затем возникает трех- или четырехклеточный пласт.

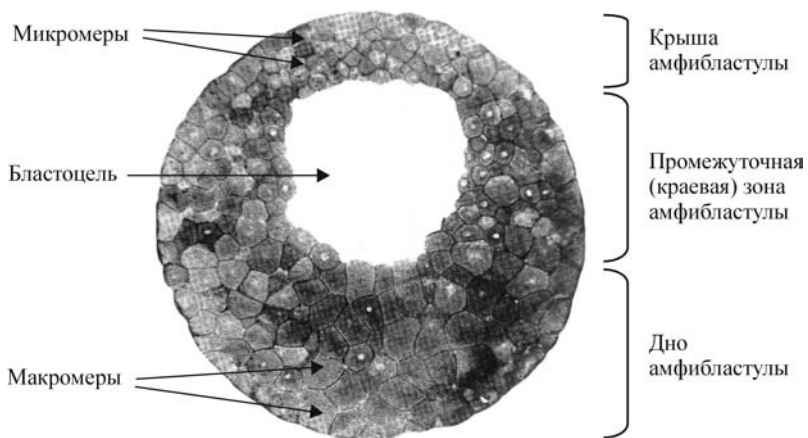


Рис. 32. Амфибластула (по Фалину, 1957)

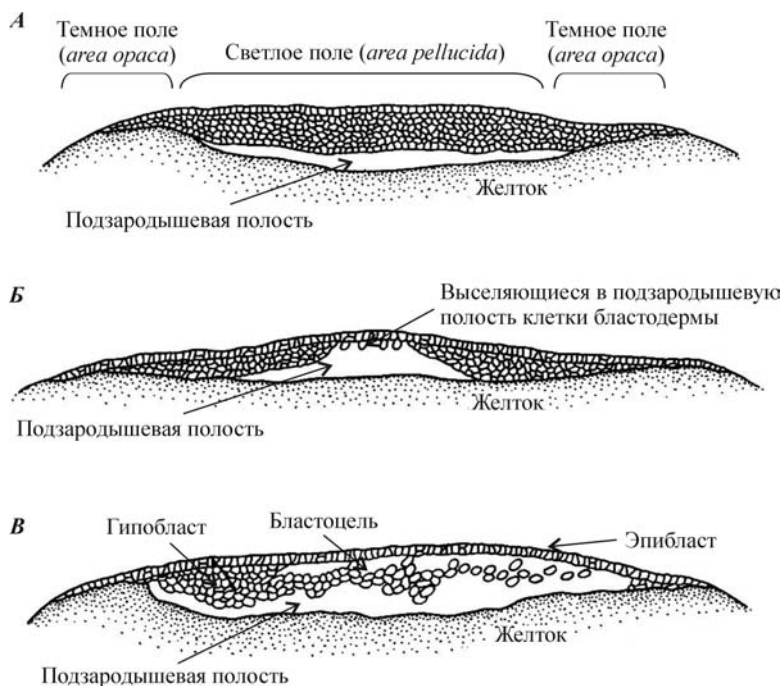


Рис. 33. Дискобластула — образование гипобласта в яйце птицы (по Гилберту, 1993):

**А** — бластодерма, преобразованная в трех- или четырехслойный клеточный пласт; **Б** — начало выселения клеток бластодермы в подзародышевую полость и формирование гипобласта; **В** — завершение образования дискобластулы: формирование эпи- и гипобласта, бластоцели

Бластодерма дискобластулы несколько выгибается над желтком, и между ними формируется подзародышевая полость. На этой стадии четко различимы две области бластодиска: **светлое поле** (*area pellucida*) соответствует той его части, которая располагается над полостью; **темное поле** (*area opaca*) состоит из клеток, расположенных по краю бластодиска и прилежащих к желтку (рис. 33, **А**).

К моменту откладки яйца некоторые из клеток бластодермы выселяются в подзародышевую полость, где образуют второй слой (рис. 33, **Б**). Таким образом, на данной стадии зародыш состоит из **эпибласта** (наружный слой клеток) и лежащего под ним **гипобласта**. Между ними находится бластоцель (рис. 33, **В**).

**Перибластула** характерна для насекомых и представляет собой заключительную стадию поверхностного дробления. **Энергиды** (ядра с окружаю-

щими их островками цитоплазмы) мигрируют на поверхность яйца, где они окружаются новыми плазматическими мембранами. Первыми претерпевают изменения ядра, мигрировавшие к заднему полюсу яйца и образующие полярные клетки зародыша, которые дают начало половым клеткам взрослого организма. Клетки образующейся бластодермы формируют скопление на вентральной поверхности, обозначая место, где возникнут зародышевые листки (*зародышевая полоска*). Эта область дает начало всем клеткам насекомого. Остальные клетки бластодермы образуют внезародышевые оболочки.

Впоследствии именно клеточная организация бластулы определит характер дальнейшего развития зародыша.

### **Контрольные вопросы**

1. Молекулярные механизмы дробления.
2. Типы дробления. Классификация дробления. Борозды дробления.
3. Голобластическое дробление.
4. Меробластическое дробление.
5. Бластула. Типы бластул.

## Лекция 5

---

---

# ГАСТРУЛЯЦИЯ

### Общая характеристика и определения

Гастрюляция представляет собой интегрированный процесс миграции клеток, приводящий к резкому перераспределению содержимого бластулы. В результате образуются зародышевые листки: *эктодерма*, *энтодерма* и *мезодерма*. Зародыш, расчлененный на зародышевые листки, называется **гаструлой**.

Бластула состоит из большого числа клеток, локализация которых определяется еще в период дробления. Во время гастрюляции эти клетки занимают новое положение и приобретают новых соседей. В этот период устанавливается план строения многослойного тела животного. Гастрюляция является промежуточным этапом единого динамического процесса, в течение которого органообразующие участки бластулы перестраиваются так, чтобы затем было легче перейти к органогенезу и сформировать организм. Клетки, которые в будущем образуют энтодермальные и мезодермальные органы, попадают внутрь зародыша, тогда как клетки, из которых возникнут кожа и нервная система, распространяются по его поверхности (органы эктодермального происхождения). Таким образом, три зародышевых листка — наружная эктодерма, внутренняя энтодерма и лежащая между ними мезодерма — впервые формируются в процессе гастрюляции. При этом создаются условия для взаимодействия между ними. Гастрюляция, с которой связаны возникновение различий в клетках и самая ранняя дифференцировка зародыша, сопряжена с экспрессией генов зародыша. Дифференциальную активность генов в процессе гастрюляции отражают понятия компетенции и детерминации.

**Компетентность** — это способность клетки дифференцироваться в нескольких (немногих) направлениях.

**Детерминация** — это состояние, при котором клетка уже вступила на путь определенной дифференциации и находится в самом его начале.

Согласно ныне существующему определению (Ч. Бодемер, 1971), гастрюляция представляет собой ряд морфогенетических движений, в резуль-

тате которых проспективные зачатки тканей (эктодерма, мезодерма и энтодерма) перемещаются в места, предназначенные для них в соответствии с планом организации.

## Способы гастрюляции

Характер гастрюляции в животном царстве необычайно сильно варьирует, однако осуществляется она при участии сравнительно немногочисленных механизмов. При гастрюляции наблюдается сочетание нескольких основных типов движений.

**Инвагинация.** Представляет собой вворачивание участка клеточной стенки зародыша, подобно тому как вдавливается внутрь мягкая стенка резинового мяча, когда на него нажимают. При инвагинации механическая целостность стенки бластулы не нарушается. Впячивание одного из участков бластодермы внутрь осуществляется целым пластом (рис. 34).

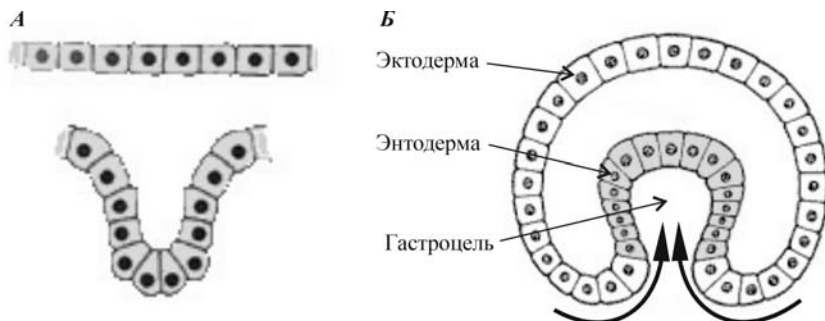


Рис. 34. Схема процесса инвагинации:

А — движение пласта клеток;  
Б — инвагинационная гастрюла

У ланцетника впячиваются клетки вегетативного полюса, а у земноводных инвагинация происходит на границе между анимальным и вегетативным полюсом в области *серого серпа*. Процесс инвагинации возможен только в яйцах с небольшим или средним количеством желтка. В результате образуется двухслойный мешок, наружной стенкой которого является первичная эктодерма, а внутренней — первичная энтодерма.

**Бластоцель** (первичная полость тела, или полость Бэра) постепенно вытесняется, в ходе впячивания образуется **гастроцель** — первичный кишечник, или *архентерон*, а отверстие, при помощи которого он сообщается с внешней средой, называют **бластопором**, или *первичным ртом*. Последний со всех сторон окружен *губами бластопора*.

Судьба blastopora у разных животных неодинакова. У многих животных первичный рот, развиваясь и дифференцируясь, превращается в definitivoный рот взрослого организма — **первичноротые** (черви, моллюски и членистоногие).

Не менее обширна группа **вторичноротых**, у которых blastopora превращается в анальное отверстие (щетинкочелюстные, плеченогие, иглокожие, кишечнодышащие) или в нервно-кишечный канал, находящийся в заднем конце эмбриона (хордовые).

**Инволюция.** Происходит вворачивание внутрь зародыша увеличивающегося в размерах наружного пласта клеток, который распространяется по внутренней поверхности остающихся снаружи клеток (рис. 35).

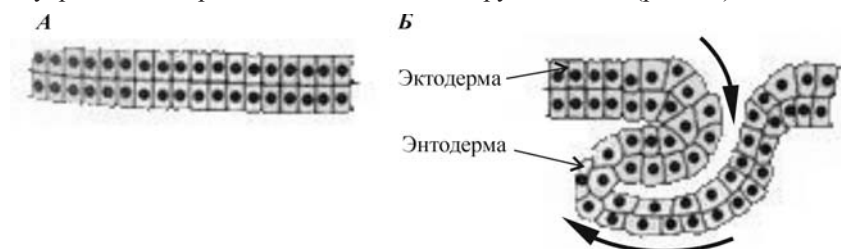


Рис. 35. Схема инволюции:

*А* — исходный пласт клеток; *Б* — движения клеточного пласта в ходе инволюции

**Иммиграция.** Представляет собой наиболее древний способ гастрюляции, открытый И. И. Мечниковым (1886). Иммиграционная гастрюла характерна для многих кишечнополостных. Она развивается вследствие активного выселения (*ингрессии*) части клеток стенки бластулы внутрь blastocela. Это выселение клеток может происходить как с одного (вегетативного) полюса — *униполярная* иммиграция, так и с двух противоположных (анимального и вегетативного) полюсов — *биполярная* иммиграция (рис. 36).

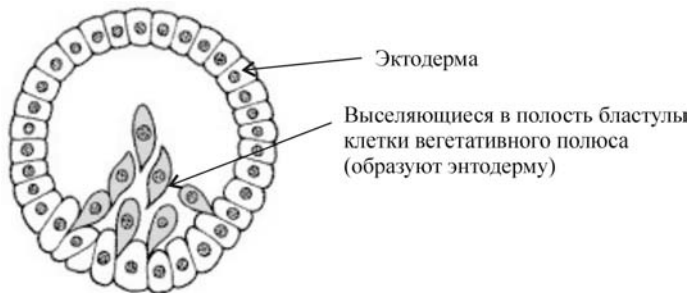


Рис. 36. Униполярная иммиграция (схема)

Иногда процессы иммиграции идут без особого порядка по всей поверхности бластулы — *мультиполярная* иммиграция. Выселившиеся клетки позднее образуют внутренний слой гастреры — энтодерму. Таким образом, как и в ходе инвагинации, зародыш становится двухслойным.

Униполярная иммиграция характерна почти для всех гидромедуз, особенно тех, которым свойственна плавающая целобластула. Би- и мультиполярная иммиграция, напротив, встречаются гораздо реже. У многих кишечноротовых, которым свойственна иммиграционная гастрера, происходит столь массовое, активное выселение клеток бластодермы, что бластоцель полностью заполняется их плотной массой и исчезает. Важной особенностью иммиграционной гастреры является отсутствие бластопора, а значит, нет и характерного для инвагинационной гастреры сообщения гастротелия с внешней средой.

При иммиграции происходит перемещение отдельных клеток или групп клеток, не объединенных в единый пласт. Иммиграция в том или ином виде встречается у всех зародышей, но в наибольшей степени характерна для второй фазы гастрерации высших позвоночных (птиц и млекопитающих).

**Деляминация.** В тех случаях, когда дробление заканчивается образованием бластулы с невыраженной или почти отсутствующей полостью (бластоцелем), например морулы у некоторых кишечноротовых, наблюдается расщепление единого клеточного пласта на два более или менее параллельных. Каждая клетка, образующая бластодерму, путем митотического деления расщепляется и отшнуровывает второй слой (рис. 37).

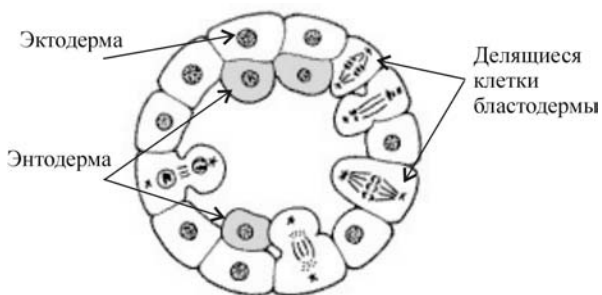


Рис. 37. Деляминация (схема)

При деляминации клеточные перемещения практически отсутствуют. Этот тип гастрерации ограничивается выравниванием внутренних стенок клеток наружного слоя, причем такое выравнивание нередко идет волной от одной соседней клетки к другой. Вдоль выровненных поверхностей формируется базальная мембрана, отделяющая внешний клеточный слой (экто-

дерму) от внутренней массы клеток, которая становится энтодермой. Деляминацию можно наблюдать у зародышей с неполным типом дробления, таких как пресмыкающиеся, птицы, низшие млекопитающие.

**Эпиболия.** Представляет движение эпителиальных пластов клеток (обычно эктодермальных), которые распространяются как одно целое, а не индивидуально и окружают глубокие слои зародыша. Другими словами, происходит обрастание мелкими клетками анимального полюса более крупных, отстающих в скорости деления и менее подвижных, клеток вегетативного полюса (рис. 38).

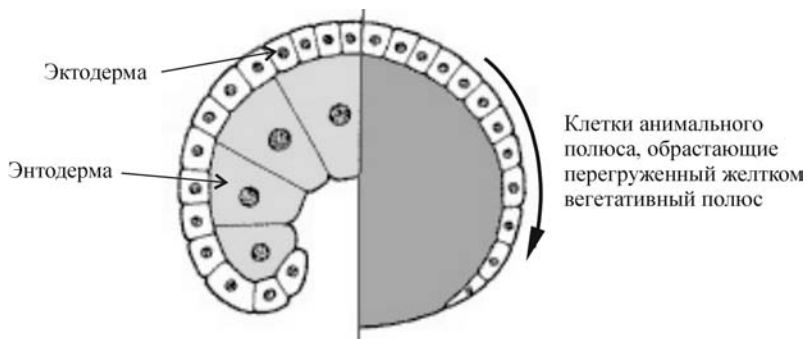


Рис. 38. Эпиболия (схема)

Формирование эпиболической гастрюлы ярко выражено у земноводных и некоторых организмов с резко телолецитальным строением яиц. В результате у зародышей таких животных бластопор отсутствует и архентерон не формируется. Только впоследствии, когда макромеры, делясь, становятся меньшего размера, образуется полость — формируется зачаток первичного кишечника.

В чистом виде указанные способы гастрюляции встречаются крайне редко. В каждом конкретном случае эмбриогенеза, как правило, сочетаются несколько типов движений. В результате принято выделять последний, **смешанный** способ гастрюляции.

## Закладка мезодермы и формирование целома

После завершения гастрюляции материал, оставшийся на поверхности зародыша, формирует наружный зародышевый листок — эктодерму, а погружившийся любым способом внутренний зародышевый листок (энтодерма) образует впоследствии стенку пищеварительного тракта с его производными.



Кроме того, погружившийся внутрь материал помимо энтодермы содержит и закладку среднего зародышевого листка — **мезодермы**, который потом отделяется от энтодермы.

Таким образом, в связи с гастрულიей, параллельно с ней или на следующем, обусловленном ею же этапе у всех животных, за исключением кишечнополостных, возникает мезодерма. Это совокупность клеточных элементов, залегающих между эктодермой и энтодермой, т. е. в бластоцеле. В результате зародыш становится не двухслойным, а трехслойным. У высших позвоночных трехслойное строение зародышей возникает уже в процессе гастрულიи, тогда как у низших хордовых и у всех других типов в результате собственно гастрულიи образуется лишь двухслойный эмбрион.

В настоящее время вопросы образования мезодермы у животных, в общем, могут считаться решенными в плоскости формально-морфологического описания этих процессов. Если отвлечься от разнообразных деталей формирования мезодермы у разных животных, то можно выделить два принципиально разных способа ее образования.

**Телобластический** способ. У первичноротых во время гастрულიи на границе между эктодермой и энтодермой, по бокам бластопора, уже имеются две большие клетки (или несколько таких клеток) — телобласты, получившие в ходе делений дробления всю полярную ооплазму. Впоследствии они отделяют от себя мелкие клетки и формируют, таким образом, средний пласт — мезодерму. Постепенно телобласты, давая новые и новые поколения клеток мезодермы, отодвигаются к заднему концу зародыша. По этой причине такой способ закладки называют телобластическим.

Телобластический способ закладки мезодермы встречается преимущественно у спирально дробящихся форм. В результате из потомков 2d и 4d бластомеров возникает пара так называемых *мезодермальных полосок*. Позже они подразделяются на парные структуры — **сомиты**, внутри которых путем расхождения клеток образуются участки *вторичной полости тела*, или **целома**. Такой способ образования полостей называется *шизоцельным* или *кавитационным*. В результате такого способа закладки мезодерма никак не связана с энтодермой, образующейся из других бластомеров. Закладка мезодермы из отдельных, предназначенных к этому бластомеров имеет также место у большинства круглых червей, некоторых ракообразных и в ряде других групп первичноротых животных.

**Энтероцельный** способ. Принципиально другой способ закладки мезодермы наблюдается у вторичноротых животных: иглокожих, бесчерепных (ланцетника), кишечнодышащих, плеченогих, хордовых. Материал будущей мезодермы вворачивается вместе с энтодермой в составе единого гастрального впячивания, и в процессе инвагинации граница между обеими закладками, как правило, неразличима. Прослеживая судьбу закладок в обратном, ретроспективном порядке, от поздних стадий развития назад к ран-

ним, можно выяснить, какую часть гастрального впячивания выстилает материал будущей мезодермы. Такое впячивание, включающее в себя материал и энтодермы, и мезодермы, а у хордовых еще и хорды, называется первичным кишечником, тогда как гастроцель представляет собой полость первичной кишки.

Мезодерма выселяется из архентерона:

- путем выпячивания его стенок и отшнуровки возникших выпячиваний;

- путем деляминации стенки архентерона;

- путем иммиграции клеток из стенки архентерона.

После отделения мезодермы в составе стенки архентерона остается уже чисто энтодермальный материал и архентерон превращается в полость дефинитивной кишки. Полость отшнуровавшихся мезодермальных карманов — это целом.

У всех животных, которым свойственна вторичная полость тела, начало целомическим мешкам дает мезодерма. При энтероцельном происхождении мезодермы целомические мешки образуются путем изменения и последующей дифференцировки карманоподобных выпячиваний архентерона, а при телобластическом способе образования — за счет расхождения мезодермальных тяжей. В обоих случаях целомические мешки формируются симметрично по бокам кишечника.

Таким образом, в ходе развития зародыша формируются различные полости, имеющие важное морфогенетическое или функциональное значение. Сначала появляется полость бластулы. Затем в связи с процессами гастрюляции возникает гастроцель, наконец у многих животных вторичная полость тела — целом. При образовании гастроцели и целома бластоцель все больше уменьшается, так что от нее остаются лишь щели в промежутках между стенками кишки и целома. Эти щели у некоторых животных превращаются в полости кровеносной системы. Гастроцель же со временем превращается в полость средней кишки.

Процессы гастрюляции непосредственно предшествуют периоду органогенеза. У одних животных закладываются органы и системы органов, приобретающие постепенно дефинитивное значение, у других животных формируются сначала органы, свойственные личинке, а затем совершается метаморфоз и происходят процессы формирования дефинитивных органов взрослого организма. У нематод и некоторых других животных применять понятие «зародышевые листки» неправомерно, так как у них зачатки будущих органов обособляются в виде отдельных бластомеров, минуя стадию формирования клеточных зародышевых пластов.

Сердцевину ствола эволюционного дерева первичноротых животных образует группа с телобластической закладкой мезодермы, хотя у члени-

тоногих телобластичность почти утрачена. С другой стороны, у основания ствола вторичноротых животных, находятся иглокожие и бесчерепные с их ярко выраженной энтероцельностью, а у большинства хордовых энтероцельность затушевана.

## Презумптивные карты зародышей

Какое положение займут различные области бластулы после завершения гастрюляции и какова их окончательная судьба?

Для выяснения этого вопроса большое значение имела предложенная немецким эмбриологом В. Фогтом (1929) методика маркировки частей зародыша. При этом на поверхность бластулы наносят метки красками или другими веществами и, прослеживая движение меток в ходе гастрюляции, отмечают на схеме бластулы или ранней гастрюлы судьбу каждой меченой точки (рис. 39).

В качестве красящих веществ используют нейтральные краски — нильский голубой, нейтральный красный, метиленовый синий и другие.

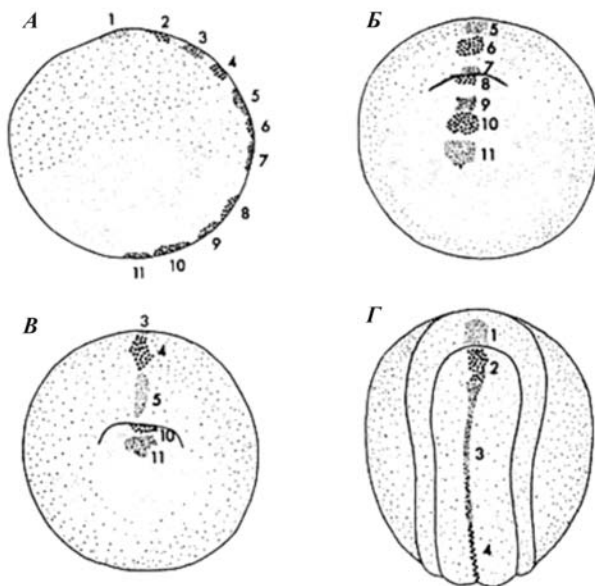


Рис. 39. Маркировка частей зародыша (по Фогту, 1929): А—Г— последовательные стадии развития зародыша амфибий. Цифрами указано положение участков эмбриона, окрашенных разными итальными красителями

Современные методы маркировки эмбриональных тканей позволяют получать карты презумптивных зачатков не только для стадии бластулы, но и для более ранних стадий развития. При этом используют инъекции в отдельные бластомеры флуоресцентных красителей, которые затем выявляются у потомков при рассматривании срезов в люминесцентном микроскопе. Таким способом были составлены карты презумптивных зачатков органов для различных представителей животного мира.

## Зародышевые листки и их производные

В результате гастрюляции образуется 3 зародышевых листка: **эктодерма**, **энтодерма** и **мезодерма**. Вначале состав каждого зародышевого листка однороден. Затем зародышевые листки, контактируя и взаимодействуя, обеспечивают такие взаимоотношения между различными клеточными группами, которые стимулируют их развитие в определенном направлении. Это так называемая *эмбриональная индукция* — важнейшее следствие взаимодействия между зародышевыми листками.

В ходе следующего за гастрюляцией *органогеनेза* изменяются форма, структура, химический состав клеток, обособляются клеточные группы, представляющие собой зачатки будущих органов. Постепенно развивается определенная форма органов, устанавливаются пространственные и функциональные связи между ними. Процессы *морфогенеза* сопровождаются дифференциацией тканей и клеток, а также избирательным и неравномерным ростом отдельных органов и частей организма.

Начало органогеनेза называют периодом *нейруляции*, она охватывает процессы от появления первых признаков формирования нервной пластинки до замыкания ее в нервную трубку. Параллельно формируются хорда и вторичная кишка (кишечная трубка), а лежащая по бокам от хорды мезодерма расщепляется в краниокаудальном направлении на сегментированные парные структуры — сомиты, т. е. параллельно с процессами гастрюляции идет образование осевых органов (нервная трубка, хорда, вторичная кишка).

Эктодерма, мезодерма и энтодерма в ходе дальнейшего развития, продолжая взаимодействие друг с другом, участвуют в формировании определенных органов.

*Из эктодермы развиваются:* эпидермис кожи и его производные (волосы, ногти, перья, сальные, потовые и молочные железы), компоненты органов зрения (хрусталик и роговица), слуха, обоняния, эпителий ротовой полости, эмаль зубов. Важнейшими эктодермальными производными являются нервная трубка, нервный гребень и образующиеся из них все нервные клетки. Органы чувств, передающие нервной системе информацию о зри-

тельных, звуковых, обонятельных и иных стимулах, также развиваются из эктодермальных закладок. Например, сетчатка глаза образуется как вырост мозга и, следовательно, является производным нервной трубки, тогда как обонятельные клетки дифференцируются прямо из эктодермального эпителия носовой полости.

**Производными энтодермы являются:** эпителий желудка и кишки, клетки печени, секреторные клетки поджелудочной железы, слюнных, кишечных и желудочных желез. Передний отдел эмбриональной кишки образует эпителий легких и воздухоносных путей, а также секреторные клетки передней и средней доли гипофиза, щитовидной и паращитовидной желез.

**Из мезодермы формируются:** скелет, скелетная мускулатура, соединительнотканная основа кожи (дерма), органы выделительной и половой систем, сердечно-сосудистая система, лимфатическая система, плевра, брюшина и перикард.

Из **мезенхимы**, имеющей смешанное происхождение за счет клеток трех зародышевых листков, развиваются все виды соединительной ткани, гладкая мускулатура, кровь и лимфа. Мезенхима — это часть среднего зародышевого листка, представляющая рыхлый комплекс разрозненных амебоподобных клеток. Мезодерма и мезенхима отличаются друг от друга по своему происхождению. Мезенхима большей частью эктодермального происхождения, начало же мезодерме дает энтодерма. У позвоночных, однако, мезенхима в меньшей своей части эктодермального происхождения, основная же масса мезенхимы имеет общее с остальной мезодермой происхождение. Несмотря на отличное от мезодермы происхождение, мезенхима может рассматриваться как часть среднего зародышевого листка.

Зачаток конкретного органа формируется первоначально из определенного зародышевого листка, но затем орган усложняется, и в итоге в его образовании принимают участие два или три зародышевых листка.

## Периодизация гастрюляции

Для удобства рассмотрения хода гастрюляции и ее результатов у хордовых весь процесс условно разделен на 2 этапа: *ранний* и *поздний*.

В течение ранней гастрюляции первоначально единый пласт клеток бластулы, реорганизуясь любым из приведенных выше способов, образует два слоя: наружный слой клеток — **эпибласт** (у низших хордовых это эктодерма) и внутренний — **гипобласт** (у низших хордовых это энтодерма). Таким образом, в результате ранней гастрюляции формируется двухслойный зародыш и бластопор, а у млекопитающих и птиц кроме этого еще и некоторые внезародышевые органы.

В ходе поздней гаструляции образуется мезодерма и комплекс осевых органов, а также внезародышевые органы. После появления мезодермы и определенных преобразований слои эпи- и гипобласта называются соответственно экто- и энтодермой.

## Формирование осевых органов

**Осевые органы** — это хорда, нервная и кишечная трубки. Независимо от вида животного, те клетки, которые мигрируют через область дорсальной губы бластопора, в дальнейшем преобразуются в хорду, а через область латеральных (боковых) губ бластопора — в третий зародышевый листок — мезодерму. У высших хордовых животных (птицы и млекопитающие) вследствие иммиграции клеток зародышевого щитка бластопор в ходе гаструляции не формируется. Клетки, мигрировавшие через дорсальную губу бластопора, формируют хорду — плотный клеточный тяж, расположенный по средней линии зародыша между экто- и энтодермой. Под ее влиянием в наружном зародышевом листке начинает формироваться нервная трубка и только в последнюю очередь энтодерма образует кишечную трубку.

Формирование нервной трубки непосредственно связано с нейруляцией — закладкой центральной нервной системы. Нейруляция — очень важный и интересный период в развитии зародыша не только потому, что происходит закладка сложнейшей системы, но и вследствие того, что при формировании нервной трубки отмечается теснейшее взаимодействие между прилегающими друг к другу структурами: эктодермой, хордой и мезодермой.

Следует подчеркнуть, что одно из главных последствий морфогенетических перемещений состоит в том, что группы клеток, которые прежде могли быть значительно удалены друг от друга, настолько сближаются, что между ними становятся возможными взаимодействия, которые носят название *индукционных*. Нейруляция, в частности формирование нервной трубки, является результатом таких индукционных воздействий.

На указанном этапе развития у животных реализуется общий план строения организма и только затем начинается окончательная дифференцировка тканей, органов и систем.

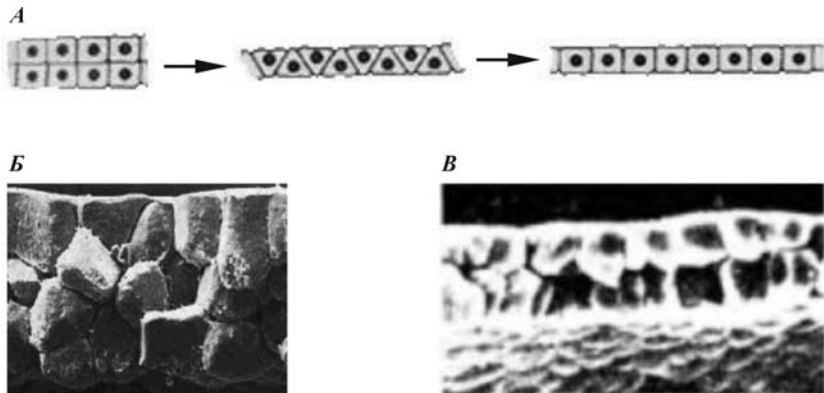
## Причины и механизмы гаструляции

В основе перемещения клеточных пластов, обеспечивающих процесс гаструляции, лежат различные морфогенетические движения и процессы.

**Увеличение числа клеток посредством делений.** Особенно актуально при эпиболлии, когда обеспечивается низкий темп деления на вегетатив-

ном полюсе и высокая скорость дробления на анимальном полюсе. При инвагинации также отмечается локальное усиление митотической активности в области бластопора.

**Растяжение поверхностных клеток эктодермы.** Перестройка многослойной стенки крыши бластулы приводит к началу эпиболлии (рис. 40).

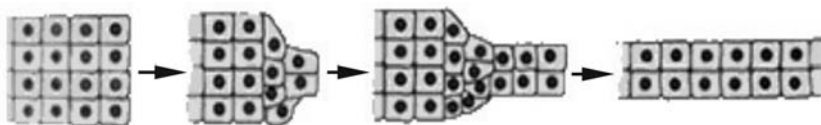


*Рис. 40.* Интеркаляция нескольких глубоких слоев клеток  
(*Б, В* по Гилберту, 1993):

*А* — схема процесса; *Б* — строение крыши бластулы лягушки на стадии средней бластулы; *В* — тоже на стадии поздней гаструлы

В ходе реаранжировки клетки наружного ряда уплотняются, стенка бластулы становится тоньше, а клеточный пласт смещается в сторону формирующегося бластопора.

**Конвергенция клеток краевой зоны бластулы.** Наблюдается в ходе гаструляции у амфибий (рис. 41).



*Рис. 41.* Конвергентное растяжение (схема)

Представляет собой схождение к центру и удлинение инволюирующего участка бластулы, расположенного непосредственно над областью бластопора. В результате стягивания клеток в более узкую полоску происходит ее растяжение в переднем направлении.

**Поляризация клеток.** Любое активное изменение формы эпителиального пласта в период гаструляции и нейруляции начинается с того, что его

клетки поляризуются, т. е. вытягиваются в перпендикулярном или косом направлении по отношению к поверхности пласта. Поляризация клеток основана на сложных перестройках цитоскелета и клеточной мембраны: сборке микротрубочек и микрофиламентов и их ориентации по длинной оси поляризующейся клетки, а также движениями так называемых интегральных белков. В результате этих движений происходит перераспределение ионных каналов и насосов в плазмалемме. Первые концентрируются на внешней стороне клетки, а вторые на боковых и базальных сторонах. Поляризация обуславливает протекание в клетках направленного эндо- и экзоцитоза.

Поляризация затрагивает не одну клетку, а целый клеточный пласт, т. е. поляризация одной клетки побуждает соседнюю к такому же превращению. Этот процесс осуществляется лишь при наличии клеточных контактов и поэтому носит название *контактной клеточной поляризации*.

Клетки не могут оставаться в состоянии поляризации неограниченно долго. Через определенное время происходит деформация поляризованной клетки, которая уменьшает отношение ее поверхности к объему (сокращение). Этот процесс осуществляется сократительным аппаратом клетки — микрофиламентами. В ходе последовательных сокращений пласт изгибается, происходит элементарное морфогенетическое перемещение.

Процессы, подобные контактной клеточной поляризации, распространяются не только вдоль пласта клеток, но и в глубь клеточных масс, что особенно характерно для бесхвостых амфибий.

В результате возникают устойчивые трехмерные поля клеточных натяжений. Если их деформировать или разрушить, морфогенез разупорядочивается, а клетки начинают вести себя хаотично. При этом стоило хотя бы на короткое время вернуть натяжение, как морфогенез снова возвращается к норме. Непосредственная функция трехмерного клеточного натяжения состоит в стимуляции сборки пучков микрофиламентов и ассоциированных с ними клеточных контактов. Сборка этих структур — неперемнное условие интегрированного морфогенеза.

**Сокращение поляризованных клеток.** В результате сокращения апикальных поверхностей поляризованных клеток происходит изменение формы всего клеточного пласта, образованного ими (рис. 42). Подобные сокращения клеток нейроэктодермы играют важную роль в формировании нервной трубки. В данном случае движущей силой является сокращение кольца актиновых микрофиламентов, окружающих апикальные края клеток и связанных с мембраной клетки посредством интегрального белка **спектрина**.

**Образование колбовидных клеток.** В ходе поляризации формируются так называемые колбовидные клетки (рис. 43). Основная часть тела каж-





Рис. 42. Сворачивание пласта клеток (схема):  
 А, Б — последовательные стадии процесса

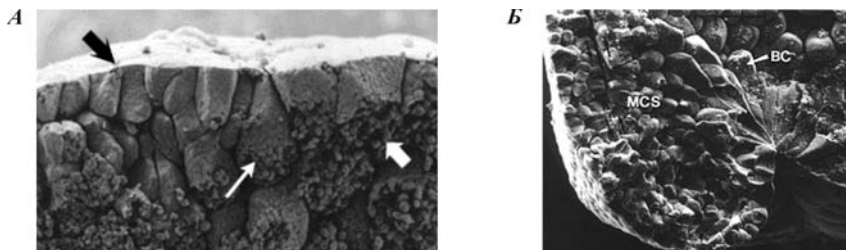


Рис. 43. Колбовидные клетки (по Гилберту, 1993):  
 А — бокаловидные клетки (тонкая светлая стрелка) до начала инвагинации поверхностного слоя (темная стрелка) внутрь глубоких слоев (толстая светлая стрелка) бластулы; Б — формирующийся бластопор зародыша амфибий (ВС — бокаловидные клетки, MCS — мезодермальные клетки)

дой клетки смещена внутрь зародыша, сохраняя контакт с поверхностью посредством узкого цитоплазматического тяжа. Они способны сокращаться, активно перемещаться внутрь и тянуть за собой остальные клетки пласта. В результате начинает формироваться и постепенно увеличиваться полость архентерона.

Тем не менее оказалось, что после того, как сформировались колбовидные клетки, они не имеют особого отношения к увеличению размеров гастроцеля. Частичное или полное удаление этих клеток не предотвращает инволюцию прилежащих к ним клеток в бластопор.

Главным фактором движения клеток внутрь зародыша является инволюция глубоких клеток краевой зоны бластулы. Эти клетки вворачиваются внутрь и мигрируют к анимальному полюсу по внутренним поверхностям еще неинволюировавших глубоких клеток (рис. 44).

Удаление лидирующих глубоких клеток краевой зоны останавливает формирование архентерона. Таким образом, колбовидные клетки ответственны лишь за образование начального углубления бластопора, а движущая сила инволюции заключена в глубоком слое краевых клеток.

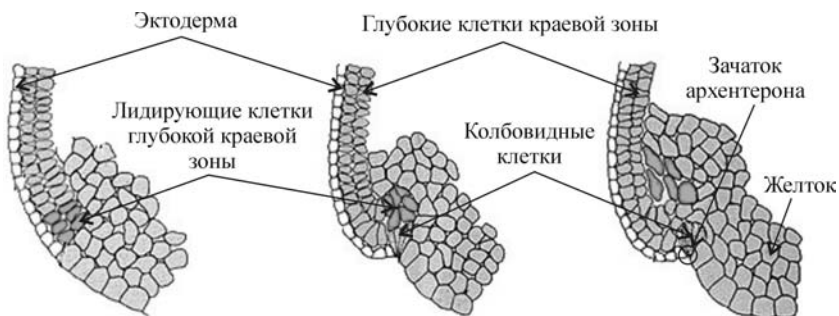


Рис. 44. Модель клеточных движений в период гастрюляции (по Гилберту, 1993):  
 А, Б, В — последовательные стадии процесса

**Способность клеток к амебодным движениям.** Адгезивность и подвижность неодинаковы у клеток разных листков. Так, клетки эктодермы, контактируя друг с другом, образуют непрерывный пласт, т. е. эпителизируются. Они способны распространяться над мезодермой и энтодермой. Клетки мезодермы имеют тенденцию инвагинировать в любое находящееся поблизости скопление клеток, а клетки энтодермы относительно неподвижны.

Для гастрюляции характерна активность особых групп клеток. Так, у морских ежей в начале гастрюляции необычайно активны клетки первичной мезенхимы (рис. 45).

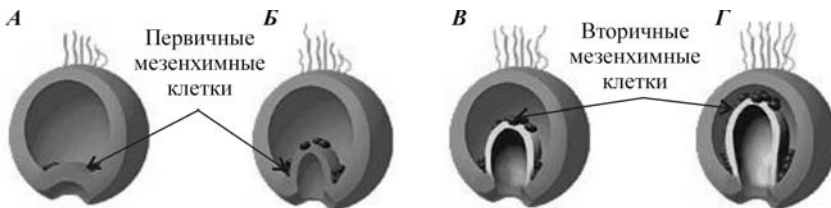


Рис. 45. Поведение мезенхимных клеток при гастрюляции у морского ежа (схема):

А — первичные мезенхимные клетки мигрировали внутрь бластоцеля; Б — вторичные мезенхимные клетки попадают внутрь вместе с инвагинирующей первичной кишкой; В, Г — мезенхимные клетки сохраняют свое положение на вершине архентерона, а сокращение их нитевидных отростков, прикрепленных к внутренней поверхности эктодермы, способствует инвагинации архентерона

Они перемещаются от внутренней стенки зародыша в области бластопора в бластоцель, выпускают ламеллоподии (рис. 46) и активно мигрируют



Рис. 46. Мигрирующие при помощи ламеллоподий лидирующие клетки мезодермы

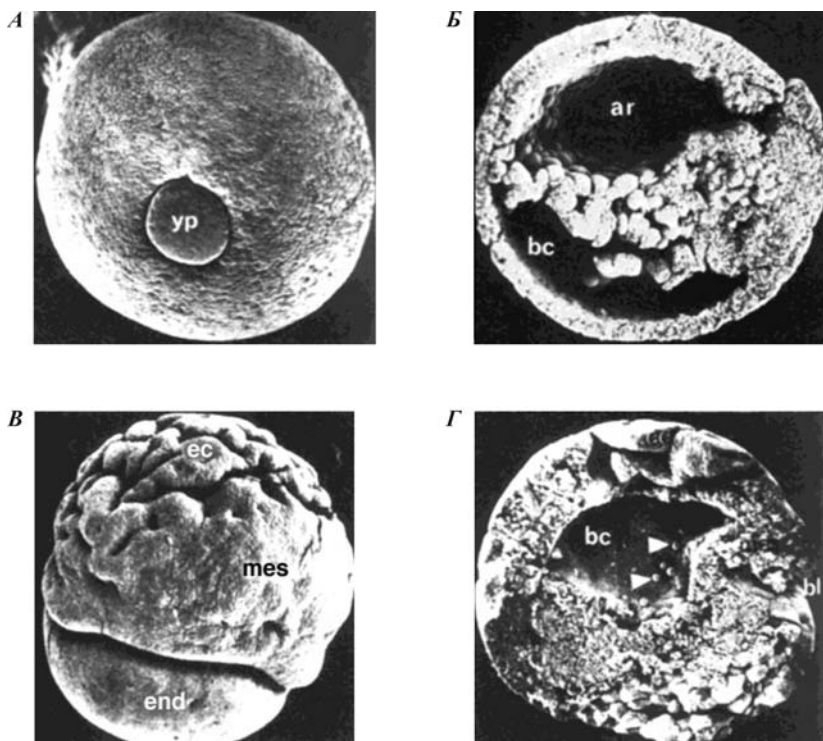
ют к тому месту, где они образуют скелет. Вслед за ними начинает активно инвагинировать остальная часть зародыша.

**Роль внеклеточного матрикса.** Попав внутрь бластоцеля, клетки с помощью ламеллоподий мигрируют по внеклеточному матриксу. Для их успешной миграции важны два белка. Один из них — **фибронектин**. Это высокомолекулярный гликопротеин (400 кДа), являющийся обычным компонентом базальных мембран. Исследования показали, что во время гастрюляции сродство мигрирующих клеток к данному белку резко возрастает, а сам процесс миграции зависит от концентрации фибронектина (рис. 47).

Клетки связываются с определенным участком фибронектина, содержащим специфическую последовательность из 10 аминокислот. Вторая важная составляющая часть внеклеточного матрикса — *сульфатированные гликопротеины* клеточной поверхности мигрирующих клеток.

Важную роль в миграции клеток внутри бластоцеля, особенно у высших позвоночных (птиц и млекопитающих), играют внеклеточные сложные полисахариды. Одним из них является **гиалуроновая кислота**, линейный полимер глюкуроновой кислоты и N-ацетилглюкозамина. Она накапливается в бластоцеле, покрывая сплошным слоем поверхность вступающих в бластоцель клеток, поддерживая их в диспергированном состоянии за счет способности значительно увеличивать свой объем в воде.

Как ни разнообразны типы гастрюляции, существуют общие изменения на клеточном уровне, которые приводят к морфогенетическим перемещениям. Клеточные деления, возникающие в определенном регионе в связи с особыми внешними условиями и воздействиями, создают механические напряжения в пласте. Эти напряжения ведут к возникновению поляризации, которая несет информацию о направлении будущего перемещения, а его реализация, т. е. собственно перемещение, происходит во время сокращения.



*Рис. 47.* Роль фибронектинового матрикса в процессах гаструляции у амфибий (по Гилберту, 1993):

*А, Б* — нормально развившаяся бластула (вид со стороны желточной пробки и поперечный разрез, *yp* — желточная пробка, *ar* — архентерон, *bc* — blastocoel); *В, Г* — то же после инъекции синтетического пептида, препятствующего связыванию мигрирующих клеток с фибронектином (*bl* — blastopore, *ec* — эктодерма, *mes* — мезодерма, *end* — энтодерма)

Морфогенетические движения на протяжении всего развития являются активными. Их источники энергии и исполнительные механизмы находятся внутри того участка, который испытывает ту или иную деформацию.

Факторами организации могут являться механические натяжения тканей зародыша. Первым фактором, обусловившим натяжение эмбриональных тканей, является тургорное давление в полости blastocoel, растягивающее крышу blastocoel. Если ослабить его — возникают нарушения в морфогенезе и структуре органов.

Таким образом, в основе большинства формообразовательных процессов лежат клеточные деления, вызывающие, в свою очередь, возникновение

механических напряжений в пласте клеток, приводящих к изменению формы зародыша.

В регуляции путей развития важную роль играют несколько десятков белков, именуемых факторами роста, которые в организме животных регулируют клеточные деления и дифференцировку, а также возникновение тканей. Подобно нейромедиаторам в нервной системе такие факторы, по-видимому, используются в разных обстоятельствах для передачи различных сигналов между клетками.

### **Контрольные вопросы**

1. Типы движений при гастрюляции.
2. Телобластический и энтероцельный способы закладки мезодермы.
3. Образование вторичной полости тела (целома).
4. Производные зародышевых листков.
5. Клеточные основы процесса гастрюляции.

## ПОСЛЕСЛОВИЕ

Процессом гастрюляции заканчиваются ранние стадии развития животных. В дальнейшем зародыш приступает к дифференцировке тканей, формированию органов и их систем (гистио- и органогенез).

Несмотря на общность ряда основополагающих принципов, уже на начальных этапах развития хорошо заметно многообразие способов и механизмов, используемых организмами для своего становления в ходе онтогенеза. Еще сильнее данные различия становятся заметны при более детальном рассмотрении вопросов, связанных с эмбриональным развитием разных групп животных. Именно их анализу будет посвящена вторая часть настоящего курса лекций.

В третьей части предполагается подробно рассмотреть ход дифференцировки производных зародышевых листков (эктодермы, мезодермы и энтодермы), а также молекулярно-клеточные основы процессов эмбрионального развития.

# ЛИТЕРАТУРА

## Основная

- Белоусов, Л. В.* Основы общей эмбриологии / Л. В. Белоусов. М. : МГУ, 1993.
- Голиченков, В. А.* Эмбриология / В. А. Голиченков, Е. А. Иванов, Е. Н. Никерясова. М. : Academia, 2004.
- Голиченков, В. А.* Практикум по эмбриологии / В. А. Голиченков, М. Л. Семенова. М. : Academia, 2004.
- Токин, Б. П.* Общая эмбриология / Б. П. Токин. М. : Высш. шк., 1987.

## Дополнительная

- Альберт, С. Б.* Молекулярная биология клетки / С. Б. Альберт [и др.]. М. : Мир, 1994. Т. 1—3.
- Алмазов, И. В.* Атлас по гистологии и эмбриологии / И. В. Алмазов, Л. С. Сутулов. М. : Медицина, 1978.
- Балахов, А. В.* Ошибки развития / А. В. Балахов. СПб. : ООО «ЭЛБИ-СПБ», 2001.
- Волкова, О. В.* Гистология, цитология и эмбриология : атлас / О. В. Волкова, Ю. К. Елецкий. М. : Медицина, 1996.
- Гилберт, С.* Биология развития / С. Гилберт. М. : Мир, 1993. Т. 1—3.
- Данилов, Р. К.* Общая и медицинская эмбриология / Р. К. Данилов, Т. Г. Боровая. СПб. : Наука, 2003.
- Дондуа, А. К.* Биология развития / А. К. Дондуа. СПб.: Изд-во СПбГУ, 2005. Т. 1, 2.
- Карлсон, Б.* Основы эмбриологии по Пэттену / Б. Карлсон. М. : Мир, 1983. Т. 1, 2.
- Кноррэ, Б.* Краткий очерк эмбриологии человека / Б. Кноррэ. М. : Медицина, 1967.
- Фаллер, Дж.* Молекулярная биология клетки / Дж. Фаллер, Д. Шилдс. М. : БИНОМ-Пресс, 2003.
- Ярыгин, В. Н.* Биология / В. Н. Ярыгин. М. : Высш. шк., 1997. Кн. 1, 2.

# СОДЕРЖАНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ .....	3
-------------------	---

## ВВЕДЕНИЕ

Краткая история эмбриологии .....	4
Методы эмбриологических исследований .....	7

## Лекция 1. СТРОЕНИЕ И РАЗВИТИЕ МУЖСКИХ ПОЛОВЫХ КЛЕТОК

История вопроса .....	9
Первичные половые клетки .....	10
Строение спермия .....	12
Развитие и созревание сперматозоидов .....	14
Стадии сперматогенеза .....	17
Регуляция сперматогенеза .....	21
Контрольные вопросы .....	22

## Лекция 2. СТРОЕНИЕ И РАЗВИТИЕ ЖЕНСКИХ ПОЛОВЫХ КЛЕТОК

История вопроса .....	23
Строение яйцеклетки .....	24
Оболочки яйцеклетки .....	24
Развитие яйцеклеток .....	26
Поляризация яйцеклетки .....	32
Строение яичника млекопитающего .....	32
Регуляция полового цикла млекопитающих .....	36
Классификация яйцеклеток .....	37
Способы питания яйцеклеток .....	39
Отличия оогенеза от сперматогенеза .....	40
Контрольные вопросы .....	41

## Лекция 3. ОПЛОДОТВОРЕНИЕ

История вопроса .....	42
Общая характеристика оплодотворения .....	43
Дистантные взаимодействия гамет .....	45
Контактные взаимодействия гамет .....	46
Проникновение сперматозоида в яйцеклетку .....	49
Слияние генетического материала .....	53



Преобразование цитоплазмы яйца .....	54
Партеногенез .....	55
Контрольные вопросы .....	56

#### **Лекция 4. ДРОБЛЕНИЕ**

Биологическое значение и определения .....	57
Отличие дробления от деления соматических клеток .....	58
Механизм дробления .....	60
Пространственная организация зародыша во время дробления. Борозды дробления ..	62
Классификация типов дробления .....	63
Бластула .....	69
Типы бластул .....	69
Контрольные вопросы .....	73

#### **Лекция 5. ГАСТРУЛЯЦИЯ**

Общая характеристика и определения .....	74
Способы гастрюляции .....	75
Закладка мезодермы и формирование целома .....	78
Презумптивные карты зародышей .....	81
Зародышевые листки и их производные .....	82
Периодизация гастрюляции .....	83
Формирование осевых органов .....	84
Причины и механизмы гастрюляции .....	84
Контрольные вопросы .....	91

<b>ПОСЛЕСЛОВИЕ</b> .....	92
--------------------------	----

<b>ЛИТЕРАТУРА</b> .....	93
-------------------------	----

Учебное издание

**Маслова** Галина Трофимовна  
**Сидоров** Александр Викторович

**БИОЛОГИЯ РАЗВИТИЯ:  
РАННИЕ СТАДИИ**

**Курс лекций**

В авторской редакции

Технический редактор *Г. М. Романчук*  
Корректор *Н. И. Мирончик*  
Компьютерная верстка *Т. В. Шестаковой*

Ответственный за выпуск *А. Г. Купцова*

---

Подписано в печать 30.11.2007. Формат 60×84/16.  
Бумага офсетная. Гарнитура Таймс. Печать офсетная.  
Усл. печ. л. 5,58. Уч.-изд. л. 5,15. Тираж 200 экз. Зак. 1140.

Белорусский государственный университет.  
ЛИ № 02330/0056804 от 02.03.2004.  
220030, Минск, проспект Независимости, 4.

Отпечатано с оригинала-макета заказчика.  
Республиканское унитарное предприятие  
«Издательский центр Белорусского государственного университета».  
ЛП № 02330/0056850 от 30.04.2004.  
220030, Минск, ул. Красноармейская, 6.