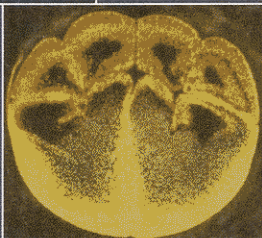


Высшее профессиональное образование

В. А. Голиченков
Е. А. Иванов
Е. Н. Никерясова

ЭМБРИОЛОГИЯ

Учебник



Естественные
науки


ACADEMIA

УДК 577.218(075.8)
ББК 28.03я73
Г60

Рецензенты:

чл.-кор. РАН, проф. *Л. И. Корочкин* (Институт биологии гена РАН);
д-р биол. наук *Ю. К. Доронин* (зав. сектором клеточной биологии
развития и старения биологического факультета Московского
государственного университета им. М. В. Ломоносова)

Голиченков В. А.

Г60 Эмбриология: Учеб. для студ. университетов / В. А. Голиченков, Е. А. Иванов, Е. Н. Никерясова. — М.: Издательский центр «Академия», 2004. — 224 с., [8] с. цв. ил.: ил.
ISBN 5-7695-1168-0

В учебнике изложены фундаментальные основы современной эмбриологии. Материал дается в соответствии со стадиями развития — от процесса развития гамет через процессы оплодотворения, дробления, гаструляции, нейруляции до процесса органогенеза. Раскрыты особенности развития млекопитающих, проблемы регенерации и старения. Приведены сведения по сравнительной и экспериментальной эмбриологии, генетике развития.

Для студентов университетов, обучающихся по биологическим специальностям.

УДК 577.218(075.8)
ББК 28.03я73

© Голиченков В. А., Иванов Е. А.,
Никерясова Е. Н., 2004
© Издательский центр «Академия», 2004

ISBN 5-7695-1168-0

250-летию Московского государственного
университета имени М. В. Ломоносова
посвящается эта книга

ПРЕДИСЛОВИЕ

Эмбриологию сегодня называют биологией развития, т. е. это молекулярная биология и генетика онтогенеза прежде всего. Однако описательный и сравнительный подходы не потеряли своего значения. Например, дидактический раздел эмбриологии, посвященный гаметогенезу, основан на данных, полученных на исчезающе малом (в сравнении с общим количеством видов) числе объектов. Между тем в недавнем исследовании у нескольких видов рыб, обитающих в Ниле, обнаружены амебоидные по форме и способу передвижения сперматозоиды с некомпактизированным ядром. Не исключено, что не использованы ценнейшие сведения, возможно, даже более значимые, чем те, которые могут быть получены в эксперименте. Ничто не может сравниться с созданным природой био-разнообразием. Но таковы и, видимо, неизбежны пути развития науки. Развивается в ней только методически самое передовое.

Существуют три способа подачи материала об основах эмбриологии. Первый — изложить материал максимально полно, используя всю базу данных и все новейшие достижения. Этот путь неосуществим по многим понятным причинам. Второй — рассказать обо всех сторонах и составляющих предмета, рассматривая его с расстояния, позволяющего увидеть эту науку в целом, но опуская детали. И наконец, третий — авторский вариант сочетания первого со вторым, т. е. выборочный подход к предмету и способу его описания.

Ранее, когда в эмбриологии доминировали описательные и сравнительные подходы к развитию организмов, создавались такие руководства, как «Сравнительная эмбриология» П. П. Иванова, «Сравнительная эмбриология позвоночных» С. Е. Нельсона, многотомная сравнительная эмбриология беспозвоночных О. Т. Ивановой-Казас. Все эти работы уже вошли в золотой фонд науки, став частью ее фундаментальной библиотеки. Классическим руководством по экспериментальной эмбриологии стала книга Дж. С. Гексли и Г. Р. Д. де Бира. Классическими университетскими учебниками по общей эмбриологии служат книги Б. П. Токина, Б. И. Балинского, Л. В. Белоусова. Новейшим руководством по эмбриологии считается книга С. Ф. Гилберта, а по генетике онтогенеза — монография Л. И. Корочкина, изданная, правда, ничтожным тиражом. Все они прекрасно дополняют друг друга.

При написании настоящего учебника авторы придерживались принципа сочетания описательного, сравнительного, эксперимен-

тального и молекулярно-генетического подходов к развитию организмов. Собственно сочетания такого рода обусловлены адекватностью методологии исследования, особенностями изучаемого периода развития. При этом выбраны объекты и способы его освещения, наиболее ярко проявляющие существо процессов на определенных этапах развития. Так, для изложения материала о гаметогенезе наиболее адекватен описательный (на клеточном уровне) метод, об эмбриональной индукции — молекулярно-генетический и т. д. Описание становления плана строения организма с предопределением будущих органогенезов завершено стадией нейруляции — сегментации. В то же время процессы органогенеза подробно изложены на примерах развития конечности и почки, иллюстрирующих основные принципы этого этапа онтогенеза. В виде эксперимента вниманию читателя предлагается глава, посвященная математической интерпретации эмбриональной дифференцировки, подготовленная канд. физ.-мат. наук Н. Ф. Пытьевой. Авторы благодарны чл.-кор. РАН, проф. Л. И. Корочкину, проф. Л. В. Белоусову, чл.-кор. РАН, проф. В. В. Малахову, О. В. Бурлаковой, Л. А. Слепцовой, Ю. К. Миронову, Е. А. Супруненко, М. В. Голиценкову, С. М. Падалке, Е. Н. Ахматовой, а также всем сотрудникам кафедры эмбриологии МГУ им. М. В. Ломоносова за помощь в подготовке рукописи.

Глава 1

ИСТОРИЯ ЭМБРИОЛОГИИ

Эмбриология — наука, изучающая индивидуальное развитие многоклеточного организма, а также закономерности изменений его морфофункционального состояния на протяжении всего онтогенеза. Название науки носит скорее исторический характер, так как акцентирует внимание лишь на периоде развития организма от момента установления его генетической идентичности до выхода из яйцевых оболочек или рождения. Название «эмбриология» отражает начальный этап становления этой науки, ее исторически приоритетный интерес. Теперь ясно, что игнорирование именно эмбриологией всей дальнейшей жизни организма ведет к искусственному расчленению единого процесса, а значит, и предмета. Непрерывность морфофункциональных событий в процессе индивидуального развития (онтогенеза) определяется генетическим единством цитологического материала. Следствием работы единых механизмов генетики онтогенеза являются сначала период становления организма, затем период его самоподдержания (физиологическая регенерация) постэмбриональный период и, наконец, период угасания, предусмотренный жизненным циклом организма.

Синонимом названия «эмбриология» служит понятие «биология развития». Эмбриология находится в особых отношениях с историей человечества, его интересами и мировосприятием. Важнейшее событие — рождение человека — всегда привлекало внимание людей. Акушерская практика, по-видимому, была одной из первых форм медицинской помощи и одним из начал будущей эмбриологии. Другое начало этой науки — мировоззренческое. Обычная хозяйственная практика показывала, что сложный живой организм появляется из яйца, семени, раскрывающегося бутона цветка. Наблюдения подсказывали идею общего начала мира из яйца, сопоставимого с миром, наводили на мысль о его преобразовании и изменении.

Можно сказать, что эмбриология как будущая наука в своей предыстории сочетала два начала:

- эмпирическое — накопление фактов и движение от факта к факту;



Рис. 1. Вылупление из «мирового» яйца Амура и возникновение Космоса из Хаоса

• теоретическое — общее представление о появлении, зарождении, изменении и развитии организма.

В истории эмбриологии это отчетливо прослеживается в античный период. В древних космогониях Египта, Индии, Персии и Финикии, в орфических космогониях Древней Греции (VIII—VII вв. до н.э.)¹ фигурирует космическое яйцо, из которого были созданы все вещи и «...в круженье летящих годов объявился Эрот сладострастный, ...это он сочелся в тумане и тьме, в безднах Тартара с Хаосом-птицей» (рис. 1).

Эмпедокл (444 г. до н.э.) утверждал, что человек начинает формироваться после 31-го дня и оказывается совершенно сформированным к 50-му дню, а зародыш получает свой состав из четырех сосудов: двух вен и двух артерий, доставляющих зародышу кровь. Он полагал, что сухожилия образуются из равных частей земли и воздуха, кости — из равных частей воды и земли и т.п. Уроды и близнецы происходят под влиянием воображения матери, которое может направлять и изменять процесс оплодотворения зародыша. При этом он допускал, что зародыш — живое существо, которое начинает дышать с момента рождения.

Диоген Аполлонийский (V в. до н.э.) высказал мысль о последовательности появления структур в развивающемся организме (сначала образуется мясо, а затем дифференцируются кости и нервы) и считал плаценту органом питания зародыша.

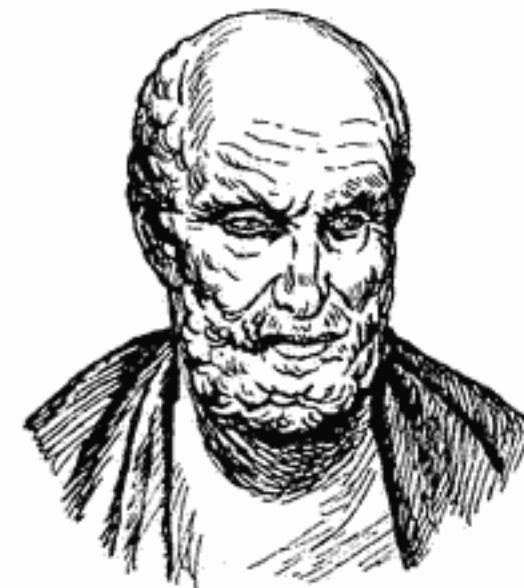
В этой архаической эмбриологии можно найти суждения, которые выглядят как опережающие время прозрения, и такие, появление которых сегодня трудно объяснить. Так, Плутарх замечает, что, по утверждению Алкмеона, «прежде всего образуется голова, являясь местообитанием разума. Врачи хотят считать, что первым появляется сердце, от которого идут артерии и вены. Некоторые считают, что большой палец ноги образуется прежде всего, другие — что пупок». Воззрения этих мыслителей материалистические: неживая и живая материи не противопоставляются друг другу — живая возникает из неживой. Таким образом, причины научных разногласий того времени заключались в следующем: что появляется в развитии первым: голова, сердце, большой палец ноги или

¹ Опыт библиографического свода космогонических поверий и сказаний о яйце. Киев, 1909 (из примеч. переводчика книги Джозефа Нидхэма «История эмбриологии». — М.: Изд-во иностранной литературы, 1947).

пупок? Многие наши недавние (вчерашние) представления и даже сегодняшние — того же порядка.

Первые регулярные знания в области эмбриологии связывают с именем Гиппократ (460—370 гг. до н.э.). Эмбриологические знания ученого связаны главным образом с акушерством и гинекологией. Самые важные для истории эмбриологии книги Гиппократ — «О диете», «О семени», «О природе ребенка». В них он высказывает идеи, согласно которым каждому телу присущи три первичных свойства — тепло, сухость и влажность. Данные свойства никогда не встречаются раздельно. При этом каждое тело способно привлекать себе подобное. Жизнь заключается в одновременном высушивании влаги огнем, в увлажнении огня влагой, в поглощении огнем пищи, поступающей в тело, и поэтому требуется новая пища. Процессы, происходящие в организме, Гиппократ сравнивает с процессами в неорганических телах — небесных и земных, а также с трудовой деятельностью. В духе этих механистических представлений он предлагает свое объяснение развития зародыша, где взаимодействие трех названных качеств формирует зародыш. При этом Гиппократ предвосхитил идею преформации: «Все части зародыша образуются в одно и то же время. Все члены отделяются друг от друга одновременно и таким же образом растут. Ни один не возникает раньше или позже другого, но те, которые по природе своей толще, появляются прежде тонких, не будучи сформированы раньше».

В IV в. до н.э. работал другой величайший ученый античной древности — Аристотель (384—322 гг. до н.э.). Он положил начало общей и сравнительной биологии, а его главный труд по эмбриологии назывался «О возникновении животных». Аристотель вскрывал куриные яйца, анатомировал и изучал всевозможных зародышей холоднокровных животных и млекопитающих и даже, возможно, абортивных зародышей человека. Выдающиеся заслуги Аристотеля в области эмбриологии заключаются в следующем:



ГИППОКРАТ



АРИСТОТЕЛЬ

1) предложил классификацию животных по эмбриологическим признакам;

2) ввел сравнительный метод изучения и заложил представления о различных путях эмбрионального развития; ему было известно яйцерождение и живорождение;

3) установил различия между первичными и вторичными половыми признаками;

4) отнес определение пола к ранним стадиям эмбрионального развития;

5) выдвинул концепцию неоплодотворенного яйца как сложной машины, части которой придут в движение и станут выполнять свои функции, как только будет поднят главный рычаг;

6) правильно истолковал функцию плаценты и пуповины;

7) связал явления регенерации с явлениями эмбриогенеза;

8) предвосхитил теорию рекапитуляции своим суждением о том, что в процессе эмбрионального развития общие признаки появляются раньше частных;

9) предложил теорию градиентов формообразования своими наблюдениями о более быстром развитии головного конца зародыша.

И наконец, Аристотель установил, что предположения его предшественников (Гиппократ) об образовании зародыша сводятся к антитезе: преформация — эпигенез. Сам он полагал, что эпигенез есть правильная альтернатива преформации. Как известно, теперь эта альтернатива проходит через всю историю эмбриологии вплоть до сегодняшнего дня. Для объяснения и познания сущего Аристотель выдвинул четыре принципа — четыре причины: материальную («неоформленный» материал — *causa materialis*) причину; действующую причину (своего рода триггер предстоящих событий — *causa efficiens*); активное начало, обладающее энергией, способное формировать пассивную материю (формальная причина — *causa formalis*); финальную причину (*causa finalis*) — причину всех причин.

Воззрения Аристотеля вплоть до эпохи Возрождения были основой телеологического мировоззрения. Когда же наступила эпоха Возрождения, при изучении трудов великих античных мыслителей и прежде всего Аристотеля, в полемике с ними возобновился интерес к науке.

В средние века идея конечных причин в силу ее связи с идеей «божественного плана» господствовала над всеми другими и формулировалась как то, что существуют одна первичная и три вторичные причины всех вещей, из которых одни не имеют действующей причины (Бог); другие — материи (ангелы); третьи — формы (первичная материя), но все имеют конечную причину и определенную цель.

Лишь на пороге XVII в. Френсис Бэкон (1561 — 1626) доказал, что с научной точки зрения конечная причина — ненужная кон-

цепция. До этого времени после смерти Аристотеля (322 г. до н. э.) особых достижений в эмбриологии не было.

Эмбриология, как и многие другие биологические дисциплины, прошла период скрытого накопления фактов в недрах другой науки, из которой вышла. Так, анатомия возникла из медицины, систематика — из фаунистики, а эмбриология — из зоологии и акушерской практики. Кроме того, специальные вопросы эмбриологии рождались в умах философов и далее долгое время существовали как бы в оторванном от материала виде, как чисто философские. Этот отрыв объяснялся тем, что не существовало техники для исследования материала, и такое положение сохранялось вплоть до изобретения микроскопа. Дальнейшая история эмбриологии тесно связана с использованием микроскопа, разработкой и применением микроскопической техники к объектам эмбриологии.

В 1651 г. Вильям Гарвей (1578 — 1657) в книге о зарождении животных впервые после Аристотеля дополнил знания по эмбриологии систематическими данными о развитии куриного яйца, т. е. фактически по оогенезу, а также о развитии яйцевых оболочек. При этом ученого ставили в тупик такие наблюдения: почему теплота способствует развитию цыпленка из хорошего яйца, а из плохого яйца под действием теплоты развитие становится хуже? Будучи придворным медиком, Гарвей получил разрешение на вскрытие животных (косули, лани), добытых на охоте. Таким образом, он имел возможность изучать внутриутробное развитие млекопитающих и анатомию животных.

В. Гарвей в своей доктрине («все живое — из яйца») почти на столетие опередил Франческо Реди в вопросе о невозможности самозарождения. Он установил место в курином яйце, в котором начинается образование зародыша. Решительно встал на позиции эпигенеза в отношении животных, имеющих кровь. Утверждал, что органы плода функционируют и в главных физиологических функциях не нуждаются в помощи извне.

Выдающееся значение для развития эмбриологии имеет факт создания и использования микроскопа. Один из основоположников научной микроскопии Антони ван Левенгук (1632 — 1723) открыл мир простейших, подробно описал свои наблюдения над сперматозоидами всех доступных ему млекопитающих, птиц, лягушек, рыб, насекомых, дал множество точных изображений и



ВИЛЬЯМ ГАРВЕЙ



АНТОНИ ВАН ЛЕВЕНГУК

проводил экспериментальные исследования над проникновением их в матку и трубы после совокупления.

XVIII в. поделил всех сторонников преформизма на анималькулистов и овистов. А. Левенгук был убежденным анималькулистом. В противоположность ему Шарль Бонне (1720—1793), открывший партеногенез у тлей (1779), трактовал это как доказательство в пользу овизма. Бонне принадлежит открытие способности к регенерации у кольчатых червей.

Одним из самых выдающихся сторонников преформизма был профессор Геттингенского университета Альбрехт фон Галлер (1708—1777). Изучая развитие

сердца у цыпленка, он много внимания уделял росту зародыша. Им составлены замечательные таблицы увеличения массы зародыша и размеров его костей на протяжении эмбрионального, постэмбрионального периодов и взрослого организма. А. Галлера поражала скорость роста организма на ранних этапах и ее падение в процессе развития. Он отмечал сходство этих процессов у цыпленка и человека. К идее преформизма ученый пришел не сразу, а, утвердившись в ней, говорил, что она свидетельствует против воображения человека, но при этом научной остается именно она. Галлер одним из первых применил в эмбриологии количественный метод, а, по словам Роберта Мазера, «одна единственная цифра заключает в себе больше истины к вечной ценности, чем драгоценная библиотека гипотез».

Как свидетельствуют источники, центром внимания 50—80-х годов XVIII в. была полемика между А. Галлером и Каспаром Фридрихом Вольфом (1734—1794), академиком Санкт-Петербургской Академии Наук в царствование Екатерины Великой.

В главном труде Галлера «Теория зарождения» (1759) представлено теоретическое и практическое обоснование эпигенеза. Ученый пишет, что если зародыш действительно предсуществует (согласно преформизму), то в момент, когда его можно различать с помощью самых сильных микроскопов (стекло Левенгука), он должен выглядеть совершенно сформировавшимся. В действительности, как показал К. Ф. Вольф на



ШАРЛЬ БОННЕ

примере развития кровеносной, а позже и пищеварительной систем цыпленка (в 1768 г. вышел его труд «О формировании кишечника»), обе эти системы сначала выглядят как листки, затем как желобки и в конце концов превращаются в трубки. Огромный авторитет Галлера в научных биологических кругах того времени воспрепятствовал признанию правоты Вольфа, но работы великих эмбриологов XIX в. Х. Г. Пандера и К. Бэра строились на признании этой правоты.

Христиан Генрих Пандер (1794—1865) в 20-е годы XIX в. работал в России, был академиком Санкт-Петербургской академии наук, первым ввел в обиход эмбриологии понятие о зародышевых листках (он различал их три: серозный, слизистый, средний — кровяной) и установил, как и раньше К. Ф. Вольф, что в зародышевом развитии органы образуются путем изгибания этих листков.

Карл фон Бэр (1792—1876), сверстник и коллега Х. Г. Пандера по Санкт-Петербургской академии наук, был одним из крупнейших естествоиспытателей своего времени (географ, геолог, биолог). Бэру принадлежат выдающиеся работы и открытия в конкретной эмбриологии. Он впервые нашел настоящее яйцо у млекопитающих и человека (до этого за яйцо принимали структуру, описанную Ренье де Граафом (1641—1673), так называемый графов пузырек). В то время все еще оставался открытым такой вопрос: у всех ли животных развитие начинается из яйца? Изучая эмбриогенез цыпленка, К. Бэр развил учение о зародышевых листках, выделил анимальный (дающий покровы и нервную систему) и вегетативный листки (дающий сосуды, мышцы, пищеварительный тракт), а также зародышевую хорду. Ученый сделал выдающееся обобщение, поднявшее эмбриологию до уровня самостоятельной науки, значимой для всей биологии: он описал развитие всех главных органов позвоночных животных и при этом обнаружил сходство



КАСПАР ФРИДРИХ ВОЛЬФ



ХРИСТИАН ГЕНРИХ ПАНДЕР



КАРЛ ФОН БЭР



РЕНЬЕ ДЕ ГРААФ

эмбрионов высших и низших животных. Закономерность заключалась в том, что в эмбриональном развитии сначала возникают признаки типа (т. е. наиболее общие для большой группы животных), затем класса и в последнюю очередь рода и вида (закон Бэра). Признание эпигенетического развития, сочетающегося с повторяемостью последовательности событий в ряду поколений, привело Бэра к блестящей формуле: онтогенез есть преформированный эпигенез. Эта формула содержит идею современной эмбриологии.

Методологическая база, заложенная Бэром, нашла отражение в трудах Теодора Людвиг Бишофа (1807—1882). Он уточнил представление о зародышевых листках, дал им названия, сохранившиеся и сегодня (эктодерма, мезодерма, энтодерма), поставив в основу биологии учение о клетке (Т. Шванн, 1839). Бишоф показал, что одноименные зародышевые листки разных животных имеют сходное гистологическое строение. После этого большинством биологов того времени был принят постулат: из каждого листка в эмбриогенезе всех животных развивается одинаковый комплекс органов.



ТЕОДОР ЛЮДВИГ БИШОФ

Эмбриология стала интересной и биологам-эволюционистам. Чарлз Дарвин (1809—1882) делал подборки сведений по эмбриологии, доказывающих реальность эволюции. Био-



ЧАРЛЗ ДАРВИН



ЭРНСТ ГЕККЕЛЬ

логи-эволюционисты пытались привлечь данные эмбриологии для обоснования эволюционных построений. Выдающийся последователь и пропагандист учения Ч. Дарвина Эрнст Геккель (1834—1919) предложил первое «эволюционное древо» животных, в построении которого использовал дарвиновские идеи. Иоганн Фридрих Меккель (1781—1833), создатель теории параллелизма, впервые обратил внимание на то, что современные высшие животные в своем онтогенезе проходят стадии развития низших. Карл фон Бэр и Фриц Мюллер (1821—1897) считали, что онтогенез повторяет филогенез, а сам по себе филогенез есть механическая причина онтогенеза. Опираясь на факты и идеи этих естествоиспытателей, Э. Геккель сформулировал так называемый основной биогенетический закон, который гласит: «Развитие зародыша (онтогенез) есть сжатое и сокращенное повторение эволюционного развития данной группы организмов (филогенез), и это повторение тем полнее, чем более сохраняется вследствие постоянной преемственности (палингенез — признак или процесс в эмбриогенезе, повторяющий соответствующий признак или процесс филогенеза данного вида). Нормальная преемственность в развитии за счет палингенезов приводит к утрате полного повторения признаков в индивидуальном развитии вследствие эволюционных адаптивных изменений (ценогенез). В интересах эволюционного учения задачей эмбриологов является обнаружение именно палингенезов в развитии».

Филогенетическое направление в эмбриологии блестяще развито в трудах Александра Онуфриевича Ковалевского (1840—1901) и Ильи Ильича Мечникова (1845—1916). А. О. Ковалевский исследовал и установил общие закономерности в развитии беспозвоночных и позвоночных животных, распространил на беспозво-



АЛЕКСАНДР ОНУФРИЕВИЧ
КОВАЛЕВСКИЙ



ИЛЬЯ ИЛЬИЧ
МЕЧНИКОВ

ночных учение о зародышевых листках, доказав тем самым родство органического мира. И.И.Мечников открыл явление фагоцитоза и использовал его в своей теории фагоцителлы, которая способствовала пониманию механизма происхождения многоклеточных, дав в ней цитофизиологическое объяснение расслоению и дифференцировке первичных вольвоксоподобных многоклеточных организмов на эктодермальную и энтодермальную листки.

Многие эмбриологи XIX — начала XX в. рассматривали закономерности онтогенеза и их соотношение с филогенезом под углом биогенетического закона (закон рекапитуляций). Одно из самых интересных объяснений этого соотношения было дано в трудах

Алексея Николаевича Северцова (1866—1936). Основа его учения о филэмбриогенезе — представление о первичности онтогенетических изменений (в противоположность предшествующим интерпретациям) по отношению к филогенетическим и о способах (модусах) таких изменений.

Но описательный и сравнительно-эволюционный подходы к феномену развития могли дать лишь повествовательную и умозрительную его интерпретацию, в то время как была необходима причинная интерпретация хода индивидуального развития.

Создатель неодарвинизма Август Вейсман (1834—1914) для объяснения эмбриогенеза применил цитогенети-



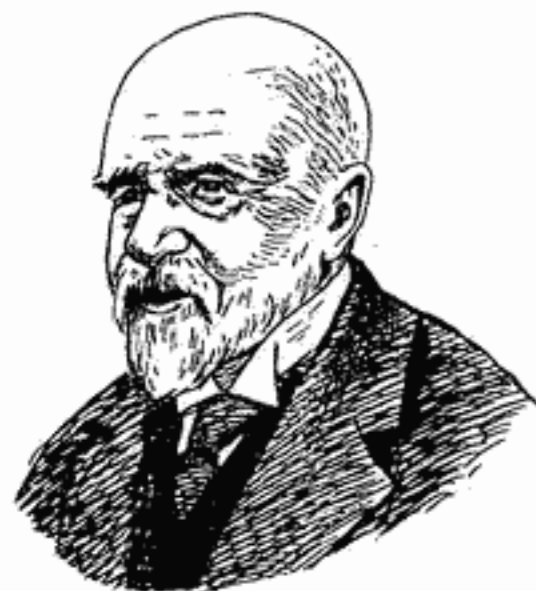
АЛЕКСЕЙ НИКОЛАЕВИЧ
СЕВЕРЦОВ

ческий подход. Он предложил концепцию зародышевой плазмы, согласно которой половые и соматические клетки различаются принципиально. В раннем развитии только будущие клетки получают всю зародышевую плазму, которая локализована в хромосомах. Соматические получают только часть ее, которая и определяет направленность дифференцировки клеток тела зародыша. Фактической основой представления о неравнонаследственном делении Вейсману послужили наблюдения Бовери над дроблением яиц аскарид, во время которого у будущих соматических клеток наблюдается потеря

части хромосом (так называемая деминуция хроматина). Но принцип, положенный в основу гипотезы А. Вейсмана (о выделении зародышевого пути и неравнонаследственном делении зиготы, определяющим дифференцировку соматических клеток), у современников вызывал серьезные возражения. Братья Оскар и Рихард Гертвиги приводили убедительные доводы об эквипотенциальном делении ядер в митозе. А. Вейсман в подтверждение своей правоты ссылаясь на опыт основателя механики развития Вильгельма Ру (1850—1924). В этом опыте В.Ру прижигал половину двух-, четырехклеточного зародыша тритона. Оставшаяся часть развивалась как половина организма. Однако повторение эксперимента с изоляцией бластомеров, сопровождавшейся развитием полноценных организмов, опровергало доводы Вейсмана. К решению спора были привлечены данные опытов Ганса Дриша (1867—1941) с гребневиками. У этих животных и изоляция бластомера на стадии двухклеточного зародыша, и удаление части плазмы сопровождаются уменьшением числа развивающихся гребней. После опытов Дриша была окончательно доказана роль цитоплазмы в дифференцировке развивающегося зародыша. В частности, выяснилось, что дефект, нанесенный цитоплазме незрелого яйца, регулируется и зародыш развивается нормально, а повреждение цитоплазмы созревшего яйца сопровождается дефектом в развитии зародыша. Выяснилось также, что у одних животных (кольчатые черви, немуртины, моллюски) удаление бластомеров раннего зародыша приводит к развитию личинки с невозполняемыми дефектами, тогда как у других (иглокожие, кишечноротовые, асцидии) к развитию нормального зародыша. Это пример как бы сосуществования преформистского обеспечения развития у первых (черви, моллюски), так называемых «мозаи-



ВИЛЬГЕЛЬМ РУ



ГАНС ДРИШ

ков», с эпигенетическим развитием у регуляционных форм (иглокожие, кишечноротовые). Недостаточность описательного и сравнительного подходов, о чем говорил еще Вильгельм Гис (1831—1904) — иностранный член-корреспондент Санкт-Петербургской академии наук, стала очевидной.

В эмбриологии постепенно начинал доминировать каузально-аналитический подход, стала формироваться экспериментальная и аналитическая эмбриология. В. Гис один из первых использовал в эмбриологии физические и химические

методы. Он указывал на важность механических причин, вызывающих изменения формы развивающегося зародыша. В. Ру, основатель науки «Механика развития», создатель журнала «Архив механики развития», стержнем эмбриологии считал эксперимент, задача которого — поиск причин и анализ фактов развития. Полагая, что развитие — высокодетерминированный процесс, В. Ру в большой мере способствовал укреплению преформистских подходов в понимании развития.

Эксперименты Г. Дриша в большей степени способствовали укреплению эпигенетических принципов. Именно Дришу удалось показать эквивалентность ядер бластомеров раннего зародыша, именно он выяснил, что различаются не ядра, а цитоплазма бластомеров некоторых развивающихся яиц. В то же время яйца морских ежей, с которыми также работал Дриш, давали бластомеры, не отличающиеся ни ядрами, ни цитоплазмой. Отсюда ученый заключил, что судьба бластомеров есть функция их положения в целом. В этом тезисе предвосхищено нынешнее представление о позиционной информации. Из своих опытов, в которых изолированные бластомеры давали целый зародыш, Дриш вывел другое заключение, согласно которому перспективная потенция бластомера (т. е. то, что из него может развиваться) всегда шире его перспективного значения (т. е. того, что из него получается при нормальном развитии).

Все это, в свою очередь, служит следствием того, что способность клеток к дифференцировке проявляется в целом зародыше, представляющем собой, по Г. Дришу, «гармонически эквивалентную систему». Устойчивость развития, которая особенно поражает в тщательно изученных им явлениях регенерации у асцидий, исключая механистическое преформистское толкование, он объяснял, используя аристотелевское представление об

энтелехии — стремлении к цели. Дриш создал и глубоко обосновал (возможно, за исключением надрационального представления об энтелехии) физиологию развития. Согласно этому учению, на каждой стадии развития зародыш следует рассматривать как организм, а не движение к нему, как это утверждалось морфологической эмбриологией. Развитие он объяснял последовательной сменой элементарных (физиологических) процессов, характеризующих каждую данную стадию. Поэтому в пределах каждого элементарного процесса (например, стадия дробления или гастрюляции) при его нарушении будет наблюдаться именно его регуляция. Вследствие этого, закончив элементарный процесс дробления и став бластулой, зародыш вступает в другой элементарный процесс гастрюляции и ведет себя, как гастрюла. Поэтому же из остатков архентерона будет восстанавливаться мезодерма до тех пор, пока не наступит следующий элементарный процесс — следующая стадия развития.

Почти все то, о чем писали и думали эмбриологи круга А. Вейсмана и В. Ру с позиций неопреформизма, и все то, над чем работали и думали исследователи круга Г. Дриша с эпигенетических позиций, так или иначе вошло в арсенал современной эмбриологии, сформировало ее словарь, определило направление работ.

ПРЕДЗАРОДЫШЕВОЕ РАЗВИТИЕ — ГАМЕТОГЕНЕЗ

ТЕОРИЯ НЕПРЕРЫВНОСТИ ЗАРОДЫШЕВОЙ ПЛАЗМЫ

Онтогенез многоклеточных организмов есть способ и форма совместного существования эукариотных клеток единого происхождения и разной судьбы.

Все клетки, составляющие многоклеточный организм, происходят из одной — яйца, но разделяются на соматические дифференцированные клетки и половые клетки, обеспечивающие онтогенез следующей генерации. Отношения между половыми и соматическими клетками всегда становились центром внимания эмбриологов.

В 1880 г. М. Нуссбаум обнаружил экстрагонадное образование половых клеток у амфибий и рыб. Наблюдение навело его на мысль о существовании непрерывной преемственности между половыми клетками в ряду поколений. Эту мысль А. Вейсман положил в основу своей теории зародышевой плазмы, которую К. А. Тихомиров назвал мистической, а А. Г. Кнорре — романтической. В 50-е годы XIX в. в официальной биологии эта теория была названа идеалистической, ненаучной, однако о ней же И. И. Шмальгаузен говорил, что «...в теории А. Вейсмана мы имеем совершенно законченную концепцию, наиболее полно охватывающую проблемы эволюционной теории..., но во многом идущую вразрез с положениями Ч. Дарвина».

В 70—80-е годы XIX в. цитологи уже высказали представление о ядре как носителе наследственной информации, уже существовало описание митоза и мейоза, а также наблюдение о видовом постоянстве числа хромосом в клетках. Таким был научный фон, на котором создавалась теория зародышевой плазмы.

Основные положения теории А. Вейсмана

1. Наследственные признаки передаются через материал ядра, которое образовано зародышевой плазмой.

2. Зародышевая плазма (материал ядра) состоит из идов (структур ядра). Ид дискретен и образован детерминантами, определяющими признаки взрослого организма. Количество детерминантов равно числу независимых признаков.

3. Деление клеток может быть равно- и неравнонаследственным, т. е. при делении происходит полная или частичная передача детерминант дочерним клеткам.

4. При образовании соматических клеток передача детерминант дочерним клеткам неполная.

5. Простейшие при делении получают всю зародышевую плазму и поэтому потенциально бессмертны.

6. Многоклеточность связана с разделением функций между клетками.

7. Только половые клетки многоклеточных, подобно простейшим, оказываются хранителями всей зародышевой плазмы, поэтому они образуют бессмертный ряд в череде поколений, который Вейсман назвал зародышевым путем. Клетки сомы отмирают в каждом поколении.

Своей теорией А. Вейсман сделал мощный прорыв в будущее, предвосхитил многие современные представления биологии развития. Он одним из первых сформулировал положение о локализации наследственного вещества в хромосомах (идах); высказал мысль о дискретности наследственного материала. Понятие о детерминантах предвосхитило понятие «ген» (В. Л. Йогансен, 1909). Представление об утрате наследственного вещества при дифференцировке перекликается с современными представлениями о дифференциальной активности генов как причине дифференцировки.

Фактически логика современных построений о ходе реализации «программы» индивидуального развития повторяет логику построения А. Вейсмана.

Итак, согласно современным представлениям, первые клетки нового организма (бластомеры), образовавшиеся из зиготы, не специализированы, но, как и сама зигота, способны выполнять всю «программу» развития. Их потомки — соматические клетки организма — могут выполнять уже только часть «программы», т. е. они детерминированы. Затем детерминированные клетки претерпевают конечную дифференцировку и становятся специализированными. Специализированные клетки производят так называемые избыточные белки, которые определяют специфику ткани.

Поскольку все это происходит с клетками одного и того же генетического состава, должен существовать механизм эпигенетической регуляции, обеспечивающий их дифференцировку.

Если бы не существовало механизма, «включающего» и «выключающего» гены, то все соматические клетки должны были быть одинаковыми. Какой-то процесс должен управлять передачей через митоз состояния «включен — выключен». Этот процесс важен как для создания клеточного разнообразия организмов, так и для его поддержания.

Существует три гипотезы, объясняющие эпигенетическое регулирование и эпигенетическое наследование, т. е. перенос через митоз соматических клеток специфической схемы действия генов.

1. Схема белкового наследования. Согласно этой схеме, генная активность регулируется путем соединения с определенным участком ДНК белка — активатора или ингибитора генной активности. Этот белок передается следующим поколениям клеток, включается в тот же участок ДНК и тем определяет их генетическую активность. Таким образом, по этой схеме регуляция осуществляется на уровне транскрипции.

2. Изменение последовательности оснований ДНК соматических клеток, сопровождающее дифференцировку. Показано, что по этой схеме дифференцируются клетки иммунной системы, синтезирующие иммуноглобулины. Но, по-видимому, данный случай частный, так как при этом изменения клеток необратимы, тогда как многие дифференцировки соматических клеток часто носят обратимый характер.

3. Схема химической модификации ДНК. Активность ДНК модифицируется метилированием цитозина с образованием 5-метилцитозина.

Существует механизм перехода метильной метки в дочерние клетки через репликацию ДНК. Белки — регуляторы генетической активности неодинаково относятся к метилированным и неметилированным цепям ДНК, и таким образом осуществляется эпигенетическая регуляция, обеспечивающая дифференциальную генетическую активность соматических клеток — ее создание и поддержание (М. Холлидей, 1989).

ПРОИСХОЖДЕНИЕ ПОЛОВЫХ КЛЕТОК

У ряда животных половые клетки образуются из соматических клеток на протяжении всего онтогенеза. Например, у губок — из амебоцитов и хоаноцитов, у кишечнорастных (класс Гидроидные) — из интерстициальных клеток, у плоских червей — из необластов. Очевидно, что к этим животным понятие зародышевого пути в понимании А. Вейсмана неприменимо.

Для полихет и олигохет характерно раннее обособление зачатка половых клеток, которые образуются из соматических.

Половые клетки остальных групп животных, в том числе позвоночных, формируются из особого зачатка первичных половых клеток, или гонцитов. Этот зачаток у разных животных обособляется на разных стадиях эмбриогенеза, но всегда отдельно и независимо от зачатка половой железы.

Согласно современным представлениям, у многих животных (нематоды, членистоногие, позвоночные) зачаток первичных

половых клеток — гонцитов обособляется действительно рано — на стадии гастролы или нейрулы. У большинства членистоногих, нематод, щетинкочелюстных, бесхвостых амфибий половые клетки обособляются уже в ходе дробления.

Однако половые клетки отличаются от соматических не временем обособления в онтогенезе, а тем, что они сохраняют свою тотипотентность.

Рассмотрим происхождение половых клеток у позвоночных животных.

Надкласс Рыбы. Полагают, что у рыб существует зародышевый путь. Гонциты обособляются в конце гастрюляции. Их источником служит первичная энтомезодерма, а временным прибежищем перед началом миграции в гонаду — перибласт (P. D. Nieukoop, L. A. Sutaswrya, 1978). Возможно, что в гонадах взрослых рыб присутствуют первичные половые клетки.

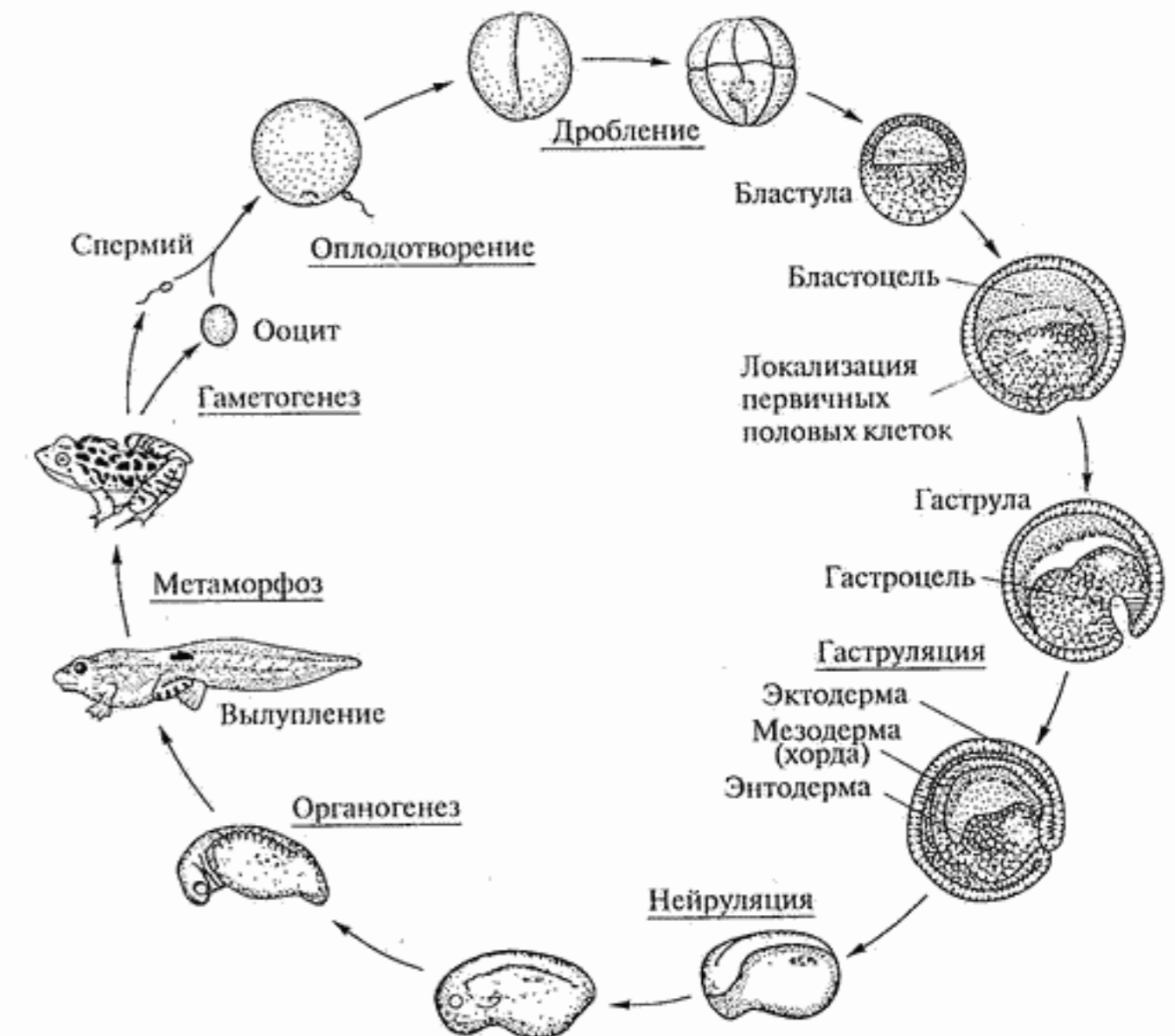


Рис. 2. Главные этапы развития лягушки от момента оплодотворения до половозрелой особи

Класс Амфибии. У травяных лягушек на ранних стадиях дробления среди бластомеров будущей энтодермы Л. Бунур описал участки безжелтковой цитоплазмы. Эта цитоплазма оказалась маркером половых клеток и была названа «зародышевой (половой) плазмой». Так в научный обиход вошло иное, нежели у А. Вейсмана, понятие «зародышевая плазма».

На стадии поздней гаструлы клетки, содержащие зародышевую (половую) плазму, обнаруживаются во внутренней части энтодермы и в области желточной пробки. На стадии хвостовой почки эти клетки сосредотачиваются в области дорсальной энтодермы. Первичный клон клеток выделяется, таким образом, при дроблении и в составе энтодермы претерпевает 2—3 деления. У молодых личинок они еще некоторое время остаются в составе энтодермы, прежде чем попадут в гонаду.

Класс Рептилии. Первичные половые клетки обнаруживаются во внезародышевой энтодерме (Пастельс, 1968; Хуберт, 1976). Удаление их приводит к стерильности.

Класс Птицы. В. М. Данчакова еще в 1908 г. описала мигрирующие энтодермальные клетки, которые позже были идентифицированы как первичные половые (С. Н. Swift, 1914). На стадии дробления их отмечали в передней и задней бластодерме, что косвенно свидетельствует об их раннем появлении. Удаление этих клеток, не влияя на развитие гонады, делает ее стерильной.

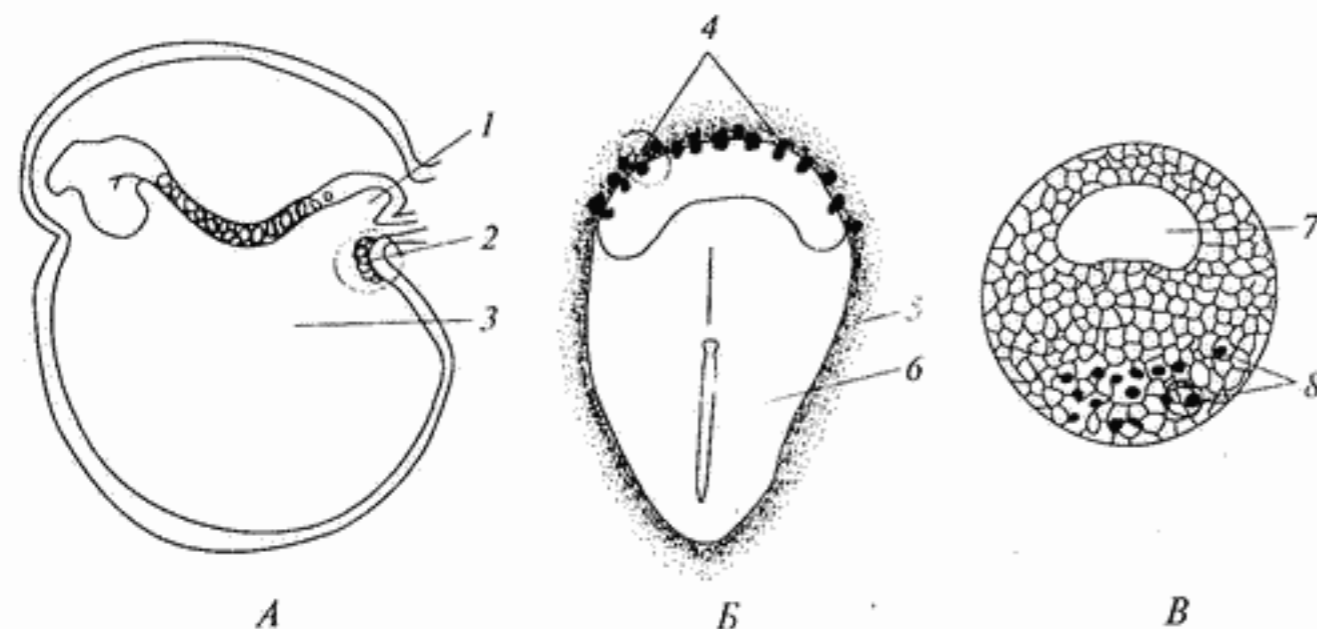


Рис. 3. Происхождение первичных половых клеток у некоторых позвоночных:

А — зародыш млекопитающего; Б — зародыш курицы; В — бластула лягушки; 1 — задняя кишка; 2 — первичные половые клетки в стенке желточного мешка; 3 — желточный мешок; 4 — первичные половые клетки на границе между светлой и темной зонами; 5 — темная зона (area opaca); 6 — светлая зона (area pellucida); 7 — бластоцель; 8 — первичные половые клетки в презумптивной энтодерме

Класс Млекопитающие. Половые клетки являются потомками эмбриональных тотипотентных клеток, присутствующих в бластодерме зародыша в период формирования первичной полоски. Затем они попадают в заднюю внезародышевую энтодерму, мигрируют в стенку кишки и в окружающую ее мезенхиму, а затем перемещаются в дорзальный мезентерий к закладке гонады.

Гонциты ранних зародышей, поврежденные рентгеновскими лучами, не восстанавливаются (А. П. Дыбан, В. С. Баранов, 1977).

Итак, первичные половые клетки — гонциты появляются раньше половой железы и существуют независимо от нее (рис. 2, 3). До развития гонады они активно перемещаются в организме с токами жидкостей. Перед миграцией половые клетки несколько раз делятся, но, начав миграцию, делиться перестают. Оказавшись вблизи половой железы, гонциты приближаются к ней амебоидным способом, привлекаемые фактором белковой природы, который выделяет гонада. Проникнув в железу, половые клетки располагаются у самцов в мозговом, а у самок в корковом слое гонады. В дальнейшем половые клетки до их созревания находятся в гонадах — семенниках и яичниках. Созревание половых клеток называют предзародышевым развитием или гаметогенезом.

ООГЕНЕЗ

Процесс развития женских половых клеток называется оогенезом. Гонциты вселяются в зачаток женской половой гонады, и все дальнейшее развитие женских половых клеток происходит в ней. Структура оогенеза в принципе одинакова у всех животных. Попав в яичник, гонциты становятся оогониями (рис. 4).

Оогоний — это незрелая половая клетка, способная к митозу. Оогонии осуществляют первый период оогенеза — период размножения. В этот период оогонии делятся митотическим путем. Количество делений видоспецифично. У некоторых животных, например у рыб и амфибий, периодичность митотических делений оогониев связана с сезонным размножением и повторяется в течение всей жизни. У млекопитающих оогенез приходится на внутриутробный период развития плода и завершается к моменту рождения. Так, у человека максимальное количество оогониев (6—7 млн) наблюдается у пятимесячного плода. Далее следует массовая дегенерация половых клеток, количество которых у новорожденной девочки остается около 1 млн, а к семи годам сокращается до 300 тыс.

Следующий период оогенеза — период роста. Половые клетки в этом периоде называются ооцитами первого порядка. Они теряют способность к митотическому делению и вступают в профазу I мейоза (рис. 5). В этот период осуществляется рост половых клеток.

ВОЗРАСТ	ГИСТОЛОГИЯ ФОЛЛИКУЛОВ	МЕЙОТИЧЕ- СКИЕ СОБЫТИЯ В ЯЙЦЕ	ХРОМО- СОМНЫЙ НАБОР
Зародышевый период	Фолликулов нет	Оогоний Митоз	$2n2c$
Перед рождением или при рождении	Примордиальные фолликулы	Ооцит первого порядка Мейоз	$2n4c$
После рождения	Первичные фолликулы	Ооцит первого порядка Остановка развития на стадии первого деления мейоза	$2n4c$
После достижения половой зрелости	Вторичные фолликулы	Ооцит первого порядка	$2n4c$
	Третичные фолликулы	Ооцит первого порядка	$1n2c$
		Овуляция	
	Овулировавшее яйцо	Ооцит второго порядка + первое направительное тельце	$1n2c$
		Остановка развития в метафазе II Оплодотворение и завершение второго деления мейоза	
	Оплодотворенное яйцо	Оплодотворенное яйцо + второе направительное тельце	$1n1c$

Рис. 4. Схема событий в процессе оогенеза, происходящих в яичнике человека

Выделяют стадию малого и стадию большого роста. У африканской шпорцевой лягушки (*Xenopus laevis*) малый рост приходится на лептотену (продолжительность 3—7 дней), зиготену (5—9 дней) и пахитену (около трех недель). Большой рост приходится на диплотену (около одного года), причем главный процесс большого

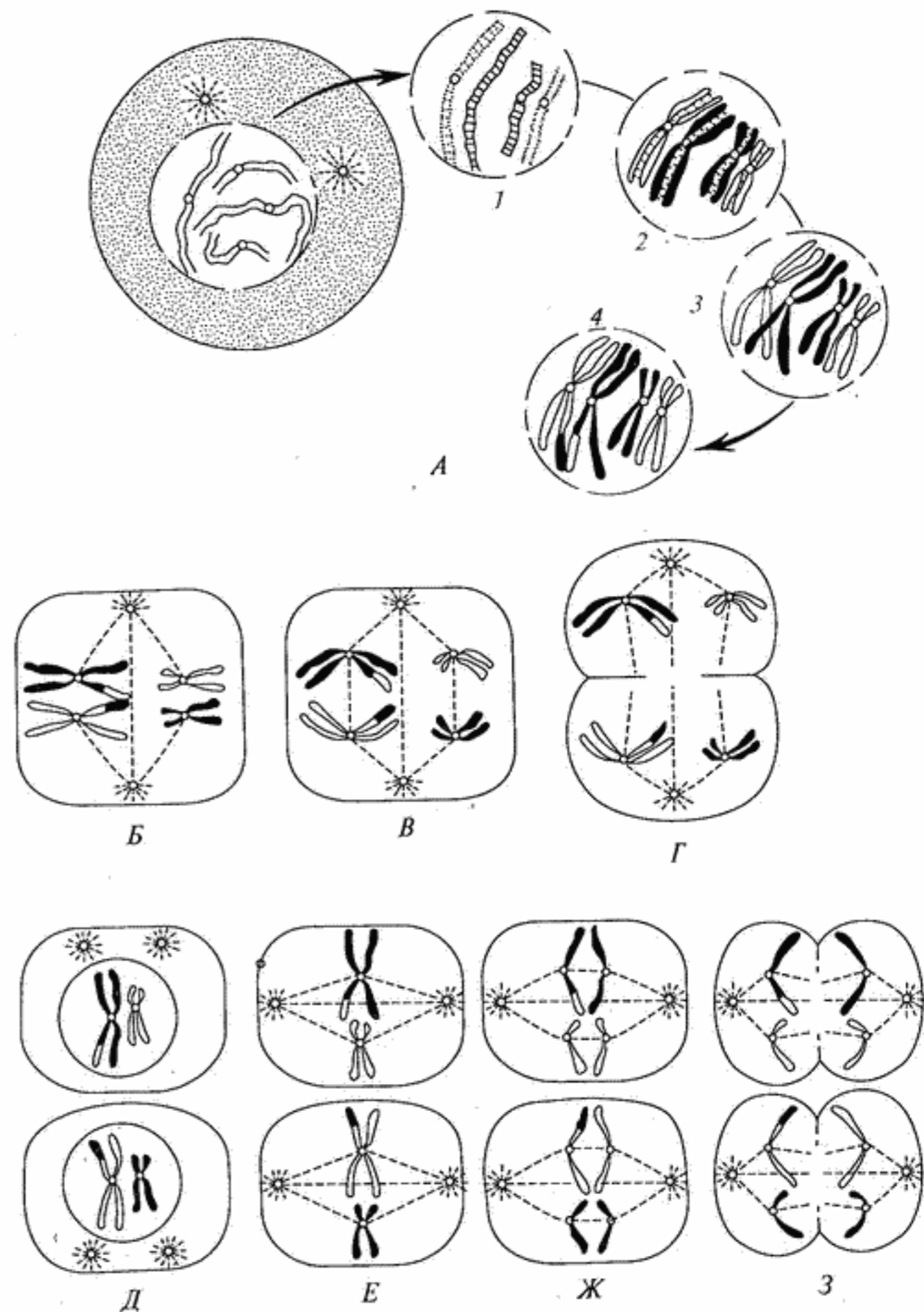


Рис. 5. Схематическое изображение стадий мейоза в половых клетках: А — профаза I (1 — зиготена; 2 — пахитена; 3 — диплотена; 4 — диакинез); Б — метафаза I; В — анафаза I; Г — телофаза I; Д — профаза II; Е — метафаза II; Ж — анафаза II; 3 — телофаза II

роста — процесс образования желтка (вителлогенез, вителлус — желток) занимает только часть диплотены. На диплотене гомологичные хромосомы конъюгируют, образуют тетрады и готовы к расхождению (в первом делении созревания). Однако на стадии диакинеза ход мейоза замедляется до полного прекращения (блок мейоза). Блок мейоза у человека снимается с наступлением половозрелости. Таким образом, стационарное состояние блока мейоза на стадии диакинеза продолжается 13—15 лет. Профаза I может быть очень продолжительной, и большой рост ооцитов, способных к овуляции, у человека растягивается на десятки лет, т.е. на весь репродуктивный возраст.

В период малого роста (превителлогенез, цитоплазматический рост) объемы ядра и цитоплазмы увеличиваются пропорционально и незначительно. При этом ядерно-цитоплазматические отношения не нарушаются. В период большого роста (вителлогенез) в высшей степени интенсифицируются синтез и поступление включений в цитоплазму, приводящие к накоплению желтка. Ядерно-цитоплазматическое отношение уменьшается. Часто яйцеклетка в этот период сильно увеличивается и ее размер возрастает в десятки (человек), а то и в сотни тысяч раз (лягушки, дрозофилы) и более (акуловые рыбы и птицы). Некоторые синтетические процессы, например синтез иРНК в оогенезе шпорцевой лягушки, ускоряются настолько, что если бы они шли со скоростью, характерной для соматических клеток, то оогенез (по этому компоненту) должен был продолжаться 600 лет. Механизм роста ооцита неодинаков у разных животных и зависит от типов питания яйцеклеток.

Типы питания яйцеклеток

Фагоцитарный тип питания существует у половых клеток животных, не имеющих стабильных половых желез, отдельно от соматических линий половых клеток (губки, кишечнополостные). У губок гоноциты могут образовываться как из тотипотентных подвижных клеток археоцитов, так и из специализированных воротничковых хоаноцитов. Ооцит — подвижная клетка. Перемещаясь по межклеточному пространству, она способна фагоцитировать соматические клетки организма. У гидры ооцит поглощает окружающие его интерстициальные клетки (также потенциальные ооциты), синтезирующие желток. При фагоцитарном способе вителлогенеза (по существу гипертрофия растущего ооцита) в цитоплазме ооцита синтезируются гидролитические ферменты, откладывающиеся в лизосомах, которые в данном случае называются фаголизосомами. В ооцитах — фагоцитах цитоплазма заполняется фаголизосомами (гетерофагосомами), пребывающими на разных стадиях переваривания захваченных клеток, а желточные гранулы не образуются (рис. 6, А).

При других способах питания в одном случае вспомогательные клетки не используются, а в других оогенез осуществляется с помощью вспомогательных клеток (рис. 6, Б, В, Г). Первый способ получил название солитарного, второй — алиментарного.

Солитарный тип питания наблюдается у колониальных гидридных полипов, присущ иглокожим, ланцетнику, некоторым чер-

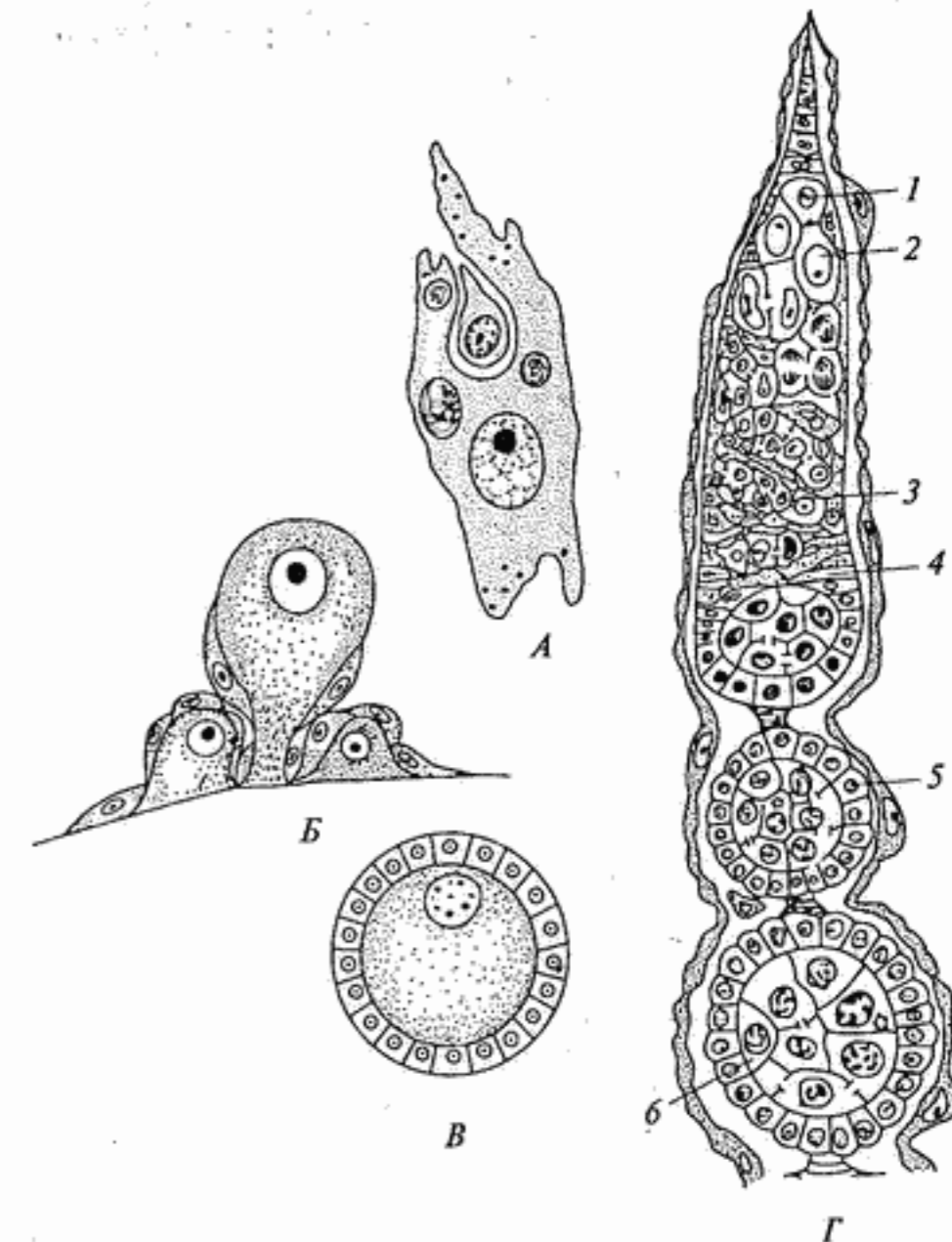


Рис. 6. Различные типы оогенеза у животных (Т.Б. Айзенштадт, 1984):

А — фагоцитарный, при котором подвижный ооцит обладает фагоцитарной активностью (губки, кишечнополостные и ряд червей); Б — солитарный, при котором фолликулярные клетки либо отсутствуют, либо существуют на небольшом отрезке оогенеза (кишечнополостные, черви, моллюски и иглокожие); В — фолликулярный, при котором фолликулярные клетки образуют один или несколько эпителиальных слоев вокруг ооцита (головоногие, моллюски, членистоногие и все хордовые животные); Г — нутриментарный, при котором ооцит соединен цитоплазматическими мостиками с питающими клетками и вместе с ними окружен фолликулярным эпителием (насекомые и черви); 1 — стволовая клетка; 2 — цистобласт; 3 — цистоцит; 4 — префолликулярная мезодерма; 5 — фолликулярные клетки; 6 — ооцит

вям и бескрылым насекомым. При солитарном способе питания растущий ооцит получает все необходимые для макромолекулярных синтезов ингредиенты в низкомолекулярной форме из цитоплазматической жидкости и из половой железы. Почти у всех этих форм системы гранулярного эндоплазматического ретикулума, аппарата Гольджи участвуют в синтезе желточных белков и их запасании в виде гранул. Морфология солитарного вителлогенеза свидетельствует о том, что желточные белки синтезируются в эндоплазматическом ретикулуме, а формирование желточных гранул происходит в аппарате Гольджи. Там желточные белки соединяются с углеводами, а отделяющиеся от концевых цистерн мелкие мембранные пузырьки с углеводно-белковым комплексом соединяются друг с другом, образуя желточные гранулы. При этом способе питания вителлогенез, т. е. запасание желтка, а также накопление всех типов РНК происходят за счет эндогенных синтезов в самом растущем ооците.

Алиментарный тип питания, т. е. осуществляемый с помощью вспомогательных клеток, подразделяется на нутриментарный и фолликулярный.

Нутриментарный способ питания (черви, членистоногие). Ооцит в яйчнике этих животных окружен трофоцитами — сестринскими клетками (клетками-кормилками), с которыми он связан цитоплазматическими мостиками. Весь комплекс представляет собой клон или группу половых клеток с незавершенной цитотомией. Отношение числа трофоцитов к числу оогониев у разных видов животных неодинаково и меняется от 25 : 1 у кольчатых червей до 2000 : 1 у дрозофилы. Как полагают, из такого синцития оогонияльных клеток ооцитом становится та, которая контактирует с большим числом сестринских клеток (наибольшая связность). В оогенезе трофоциты синтезируют рРНК, которая по цитоплазматическим мостикам в виде РНП-частиц поступает в ооцит (рис. 6, Г).

При фолликулярном способе питания вспомогательными клетками служат соматические клетки в составе яйчника. Большинству животных свойствен оогенез фолликулярного типа. Вступающий в оогенез фолликул, т. е. ооцит и окружающий его слой вспомогательных фолликулярных клеток, формируют многие беспозвоночные, в том числе и некоторые отряды насекомых, а также хордовые, а следовательно, позвоночные животные и человек. Фолликулярный эпителий в зависимости от стадии развития ооцита может быть плоским, кубическим или столбчатым. В период вителлогенеза основная масса желтка образуется за счет поступлений веществ извне и ооциты с экзогенным синтезом желтка растут с большой скоростью; 90 % белка, накапливаемого в ооците, содержится в желтке. В таких ооцитах происходит активный эндоцитоз. В поверхностной зоне ооцита появляется множество пиноцитарных пузырьков, содержащих вителлогенин — предшественник

желточных белков, поступаемых из крови. Вителлогенин — основной структурный компонент желточного белка и представляет собой комплекс двух белков: липовителлина и фосвитина. Липовителлин — липопротеид, содержащий до 20 % липидов (молекулярная масса 400 000). Фосвитин — фосфопротеин (молекулярная масса 40 000), содержащий 8 % фосфата. Структурная единица желточной пластины образована одной молекулой липовителлина и двумя молекулами фосвитина. Вителлогенины у разных животных синтезируются в разных соматических тканях и в процессе эволюции постепенно концентрируются в строго определенном органе. У позвоночных вителлогенин вырабатывается печенью самок.

Вителлогенин синтезируется клетками печени и находится под гормональным контролем (рис. 7). Гипоталамус выделяет гормон люлиберин, под влиянием которого гипофиз выделяет гонадотропные гормоны (ФСГ, ЛГ) в кровь. Под их воздействием клетки фолликула синтезируют в кровоток эстроген. Эстроген индуцирует и контролирует как на уровне транскрипции, так и на уровне трансляции синтез вителлогенина клетками печени. Например, если до воздействия эстрогеном в клетках печени вителлогениновой иРНК не обнаруживалось, то после воздействия в каждой клетке печени появлялось до 50 тыс. молекул вителлогениновой иРНК (что составляет почти половину всей иРНК орга-

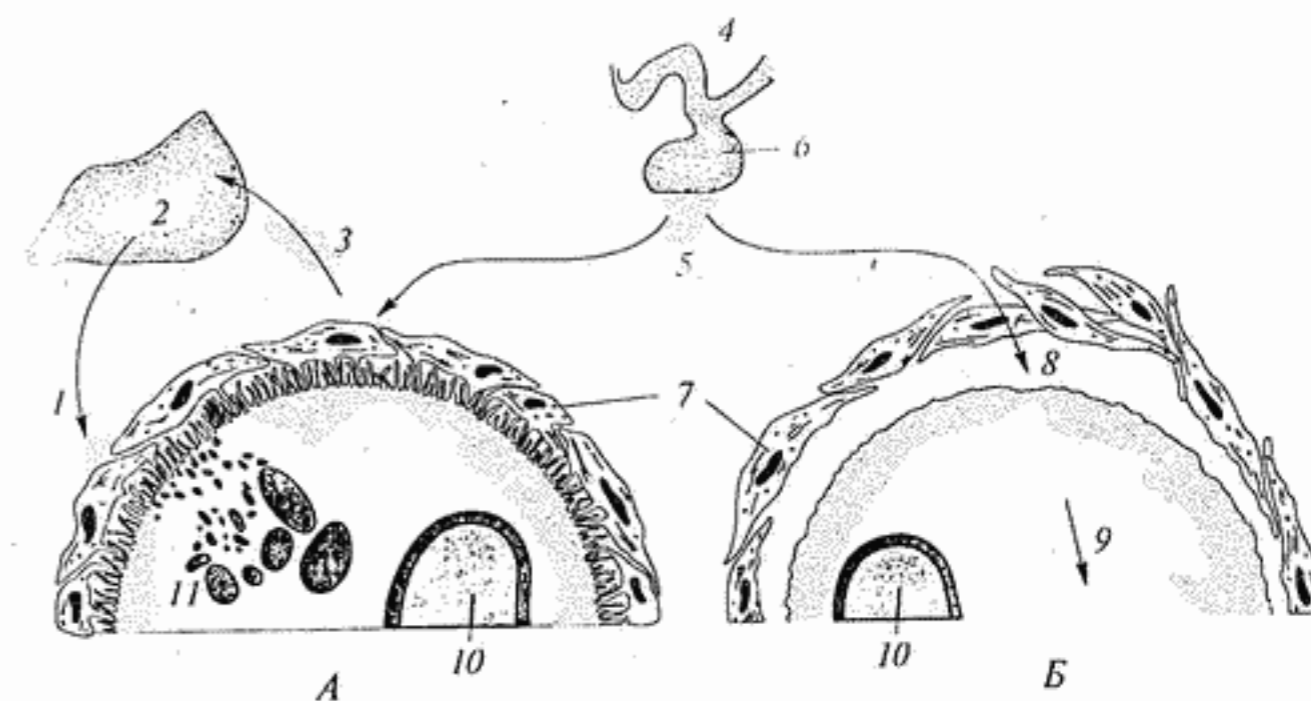


Рис. 7. Схема гормональной регуляции в ходе созревания женских половых клеток:

А — вителлогенез и дифференцировка ооцита; Б — созревание яйцеклетки и овуляция; 1 — вителлогенин; 2 — печень; 3 — эстроген; 4 — гипоталамус; 5 — гонадотропный гормон; 6 — гипофиз; 7 — фолликулярные клетки; 8 — прогестерон; 9 — овуляция; 10 — ядро ооцита; 11 — поступление в ооцит вителлогенина

низма). Из этих 50 тыс. активируется приблизительно 1,5 тыс. на клетку. Кроме того, эстроген увеличивает срок жизни этих молекул с 16 ч до трех недель.

В оогенезе в ооцитах накапливаются гистоны (чего не бывает в соматических клетках), что обеспечивает будущую репликацию ДНК при дроблении. В период роста резервируются элементы аппарата трансляции.

Концентрация огромного количества рибосом в ооплазме возможна благодаря избирательной активности рибосомных генов (р-генов) — участков ДНК, содержащих гены (цистроны), с которых транскрибируются 18S и 28S рРНК. Эта активность заключается в многократном копировании — амплификации — этих участков или экстракопировании с образованием экстраядрышек. Способность продуцировать рибосомы увеличивается в тысячи раз.

Вероятно, амплификация р-генов (рДНК) — принцип работы клеточного генома: она бывает и в соматических клетках. Однако в оогенезе этот механизм сохраняется и для удовлетворения потребности в синтезе рибосом, и для того, чтобы работа аппарата синтеза не препятствовала мейотическому преобразованию хромосом. Механизм амплификации заключается в том, что с петли рДНК снимаются кольцевые копии — первичные ядрышки, на которых далее транскрибируются рРНК, необходимые для сборки рибосом. Число и подробности структуры ядрышек неодинаковы у разных животных, но функция у них общая — не связанный с хромосомами синтез рРНК. В период оогенеза ядрышки претерпевают сложные изменения, в процессе которых они мельчают и прекращают синтез РНК. Накопление 5S и тРНК осуществляется без амплификации, а просто за счет работы многократно повторенных генов, кодирующих РНК.

иРНК транскрибируется с хромосом, образующих так называемые «ламповые щетки» — деспирализованные гигантские петли ДНК, перед входом в метафазу. Выходя в цитоплазму, иРНК покрывается белковой оболочкой и образует информсомы. Большинство их находится в покоящемся состоянии в цитоплазме ооцита и активируется после оплодотворения.

Амплифицированная ДНК в конце оогенеза разрушается.

Ядро ооцита в профазе мейоза в оогенезе. В профазе I мейоза происходят конъюгация хромосом, образование синаптонемального комплекса, кроссинговер, т.е. события, определяющие все дальнейшие процессы мейоза (см. рис. 5). В начальный период мейоза, на который приходится малый рост, в ядре ооцита осуществляются мейотические преобразования хромосом и последовательно наступают стадии пролепготены, лепготены, зиготены, пахитены, диплотены. На зиготенной стадии профазы мейоза начинаются образование синаптонемального комплекса и конъюгация гомологичных хромосом. Синаптонемальный комплекс (СК) —

это генетически детерминированная трехчленная белковая структура. СК возникает только в мейозе и необходим для процесса конъюгации гомологичных хромосом, их правильного расхождения (и редукции), а также для осуществления кроссинговера в мейозе. На пахитене конъюгация завершается образованием бивалента, чем достигается мнимая редукция числа хромосом.

На диплотенной стадии ооциты вступают в период роста. В первую половину этого периода интенсивно увеличиваются ядро и цитоплазма (цитоплазматический рост). «Ламповые щетки» и ядрышки достигают максимального развития и активно участвуют в синтезе РНК. Во вторую половину периода большого роста осуществляется вителлогенез (трофоплазматический рост). В ядре наблюдается спад синтеза РНК. Нередко образуется кариосфера — особая структура с порами, состоящая из элементов мембран и СК для изоляции диплотенных хромосом ядра ооцита от функциональной активности экстрахромосомной ДНК и ядрышек.

В конце периода большого роста «ламповые щетки» утрачивают петли и сильно укорачиваются. Наступает стадия диакинеза, вслед за которой формируется метафазная пластинка первого деления созревания. Появление и длительное функционирование хромосом типа «ламповых щеток», интенсивное развитие ядрышкового аппарата характерны для ооцитов, не имеющих специализированных питающих клеток (солитарный и фолликулярный типы питания). Там, где есть питающие клетки-трофоциты (нутриментарный тип питания), период развития и работы «ламповых щеток» сокращен или отсутствует. Ядрышки функционируют короткое время или не развиваются совсем, а кариосфера рано формируется.

Развитие женских половых клеток завершается их созреванием, которое заключается в превращении ооцита первого порядка с ядром ($2n4c$) в зрелую яйцеклетку с ядром (nc), готовую к слиянию со сперматозоидом и образованию зиготы (см. рис. 4). Яйцеклетка созревает в результате мейоза. В оогенезе мейоз завершается только у морских ежей и некоторых кишечнополостных. У этих животных развитие яйцеклеток останавливается на стадии образования женского пронуклеуса и возобновляется только после оплодотворения (рис. 8).

У остальных животных мейоз, не доходя до конца, блокируется. В результате блокирования мейоза развитие яйцеклетки останавливается на специфической для данного вида стадии (блок мейоза). В соответствии со стадией, на которой наступает блок мейоза, животные распределяются следующим образом:

1. Мейоз останавливается на стадии диакинеза профазы I. Этот тип блока характерен для губок, некоторых плоских, круглых и кольчатых червей, моллюсков, щетинкочелюстных, а также для лисы и собаки.

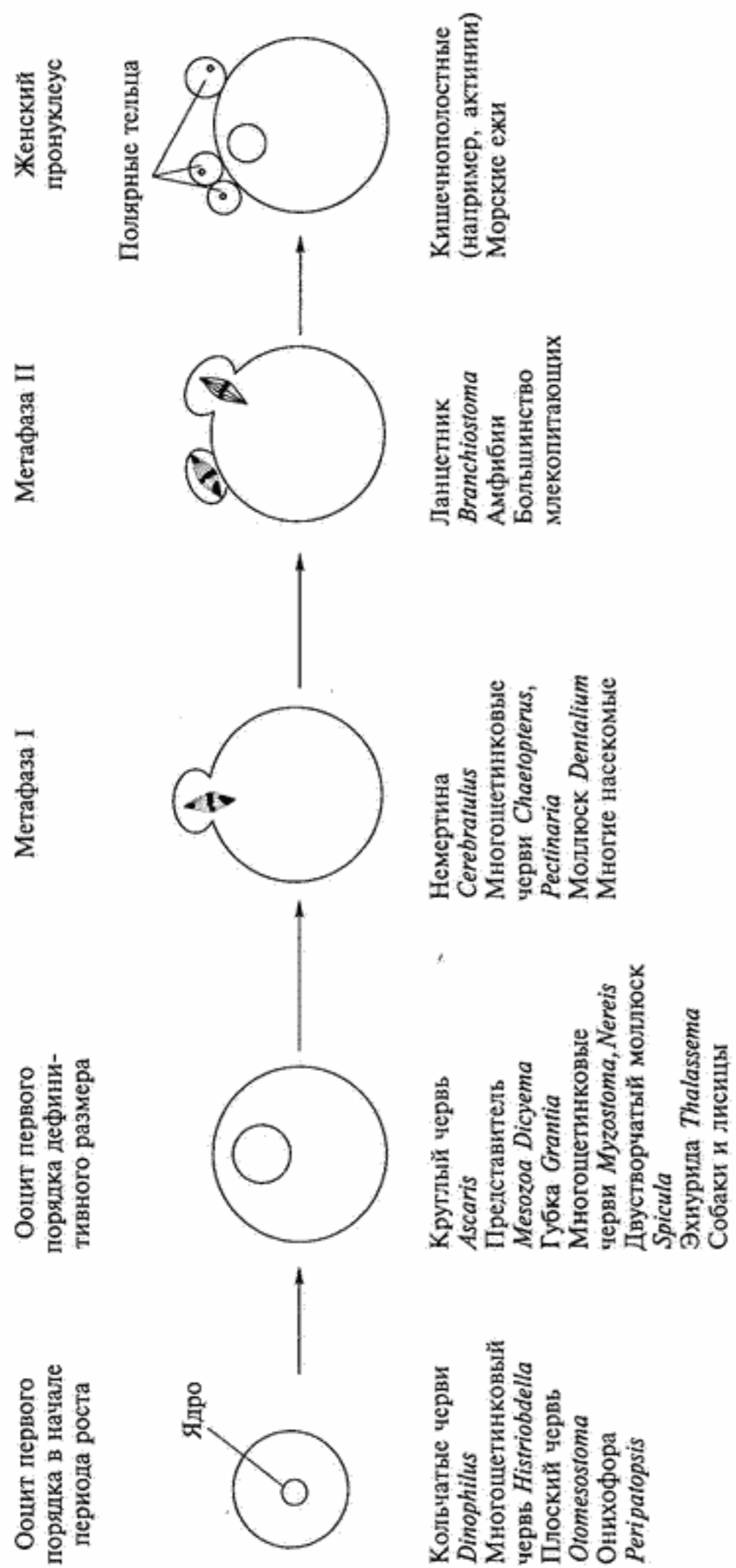


Рис. 8. Стадии созревания яиц у разных животных, когда в них проникает сперматозоид (по С. R. Austin, 1965)

2. На метафазе I мейоз блокируется у губок, немертин, кольчатых червей, моллюсков, почти у всех насекомых.
 3. На метафазе II мейоз блокируется почти у всех хордовых (исключение — летучие мыши, у них — на анафазе II).
- Теперь только после оплодотворения созревание яйцеклетки завершится и образовавшаяся зигота продолжит развитие.

СПЕРМАТОГЕНЕЗ

Развитие мужских половых клеток, или сперматогенез, имеет свою специфику по сравнению с развитием женских половых клеток — оогенезом. В обоих случаях цель одна — получение зрелых, т. е. гаплоидных, половых клеток. Поэтому можно считать, что различия связаны с особенностями биологии размножения. Зрелые

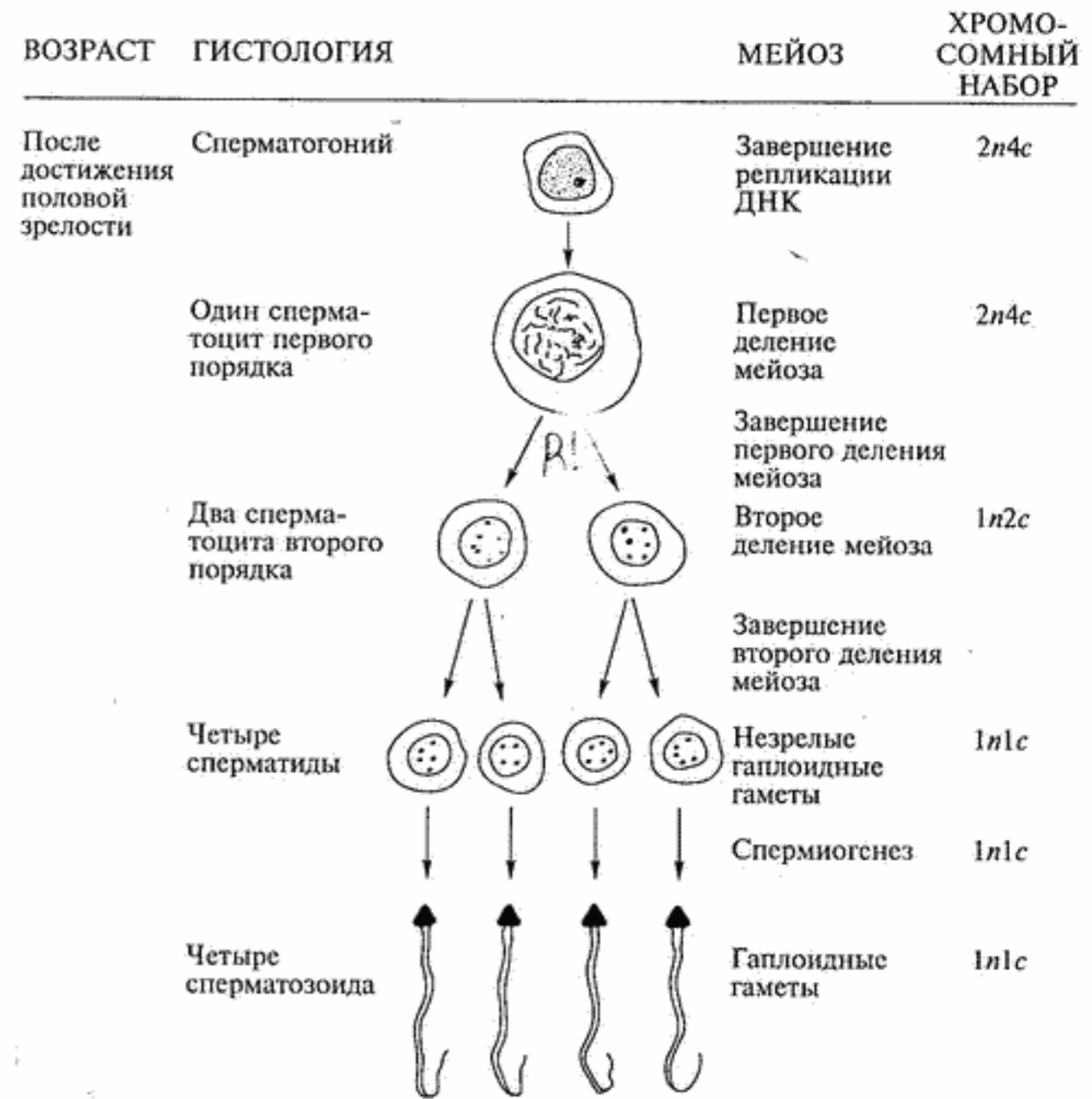


Рис. 9. Схема сперматогенеза у человека

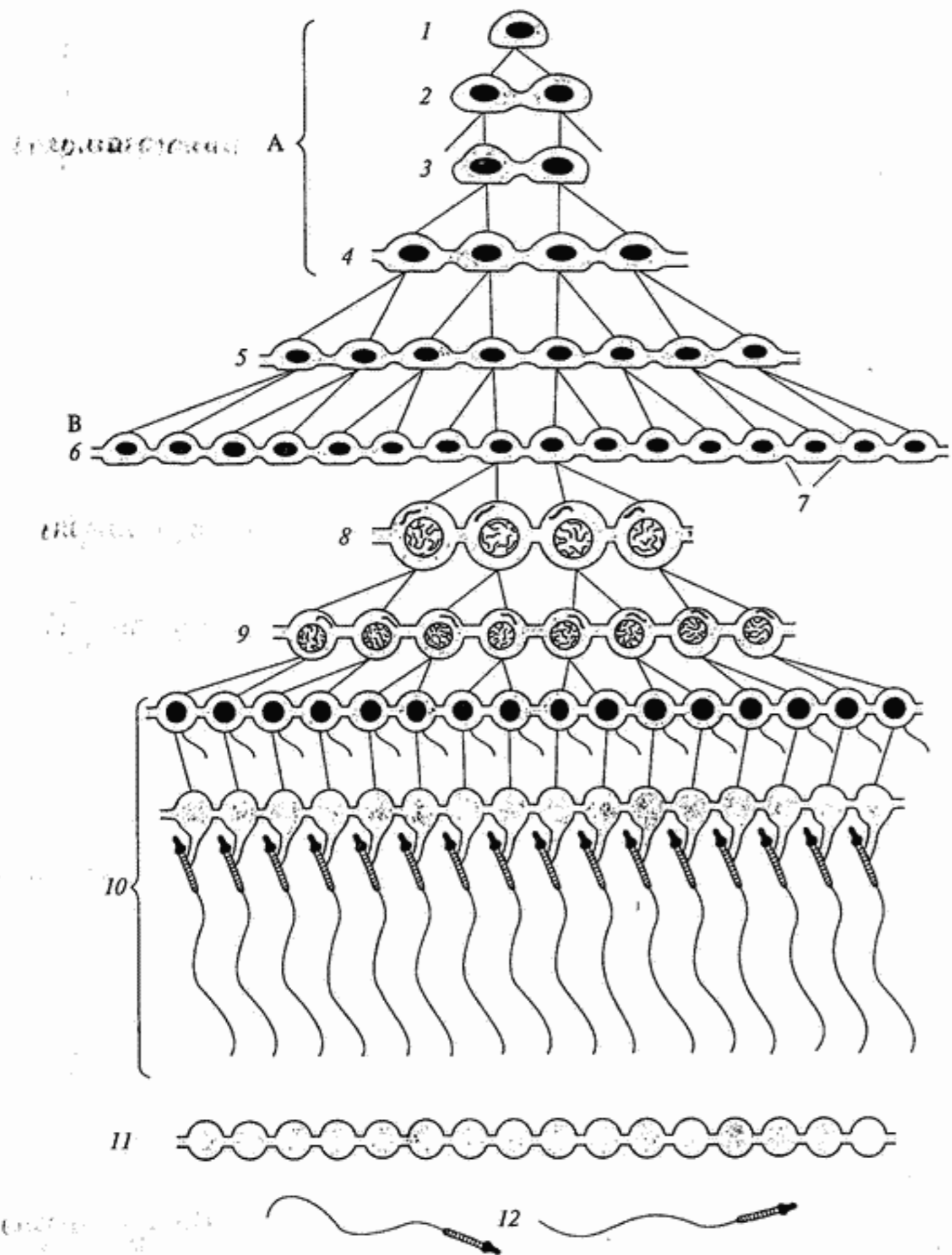


Рис. 10. Формирование синцитиального клона мужских половых клеток: 1—4 — сперматогонии типов А1—А4; 5 — промежуточные сперматогонии; 6 — сперматогонии типа В (сперматогонии, вступающие в сперматогенез); 7 — цитоплазматические мостики; 8 — первичные сперматоциты (первое мейотическое деление); 9 — вторичные сперматоциты (второе мейотическое деление); 10 — сперматиды; 11 — резидуальные тельца; 12 — сперматозоиды

мужские половые клетки — сперматозоиды в противоположность женским мелкие, многочисленные и подвижные. Каждая группа сперматозоидов — производное одной инициальной клетки и развивается в виде клона синцитиально связанных клеток, а по численности и некоторым особенностям строения дает группу отдельных подвижных клеток. Само развитие сперматозоидов у разных животных схоже (рис. 9).

Сперматогенез всегда тесно связан со вспомогательными обслуживающими клетками соматического происхождения. Взаиморасположение половых и соматических обслуживающих клеток в достаточной мере специфично характеризует сперматогенез и поэтому представляет наибольший интерес. Развитие сперматозоида правильнее рассматривать не как «биографию» отдельной мужской половой клетки, а как историю жизни клона (рис. 10).

Общая характеристика сперматогенеза

По словам Э. Рузен-Ранге (1980), известного исследователя сперматогенеза, сперматогенез и сегодня исследован едва ли у 0,001 части существующих животных. Тем не менее можно выделить ряд общих моментов, характерных для этого процесса у всех животных:

1. Мужские половые клетки никогда не развиваются в одиночку, а растут в виде клонов синцитиально связанных клеток, где все клетки оказывают друг на друга влияние.

2. У большинства животных в процессе сперматогенеза принимают участие вспомогательные соматические клетки: «опорные», «питающие», клетки Сертали. Все это, по существу, разные названия клеток фолликулярного эпителия.

3. Половые клетки и связанные с ними вспомогательные клетки на ранней стадии развития отделяются от клеток сомы слоем пограничных клеток, выполняющих барьерную функцию. Внутри самой гонады происходит дальнейшее структурное обособление в виде цист или канальцев, где вспомогательными фолликулярными клетками создается специфическая среда сперматогенеза.

4. Первичные половые клетки, в том числе мужские, у многих животных могут быть идентифицированы задолго до образования гонады и часто вообще на очень ранних стадиях развития.

Развитие мужских половых клеток удобно представить в следующем виде (табл. 1).

Сперматогонии, приступающие к делению, бывают самыми крупными и называются первичными; клетки, образовавшиеся в результате деления первичных сперматогониев, — вторичные сперматогонии.

Число делений сперматогониев видоспецифично: обычно 3—8 (разброс по видам 1—14). В результате делений число клеток заметно возрастает, хотя не они дают главный прирост количества

Стадии развития мужских гамет
(по Э. Рузен-Ранге, с изменениями)

Период	Название	Особенность клеток
1. Развитие первичных половых клеток	Первичные половые клетки	Находятся вне гонады; не детерминированы по полу; способны митотически делиться и амёбно двигаться
2. Пресперматогенез (есть не у всех, у некоторых сразу — сперматогенез). У человека продолжительность этого периода приблизительно 10 лет — от закладки мужской гонады до половозрелости; митотическая активность перемежается периодами дегенерации	Гонциты — стволовые клетки. Сперматогонии	Находятся в гонаде; детерминированы по полу; делятся митотически; находятся в связи со вспомогательными клетками окружения; обнаруживают некоторую степень клеточной дифференцировки
3. Сперматогенез (митотическая сперматогонимальная стадия)	Сперматоциты I и II порядков	Митотические; образуют клоны; заметная клеточная дифференцировка (в процессе митозов)
Стадия сперматоцитов или мейотическая стадия		Остановка и прекращение митозов; постмитотические деления (мейоз) включают два деления созревания (редукционное и эквационное)
Стадия сперматид или спермиогенез	Сперматиды	Постмейотические гаплоидные сперматиды не делятся; происходит специфическая дифференцировка в сперматозоиды

образующихся сперматозоидов. Главная причина пополнения — образование новых гониальных клеток из вновь вступающих в сперматогенез клональных первичных половых клеток. Сперматогонии пополняются за счет деления (полного митоза) стволовых клеток мужской гонады. Деления эти, по-видимому, независимы от са-

мого процесса сперматогенеза. В определенный момент дочерняя клетка (производная стволовой) делится неполно, оставляя мостик, связывающий дочерние клетки, и вступает на путь сперматогенеза. Впоследствии это соединение клеток сохраняется на протяжении сперматогенеза от сперматогоний до поздних сперматид. Синцитиальная связь, с одной стороны, обеспечивает синхронность существования клеток клона, с другой (в силу массовости) — гетерогенность и полиморфизм составляющих его клеток и тем самым высокую жизнеспособность. Деления гоний дифференцирующие. В процессе таких митотических делений дочерние клетки не вполне дорастают до исходных и мельчают, и в итоге подготавливают гонии к вступлению в мейоз. Период митотического дифференцирующего сперматогенеза завершается созданием «вторичных», или «поздних» сперматогоний, и подводит клетки клона к мейотическому периоду сперматогенеза. Клетки, закончившие деление и вступившие в период роста и созревания,

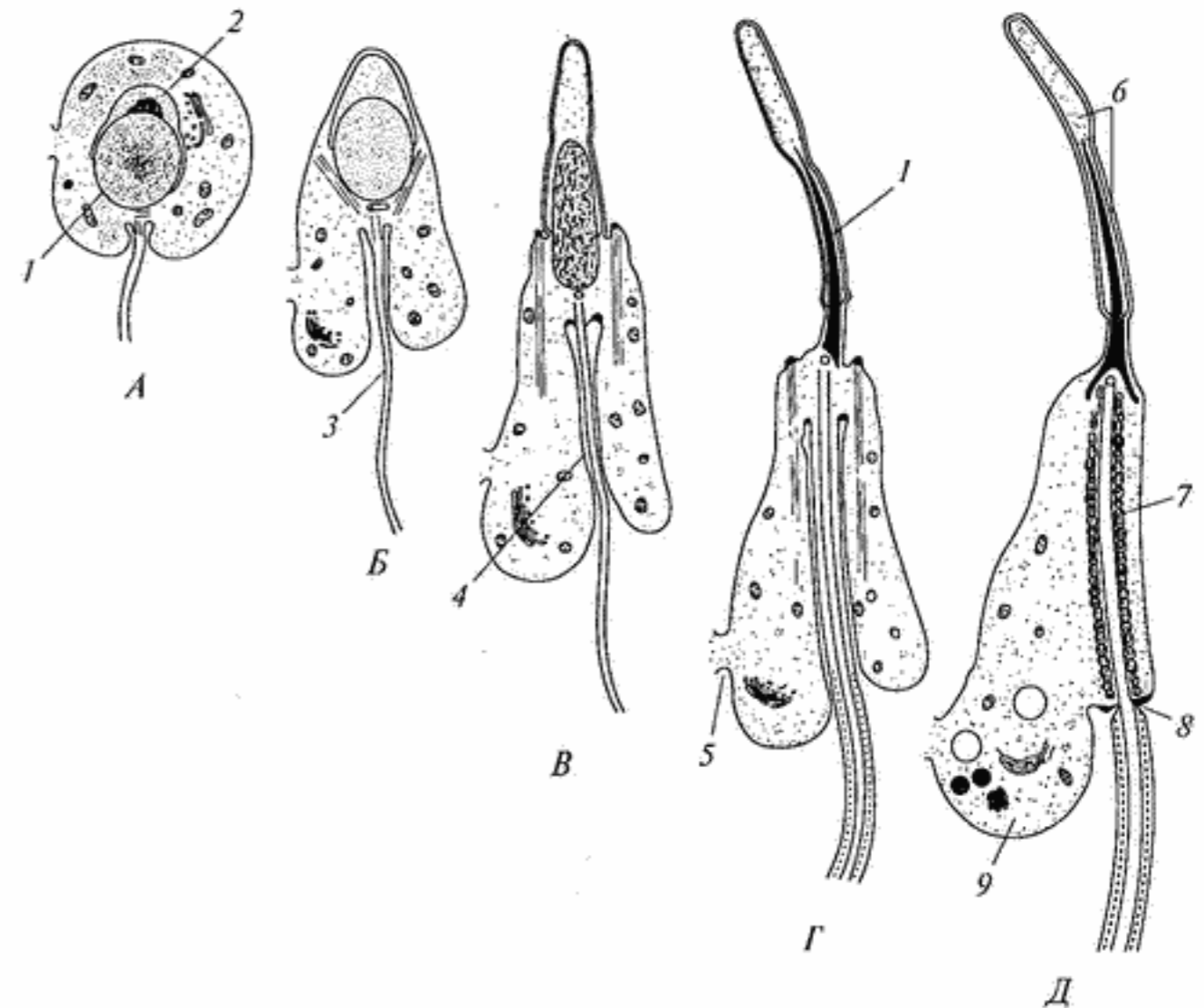


Рис. 11. Стадии спермиогенеза у млекопитающих (А—Д):

1 — ядро; 2 — акросома; 3 — жгутик; 4 — жгутиковый канал; 5 — межклеточный мостик; 6 — акросомная чаша; 7 — спираль митохондрий; 8 — перехват; 9 — резидуальная цитоплазма

называются сперматоцитами. В период мейоза совершаются сложные изменения ядер, подготавливающие клетку к переходу в гаплоидное состояние. В профазе I мейоза сперматоцит растет, и поэтому такие клетки называют еще ауксоцитами, т.е. растущими (от греч. «аихо» — расти) (см. рис. 9).

Таким образом, самыми крупными клетками сперматогенеза являются готовящиеся к первому делению созревания сперматоциты I. Появившиеся в результате этого деления созревания сперматоциты II делятся и образуют гаплоидные сперматиды. Превращение сперматид в сперматозоиды называется спермиогенезом (рис. 11). В начале спермиогенеза клетки все еще связаны друг с другом цитоплазматическими мостиками и продолжают оставаться в составе синцитиального клона. Ядро уплотняется и утрачивает синтетическую активность. Аппарат Гольджи оказывается на апикальном конце клетки, где образует так называемую акросому. Ниже ядра располагаются одна под другой центриоли. Та, что ближе к ядру, называется проксимальной. От другой, дистальной, растет органоид движения — жгутик. Как и все цитодифференцировки, дифференцировка сперматозоида осуществляется под генетическим контролем. Особенность его состоит в том, что хроматин формирующихся клеток конденсируется путем замены гистонов на протамины задолго до завершения сперматогенеза. Конденсация хроматина делает ядро неспособным к трансляции, необходимой для дифференцировки сперматозоида. иРНК протаминов транскрибируется в раннем сперматогенезе и запасается в виде неактивных РНП. Жгутик сперматозоида делает клетку подвижной, но причиной неподвижности сперматозоидов оказывается отсутствие дәнеиновых ручек в аксонеме (мутация по локусу Р у мышей). У мутантов дрозофилы нарушается формирование микротрубочек. В этом случае хроматин конденсируется, но головка сперматозоида не принимает характерной для вида формы.

Строение и функции фолликулярного эпителия семенников позвоночных

Ход сперматогенеза обеспечивается вспомогательными соматическими клетками, создающими структуры разной сложности: от простых эпителиев, формирующих цисты, до очень сложных, связанных сразу с несколькими стадиями сперматогенеза, на которых находятся обслуживаемые ими клоны развивающихся сперматозоидов.

Вспомогательные клетки имеют множество названий. К уже упоминавшимся можно добавить такие, как ветвистые, питающие, поддерживающие, базальные, выстилающие, защитные. Впервые описанные Сертоли фолликулярные клетки в семенниках человека и затем обнаруженные у всех позвоночных и многих

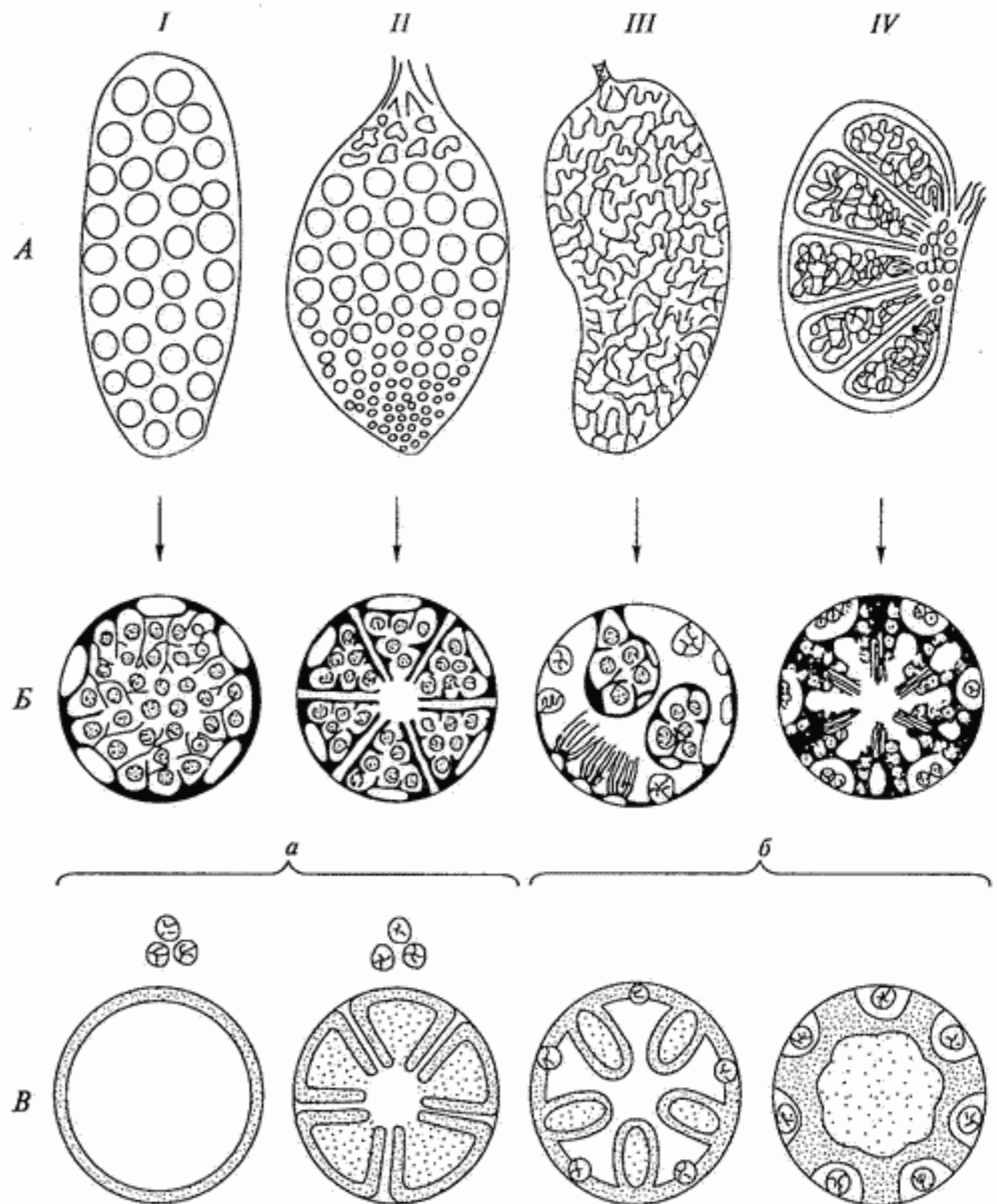


Рис. 12. Типы строения семенников позвоночных (Н.С.Габаева, 1982):

I — круглоротые; II — хрящевые рыбы; III — костные рыбы; IV — рептилии и птицы; А — строение семенников; Б — топографические отношения фолликулярного эпителия и половых клеток в семенных фолликулах и в семенных канальцах. Черным цветом с белыми просветами ядер показан фолликулярный эпителий, точечной штриховкой — половые клетки, полукружьями с нитевидными структурами внутри — стволовые сперматогонии; В — гомология отсеков в семенниках разного типа. Частой точечной штриховкой показан фолликулярный эпителий, кружками с нитевидными структурами внутри — стволовые сперматогонии, первичный компартмент не заштрихован, вторичный компартмент показан редкой точечной штриховкой (а — семенники с зачатковой зоной в интерстициуме гонады, б — зачатковая зона внутри семенных канальцев)

беспозвоночных одно время дали название всем вспомогательным клеткам в семенниках позвоночных животных. Термин «клетки Сертоли» часто употребляется и в настоящее время.

Н.С. Габаева предлагает сохранить за этими клетками название «фолликулярный эпителий», поскольку этот термин отражает:

1) единство происхождения вспомогательных клеток, выстилающих семенники высших и семенные фолликулы низших позвоночных;

2) их эпителиальную тканевую природу;

3) их гомологию у всех позвоночных животных, а также гомологию с клетками фолликулярного эпителия яичников. Кроме того, этот термин базируется на исходном свойстве фолликулярных клеток образовывать мешкообразные многоклеточные структуры — цисты, фолликулы.

Габаева выделила четыре типа семенников позвоночных в зависимости от гистологического строения (рис. 12):

1. Фолликулярный, или ампульный, тип (круглоротые).

2. Фолликулярно-цистный тип (хрящевые рыбы, хвостатые амфибии).

3. Канальцево-цистный тип (костистые рыбы, бесхвостые амфибии).

4. Канальцевый тип (рептилии, птицы, млекопитающие).

Фолликулярный, или ампульный, тип

Класс Круглоротые. Семенник фолликулярного типа (см. рис. 12, I). Выстилающий фолликул эпителий образуется за счет целомического эпителия, одевающего зачатки гонад. У базальной мембраны фолликулов различимы ядродержащие части клеток фолликулярного эпителия. Цитоплазма этих клеток в виде многочисленных отростков разветвлена между половыми клетками, заполняющими семенные фолликулы. При переходе клеток к спермиогенезу отростки фолликулярных клеток вытягиваются, объем перикариальной цитоплазмы увеличивается, а сперматиды свободно располагаются в полости фолликула.

Фолликулярные клетки богаты митохондриями и цистернами гладкого эндоплазматического ретикулума. Множество пиноцитарных везикул у их основания свидетельствует о транспортной функции этих клеток. Контакты их друг с другом и с половыми клетками десмосомальные. Фолликулярный эпителий круглоротых выполняет опорную, трофическую и, возможно, функцию эндокринной стероидогенной железы.

Первичные половые клетки круглоротых расположены вне фолликула в строме семенника. В отличие от других Anamnia фолликулярный эпителий круглоротых не образует сперматоцист, сперматиды не внедряются в цитоплазму фолликулярных клеток.

Таким образом, это пример наиболее примитивного типа отношений между половыми и вспомогательными клетками.

Фолликулярно-цистный тип

Класс Хрящевые рыбы. В зачатковой зоне семенника формируются семенные фолликулы. Внутри фолликулов размножаются фолликулярные клетки и сперматогонии (см. рис. 12, II). Фолликулярные клетки образуют карманообразные цисты и прекращают делиться. В цисте каждой такой клетки, не теряющей связи с базальной мембраной, оказывается сперматогоний, и сперматогенез идет внутри цисты.

Внутреннее пространство сперматоцисты пронизывается ветвящимися отростками фолликулярной клетки, между которыми и располагаются половые клетки. Сперматогенез в сперматоцистах одного фолликула идет синхронно. С началом сперматогенеза из-за втягивания отростков в тело фолликулярной клетки стенки цисты утолщаются. Во время спермиогенеза происходит подтягивание цитоплазмы фолликулярной клетки вместе с внедрившимися в нее сперматидами к ее ядру, расположенному у базальной мембраны семенного фолликула. После формирования сперматозоидов стенка фолликула разрывается, спермии выходят в семенные протоки, фолликул спадается, а фолликулярный эпителий фагоцитирует остаточные спермии. Затем стенки фолликула подвергаются автолизу. Интерстициальная ткань стромы семенников развита слабо, поэтому есть основания полагать, что богатые включениями и содержащие везикулярные пузырьки фолликулярные клетки участвуют в гормональной регуляции сперматогенеза хрящевых рыб.

Отряд Хвостатые амфибии. Семенные фолликулы также формируются в зачатковой зоне семенника. Каждая циста здесь образована уже несколькими фолликулярными клетками. Полость цисты пронизана отростками фолликулярных клеток и содержит по нескольку гоний. В каждой цисте клетки развиваются синхронно. Цисты одного возраста образуют зону, и вся гонада оказывается поделенной на зоны по стадиям сперматогенеза. Фолликулярные клетки, образующие одну цисту, сами могут делиться до начала деления гоний. При вступлении гоний в период размножения фолликулярные клетки все еще могут делиться, но теряют способность к этому при переходе половых клеток к росту, т. е. к моменту формирования цисты. Образующие стенку цисты фолликулярные клетки во время спермиогенеза видоизменяются: их цитоплазма собирается к ядру, подтягивая тем самым внедренные в нее группы развивающихся сперматозоидов. С этого времени циста перестает существовать, распадаясь на сперматофорные группы. После освобождения спермиев от фолликулярных клеток (после

спермации) остаточные спермии фагоцитируются фолликулярными клетками. Полагают, что, как и у хрящевых рыб, фолликулярные клетки хвостатых амфибий, строма гонад которых тоже развита слабо, продуцируют стероиды и участвуют в гормональной регуляции сперматогенеза.

Канальцево-цистный тип

Класс Костные рыбы. Зачатковая зона расположена внутри семенных канальцев (см. рис. 12, III). Стенка цисты образована несколькими фолликулярными клетками (рис. 13). Гонии распределяются между отростками фолликулярных клеток, где и происходит сперматогенез. С началом спермиогенеза отростки втягиваются, и цитоплазматическая стенка цист утолщается; у одних рыб (окуневые, карпозубые) сперматиды внедряются в стенку цист, у

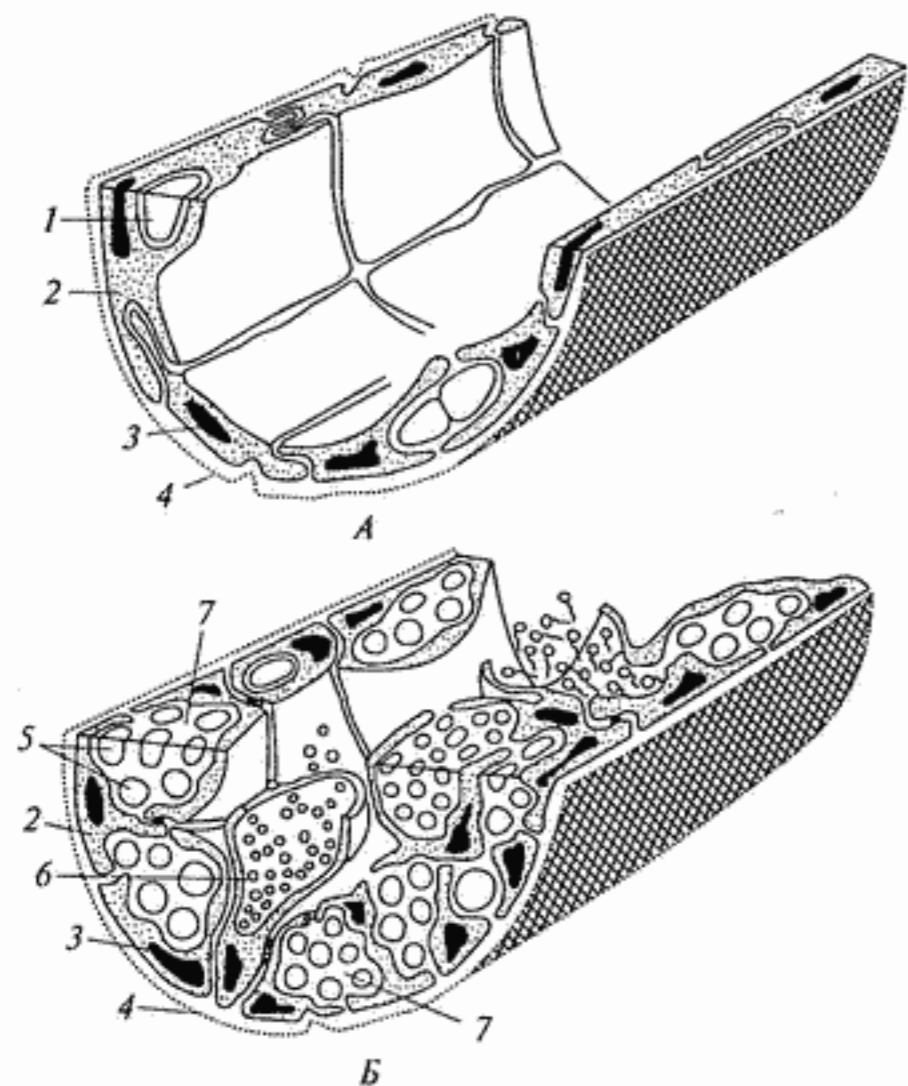


Рис. 13. Схема строения семенного канальца костистых рыб с пристеночно расположенными сперматоцистами (Н.С. Габаева, 1982):

А — в период угасания сперматогенеза; Б — в период активного сперматогенеза; 1 — сперматогонии; 2 — фолликулярные клетки; 3 — ядро фолликулярной клетки; 4 — базальная мембрана; 5 — сперматоциты; 6 — сперматиды; 7 — цисты

других (форель, плотва, щука) — нет. После выметывания сперматозоидов фолликулярные клетки подтягиваются к базальной мембране канальца и принимают участие в фагоцитозе погибших остаточных спермиев и резидуальных тел.

Секреторная активность фолликулярных клеток (в частности, выделение семенной жидкости) высока у рыб с единовременным выбросом половых продуктов (окунь) и низка у рыб с порционным выбросом (ерш). Впоследствии фолликулярные клетки сливаются. Как и во многих других отношениях, у костных рыб разнообразна и гормональная функция фолликулярных клеток. Фолликулярные клетки участвуют в секреции стероидов, там, где интерстициальных клеток в семенниках нет (щука), а там, где они есть, фолликулярные клетки в секреции не участвуют.

Отряд Бесхвостые амфибии. Сперматогенная зона находится в семенном канальце. Стенка цисты многоклеточная. Сперматогенез в цисте идет синхронно. Во время спермиогенеза отростки фолликулярных клеток подтягиваются. По завершении сперматогенеза на месте цист оказываются фолликулярные клетки с внедренными в их цитоплазму пучками спермиев. После спермации фолликулярные клетки фагоцитируют остаточную сперму.

Сперматогенный цикл имеет годовую периодичность. Судьба остаточных фолликулярных клеток не вполне ясна. Некоторые исследователи видели у них митозы и полагают возможным их повторное участие в образовании цист. Подобно этому у других видов бесхвостых амфибий строение и цитохимия фолликулярных клеток меняется синхронно со сперматогенезом. Полагают, что клетки фолликулярного эпителия участвуют в синтезе стероидов и регуляции сперматогенеза.

Канальцевый тип

Класс Рептилии и Птицы. Начиная с рептилий фолликулярный эпителий не формирует цист (см. рис. 12, IV). Стенку канальца внутрь от базальной мембраны составляют первичные сперматогонии, сперматогонии периода размножения, фолликулярные клетки, ядра которых находятся на одном уровне с гониями, а сами фолликулярные клетки контактируют друг с другом еще ближе к просвету канальца (рис. 14).

Ближе к просвету канальца располагаются сперматоциты I и II порядков, сперматиды, спермии. У рептилий с сезонным размножением вид срез канальца меняется по сезонам. Цитологическая характеристика клеток фолликулярного эпителия близка к таковой млекопитающих, не исключено участие фолликулярных клеток в продукции стероидов.

У птиц между основаниями фолликулярных клеток и их апикальными концами располагаются половые клетки на разных ста-

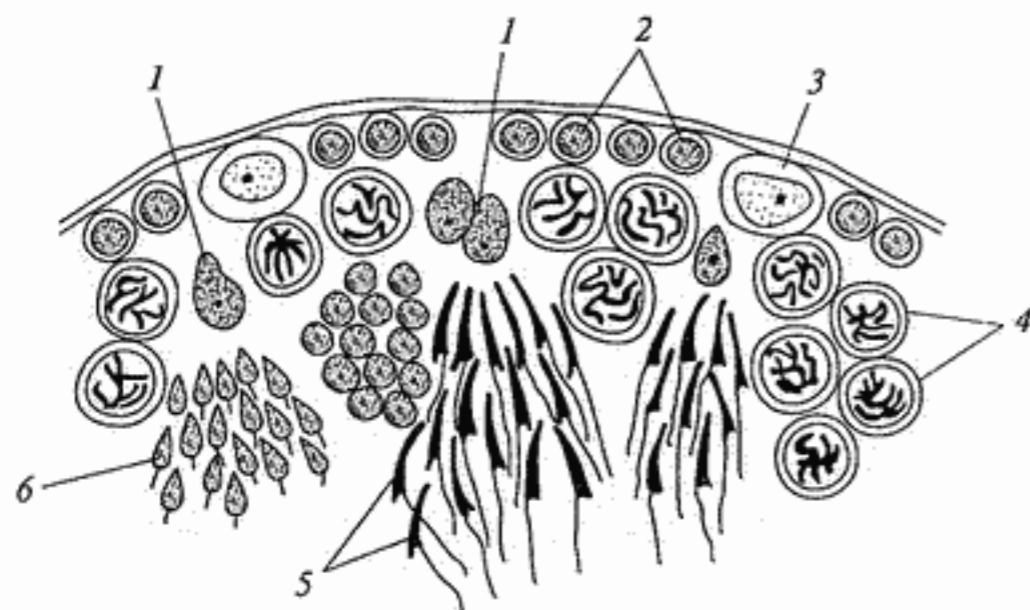


Рис. 14. Расположение половых и фолликулярных клеток в сперматогенном эпителии семенных канальцев болотной черепахи (Н.С. Габасва, 1982): 1 — ядра фолликулярных клеток; 2 — сперматогонии периода размножения; 3 — первичный сперматогоний; 4 — сперматоциты первого порядка; 5 — сперматозоиды; 6 — сперматиды

диях сперматогенеза. В апикальную часть фолликулярной клетки внедряются сперматозоиды.

Вид семенников у птиц с сезонным размножением меняется в течение года. В период угасания сперматогенеза в семеннике остаются только стволовые половые клетки и клетки фолликулярного эпителия, прилежащие к базальной мембране, поскольку большая часть апикальной цитоплазмы фолликулярных клеток отторгается в просвет канальца.

Функция фолликулярного эпителия регулируется фолликулостимулирующим гормоном (ФСГ), чем и объясняется его влияние на сперматогенез. Не исключено участие самих фолликулярных клеток в производстве стероидов.

Класс Млекопитающие. Целомический эпителий, покрывающий половые валики развивающихся гонад, образует плотные вращающиеся в зачаток семенника, так называемые целомические половые шнуры. В их составе в семенник проникают первичные половые клетки (рис. 15, 16).

Позже половые шнуры превращаются в семенные канальцы. Фолликулярный эпителий семенных канальцев развивается в значительной мере независимо от половых клеток. Дифференцировка («созревание») гонады осуществляется постепенно на протяжении препубертатного периода и завершается к моменту появления в канальцах сперматид (у крыс к 15—19-му дню, у мыши к 14—16-му, у свиньи к 28-му дню после рождения). Морфологическая дифференцировка фолликулярного эпителия сопряжена с появлением на их боковых и апикальных поверхностях ветвящих-

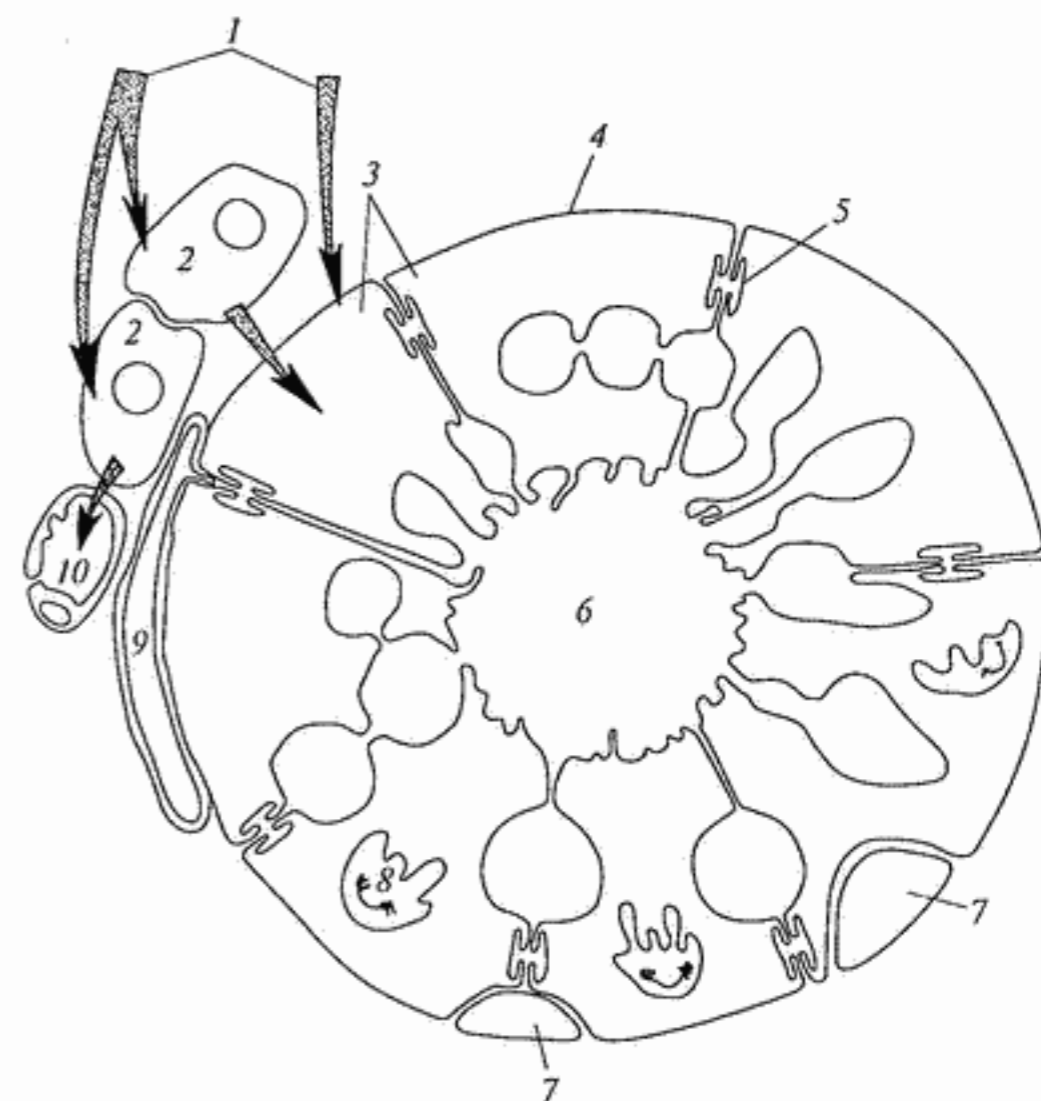


Рис. 15. Схема семенного канальца (М.Н. Burgos, 1983). Клетки Сертоли образуют стенку канальца, простираясь от базальной мембраны до просвета семенной трубочки. Контакты клеток Сертоли друг с другом образуют гематотестикулярный барьер, препятствующий свободному поступлению веществ в клетку, разделяющий клетку на базальный и околопросветный компартменты. Внутренняя среда клеток Сертоли содержит гонадотропины, выделяемые гипофизом, и секрет клеток Лейдига — тестостерон, который поступает в семенную трубочку непосредственно через кровеносную и лимфатическую системы: 1 — гонадотропины LH, FSH; 2 — тестостерон; 3 — клетки Сертоли; 4 — базальная мембрана; 5 — контакт между клетками Сертоли; 6 — просвет канальца; 7 — сперматогоний; 8 — ядро клетки Сертоли; 9 — лимфатический сосуд; 10 — кровеносный сосуд

ся цитоплазматических отростков, охватывающих половые клетки. При этом форма ядер фолликулярных клеток, которые у млекопитающих традиционно называют клетками Сертоли, из овоидной становится лопастной. В цитоплазме фолликулярных клеток возрастает число митохондрий, диктиосом, лизосом, цистерн гладкого эндоплазматического ретикулума. Цитоплазма клетки обогащается рибонуклеопротеидами, углеводами, липидами. Циклические изменения клеток Сертоли соответствуют этапам спермато-

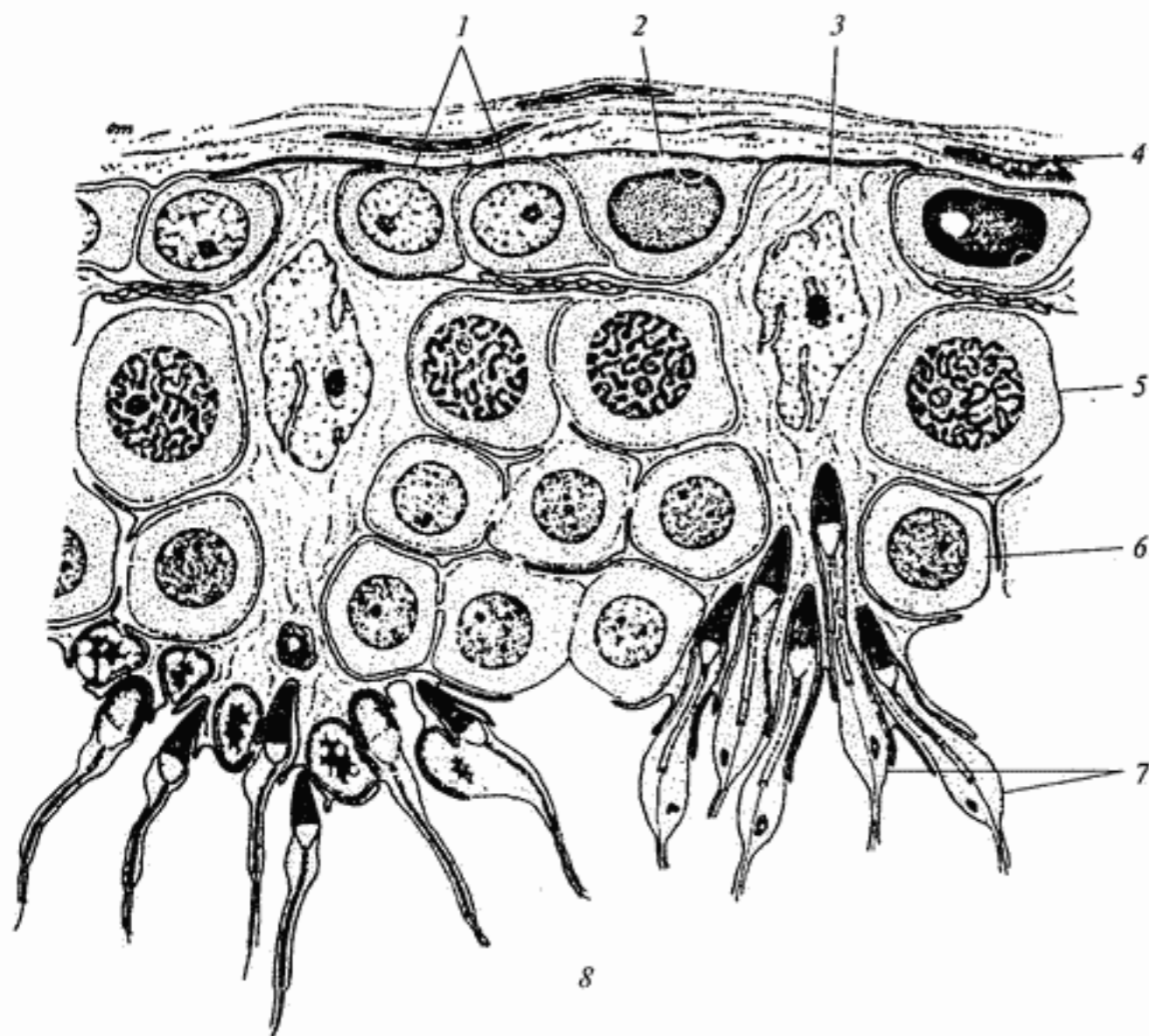


Рис. 16. Участок стенки эпителия семенных канальцев крысы:

1 — сперматогонии типа В; 2 — сперматогонии типа А; 3 — клетки Сертоли; 4 — стенка канальца; 5 — сперматоцит I; 6 — ранняя сперматίδα; 7 — поздние сперматиды; 8 — просвет канальца

генного цикла. В клетках Сертоли выявлены различные виды дегидрогеназ, кислая и щелочная фосфатазы. Содержание этих ферментов зависит от фаз сперматогенного цикла. Циклическим колебаниям в соответствии со сперматогенным циклом подвержено содержание гликогена и липидов в клетках Сертоли.

По мере созревания сперматид у многих млекопитающих установлено увеличение диктиосом и отмечено их уменьшение по мере завершения сперматогенеза и выхода спермиев в просвет канальца.

У крыс описано увеличение разветвленности цистерн эндоплазматического ретикулума в период внедрения сперматид в цитоплазму клеток Сертоли или редукция цистерн эндоплазматического ретикулума в период отделения спермиев. В процессе сперматогенеза клетка Сертоли периодически изменяет свой контур, меняются площадь ее соприкосновения с базальной мембраной,

разветвленность цитоплазматических отростков, форма, объем и месторасположение ядра.

Одно из важнейших проявлений завершения дифференцировки фолликулярного эпителия — образование плотных специфических контактов между боковыми поверхностями клеток, получивших название зон, или соединений Сертоли — Сертоли. Клетки Сертоли имеют еще одну специфическую особенность: в зрелом состоянии они теряют способность к пролиферации. Однако это не следствие изменения гормонального статуса, так как ни гипофизэктомия, ни инъекции гормонов, ни культивирование с гонадотропинами не влияют на блок пролиферации. С. Райчиной (1966) высказано предположение, что утрата способности к пролиферации связана с периодическими потерями (до 40%) цитоплазмы клетками Сертоли в процессе спермации. Это суждение было высказано по аналогии с результатами опытов Гартмана, в которых удаление части цитоплазмы у амёбы блокировало ее деление. Поскольку не у всех млекопитающих спермация сопровождается потерей цитоплазмы клетками Сертоли (кролик, собака), постольку этой аналогией нельзя объяснить всех случаев блока пролиферации. Возможно, утрата пролиферации как-то связана с началом их специфической функции, так как совпадает с появлением в канальцах первых сперматозоидов.

Межклеточные контакты в семенных канальцах млекопитающих. На уровне базальной мембраны клетки фолликулярного эпителия (клетки Сертоли) не контактируют друг с другом, а соседствуют с половыми клетками. Контакт их находится выше, над слоем сперматогоний, образуя над ними как бы свод. У плода и у новорожденных между клетками Сертоли имеются лишь щелевые контакты.

На протяжении пропубертатного периода происходит становление плотных контактов, которое завершается к моменту появления в семенных канальцах первой партии сперматоцитов. У половозрелых млекопитающих структура плотных контактов фолликулярного эпителия стабильна на протяжении всех стадий сперматогенного цикла. Структура контактов Сертоли — Сертоли и их формирование в онтогенезе, по-видимому, имманентны и являются очень важными для семенника свойствами самих этих клеток. Они не зависят от половых клеток. На развитие и форму контактов клеток Сертоли не влияют ни гипофизэктомия, ни гонадотропины. Однако при нарушениях сперматогенеза отмечены изменения в клетках Сертоли, из чего можно допустить и обратное: нарушение строения и функции клеток Сертоли может приводить к изменению сперматогенеза. Зоны плотных контактов делят контактирующие клетки по высоте от базальной мембраны к просвету канальца на компартменты (отсеки). В базальном слое находятся сперматогонии и прелептотенные сперматоциты, в

вышерасположенных окологлоустных отсеках — все остальные генерации развивающихся мужских половых клеток. Отсеки с расположенными в них клонами половых клеток перемещаются как лифт от основания канальца к его просвету. Вместе с движением этого «лифта» сперматогенез последовательно проходит все свои стадии так, что к моменту выхода компартмента к просвету канальца в нем оказываются сперматиды и, наконец, зрелые сперматозоиды (см. рис. 16).

Сперматогенный цикл клонa начинается в базальном отсеке и заканчивается в просвете канальца, куда выходят зрелые сперматозоиды. Движение клонa по стадиям сперматогенеза совершается вместе с движением отсека вдоль оси клетки Сертоли из базального положения в апикальное. Перемещение отсека обуславливается перемещением в апикальном направлении замыкающих отсеков отростков и возобновлением плотных контактов между ними на новых уровнях. В механизме движения принимают участие мембраны и цитоскелетные структуры клеток Сертоли.

Типичным сперматозоидом является подвижная клетка с плотным ядром и жгутиком, обуславливающим подвижность. Этот тип клеток оптимально обеспечивает доставку в яйцеклетку зрелого мужского ядра. При всей надтаксономической однотипности сперматозоидов специфичность их цитоморфологии достаточна для видовой идентификации. У ряда видов сперматозоиды лишены жгутика (аскарида, речной рак). У мормировых рыб из бассейна р. Нил сперматозоид уникален: лишен жгутика, имеет синтетически активное ядро неправильной формы и перемещается подобно амебе.

Глава 3

ОПЛОДОТВОРЕНИЕ

Оплодотворение — это вызываемое сперматозоидом побуждение яйца к развитию с одновременной передачей яйцеклетке наследственного материала отца. В процессе оплодотворения сперматозоид сливается с яйцом, при этом гаплоидное ядро сперматозоида объединяется с завершившим деление созревания гаплоидным ядром зрелого яйца, образуя диплоидное ядро зиготы. Зигота — зародыш будущего организма, состоящего из одной клетки, в которой неповторимым образом комбинируются генетические свойства родителей.

Сложные анатомические, физиологические и этологические особенности родительских организмов одного вида, создающие возможность объединения их половых клеток и затрудняющие межвидовые скрещивания, рассматриваются специальной дисциплиной — биологией размножения. Не касаясь этих особенностей, отметим, что в любом случае оплодотворению предшествует осеменение. Осеменение может быть наружным, если половые продукты выводятся во внешнюю, как правило, водную среду, или внутренним, если сперматозоиды вводятся в половые пути самки. Взаимодействия мужских и женских гамет во время осеменения называют дистантными. К ним относят такие свойства половых клеток, как хемотаксис, стереотаксис и реотаксис. Хемотаксис — способность сперматозоидов двигаться по градиенту концентрации веществ, выделяемых яйцеклеткой. Хемотаксис показан для многих беспозвоночных (гидроидные, моллюски, иглокожие, полухордовые). Так, у морского ежа *Strongylocentrotus purpuratus* выделен хемотаксический фактор сперматозоидов, представленный десятиаминокислотным пептидом, а у *Arabica punctulata* четырнадцатиаминокислотным пептидом — резактом. Под реотаксисом понимают способность сперматозоидов двигаться против тока жидкости в половых путях самки, а стереотаксис — это способность двигаться по направлению к более крупному, чем сам сперматозоид, объекту, каким является яйцо.

Продолжительность жизни сперматозоидов и яйцеклеток как при наружном, так и при внутреннем осеменении относительно невелика. Яйцеклетки многих беспозвоночных, а также рыб и ам-

фибий должны быть оплодотворены сразу же после овуляции. К моменту встречи с яйцеклетками сперматозоиды должны сохранять не только активное движение, но и свою оплодотворяющую способность — способность к вхождению в яйцеклетку. Как правило, оплодотворяющую способность сперматозоиды теряют гораздо раньше, чем способность к движению. Оплодотворяющая способность сперматозоидов морского ежа — 30 ч, а жизнеспособность — около двух суток. Оплодотворяющая возможность сперматозоидов зависит от многих факторов, к которым можно отнести концентрацию спермы, рН среды, температуру, концентрацию диоксида углерода. Неразбавленная сперма летучих мышей сохраняет оплодотворяющую способность в половых путях самки до нескольких месяцев. В щелочной среде сперматозоиды более активны, но, быстро растрчивая энергию, раньше погибают. В подкисленной среде их активность меньше, а продолжительность жизни больше.

В семенниках млекопитающих зрелые сперматозоиды неподвижны, в эпидермисе придатка семенника у них происходит замена некоторых белков и углеводов в мембране. В половых путях самки сперматозоиды подвергаются реакции капацитации, следствием которой — приобретение этими клетками подвижности и оплодотворяющей способности. Условия, требующиеся для капацитации, зависят от вида. Одна из гипотез относительно природы капацитации состоит в том, что изменяется структура липидов клеточной мембраны спермия: соотношение холестерина:фосфолипиды по мере капацитации снижается, а молекулы альбумина, имеющиеся в половых путях самки, способны отнимать холестерин у спермия. Только такие сперматозоиды способны пройти между фолликулярными клетками лучистого венца (*corona radiata*), преодолеть блестящую оболочку (*zona pellucida*) и, взаимодействуя с желточной оболочкой яйца, проникнуть внутрь яйцеклетки.

Сам процесс оплодотворения начинается с контакта сперматозоида и яйцеклетки. Он включает реакции активации сперматозоида и яйцеклетки и процессы слияния гамет, т.е. плазмогамии и кариогамии.

РЕАКЦИЯ АКТИВАЦИИ СПЕРМАТОЗОИДА

Реакция активации сперматозоида подробно исследована при оплодотворении у полихет и морских ежей. Она начинается тогда, когда апикальная часть головки сперматозоида вступает в контакт со студенистой оболочкой яйца. При этом происходит слипание и растворение плазмалеммы головки сперматозоида и передней части мембраны акросомы с последующим слиянием концов этих мембран. Вследствие этого процесса акросома раскрывается, ее

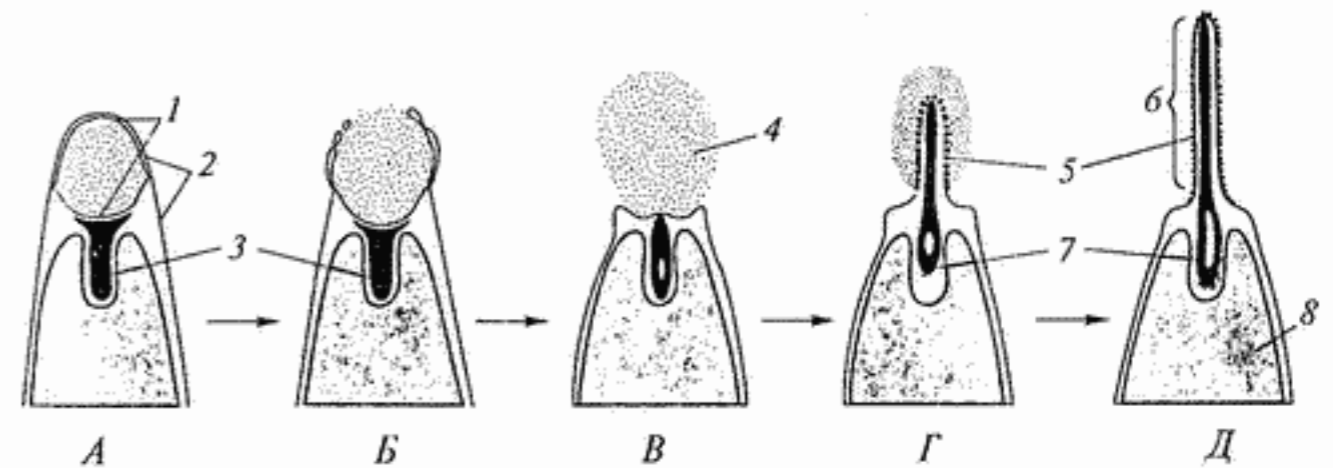


Рис. 17. Акросомная реакция сперматозоида:

А—В — слияние наружной мембраны акросомы и мембраны сперматозоида. Излияние содержимого акросомного пузырька; 1 — мембрана акросомы; 2 — мембрана сперматозоида; 3 — глобулярный актин; 4 — ферменты акросомы; Г—Д — полимеризация актина и образование акросомного выроста; 5 — биндин; 6 — вырост акросомы; 7 — актиновые микрофиламенты; 8 — ядро сперматозоида

протеазы попадают на студенистую оболочку и растворяют ее. В этом месте обнажается плазмалемма яйца (рис. 17). Далее задняя часть мембраны акросомы образует множество палочкообразных выростов — акросомных микроворсинок (полихеты) или один длинный вырост — акросомную нить (иглокожие). Акросомный вырост образуется взрывообразно в результате полимеризации мономеров актина (G-актина), локализованного перед задней частью вне мембраны акросомы. Триггерами этой реакции являются полисахарид фукосульфат и гликопротеин, содержащий сиаловую кислоту, находящуюся в студенистой оболочке яйца.

Акросомная реакция возникает при поступлении ионов кальция внутрь сперматозоида. Так, она может быть инициирована и в отсутствие студенистой оболочки ионофором кальция — антибиотиком А 23187, который специфически связывает кальций и переносит его из морской воды через мембрану в плазму сперматозоида. Таким образом, слияние мембраны акросомы и мембраны головки сперматозоида — это кальцийзависимый процесс, по существу, представляющий собой адаптированный к оплодотворению процесс экзоцитоза.

Поступление ионов кальция и натрия в головку сперматозоида сопровождается выходом из нее ионов калия и протонов. Последнее приводит к повышению рН в клетке, что и служит необходимым условием отделения мономеров актина (G-актина) от белка и взрывообразного перехода в полимеризованное состояние (F-актин).

Повышение рН одновременно активирует протеиновую АТФ-азу в шейке сперматозоида. В результате его митохондриальное дыхание повышается на 50%. Генерируемая при этом энергия используется для повышения двигательной активности жгутика (рис. 18).

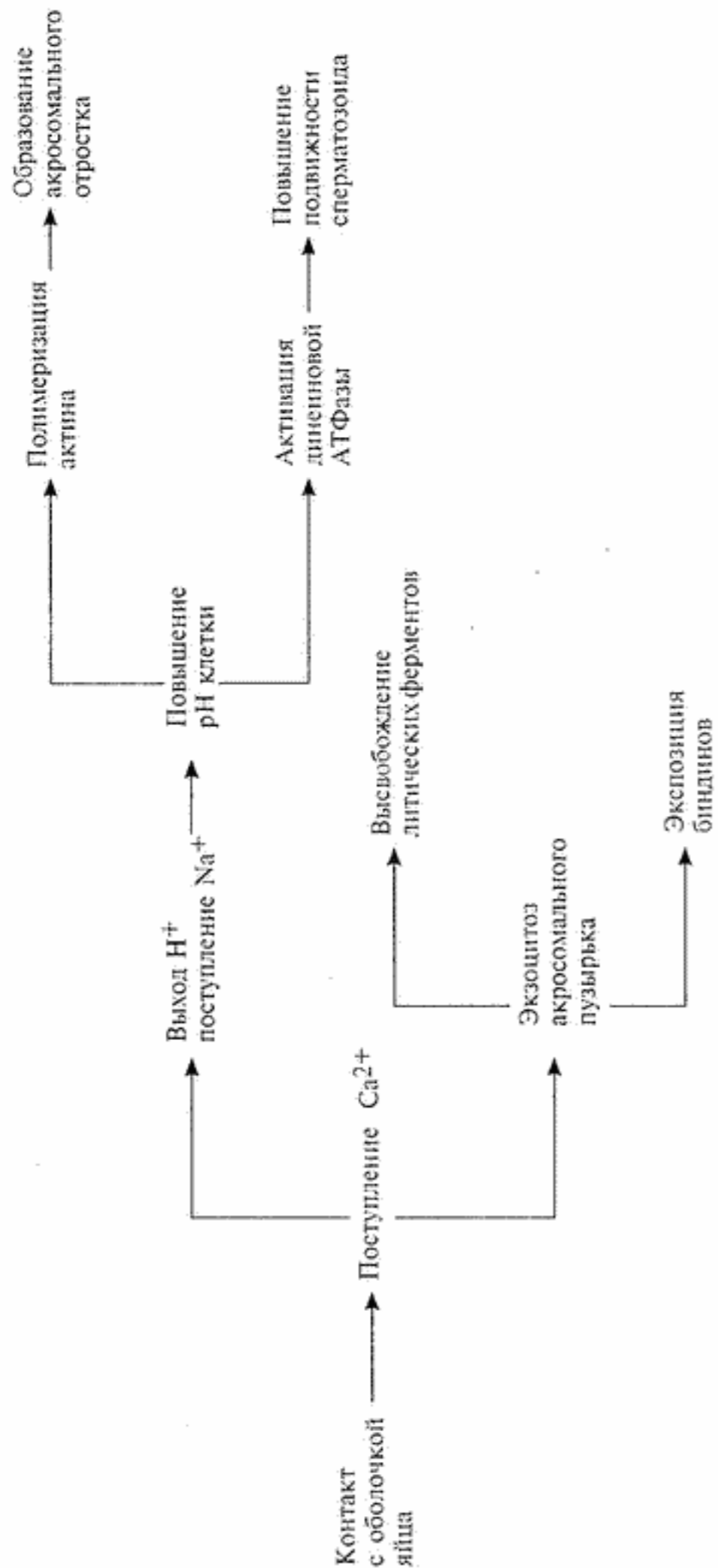


Рис. 18. Последовательность акросомной реакции у морского ежа (R.W.Schackmann, B.M.Shapiro, 1981)

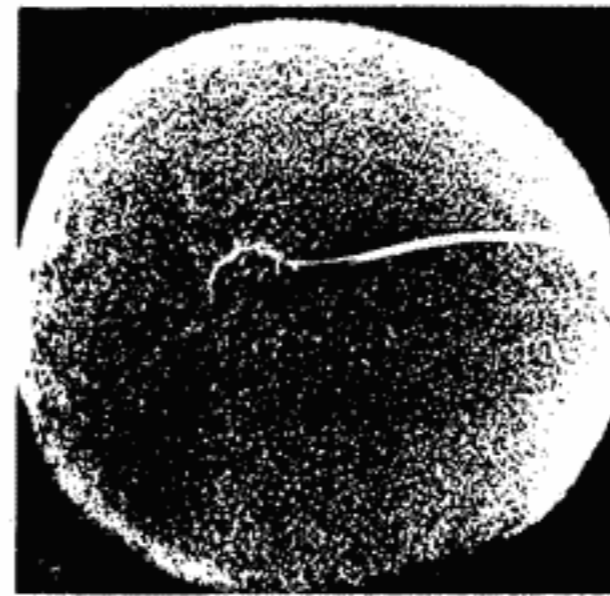


Рис. 19. Расположение сперматозоида на поверхности ооцита в процессе оплодотворения (сканирующая электронная микроскопия)

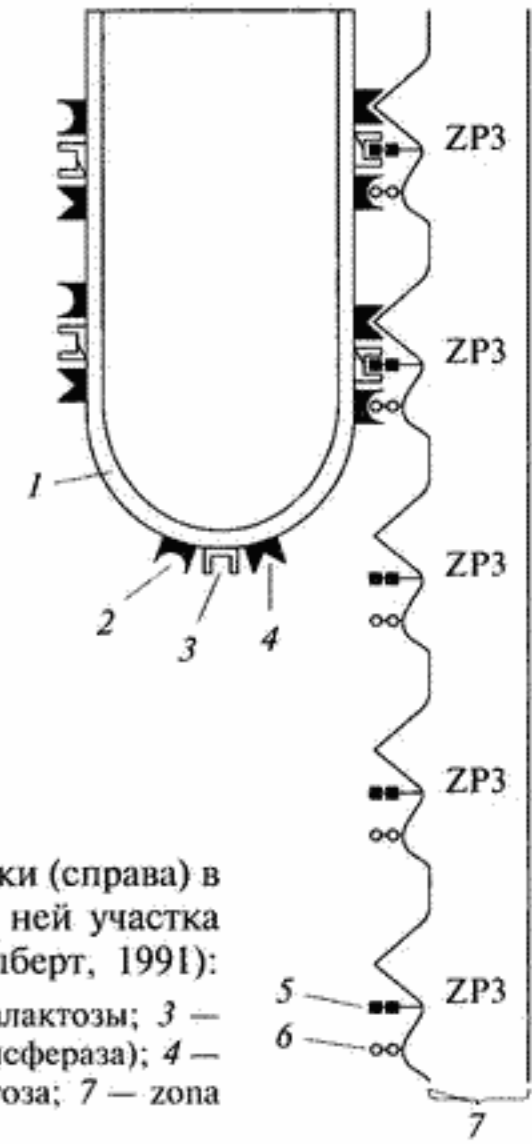


Рис. 20. Модель участка мембраны яйцеклетки (справа) в ходе оплодотворения при прикреплении к ней участка мембраны сперматозоида (слева) (С.Ф.Гилберт, 1991): 1 — мембрана сперматозоида; 2 — рецептор галактозы; 3 — рецептор N-ацетилглюкозамина (галактозилтрансфераза); 4 — протеаза; 5 — N-ацетилглюкозамин; 6 — галактоза; 7 — zona pellucida (блестящая оболочка)

Акросомный вырост на своей апикальной мембране несет видоспецифичный белок биндин. На поверхности яйца располагаются рецепторы биндина. «Узнавание» яйцеклеткой своего вида заключается в соединении рецепторов яйца с биндинами сперматозоидов. У морского ежа насчитывается до 6000 сайтов таких соединений. Таким образом, благодаря биндинам осуществляется цитологический блок межвидового скрещивания.

У млекопитающих активация сперматозоида не сопровождается ни образованием микроворсинок, ни образованием акросомного выроста. Акросомная реакция у них заключается в диссоциации наружной мембраны головки сперматозоида и мембраны акросомы не на апикальной поверхности, а вдоль головки сперматозоида. Это связано с тем, что сперматозоид контактирует с яйцом не вершиной акросомы клетки, а боком (рис. 19). Ферменты акросомы растворяют лучистый венец, после чего сперматозоид вступает в контакт с блестящей оболочкой. Блестящая оболочка образована тремя типами белков: ZP3 и ZP2 находятся параллельно поверхности яйца, а белок ZP1 сшивает эти белки и расположен перпендикулярно поверхности яйца. Контакт с ZP3 осуще-

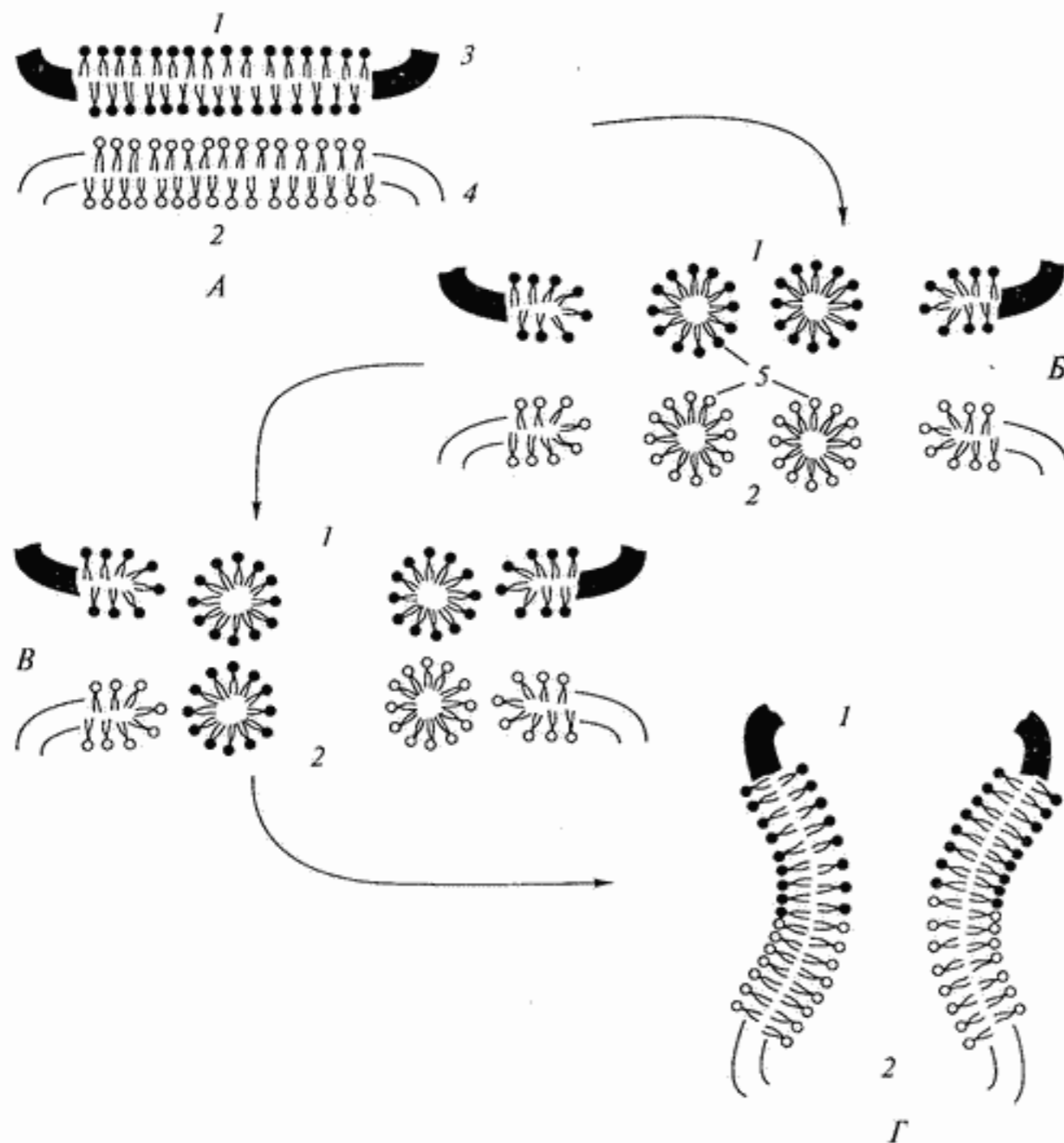


Рис. 21. Модель слияния плазматических мембран в месте контакта сперматозоида с яйцеклеткой. При оплодотворении слияние мембран происходит трижды: во время акросомальной реакции, при контакте сперматозоида с яйцом и во время кортикальной реакции. Во всех случаях события на молекулярном уровне, вероятно, одинаковы. Контактующие плазматические мембраны образованы двумя слоями фосфолипидов, заряженные группы которых обращены наружу и внутрь клетки (А). Внутри каждой мембраны обращены гидрофобные углеводородные цепи. Слияние начинается (В), когда двойной слой липидов нарушается и образуются мицеллы (сферические агрегаты, у которых заряженные группы обращены наружу, а незаряженные гидрофобные цепи — внутрь). При перераспределении мицелл (В) плазматические мембраны восстанавливаются (Г), соединяя две ранее обособленные клетки (С.Ф. Гилберт, 1993): 1 — спермий; 2 — яйцо; 3 — фосфолипиды плазматической мембраны спермия; 4 — фосфолипиды плазматической мембраны яйцеклетки; 5 — мицеллы

связывается тремя типами рецепторов сперматозоида (на терминальную галактозу, на N-ацетилглюкозамин и на гликопротеин) и составляет первую часть акросомной реакции (рис. 20). Любое нарушение рецепции искажает и процесс активации. Далее происходит излияние фермента акросомы проакрозина, который, взаимодействуя с ZP2 и действуя как протеаза, лизирует блестящую оболочку. Таким образом, достигается контакт задней мембраны акросомы сперматозоида и мембраны яйца.

Заканчивается реакция активации сперматозоида слипанием задней мембраны акросомы сперматозоида и яйца, их разрывом и соединением свободных концов (рис. 21). В результате у яйца и сперматозоида формируется единая наружная мембрана, ограничивающая канал, через который ядро сперматозоида и проксимальная центриоль проникают в цитоплазму яйца.

АКТИВАЦИЯ ЯЙЦЕКЛЕТКИ

В процессе активации яйцеклетки у всех животных непосредственно участвуют мембрана яйца и кортекс. В кортексе сосредоточены глобулярный белок (G-актин) и большое количество мембранных пузырьков — кортикальных гранул — структур, во многом гомологичных акросоме сперматозоида. Проявления реакции активации многообразны (рис. 22): образование бугорка оплодотворения; быстрый блок полиспермии; кортикальная реакция; медленный блок полиспермии; образование оболочки оплодотворения; перивителлинового пространства (рис. 1 цв. вкл.).

У иглокожих и ряда других животных одно из выражений реакции активации — образование бугорка оплодотворения. Он формируется как вырост яйцеклетки навстречу акросомальному выросту сперматозоида после процесса «узнавания», т.е. рецепции биндинов сперматозоида соответствующими рецепторами желточной оболочки яйца. Образование бугорка оплодотворения, как и акросомной нити, связано с полимеризацией кортикального актина. Участие микрофиламентов в формировании бугорка оплодотворения легко доказывается его блокированием при действии цитохалазина В.

Как уже говорилось, в месте контакта мембран половых клеток происходит слияние мембран с образованием канала, по которому ядро и центриоль сперматозоида проникают в цитоплазму яйца. Мембрана сперматозоида встраивается в мембрану яйца и некоторое время продолжает сохранять особые свойства, в частности имеет повышенную проницаемость для ионов Na^+ . В результате мембранный потенциал яйцеклетки из отрицательного (-70 мВ) на несколько секунд становится слабо положительным ($+10$ мВ). Именно в это время яйцо оказывается непроницаемым для из-

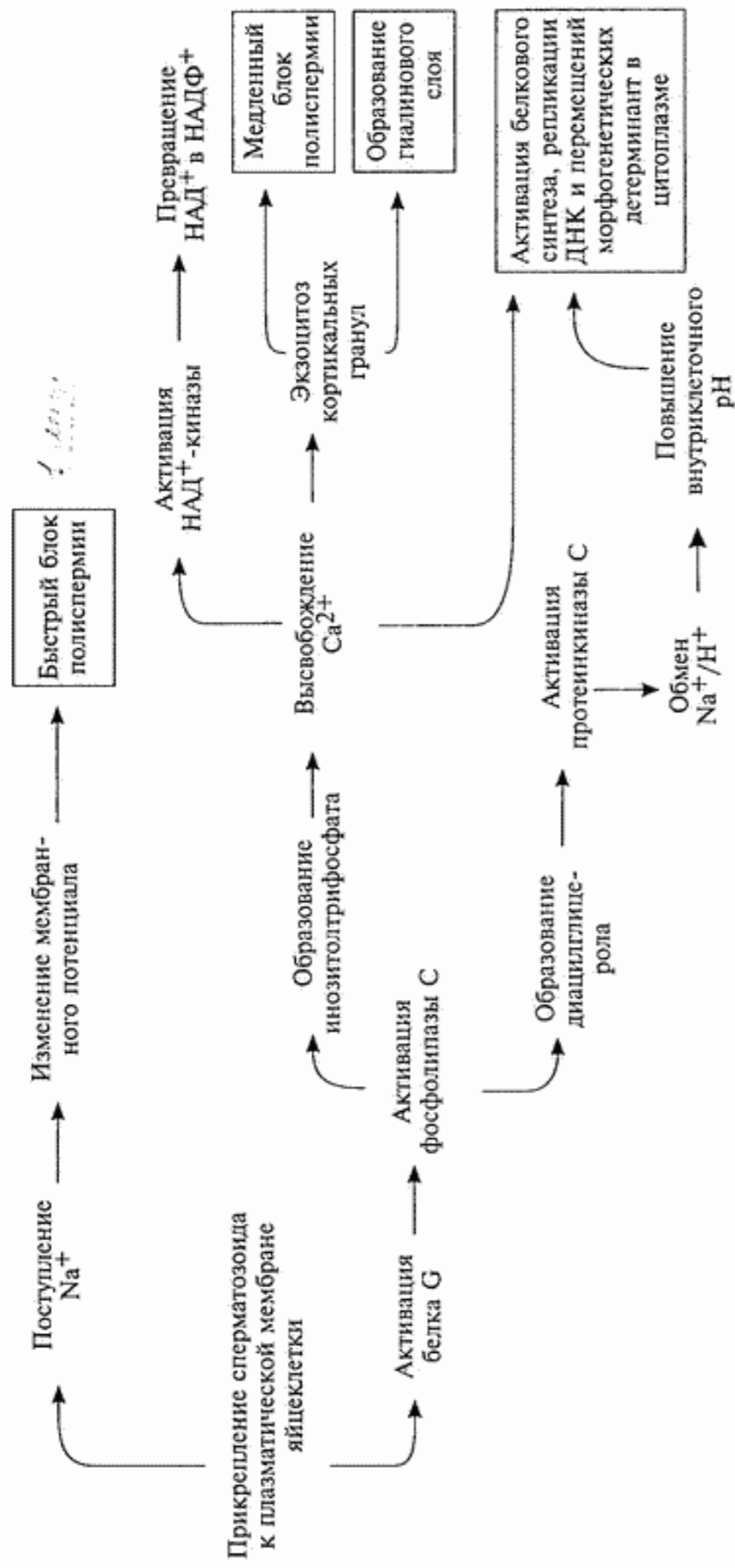


Рис. 22. Схема возможных соотношений между разными событиями в процессе оплодотворения у морского ежа (по Eipel, 1980; L.A. Jaffe)

ишних сперматозоидов. Это явление получило название быстрого блока полиспермии и имеет смысл для животных с моноспермным оплодотворением. Механизм быстрого блока объясняется наличием в мембранах яйца и сперматозоида рецепторов, чувствительных к знаку заряда. Опытами с приложением электродов к мембране яйцеклетки показано, что изменение заряда мембраны всего на 5 мВ меняет ее проницаемость для сперматозоидов. Положительно заряженная мембрана яйцеклетки для сперматозоидов непроницаема. Искусственную полиспермию можно вызвать, удерживая ее заряд на уровне 60—70 мВ, а также путем уменьшения концентрации натрия в морской воде.

Мембранный потенциал при быстром блоке полиспермии остается положительным всего около минуты (рис. 22). Этого времени недостаточно для надежного предотвращения полиспермии. Далее развивается медленный блок полиспермии, который обеспечивается кортикальной реакцией. Кортикальная реакция — это изменение поверхностного слоя яйца в результате контакта со сперматозоидом. От места вхождения сперматозоида и встраивания его мембраны в мембрану яйца вслед за поступлением Na^+ распространяется волна высвобождения Ca^{++} из эндоплазматического ретикулума — внутриклеточного депо ионов кальция. В клетках всех животных показана роль кальция как универсального инициатора экзоцитоза, а кортикальная реакция относится именно к реакции экзоцитоза. Кальций, высвобожденный из внутриклеточных депо, инициирует встраивание мембран кортикальных гранул в мембрану яйца. Вследствие этого поверхность мембраны яйцеклетки увеличивается более чем в 2 раза. Ионифор кальция A23187 был успешно использован для активации кортикальной реакции у самых разных типов яйцеклеток. При этом на яйцеклетках морских ежей было показано, что активация не зависела от присутствия ионов кальция вне яйцеклетки. Яйцеклетки, помещенные в воду, лишенную ионов кальция, активировались сперматозоидами в присутствии ионифора, который открывал внутриклеточное депо кальция. Освобождение внутриклеточного кальция наблюдали визуально, используя белок экворин. Экворин, соединяясь с ионами кальция, начинает светиться. Свечение может быть настолько сильным, что его можно видеть невооруженным глазом в темноте. Высвобождение кальция сопровождается волной свечения, начинающейся в точке инициации по всей поверхности яйцеклетки. Вследствие экзоцитоза высвобождается содержимое кортикальных гранул. В его состав входят:

1) Протеолитический фермент вителлиновая деламиназа, отделяющая желточную оболочку от цитоплазматической мембраны путем лизирования так называемых денеиновых ручек, соединяющих прикрепленную вителлиновую оболочку с цитомембраной.

2. Протеолитический фермент сперморецепторная гидролаза освобождающая поверхность яйца от осевших на желточной оболочке сперматозоидов, лизируя сайты их соединения.

3. Осмотически активный гликопротеид, благодаря которому образующуюся щель между желточной оболочкой и цитомембраной яйцеклетки из цитоплазмы яйца поступает вода. В результате этого объем яйцеклетки несколько уменьшается, а над ней образуется перивителлиновое пространство, в котором зародыш развивается до момента вылупления.

4. Фактор, превращающий желточную оболочку в непроницаемую для избыточных сперматозоидов — оболочку оплодотворения.

5. Структурный белок гиалин, образующий слой над плазматической цитомембраной. В дальнейшем развитии он способствует поддержанию правильного взаимного расположения бластомеров в процессе дробления.

У млекопитающих механизм экзоцитоза такой же, как у других животных. Однако блок полиспермии у разных видов млекопитающих создается по-разному. У хомячка зона pellucida становится непроницаемой для сверхчисленных сперматозоидов. У кроликов непроницаемой становится сама цитоплазматическая мембрана яйца.

Все события активации связаны с работой инозитолфосфатной системы, которая в образующейся зиготе включается рецепцией сперматозоидов. У млекопитающих после лизиса зона pellucida ферментами акросомы лиганды мембраны сперматозоида взаимодействуют с рецепторами в мембране яйцеклетки. Рецептор активирует белок (G-белок), связывающий ГТФ, что, в свою очередь, активирует фосфолипазу C (рис. 23). Это первое звено в цепи реакций инозитолфосфатной системы, которая в неактивном виде существует в мембране яйцеклетки. Активация яйцеклетки по существу является ее включением.

Рецепция биндина акросомы сперматозоида рецептором мембраны яйцеклетки меняет конфигурацию G-белка. Это приводит в активное состояние фермент — фосфолипазу C мембраны, которая расщепляет фосфатидил-4,5-дифосфат (PIP₂) мембраны на диацилглицерол (DAG), остающийся в мембране, и на инозитолфосфат (IP₃), выходящий в цитоплазму. Кроме того, действие сперматозоида на яйцеклетку опосредует гидролиз полифосфоинозитидов с образованием IP₃. Будучи внутриклеточным мессенджером, IP₃ действует на эндоплазматический ретикулум, депонирующий кальций, и вызывает выход кальция в цитоплазму. Возрастание кальция само по себе, а также в сочетании с DAG, который посредством фермента мембраны протеинкиназы C активирует Na⁺/H⁺-обмен, приводит к повышению pH цитоплазмы. Увеличение уровня кальция путем изменения активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы активирует НАД-киназу и ведет к образованию НАДФ, которая играет большую роль в стабилизации

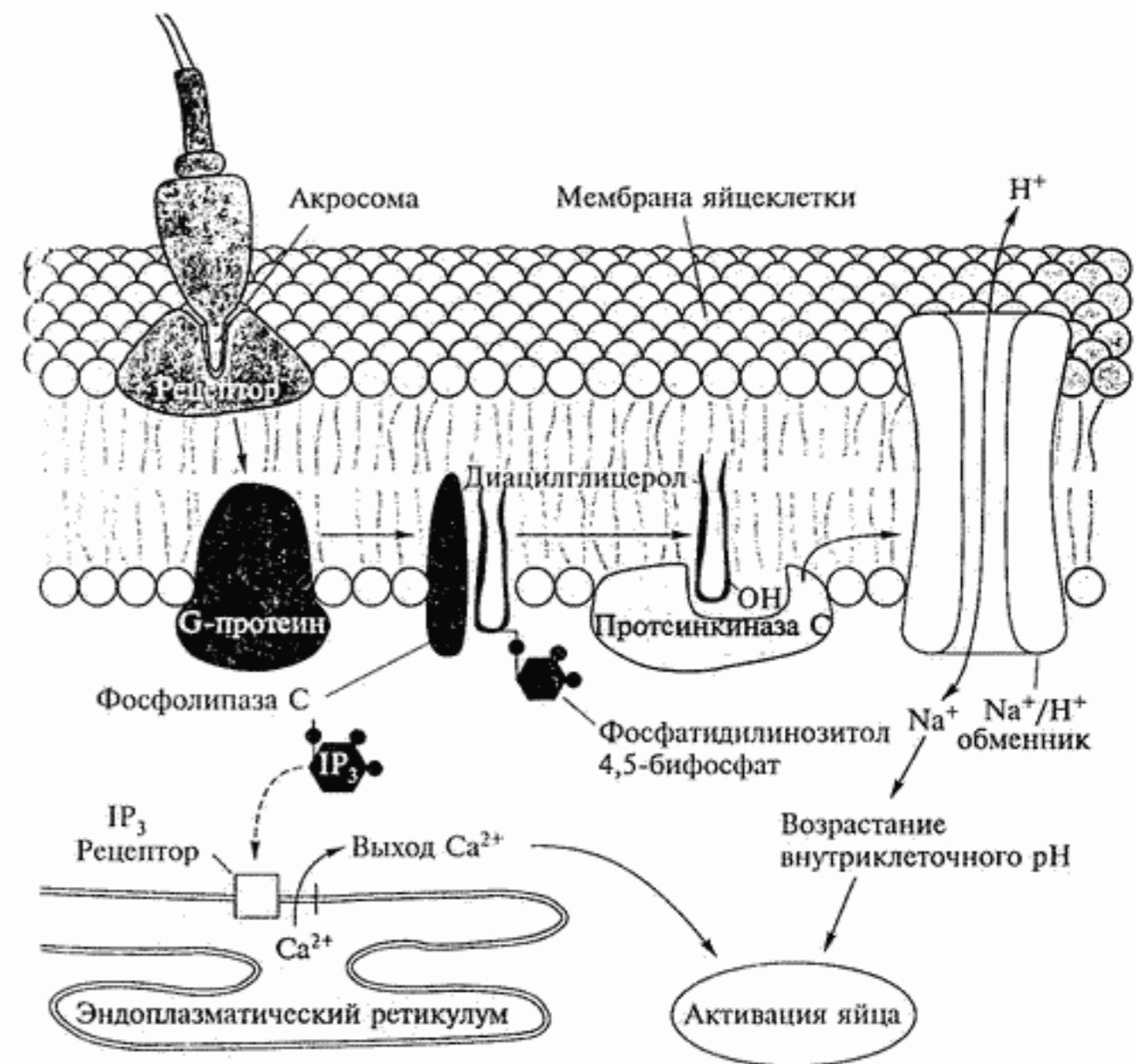


Рис. 23. Схема процессов, происходящих при взаимодействии мембран яйцеклетки и сперматозоида в ходе оплодотворения (С.Ф. Гилберт, 1991)

оболочки оплодотворения. Повышение уровня кальция запускает экзоцитоз кортикальных гранул, образование бугорка оплодотворения. В дальнейшем повышение pH и кальция инициируют и стимулируют синтез ДНК и белка, в том числе гистонов и циклинов. Все это необходимо для созревания яйцеклетки, т.е. снятия блока мейоза, его завершения и образования женского пронуклеуса.

У позвоночных ооциты до овуляции находятся в яичнике на стадии диплотеы мейоза. Мейоз возобновляется под влиянием прогестерона, секретируемого фолликулярными клетками в ответ на действие гонадотропина гормонов гипофиза. Через несколько часов (у амфибий примерно через 6 ч) завершается первое деление созревания, и ядро яйцеклетки блокируется на метафазе II. На этой стадии яйцеклетка овулирует. Дальнейшее деление созревания возможно только в процессе оплодотворения.

Установлено, что созревание регулируется белковым комплексом MPF (Maturation Promoting Factor). MPF — это фактор, инициирующий созревание. Выяснилось, что переход в стадию митоза любого клеточного цикла любых соматических клеток Eucariota (от дрожжей до человека) также регулируется этим фактором. В этом случае его аббревиатура (MPF) означает mitosis promoting factor. MPF включает две субъединицы: эволюционно консервативную — малую и большую.

Поскольку все компоненты MPF есть в цитоплазме ооцита, полагают, что прогестерон переводит комплекс MPF в активное состояние и тем самым реинициирует мейоз. Одновременно прогестерон побуждает яйцеклетку транслировать белковый цитостатический фактор. Им является фосфопротеин pp39mos, который транслируется с-mos и РНК, запасенной в цитоплазме. Этот белок обнаруживается только в период созревания ооцита и быстро разрушается после оплодотворения. pp39mos, активируя каскад реакций фосфорилирования, действует как ингибитор деградации циклина В. Циклин В поддерживает активность малой субъединицы MPF (p34 cdc2), которая после завершения первого деления созревания переводит ядро в метафазу II и удерживает его в этом состоянии.

На стадии метафазы происходит овуляция. Как уже отмечалось, в процессе оплодотворения из эндоплазматического ретикулума в цитоплазму выходят ионы кальция. Ионы кальция активируют кальцийзависимую протеазу — кальпин II. Кальпин II специфически действует на pp39 и инактивирует действие этого цитостатика. После его разрушения циклин В деградирует, протеаза pp 39 инактивируется и яйцеклетка входит в новый цикл, во время которого завершается ее созревание. Зрелый женский пронуклеус оказывается готовым к слиянию с мужским с образованием ядра зиготы. Теперь зигота, утратив короткоживущий цитостатик и имея в цитоплазме ресурсы для трансляции MPF, готова приступить к делению дробления.

ПОВЕДЕНИЕ МУЖСКОГО И ЖЕНСКОГО ЯДЕР В ЦИТОПЛАЗМЕ ЯЙЦЕКЛЕТКИ

Проникший в ядро сперматозоид, как правило, оставляет снаружи жгут и митохондриальный комплекс. Если же эти структуры и проникают в цитоплазму яйца, то в дальнейшем резорбируются и активной роли в развитии не играют. Таким образом, количество цитоплазмы, попавшей в яйцо из сперматозоида, незначительно. Она объединяется с цитоплазмой яйца (плазмогамия). Важнейшая роль в последующих событиях принадлежит проксимальной центриоли сперматозоида. Центриоль вскоре занимает поло-

жение впереди компактного ядра сперматозоида, образуя характерное «полярное сияние» и обеспечивая движение мужского ядра. Тем временем в мужском ядре протамины заменяются гистонами, оно набухает, разрыхляется, приобретая тонкое гранулярное строение, и становится мужским пронуклеусом. Так же после созревания ядро яйцеклетки становится женским пронуклеусом. Далее пронуклеусы сближаются, совершая сложные движения, именуемые «танцем пронуклеусов». При этом мужской пронуклеус сначала движется внутрь яйца перпендикулярно поверхности в точке проникновения. Путь его движения так и называется «путем проникновения». В процессе движения и сближения пронуклеусов в каждом из них реплицируется ДНК так, что к моменту образования ядра зиготы каждый из пронуклеусов оказывается $n2c$. В итоге этих эволюций пронуклеусов хромосомные наборы мужского и женского пронуклеуса объединяются и создается хромосомный набор зиготы. Этот процесс получил название кариогамии. У животных, сперматозоид которых проникает в зрелую яйцеклетку (морской еж), в процессе кариогамии образуется интерфазное ядро зиготы. У животных, сперматозоид которых проникает в незрелую яйцеклетку и вызывает ее созревание, мужской и женский пронуклеусы устанавливаются рядом (синкарион), а их хромосомы сразу же выстраиваются в метафазную пластинку первого деления дробления зиготы.

ООПЛАЗМАТИЧЕСКАЯ СЕГРЕГАЦИЯ

Активация яйца сопровождается перемещением составных частей ооплазмы. При этом часто наблюдаемое ее расслоение называется ооплазматической сегрегацией. Протекает сегрегация у разных видов неодинаково. У некоторых видов кишечнорастных она ограничивается расслоением на окрашенную пигментом эктоплазму и богатую желтком эндоплазму. У моллюска *Lymnaea* на вегетативном полюсе сразу после оплодотворения выделяется участок так называемой вегетативной полярной плазмы. Наиболее значимые сегрегационные процессы у моллюсков связаны с дроблением. У морского ежа рассеянный под поверхностью пигмент эхинохром концентрируется в виде экваториального пояса. Все перечисленные формы сегрегации намечают радиальную (относительно анимально-вегетативной оси яйцеклетки) симметрию будущего зародыша.

У асцидий и амфибий движения сегрегации намечают билатеральную симметрию. У асцидий после оплодотворения желтые гранулы, рассеянные под поверхностью, собираются в виде желтого серпа со стороны проникновения сперматозоида. С противоположной стороны экватора формируется светло-серый серп. Бо-

гатая желтком и митохондриями цитоплазма занимает вегетативное полушарие яйца, а анимальное полушарие состоит из прозрачной безжелтковой цитоплазмы. Впоследствии материал желтого серпа оказывается в мезодерме, серого — в хорде, вегетативная цитоплазма — в эктодерме. Через середину серого и желтого серпов проходит сагиттальная плоскость симметрии. У амфибий сперматозоид, проникший в цитоплазму в анимальной части яйцеклетки, погружает в глубь яйца гранулы пигмента, что сопряжено с их оттоком с противоположной стороны на границе анимального и вегетативного полушарий, где из цитоплазмы, частично потерявший гранулы меланина, образуется серый серп. Сагиттальная плоскость проходит через середину серого серпа.

Сегрегация цитоплазмы выражает проморфологию раннего зародыша, во многом определяя последующие стадии развития.

ПАРТЕНОГЕНЕЗ

Развитие яйцеклетки возможно и без участия сперматозоида и в таком случае оно называется партеногенезом (от греч. «parthenos» — девственница, «genesis» — возникновение).

Известны случаи, когда организмы нормально развиваются из отложенных неоплодотворенных яиц. Так, у тлей, низших ракообразных, коловраток, моллюсков, ящериц, индюшек существует естественный партеногенез. В ряде случаев партеногенетическое развитие носит сезонный характер. У коловраток из летних яиц развиваются поколения партеногенетических кладок. Лишь из яиц последней генерации выходят разнополые животные. Известны телетокические (все самки) поколения тлей, дафний. У социальных насекомых наблюдается факультативный партеногенез. В этом случае самка (царица) может произвольно путем регуляции активности семяприемников откладывать оплодотворенные или неоплодотворенные яйца. Сперма в семяприемниках царицы долго сохраняет свою активность, и ее расходование может регулироваться в зависимости от потребностей семьи. Из неоплодотворенных яиц развиваются гаплоидные самцы — трутни. У сосальщиков партеногенез характерен для личиночных стадий развития.

В 1886 г. зоолог А. А. Тихомиров открыл у тутового шелкопряда явление искусственного партеногенеза. Впоследствии выяснилось, что приблизительно 0,001—0,0001 % яиц в кладке шелкопряда способны к самопроизвольному, т. е. естественному, партеногенетическому развитию. Тихомиров выяснил, что обработка кладки концентрированной серной кислотой, резкие перепады температур, механическое воздействие стимулируют партеногенез. Гусеницы, развившиеся из таких яиц, превращаются в диплоидных бабочек.

Советский биолог академик Б. Л. Астауров в 40—60-х годах XX в. разработал промышленный способ стимуляции партеногенеза. Посредством теплового шока он в большом количестве получал партеногенетических бабочек шелкопрядов женского пола. Затем академику В. А. Струнникову удалось стимулировать партеногенетическое развитие бабочек-самцов, дающих даже больше шелка в коконах, чем самки.

После работ А. А. Тихомирова многие выдающиеся исследователи работали над проблемами партеногенеза. Братья Оскар и Рихард Гертвиги сообщили о возможности партеногенетического развития яйцеклеток морского ежа, обработанных стрихнином или хлороформом. Жак Леб в продолжение работ Гертвигов вызывал партеногенетическое развитие яиц морских ежей после обработки органическими кислотами. Е. Батайон также в начале XX в. вызывал партеногенез у лягушек и жаб уколом иглы, смоченной кровью этих животных. М. Олсен показал естественный партеногенез у птиц. Выведена порода индеек, у которой в половине случаев наблюдается естественный партеногенез. Из неоплодотворенных яиц всегда развиваются самцы.

Таким образом, партеногенез настолько широко представлен в царстве животных, что теперь, после того как он был открыт, описан и изучен, можно с равным основанием перечислять тех животных, у кого его нет. К ним прежде всего могут быть отнесены плацентарные млекопитающие. Объясняют отсутствие партеногенеза некоторые особенности их раннего развития, такие, как привнесение центриоли в яйцеклетку сперматозоидом и необходимость геномов обоих родителей уже для раннего эмбриогенеза (геномный импринтинг).

Феномен партеногенетического развития на первый взгляд не согласуется с тонкой и сложной подгонкой «своего» сперматозоида к «своей» яйцеклетке, с колоссальной сложностью самого сперматозоида. Но если вспомнить, что реакция активации сперматозоида, которую можно вызвать как специфическими, так и неспецифическими факторами, похожа на вызываемую им кортикальную реакцию яйцеклетки, которая по структуре и механизму гомологична акросомной, то явление партеногенеза уже не будет вызывать удивления. В нем готовая к оплодотворению яйцеклетка предстает как необычайно сложная структура, дальнейшая форма существования которой предуготована ею самой. Она создается в оогенезе и упорядочивается в процессе активации. На ее основе как самодостаточной идет раннее развитие. Подобно мышце, которая не только на специфический эфферентный импульс отвечает сокращением, яйцеклетка и на контакт со сперматозоидом, и на неспецифические воздействия отвечает реакцией активации. Это обстоятельство полезно учитывать во всех тех случаях, когда тонкие адаптации и взаимные подгонки взаимодей-

ствующих структур могут быть заменены неспецифическим началом, но вызывать ту же реакцию, что и тонко адаптированный компонент.

Обычно из партеногенетических яиц, кроме оговоренных случаев, развиваются диплоидные или даже полиплоидные организмы. Выделяют два основных механизма диплоидизации партеногенетических яиц — амейотический и мейотический. Регуляция хромосом в партеногенезе может происходить следующими способами:

1. Путем выпадения редукции, в результате оба деления оказываются эквационными (дафнии, моллюски).

2. Посредством эндодупликации (удвоения числа хромосом) или в последнем оогониальном делении, или перед началом I профазы мейоза. В этом случае и после двух мейотических делений ядро оказывается диплоидным (планарии, турбеллярии, земляные черви, некоторые насекомые, рыбы, амфибии, ящерицы). Организм, развивающийся партеногенетически, оказывается диплоидным, а из оплодотворенного яйца развивается полиплоид.

3. I мейотическое деление может быть абортивным или полностью выпадать, т. е. разошедшиеся хромосомы вновь объединяются в одном ядре, которое и переходит ко второму делению созревания.

4. II мейотическое деление может быть абортивным или полностью выпадать (некоторые ракообразные, птицы).

5. Пloidность восстанавливается в результате так называемого самооплодотворения. Женский пронуклеус сливается с одним из направительных телец (некоторые насекомые).

6. После II деления дробления попарно сливаются гаплоидные ядра и диплоидность восстанавливается (некоторые насекомые).

Используя схемы регуляции ploидности при партеногенезе и сопоставляя их с картами генетического определения пола, можно узнать пол животного, которое разовьется в каждом конкретном случае партеногенеза, или предсказать вероятность появления тех или иных комбинаций.

Когда говорят о партеногенезе, то имеют в виду развитие на основе женского пронуклеуса. Однако в некоторых случаях возможно развитие на базе мужского пронуклеуса, и тогда говорят об андрогенезе, противопоставляя ему гиногенез. Гиногенез — это форма однополого развития, при которой сперматозоид активирует яйцеклетку, побуждая ее к развитию, но его ядро (мужской пронуклеус) не сливается с женским и в развитии не участвует. Естественный гиногенез известен у одного вида карася, икра которого осеменяется спермой другого вида, активирует икру, но ядро сперматозоида не участвует в образовании зиготы. Андрогенез — явление гораздо более редкое, и когда он происходит (естественный или искусственный), развитие идет без женского пронуклеуса на базе мужского ядра и мужского пронуклеуса.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОЦЕССА ДРОБЛЕНИЯ

После оплодотворения и активации (при партеногенезе) наступает период развития, который называется дроблением. Во время дробления организм становится многоклеточным. Можно сказать, что дроблением начинается онтогенез метазоа и что сам по себе метазойный онтогенез своим происхождением обязан возникновению процесса дробления. По своей сути дробление — это ряд непрерывно следующих одно за другим митотических делений зиготы, в результате которых одна клетка — оплодотворенное яйцо превращается в многоклеточный комплекс. Рост отсутствует. Общая внешняя форма зародыша в процессе дробления не меняется, но образуется внутренняя (первичная) полость тела — бластоцель. Этим главным образом и ограничиваются качественные изменения структуры зародыша в этот период. Взаимное расположение частей цитоплазмы яйца в процессе дробления по большей части не меняется, но они попадают в разные бластомеры. Ядерно-плазменное отношение низкое и в начале дробления достигает уровня, характерного для обычных соматических клеток.

В процессе дробления митотические циклы имеют следующие особенности. Синтез ДНК начинается одновременно уже в пронуклеусах. Это вполне объясняется тем, что все факторы инициации синтеза и репликации ДНК (ДНК-полимеразы, нуклеозидтрифосфаты, гистоны для сборки нуклеосом и пр.) целиком принадлежат яйцу. Все они запасены в оогенезе, а запасов их столько и они распределены по объему цитоплазмы яйца так, что практически в любом месте способны инициировать ядерные синтезы. Об этом, в частности, свидетельствуют случаи полиспермии, когда все ядра сперматозоидов, попавшие в яйцеклетку, начинают реплицировать ДНК. То же происходит и с ядрами соматических клеток, введенных в цитоплазму ооцита. Сами клеточные циклы укорочены за счет редукции G_1 и G_2 периодов. Это следствие того, что синтетические процессы, подготавливающие очередные деления, сведены к минимуму, поскольку подавляющая часть продуктов, образующаяся при этих синтезах, уже запасена в зрелом яйце. S период укорочен благодаря синхронизации репликации во всех репликациях генома. Клетки эукариот полирепликонны. Каж-

дый репликон может реплицироваться автономно. Синхронизация репликации сокращает ее время кратно числу репликонов и полирепликонный геном при дроблении яйцеклетки реплицируется как монорепликонный геном клеток прокариот. Самые короткие циклы описаны у насекомых. Иногда весь цикл деления дробления занимает 10 мин, из которых на М период приходится 3,5 мин. Такая малая продолжительность в данном случае объясняется еще и тем, что цитотомия отделена во времени от кариотомии в процессе дробления и сопровождается в разной степени отстающей от нее при разных типах дробления плазмотомией.

Как уже говорилось ранее, переход от оплодотворения к дроблению осуществляется путем активации MPF (протеаза кальпин II, активируемая освобожденным при оплодотворении Ca^{2+} , инактивирует цитостатин, блокировавший деградацию циклина В, в результате чего яйцеклетка входит в цикл деления дробления). Выполнив свою роль активатора созревания яйцеклетки, MPF продолжает играть роль водителя циклов кариокинеза в процессе дробления. На ранних, синхронных, стадиях дробления клеточный цикл двухфазный. Он состоит из стадий М и S. На стадии М MPF имеет максимальную активность, на стадии S — минимальную. При этом большая субъединица MPF, а в синхронном дроблении это циклин В, регулирует малую субъединицу — киназу cdc2 (cdc2 — циклинзависимая киназа). Малая субъединица удерживает ядро на стадии М до тех пор, пока не деградирует большая. Деградация большой переводит клетку на стадию S интерфазы, и далее следует синтез циклина, активирующего большую субъединицу. И так продолжается весь синхронный период (рис. 24).

Наличие и динамика циклина контролируются несколькими белками, обеспечивающими периодический характер его появления и деградации. У большинства видов белковые регуляторы циклов деления транскрибированы еще в оогенезе и хранятся цитоплазмой яйца. Поэтому раннее дробление не зависит от работы генома дробящихся яиц. После того как запасенные регуляторы циклов расходуются, начинается их синтез в бластомерах. У разных животных это происходит на разных стадиях дробления. Так, у дрозофилы G_2 интерфазы появляется в течение 14-го цикла дробления, а G_1 — в течение 17-го цикла. У шпорцевой лягушки эти стадии появляются сразу после 12-го цикла. Момент включения собственного генома связан с достижением определенного ядерно-плазменного отношения в бластомерах. С появлением в цикле дробления G_1 и G_2 интерфазы бластомеры начинают расти, цикл их становится четырехфазным. Утрачивается синхронность клеточных делений, поскольку бластомеры начинают синтезировать различные регуляторы MPF. Регуляция цикла усложняется и происходит с помощью циклинов А, В, D, Е и относящихся к ним киназ (см. рис. 24). Транскрибируется также новая иРНК, часть

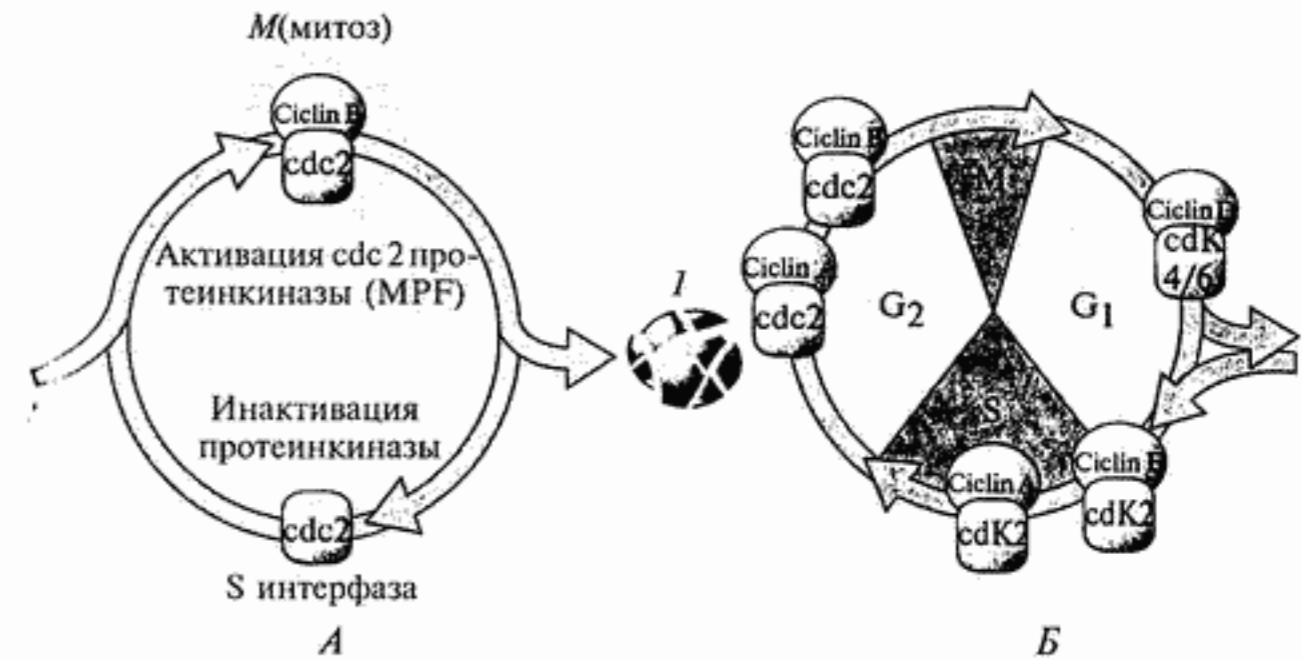


Рис. 24. Клеточные циклы в бластомерах ранних стадий развития зародыша (А) и в соматических клетках (Б). На ранних синхронных стадиях дробления клеточный цикл двухфазный. Он состоит из М и S стадий (А). Полный цикл соматической клетки (Б) состоит из фаз: М, G_1 , S, G_2 и регулируется циклинами А, В, D, Е и ферментами их деградации:

1 — разрушение циклина; 2 — синтез циклина

которой и кодируемые ею белки будут востребованы лишь на стадии гаструляции. Если заблокировать их транскрипцию на этой стадии, то дробление завершится нормально, но гаструляции у такого зародыша не произойдет.

Цитотомия осуществляется с помощью двух механизмов, дополняющих друг друга: путем образования кольца сократимых микрофиламентов, которые гантелеобразно перетягивают разделяемые массы, и путем встраивания мембран, продолжающих цитомембраны формирующихся бластомеров. Кольцо сократимых филаментов образуется в кортикальном слое делящейся клетки в плоскости, перпендикулярной прямой, соединяющей клеточные центры. Образовавшись, филаментарное кольцо работает самостоятельно, независимо от ядра, и безъядерный фрагмент яйцеклетки может дробиться. Мембранная борозда — продолжение цитомембран образующихся бластомеров — возникает путем встраивания запасенных предшественников.

Соотношение между первым и вторым механизмами таково, что процесс дробления цитоплазмы начинает первый, а завершает второй. Степень выраженности этих механизмов у яйцеклеток разных типов неодинакова. У маложелтковых яйцеклеток ярче выражен первый, а у многожелтковых — второй.

Порядок дробления определяется так называемыми правилами (Сакса): 1) клетки имеют тенденцию делиться на равные дочерние; 2) каждая новая борозда имеет тенденцию врезаться под прямым

углом к предыдущей, а также законами О. Гертвига: 1) ядро стремится занять центр активной цитоплазмы; 2) активная ось вертена обычно совпадает с направлением наибольшей протяженности цитоплазмы, а деление обнаруживает тенденцию разделять плазму по центру перпендикулярно длинной оси.

Принято считать, что характер дробления зависит от типа яйцеклетки.

КЛАССИФИКАЦИЯ ЯИЦ

Яйца классифицируют следующим образом:

1. По количеству желтка — поли-, мезо-, олиго- и алецитальные (т.е. много-, средне-, мало- и безжелтковые).

2. По распределению желтка по объему яйца:

- телолецитальные — количество желтка возрастает от анимального полюса к вегетативному;
- гомолецитальные (изолецитальные) — желточные гранулы равномерно распределены в толще яйца;
- централецитальные — свободная от желточных гранул цитоплазма расположена сразу под оболочкой яйца, вокруг ядра, занимающего центральное положение, и в виде тонких тяжей, соединяющих названные области. Промежуточное пространство заполнено желтком.

КЛАССИФИКАЦИЯ ТИПОВ ДРОБЛЕНИЯ

1. Голобластический тип — полное разделение яйца и бластомеров бороздами дробления (а-, олиго-, мезолецитальные, изо-, телолецитальные).

2. Меробластический тип — частичное разделение яйца. Борозды дробления проникают в глубь яйца, но не разделяют его полностью. Желток остается неразделенным:

- *поверхностное дробление* (полилецитальные, централецитальные яйцеклетки) — разделение поверхностного слоя цитоплазмы с одиночными (предварительно многократно поделившимися) ядрами посредством перегородок, направленных нормально к поверхности яйца. Центральная часть яйца остается неразделенной;
- *дискоидальное дробление* (полилецитальные, телолецитальные яйцеклетки) — борозды формируются вслед за делениями ядер, но не разделяют все яйцо, а только один из его полюсов.

3. По признаку объемов, образующихся в результате дробления:

- *равномерное* — объемы бластомеров одинаковы;
- *неравномерное* — объемы бластомеров неодинаковы.

4. По признаку продолжительности кардио- и цитотомии в разных бластомерах дробящегося яйца:

- *синхронное* — дробление начинается и завершается во всех бластомерах одновременно;

- *асинхронное* — начало и время деления в разных бластомерах неодинаково.

5. По признаку взаимного расположения бластомеров в дробящемся яйце:

- *радиальное дробление* — взаимное расположение бластомеров таково, что исходная полярная ось яйца служит осью радиальной симметрии дробящегося зародыша;

- *спиральное дробление* — прогрессивное нарушение симметрии дробящегося яйца в результате спирального смещения завершающих деление бластомеров относительно друг друга;

- *билатеральное дробление* — бластомеры расположены так, что через зародыш можно провести только одну плоскость симметрии;

- *анархическое дробление* — отсутствие закономерности в расположении бластомеров у организмов одного вида.

Дробление завершается образованием бластулы — многоклеточной структуры с более или менее выраженной полостью внутри. Последняя называется полостью дробления, или бластоцелем.

КЛАССИФИКАЦИЯ БЛАСТУЛ

Целобластула состоит из однослойной бластодермы с более или менее одинаковыми бластомерами и крупным бластоцелем внутри, образующаяся в результате полного равномерного дробления.

Амфибластула состоит из неодинаковых микромеров и макромеров. Бластоцель невелика и сдвинута к анимальному полюсу.

Перибластула не имеет бластоцеля и образуется в результате поверхностного дробления.

Дискобластула представляет собой диск бластомеров, лежащий на нераздробившемся желтке. Образуется вследствие неполного дискоидального дробления. Бластула в виде двуслойной пластинки с щелевидной полостью называется плакулой.

Морулой иногда называют самую раннюю бластулу, когда зародыш содержит уже довольно значительное число клеток (32—64), но полость дробления еще не сформирована.

Между бластомерами бластулы нет различий, связанных с дифференциальной активностью их генов. Бластомеры различаются величиной, количеством желтка, качеством цитоплазматических включений и своим местоположением в зародыше. Все эти различия связаны с работой материнского генома в период оогенеза, типом яйцеклетки, процессами сегрегации цитоплазмы при оплодотворении, характером дробления, расположением бластомеров и в итоге типом бластулы (рис. 25). Первые различия между

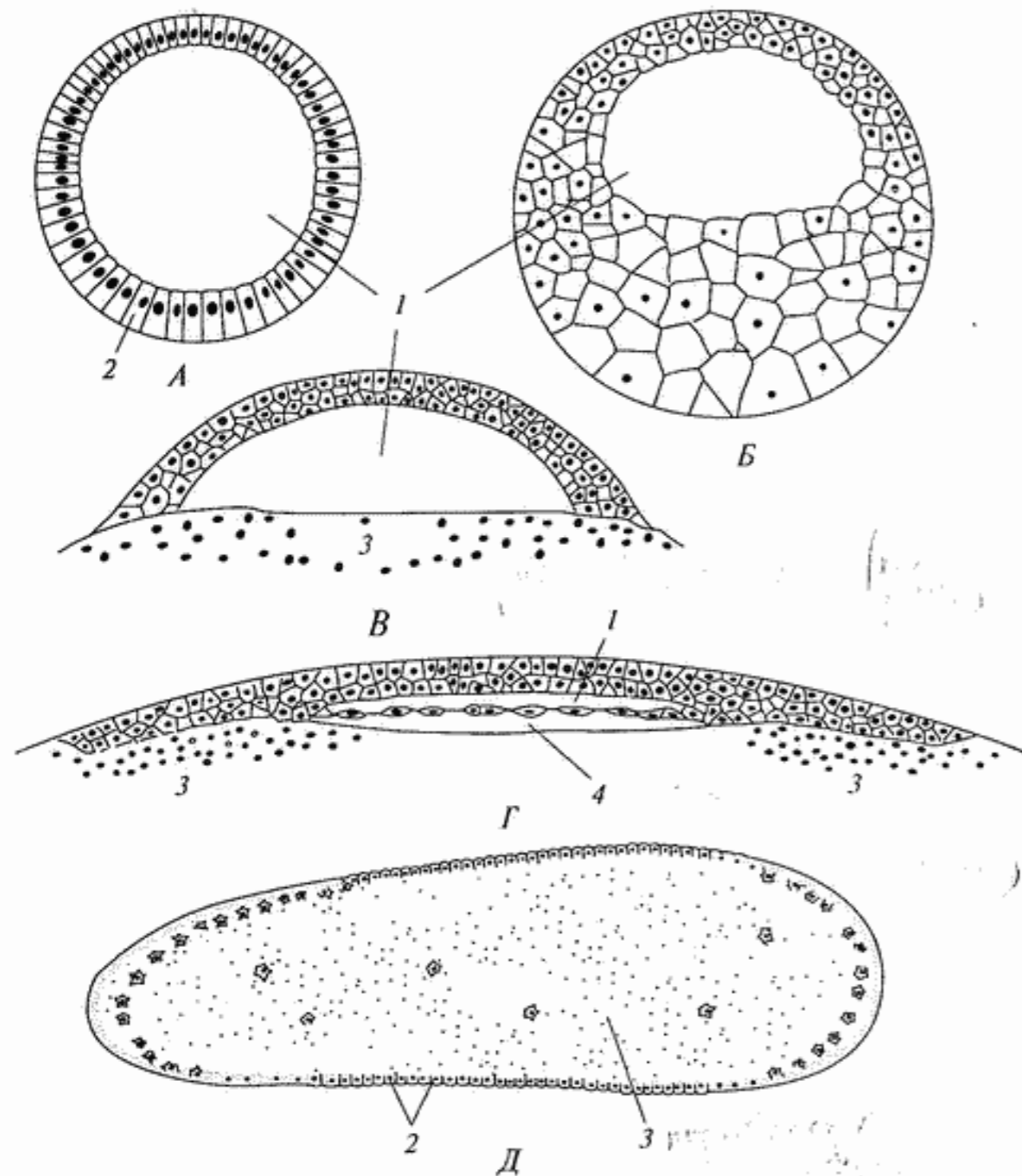


Рис. 25. Типы бластул (Б.И. Балинский):

A — целобластула (морской еж); *B* — амфибластула (амфибии); *B* — дискобластула (костистые рыбы); *Г* — дискобластула (птицы); *Д* — перибластула (насекомые); 1 — бластоцель (первичная полость тела); 2 — бластомеры; 3 — желток; 4 — подзародышевая полость

клетками, основанные на дифференциальной активности зиготических генов, возникают в ходе гаструляции. В процессе гаструляции зародыш дифференцируется на зародышевые листки. Закачивается цитотипический (дробление) и начинается органотипический (со стадии гаструлы) период развития. Однако любая бластула, так же как яйцеклетка, может быть схематически поделена на территории, формообразование которых при нормальном ходе

онтогенеза может быть предсказано. Такие участки бластул называются презумптивными зачатками. Впервые карты презумптивных зачатков в 20-х годах XX в. составил немецкий ученый В. Фогт (Vogt) для амфибий. С помощью кусочков агара, пропитанных витальными красками, он окрашивал участки бластулы в разные цвета и прослеживал дальнейшую судьбу окрашенных клеток. В дальнейшем в зависимости от технологического уровня экспериментов использовались различные маркеры. Теперь ни одна эмбриологическая работа немислима без таких карт (см. рис. II цв. вкл.).



ВИЛЬЯМ ФОГТ

Различают два типа яйцеклеток: мозаичные, определяющие мозаичный тип развития, и регуляционные, обуславливающие регуляционный тип развития.

В мозаичных яйцах РНК, синтезированная в оогенезе, жестко определяет дифференцировку blastomeres, в которые она попадает при дроблении. Мозаичное развитие свойственно в основном животным со спиральным дроблением. В регуляционных яйцах материнских РНК недостаточно для однозначного определения судьбы blastomeres. Их дифференцировка в эмбриогенезе определяется сложными взаимоотношениями частей зародыша.

ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОЦЕССА ДРОБЛЕНИЯ У НЕКОТОРЫХ ХОРДОВЫХ

Оболочники

Класс Асцидии. Яйца олиголецитальные, телолецитальные. Дробление голобластическое. Радиальная симметрия 4-клеточного зародыша сменяется билатеральной симметрией 8-клеточного зародыша. Соответственно первые два деления дробления равномерные, третье и последующие деления дробления неравномерны. Клеточный цикл вегетативных blastomeres несколько удлинен по сравнению с таковыми у животных, однако вплоть до стадии 64 blastomeres дробление считается относительно синхронным. Далее синхронность клеточных делений резко нарушается. Гаструляция начинается после седьмого деления дробления (124 клетки). Яйца и развитие следует относить к детерминационному типу (рис. 26).

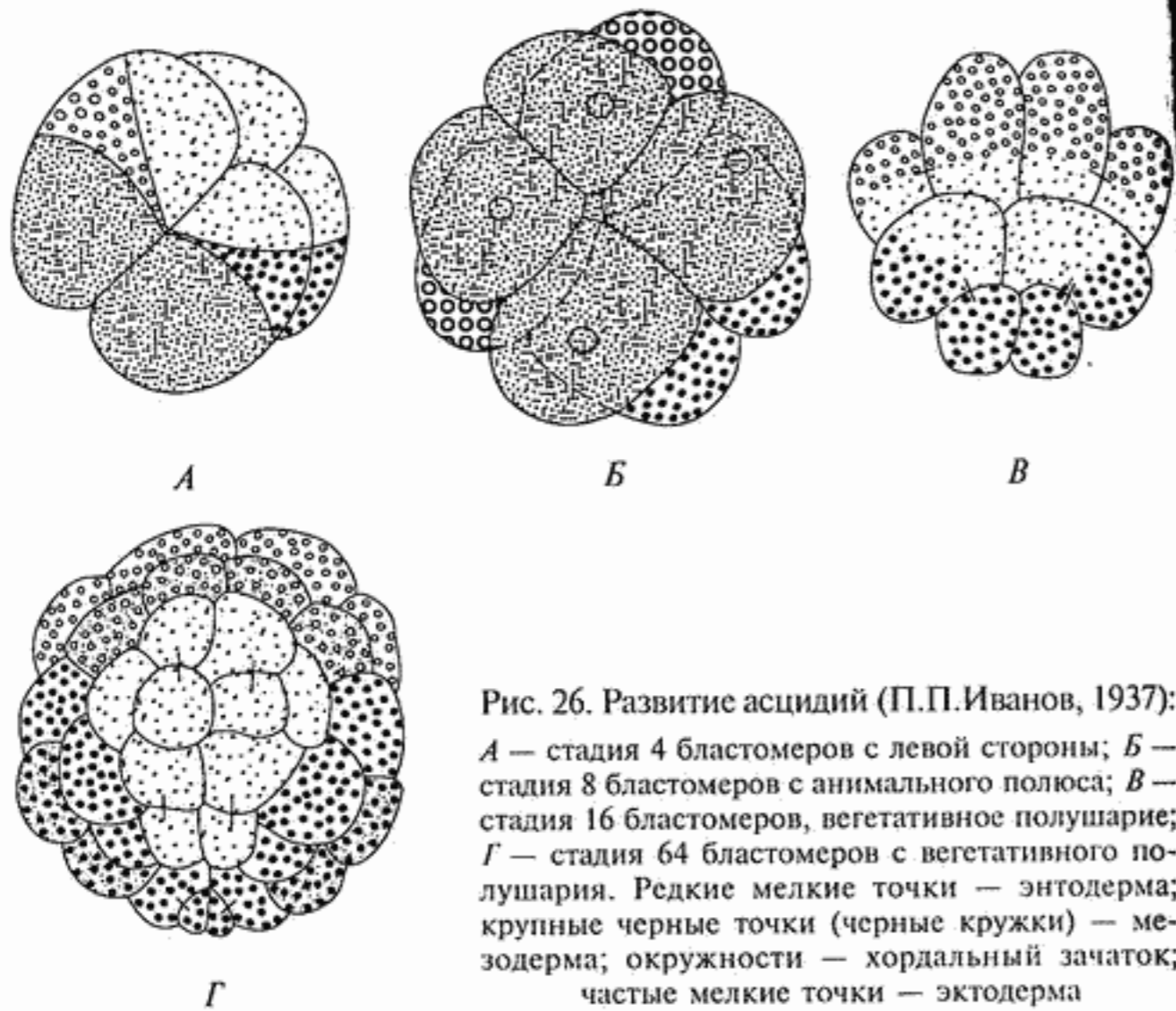


Рис. 26. Развитие асцидий (П.П.Иванов, 1937):
 А — стадия 4 бластомеров с левой стороны; Б — стадия 8 бластомеров с анимального полюса; В — стадия 16 бластомеров, вегетативное полушарие; Г — стадия 64 бластомеров с вегетативного полушария. Редкие мелкие точки — энтодерма; крупные черные точки (черные кружки) — мезодерма; окружности — хордальный зачаток; частые мелкие точки — эктодерма

Подкласс Пирсомы. Яйца полилецитальные, телолецитальные. Дробление дискоидальное. Первые два деления дробления можно определить как более или менее равномерные. Третье деление дробления неравномерно.

Судьба клеток бластодермы определяется на стадии 8 бластомеров. Четыре краевых бластомера сохраняют связь с подлежащим желтком и по существу являются мероцитами. Четыре центральных бластомера отделены от желтка полностью и будут формировать тело собственно зародыша (рис. 27).

Очень интересен факт участия соматических материнских клеток в эмбриональном развитии. У всех асцидий фолликулярные клетки проникают в яйцо, располагаясь в пространстве между оболочкой яйца и мембраной яйцеклетки. У пирсом эти клетки в большом числе проникают между ранними бластомерами. Дальнейшая судьба клеток не определена.

Класс Аппендикулярии. Яйца, вероятно, олиголецитальные и телолецитальные. Дробление голобластическое, неравномерное, выражено детерминационное, поскольку уже на стадии 8—16 бластомеров выделяются исходные бластомеры для образования

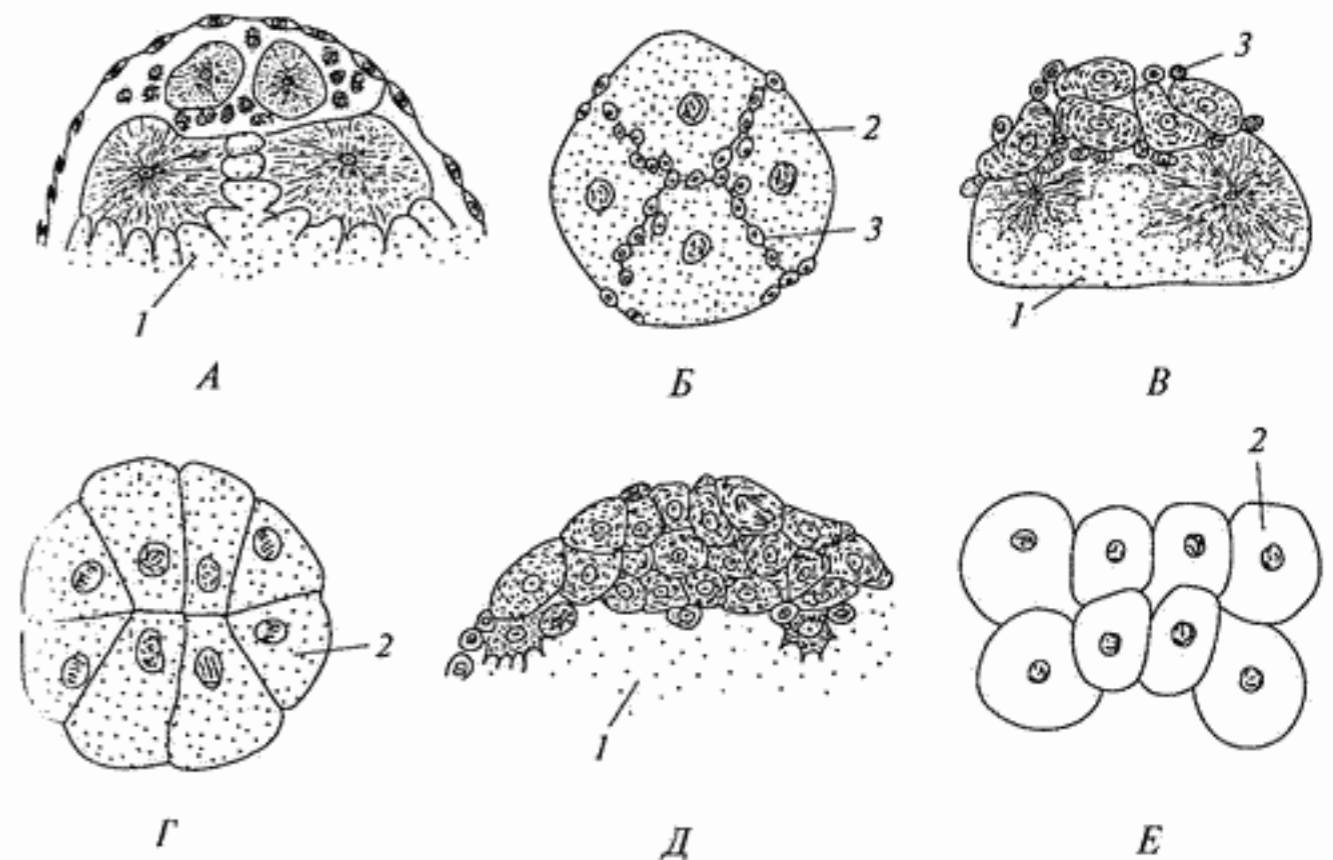


Рис. 27. Развитие пирсом, дробление яйца (П.П.Иванов, 1937):
 А — срез зародыша на стадии 8 бластомеров; Б — общий вид зародыша на стадии 3 бластомеров; В — срез зародыша на стадии 3 бластомеров; Г, Е — зародыши на стадии 8 бластомеров, общий вид; Д — срез зародыша на стадии бластулы (дискобластула); 1 — желток; 2 — бластомеры; 3 — тестальные (фолликулярные) клетки

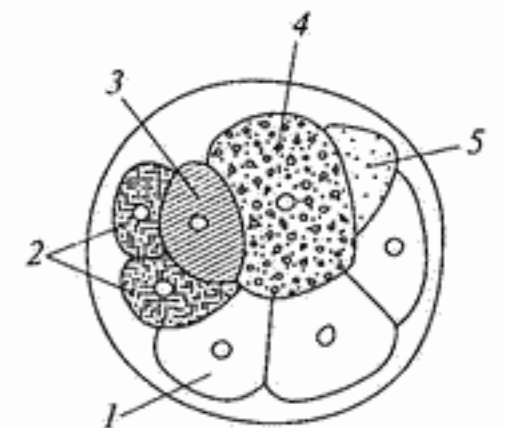


Рис. 28. Зародыш аппендикулярии на стадии начала гастрюляции (сагиттальный разрез):
 1 — эктодерма; 2 — нервная система; 3 — хорда; 4 — энтодерма; 5 — мезодерма

наружных покровов, нервной системы, хорды и мезодермы. Гастрюляция происходит посредством эпиболии (обрастания) и начинается на стадии 16 бластомеров (рис. 28).

Бесчерепные

Класс Головохордовые (Ланцетники). Яйцо олиголецитальное, изолецитальное после первого редукционного деления и телолецитальное перед началом дробления. Дробление голобластическое. Неравномерное второе деление дробления определяет плоскость

билатеральной симметрии. Третье дробление, перпендикулярное первым двум делениям, еще более неравномерное и отделяет меньшие анимальные (дорзальные) и большие вегетативные (вентральные) бластомеры. Семь первых делений дробления считаются синхронными, восьмое деление дробления асинхронно. Заметный бластоцель, заполненный студенистым веществом, появляется на стадии 16 бластомеров. На стадии 128 бластомеров зародыш пре-

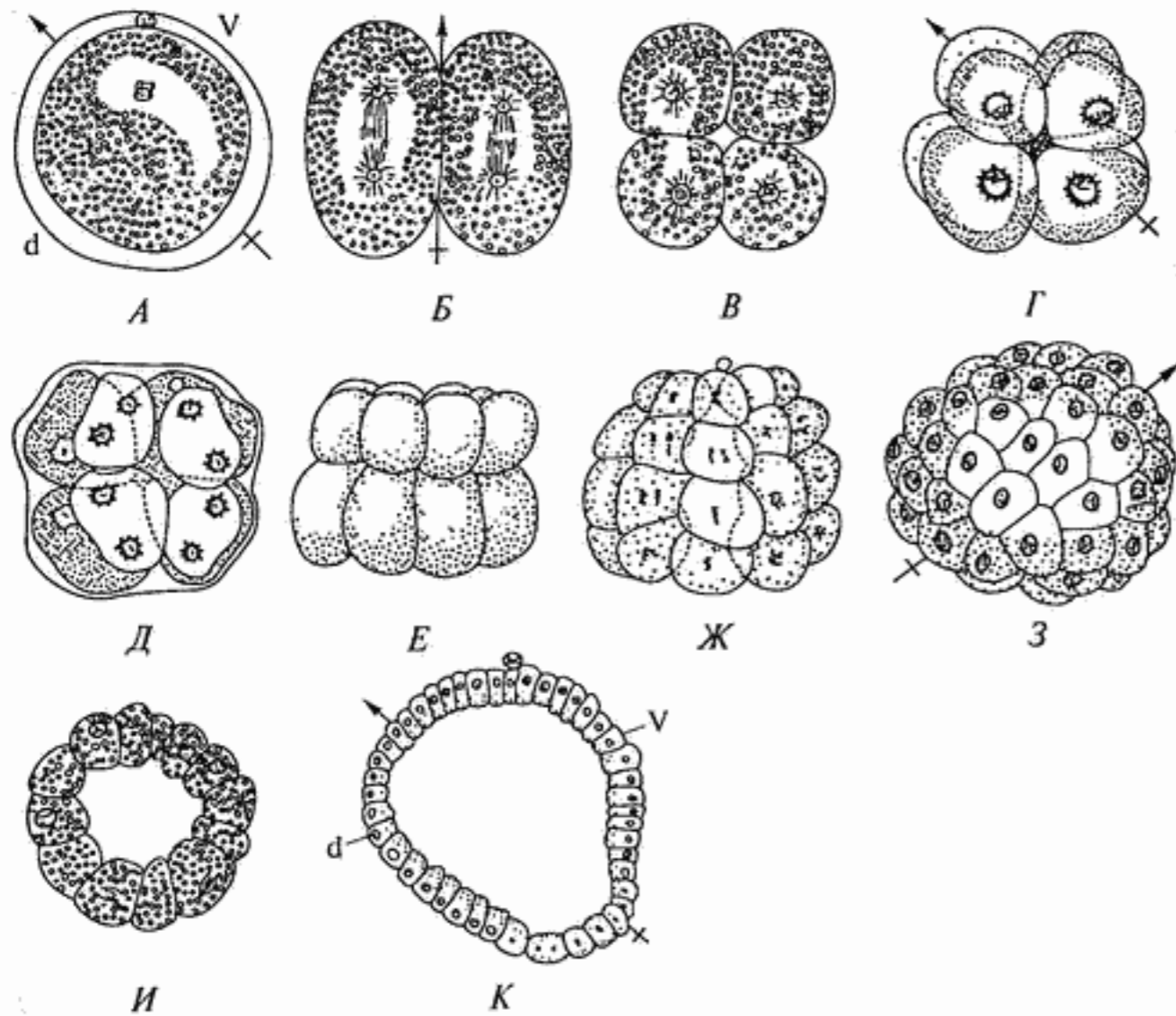


Рис. 29. Дробление и бластуляция ланцетника (С.Е. Nelsen, 1953):

A — медианный срез яйца через час после оплодотворения; *B* — стадия 2 бластомеров (стрелкой обозначена медианная плоскость зародыша); *B* — стадия 4 бластомеров; *Г* — стадия 8 бластомеров (2,5 ч после оплодотворения). Задние бластомеры (справа внизу) содержат большую часть материала серпа; *Д* — поздняя анафаза четвертого дробления (вид зародыша сверху); *Е* — зародыш на стадии 16 бластомеров (вид сбоку) — 8 микромеров вверху, 8 макромеров внизу; *Ж* — зародыш на стадии 32 бластомеров (3,5 ч после оплодотворения) — ядра клеток на анафазе или метафазе перед 6-й бороздой; *З* — зародыш на стадии 64 клеток (стрелкой показана переднезадняя ось эмбриона); *И* — срез бластулы (3,3 ч после оплодотворения) — анимальный полюс вверху, вегетативный внизу. Энтодермальные клетки вегетативного полюса богаче желтком и крупнее; *К* — поздняя бластула грушевидной формы (бластоцель большой); *d* и *V* — дорзальная и вентральная стороны зародыша

ращается в типичную однослойную целобластулу, поскольку увеличивается в размерах и приобретает неправильную слегка вытянутую форму (рис. 29). Гастрюляция, однако, начинается после увеличения числа клеток зародыша до 1000.

Дробящееся яйцо ланцетника считалось классическим примером недетерминированного, регуляционного развития. Действительно, из каждого бластомера 2-клеточной стадии достаточно часто развивалась меньшая размером, но полноценная личинка. Удаление половины 4-клеточного зародыша привело к двум принципиально различным результатам. В случае деления зародыша на половины по плоскости первого деления дробления из каждой развивается меньшая размером, но полноценная личинка. В случае деления по плоскости второго деления дробления из каждой половины развиваются дефектные личинки. Аналогичная ситуация наблюдается в 8-клеточном зародыше. Таким образом, яйцо и зародыш на стадии дробления следует считать «недостаточно детерминированными», или «неполно регуляционными».

Позвоночные

Класс Круглоротые (Миноги). Яйца мезолецитальные, телолецитальные. Дробление голобластическое. Первые два деления дробления считаются равномерными, третье выражено неравномерное. С этого момента становится заметной асинхронность дробления анимальных и вегетативных бластомеров. Полость дробления намечается на стадии 8—16 бластомеров. На стадии 128 бластомеров формируется типичная целобластула с многослойными стенками. Ее можно назвать также амфибластулой, поскольку вегетативные и анимальные бластомеры существенно различаются размерами. Наружный клеточный слой приобретает черты покровного эпителия, клетки уплощаются и плотно контактируют друг с другом. На стадии поздней бластулы бластоцель значительно увеличивается; форма зародыша при этом становится неправильной: анимальная область «выбухает» более, чем вегетативная (рис. 30).

Класс Хрящевые рыбы, отряд Акулообразные, Скаты. Яйца полилецитальные, телолецитальные. Отмечается полиспермия. Полагают, что ядра спермиев, не слившихся с женским пронуклеусом, долго сохраняются в желточном слое яйца, граничащем с бластодермой, и даже участвуют в переработке желтка. Дробление дискоидальное. Пятое деление дробления отделяет ряд бластомеров от желтка. Краевые бластомеры и бластомеры, лежащие в основании бластодермы, сохраняют связь с желтком. Шесть делений дробления проходят более или менее синхронно, после чего синхронность нарушается. В итоге в основании бластодермы формируется перибласт или слой мероцитов. В результате дробления образуется дискобластула, снаружи ограниченная слоем плотно

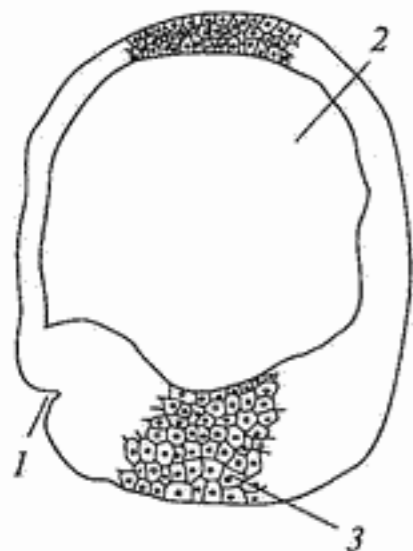


Рис. 30. Начало гаструляции в зародыше миноги (сагиттальный срез) (П.П.Иванов, 1937)
1 — blastopore; 2 — blastocoel; 3 — крупные blastomeres вегетативного полушария

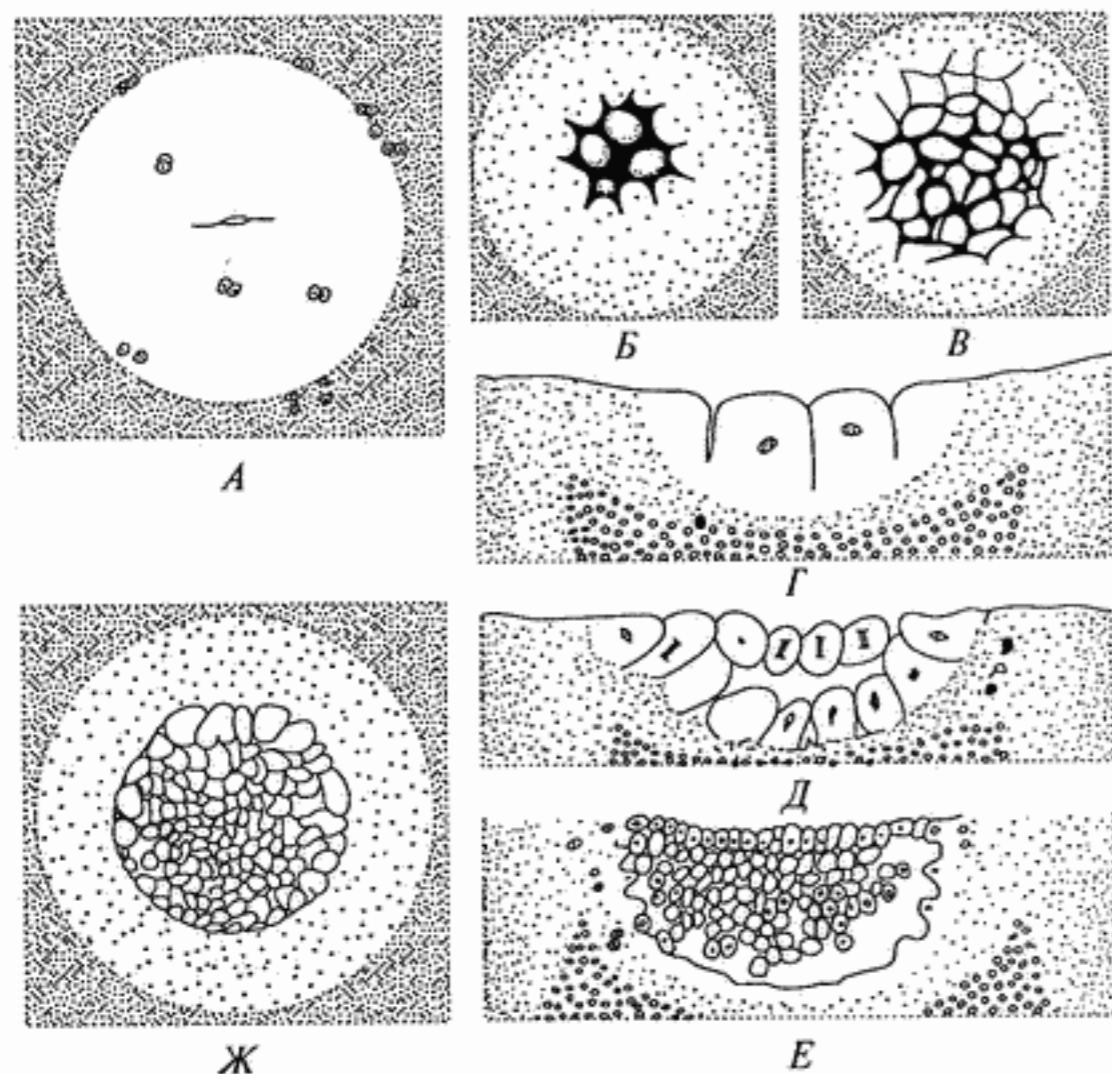


Рис. 31. Дробление щележаберных (хрящевые рыбы) (С.Е. Nelsen, 1953):
А — зародышевый диск с раздробившимися ядрами и ядрами сперматозоидов, видна первая борозда дробления (цитотомия); Б — дробление — стадия 16 ядер (вид сверху на 4 центральных и 10 краевых клетках); В — вид сверху на бластодерму с 64 ядрами (видны на поверхности 29 центральных и 17 краевых клеток); Г — поперечный срез зародыша на стадии, соответствующей поз. Б; Д — поперечный срез зародыша на стадии 64 blastomeres; Е — медианный срез через бластодерму зародыша в конце дробления; Ж — то же самое, что на поз. Е (вид сверху)

соединенных покровных клеток. Со временем щелевидная полость бластулы увеличивается, причем в большей степени у одного из краев бластодиска. Полагают, что различия в размере blastocoela (или, иными словами, плотность упаковки клеток в различных частях бластодермы) определяет оси и билатеральную симметрию будущего зародыша — область расширенного blastocoela соответствует каудальному концу зародыша (рис. 31).

Класс Костные рыбы, отряд Осетровые. Яйца скорее полилецитальные, чем мезолецитальные и телолецитальные. Дробление неравномерное. Его можно назвать полным с определенными огорками. Относительно полное разделение толщи яйца в вегетативной области первой и второй бороздами дробления завершаются к моменту, когда в анимальной области образовалось 60 изошированных blastomeres. Ясно, что это возможно только при выраженной асинхронности делений различных blastomeres. Еще одна особенность, уподобляющая дробление ганойдов таковому у костных рыб, — это третья борозда дробления, направленная меридионально.

В результате дробления образуется амфибластула, ограниченная слоем покровных клеток, способных к эпиболии.

Класс Костные ганойды. Яйца полилецитальные, телолецитальные. Дробление неравномерное, асинхронное. Полное разделение вегетативной области I, II и III меридиональными бороздами еще более затянута, чем у хрящевых ганойдов. Тангенциальное четвертое деление отделяет анимальные blastomeres от вегетативных. В результате значительно более быстрого дробления анимальных blastomeres формируется структура, напоминающая бластодиск, лежащая на немногочисленных гигантских вегетативных blastomeres, ядра которых смещены к граням, обращенным к анимальной бластодерме. Полость бластулы щелевидная и покрыта эпителиеподобным слоем — перидермой, осуществляющей роль ведущего края при эпиболии (рис. 32).

Надотряд Костистые рыбы. Яйца полилецитальные, телолецитальные. Дробление дискоидальное. Первые борозды дробления направлены нормально к поверхности яйца. Борозда V деления дробления в отдельных blastomeres проходит параллельно поверхности. В результате дробления образуется дискобластула, в которой различают следующие структуры. Слой покровных клеток — перидерма, способная к обрастанию зародыша. Подлежащие слои клеток называют эпибластом. Еще более глубокие слои рыхло лежащих клеток отграничены от желтка перибластом и называются гипобластом. Перибласт формируется следующим образом. Прилежащие к желтку клетки в основании и на периферии бластодермы делятся тангенциально несколько раз, отделяя дочерние клетки в гипобласт. Затем цитотомия прекращается (полагают, что это связано с сильным обеднением этих клеток «активной» ци-

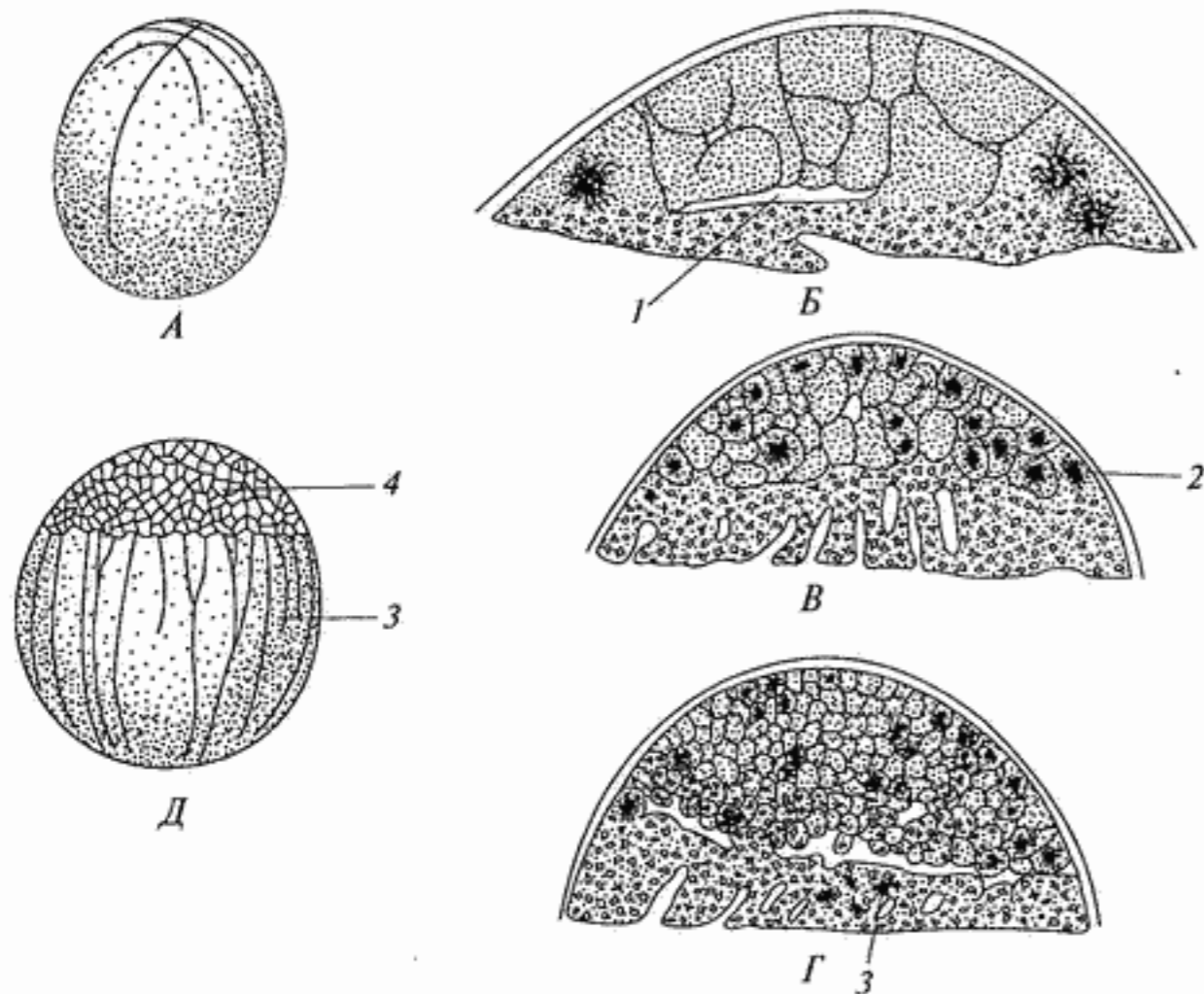


Рис. 32. Дробление костных ганоидов (П.П. Иванов, 1937):

А — зародыш на стадии 8 бластомеров; Б, В, Г — срезы зародыша на разных стадиях дробления и бластуляции; Д — ранняя бластула; 1 — полость дробления; 2 — краевая зона; 3 — макромеры; 4 — микромеры

топлазмой), хотя в ядрах продолжают митозы. В результате образуется многоядерная синцитиальная структура (рис. 33).

Надотряд Двоякодышщие. Яйца мезолецитальные, телолецитальные. Дробление полное. Первое и второе деления дробления осуществляются ортогональными меридионально направленными бороздами, третье деление дробления тангенциальное, выражено неравномерное. В целом дробление (и последующее развитие также) очень напоминает таковое у амфибий.

Класс Амфибии, отряды Бесхвостые, Хвостатые. Яйца мезолецитальные, телолецитальные. Дробление полное. Первое и второе деления дробления осуществляются меридионально направленными ортогональными бороздами и предполагаются равномерными. III борозда широтная, деление выражено неравномерное. IV борозда направлена не строго меридионально: в отдельных бластомерах возможны существенные отклонения от меридиональности. V борозда направлена тангенциально, но также со значительными отклонениями. VI борозда в отдельных бластомерах направлена тангенциально относительно поверхности зародыша. Сле-

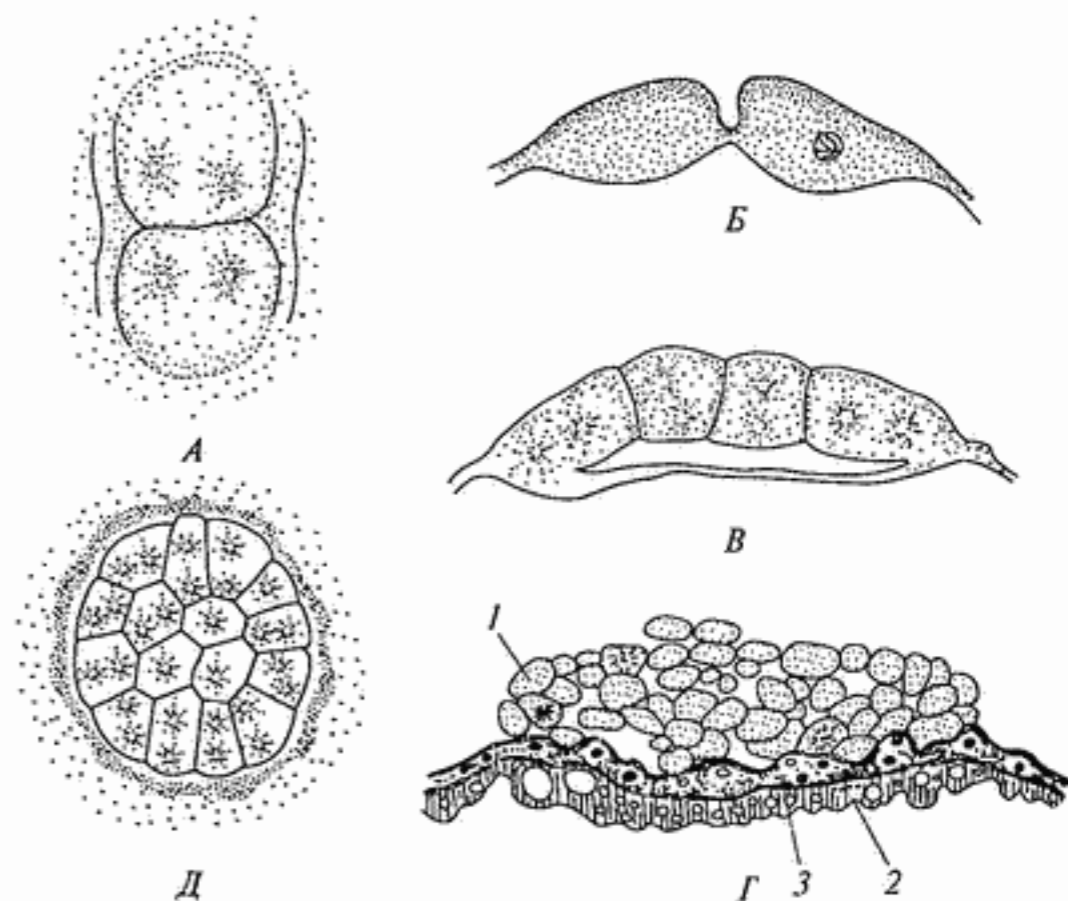


Рис. 33. Дробление костистых рыб (П.П. Иванов, 1937):

А — вид зародыша на стадии 2 бластомеров с анимального полюса; Б — поперечный срез зародыша на стадии 2 бластомеров; В — поперечный срез зародыша на стадии 16 бластомеров; Г — ранняя дискобластула форели; Д — стадия 16 бластомеров, вид с поверхности; 1 — бластомеры; 2 — желток; 3 — перибласт

дующие за третьим делением дробления следует считать скорее неравномерными, чем равномерными. В результате дробления образуется амфибластула (рис. 34).

Отряд Безногие. Яйца скорее полилецитальные, чем мезолецитальные, а также телолецитальные. Дробление подобно таковому у ганоидов, т.е. темп дробления анимальных бластомеров намного превышает темп дробления вегетативных бластомеров. Однако III борозда дробления направлена широтно. В результате формируется бластула, образованная крупными вегетативными бластомерами, на которых лежит диск, состоящий из мелких клеток анимальной части. Бластоцель представлен щелевидным пространством.

Класс Рептилии. Яйца полилецитальные, телолецитальные. Дробление дискоидальное. I и II борозды ортогональны и направлены меридионально. III и IV борозды также меридиональны, но направление их относительно первых двух борозд непредсказуемо. Последующие деления дробления направлены как тангенциально, так и меридионально. Процесс дробления выражен асинхронен. Формирование борозд в периферической части зародышевого диска сильно замедлено по сравнению с центральной частью.

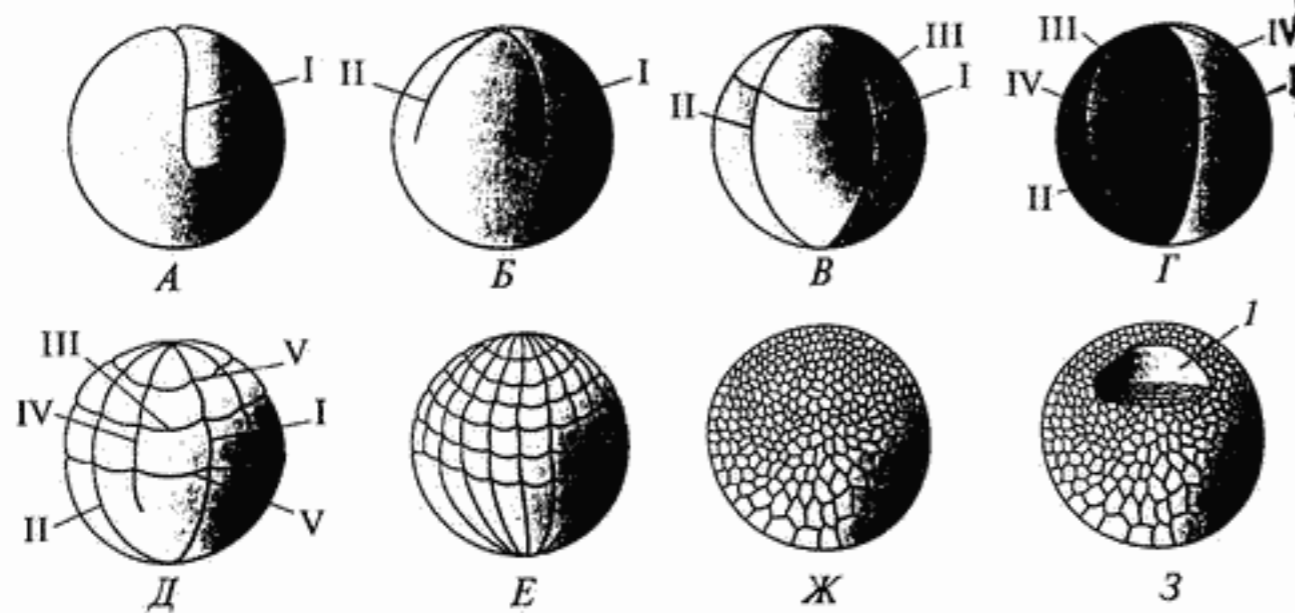


Рис. 34. Дробление яйца лягушки (В.М. Carlson, 1981). Борозды дробления обозначены римскими цифрами в порядке их появления:

А — стадия двух бластомеров; Б — желток, сконцентрированный в вегетативном полушарии, затрудняет дробление, поэтому второе деление дробления начинается в анимальной области яйца раньше, чем первая борозда разделит цитоплазму вегетативной области; В — борозды третьего деления смещены в направлении анимального полюса; Г — Ж — после ряда последовательных делений в анимальном полушарии образуется большое число мелких бластомеров, а в вегетативном полушарии — меньшее число более крупных бластомеров; З — поперечный срез бластулы; I — бластоцель

В результате центр бластодиска сформирован автономными мелкими клетками из нескольких слоев, а на периферии его образуется краевой перибласт. В желточном слое, подстилающем бластодиск, формируется многоядерная структура, напоминающая перибласт рыб. Однако в отличие от перибласта рыб ядра этого слоя способны отделяться от желтка с частью цитоплазмы, образуя мероциты — клетки, набитые желточными гранулами, которые присоединяются к вышележащим слоям, появившимся в результате дробления. Под многослойной частью бластодиска формируется полость, получившая название подзародышевой, наполненная разжиженным желтком. Различие в цвете областей диска дало основание для выделения темной зоны — *area opaca* (периферическая область с краевым перибластом и клетками, прилегающими к желтку) и светлой зоны — *area pellucida* (центральная область диска, образованная слоями мелких клеток с подлежащей подзародышевой полостью). Периферический перибласт продолжает отделять мероциты, которые включаются в основание зародышевого диска по его периферии. Одновременно изменяется морфология клеток, покрывающих бластодиск снаружи. Они удлиняются в направлении, перпендикулярном поверхности бластодермы, приобретая вид цилиндрического эпителия. Процесс начинается в

центральных областях бластодермы и распространяется на периферию. В результате образуется структура, получившая название зародышевого, или эктодермального, щитка. Клетки, ограничивающие бластодерму от подзародышевой полости, уплощаются, плотно контактируют, формируя структуру, подобную однослойному эпителию. Бластоцель представлен в виде щелевидного пространства внутри бластодиска.

Класс Птицы. Яйцо и дробление сходны с таковыми у рептилий. Дробление весьма хаотично, исключая I и II борозды дробления. Тангенциальные борозды отделяют клетки центральной области зародышевого диска от желтка, в то время как клетки на периферии остаются связанными с желтком. Ядра этих клеток довольно активно делятся, но цитотомия не завершается. В результате образуется синцитиальный периферический перибласт (зародышевый валик), способный отделять мероциты, включаемые в состав клеток бластодиска. Бластоцель возникает на стадии 16 бластомеров в виде подзародышевой полости (рис. 35). Некоторые ядра мигрируют из периферического перибласта вдоль дна подзародышевой полости и формируют здесь центральный перибласт. Зародышевый диск, так же как у рептилий, разделяют на *area opaca* и *area pellucida*.

Класс Млекопитающие, подкласс Однопроходные. Яйца крупные, полилецитальные, телолецитальные (рис. 36). Дробление дискоидальное, похоже на дробление яиц рептилий. Образующийся бластодиск снаружи ограничен одним слоем клеток, к которому местами примыкают клетки прерывистого подлежащего слоя.

Подкласс Сумчатые. По количеству желтка яйца, вероятно, следует классифицировать как олиго- или мезолецитальные, телолецитальные. Дробление полное, но у некоторых видов несет признаки дискоидальности. Так, при первом делении дробления у сумчатой куницы желток отделяется от бластомеров (рис. 37). Второе и третье деления дробления (так же, как и первое) направлены меридионально. Четвертое деление дробления отчетливо неравномерно и осуществляется тангенциально направленной бороздой. В этот момент желток изменяет свою консистенцию (разжижается) и дробящиеся бластомеры «обрастают» его. Однако полость такого шаровидного скопления нельзя считать бластоцелью. Несколько позже на одном из полюсов зародыша возникает второй внутренний слой клеток — энтодерма. В этой области формируется собственно зародыш.

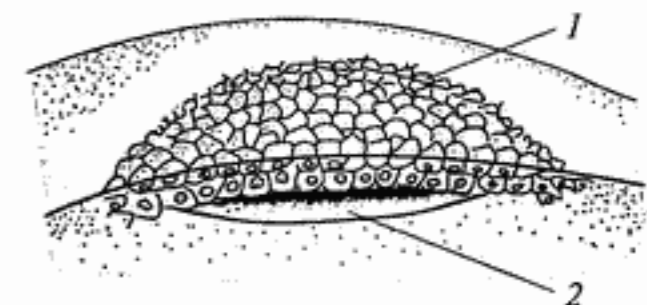


Рис. 35. Дискобластула птиц: 1 — бластомеры; 2 — подзародышевая полость

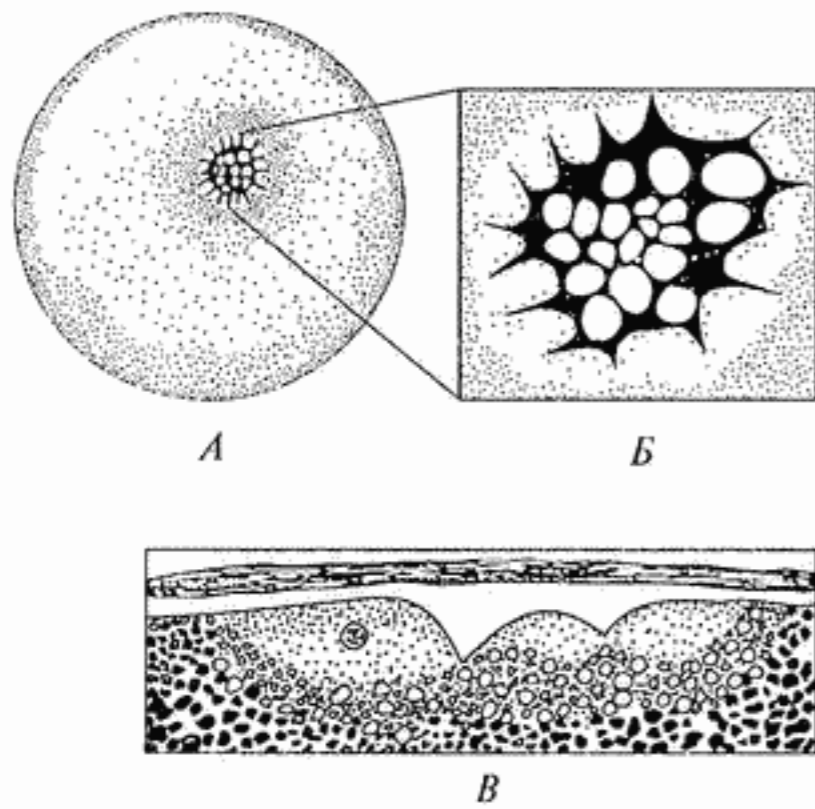


Рис. 36. Дробление яйцекладущих (утконос, ехидна) (С.Е. Nelsen, 1953):

А — общий вид дробящейся яйцеклетки, в центре видны бластомеры; Б — зародыш на стадии 32 клеток, видны центральные и краевые бластомеры; В — срез через бластодиск на 4—8-клеточной стадии

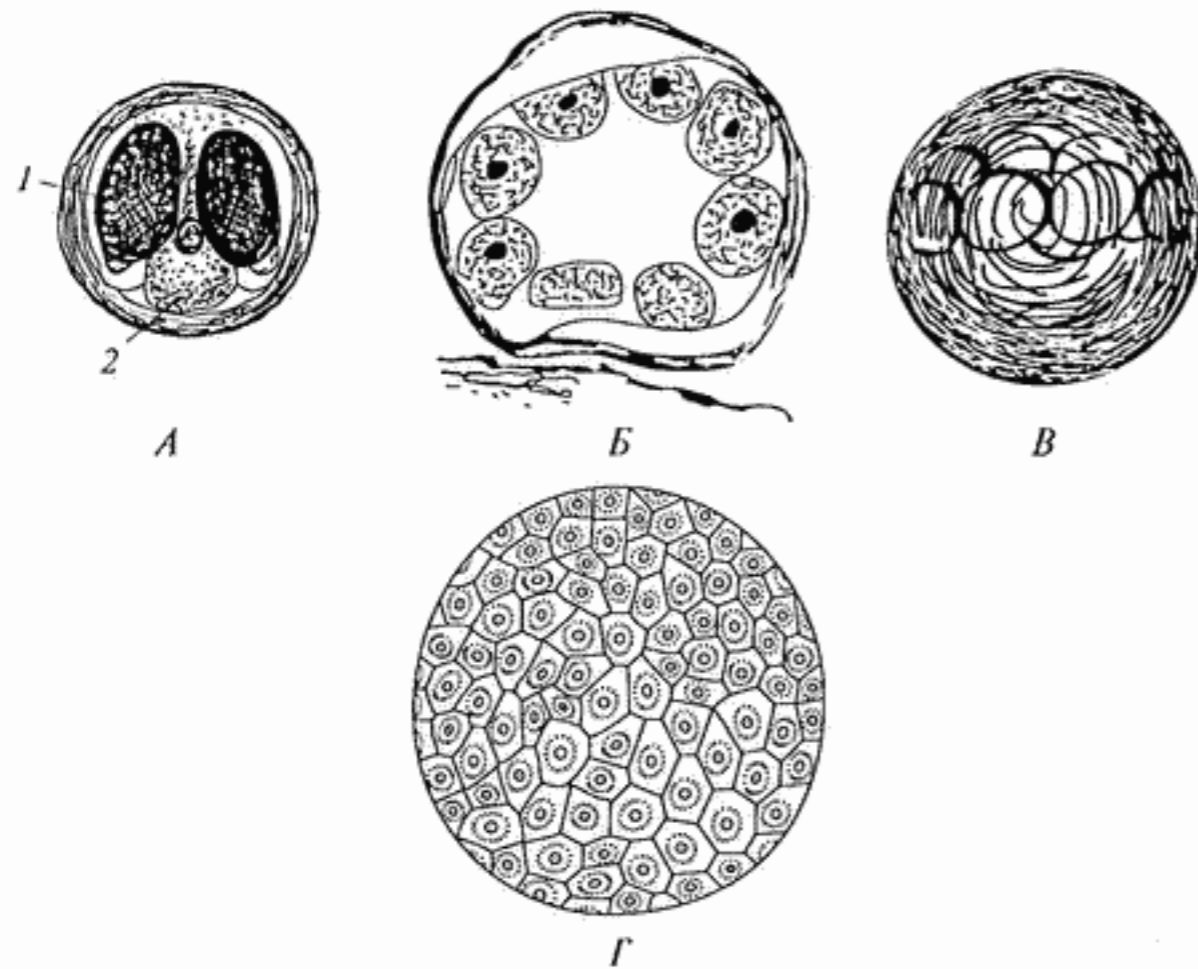


Рис. 37. Развитие сумчатых. Дробление яйца каменной куницы (П.П. Иванов, 1937):

А — стадия 2 бластомеров; Б — срез зародыша на стадии 16 бластомеров; В — общий вид зародыша на стадии 16 бластомеров; Г — общий вид бластодермального пузырька каменной куницы к концу дробления; 1 — бластомер; 2 — желток

У других представителей сумчатых следы дискоидального дробления исчезают совсем. Например, у опоссума третье деление дробления направлено тангенциально. Бластомеры формируют шаровидную структуру, полость которой выполнена «разжиженным» желтком. Желток попадает во внеклеточное пространство яйца и во время дробления бластомеров превращается в гранулы.

Подкласс Плацентарные. Яйца млекопитающих самые мелкие в животном царстве, алецитальные. Так, зигота человека составляет всего лишь 100 нм в диаметре, т.е. меньше 0,001 объема яйцеклетки шпорцевой лягушки. Желтка в этой мельчайшей из яйцеклеток очень мало или практически нет совсем. Дробление самое медленное. Кроме того, расположение бластомеров также отличается от расположения бластомеров других систематических групп.

I борозда меридиональная, а II борозда в одном бластомере меридиональная, а в другом экваториальная (рис. 38). И наконец, их третья особенность — выраженная асинхронность раннего дробления, т.е. зародыш может содержать непарное количество клеток. В отличие от других животных геном млекопитающих активируется в течение раннего дробления и продуцирует необходимые вещества для его продолжения. Так, у мыши и козла переключение на зиготический контроль дробления происходит на стадии 2-клеточного зародыша. И, возможно, самое важное отличие дробления млекопитающих от других типов — феномен компактизации. Так, на 8-клеточной стадии зародыш сначала образован неплотно прилегающими друг к другу бластомерами со свободными пространствами между ними. Однако позже на той же стадии все ме-

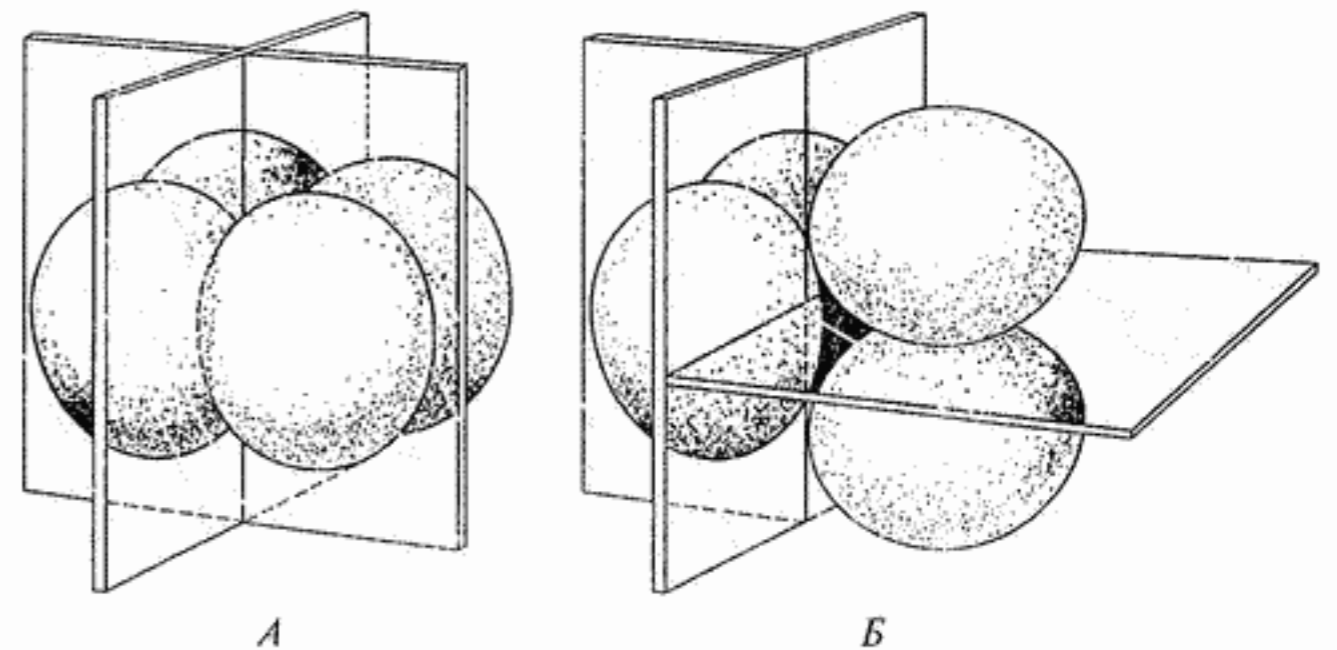


Рис. 38. Сравнение ранних стадий дробления у иглокожих (А) и млекопитающих (Б) (В.Ж. Gulyas, 1975)

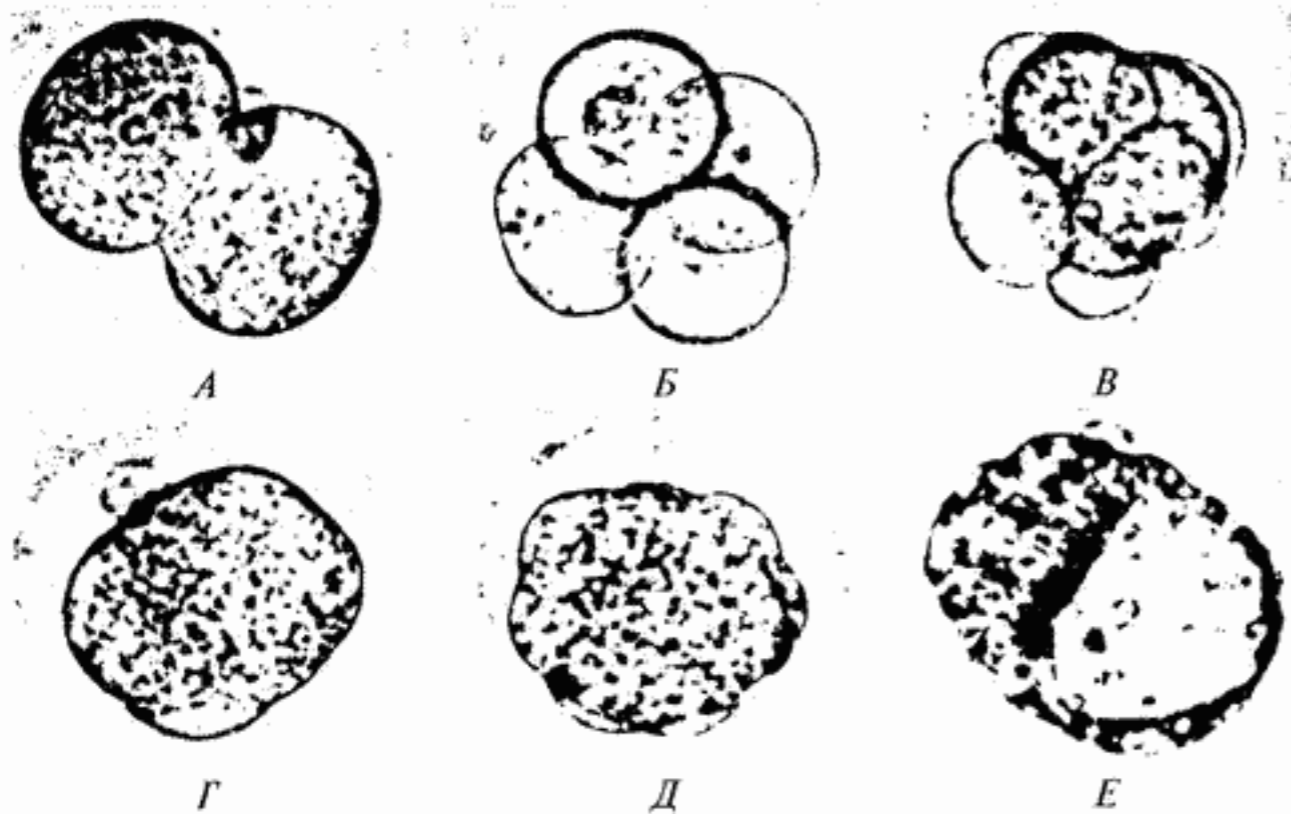


Рис. 39. Дробление зародыша мыши *in vitro* (J.G. Mulnard, 1967):

A — 2-клеточная; *B* — 4-клеточная; *V* — ранняя 8-клеточная стадия; *Г* — компактная 8-клеточная стадия; *Д* — морула; *E* — бластоциста

няется: клетки плотно прижимаются друг к другу и образуют компактный шар (рис. 39, 40). Эта плотно собранная композиция стабилизируется благодаря плотным контактам между соседними клетками этого клеточного шара, герметично закрывающими внут-



Рис. 40. 8-клеточный зародыш мыши до (*A*) и после (*B*) компактизации. Микрофотографии получены с помощью сканирующего электронного микроскопа (С.Ф. Гилберт, 1993)

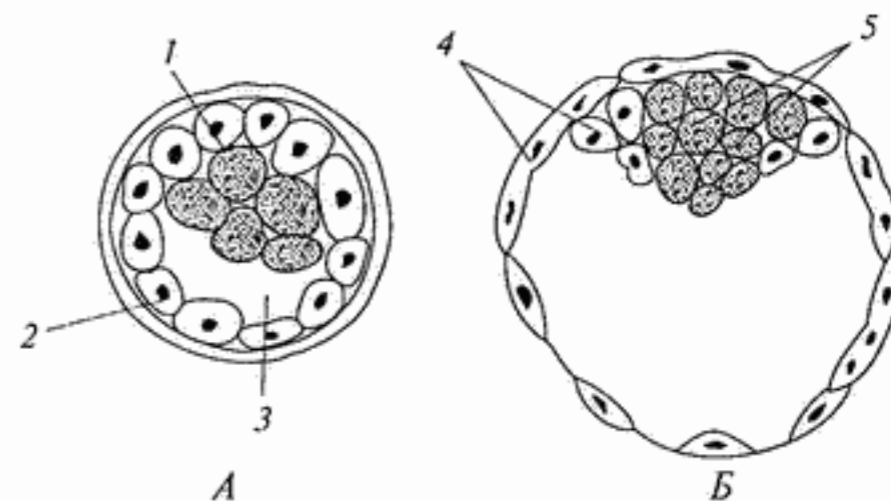


Рис. 41. Схематическое изображение ранних стадий развития плацентарных млекопитающих (свинья) (С.Е. Nelsen, 1953):

A — ранняя бластоциста; *B* — поздняя бластоциста, видны два типа клеток во внутренней клеточной массе; 1 — клетки внутренней клеточной массы; 2 — трофобласт; 3 — полость бластоцисты; 4 — неформативные (не принимающие участия в образовании тела зародыша) клетки; 5 — формативные клетки

реннюю его часть. Внутри шара образуются щелевидные контакты, позволяющие перемещаться между клетками небольшим молекулам и ионам.

Клетки компактизированного эмбриона делятся и образуют 16-клеточную морулу. Морула состоит из 1—2 внутренних клеток, окруженных большой группой наружных. Большая часть потомков наружных клеток становится трофобластом — клетками трофоэктодермы (рис. 41). Эта группа образует внезародышевые структуры, главным образом хорион — зародышевую часть плаценты. Благодаря этой структуре зародыш снабжается кислородом, питательными веществами, поступающими от материнского организма, и продуцирует регуляторы иммунного ответа таким образом, чтобы мать не отторгла эмбрион как некое чужеродное тело. Клетки трофобласта необходимы также для имплантации зародыша в стенку матки (рис. 42).

Эмбрион формируется из потомков внутренних клеток 16-клеточного зародыша, дополняясь случайно поступающими внутрь клетками трофобласта при их делении и переходе к 32-клеточному зародышу. Эти клетки составляют внутреннюю клеточную массу, из которой и разовьется собственно зародыш. Клетки зародыша выглядят иначе, чем клетки трофобласта, и уже на этой ранней стадии развития они синтезируют другие белки. С 64-клеточной стадии клетки трофобласта и клетки внутренней клеточной массы разделяются и представляют собой уже несмешиваемые слои и, таким образом, различия между трофобластом и внутренней клеточной массой (их бластомерами) представляют собой первую дифференцировку в развитии млекопитающих.

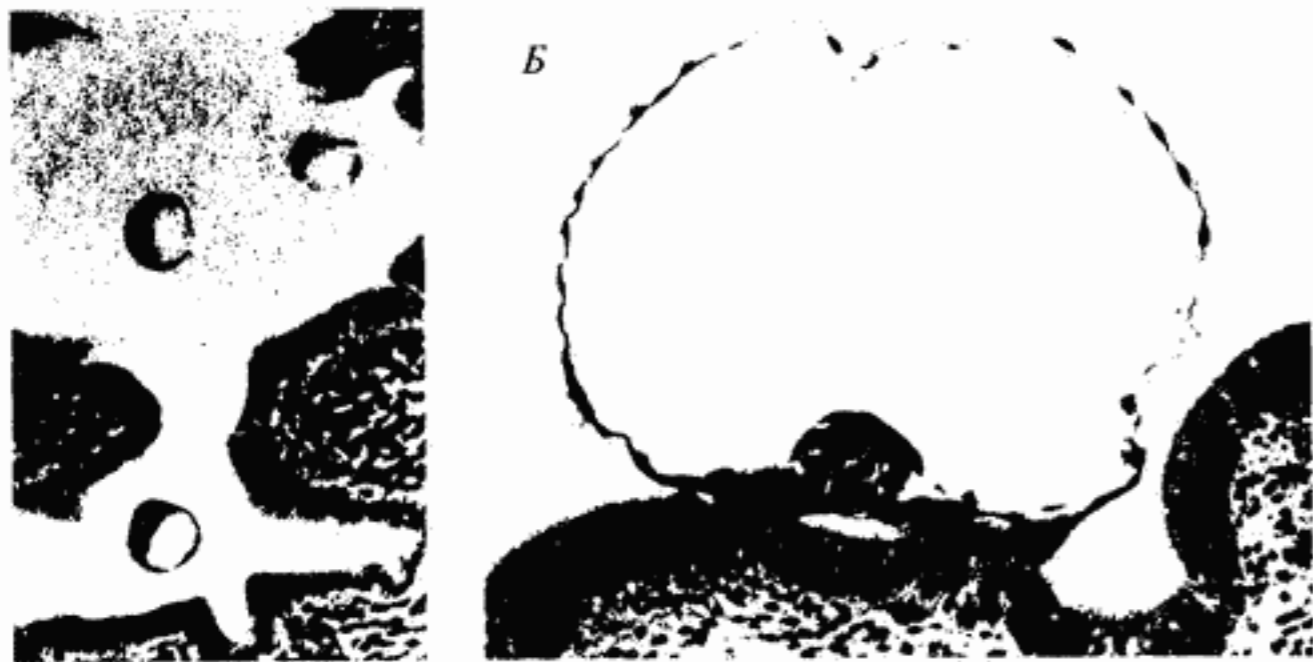


Рис. 42. Имплантация бластоцисты млекопитающих в матке (С.Ф. Гилберт, 1993):

А — бластоцисты мыши, входящие в матку; *Б* — начальная стадия имплантации бластоцисты в стенку матки у макаки-резуса

Изначально морула не имеет полости, но в процессе, названном кавитацией, клетки трофобласта секретируют жидкость внутрь морулы и образуется бластоцель. Клетки внутренней массы растут на одной стороне трофобласта. Вся эта структура называется бластоцистой, которая отличает дробление млекопитающих от дробления других групп животных.

ДОПОЛНЕНИЯ К ХАРАКТЕРИСТИКЕ ДРОБЛЕНИЯ

Комментарии к правилам Гертвига-Сакса. Представленные выше общепринятые классификации яиц и типов дробления весьма несовершенны. Так, классификация яиц по количеству желтка очень приблизительна. Например, яйца костистых рыб принято относить к полилецитальному типу, хотя размер икринок разных видов рыб далеко неодинаков. Более того, яйца амфибий считаются мезолецитальными, хотя количество желтка в них во много раз превосходит количество желтка полилецитальных мелких яиц у некоторых рыб. Правильнее было бы различать яйца по признаку соотношения объемов «активной» (т.е. свободной от желтка) плазмы и объемов, занимаемых желтком в яйце. У яиц костистых рыб такое определение довольно очевидно, однако как определить «активную» плазму в яйце лягушки?

Отсутствие четких количественных характеристик дает расплывчатую классификацию по признаку распределения желтка по его объему.

Яйца лягушек принято относить к голобластическим (тотально дробящимся) яйцам. Однако I и II борозды дробления полностью разделяют бластомеры (завершаются) в вегетативной области лишь к моменту возникновения IV борозды. Завершение первых борозд еще более затягивается на дробящихся яйцах ганоидов или червяг, где мелкие анимальные бластомеры какое-то время в начале дробления покоятся на странной с цитологической точки зрения структуре, которую можно назвать поликарионом с чертами синцития.

Синцитиальная структура (желточная клетка, или желточный синцитий) достигает максимальной выраженности у зародышей костистых рыб. Преобразования этой структуры по мере развития зародыша весьма любопытны. Роль ее не исчерпывается трофической функцией. Желточный синцитий, а точнее его часть — перибласт — принимает самое активное участие в эпиволии.

В книге Т. Моргана (1897) описаны варианты взаимного расположения бластомеров в анимальной половине 16-клеточного зародыша лягушки. Возможно, это разнообразие автор объясняет неодинаковостью объемов бластомеров, возникающих в ряде неравномерных делений дробления. В. В. Махотин (1982) на основании сравнения бластомеров 2—4-клеточных зародышей трех видов тресковых рыб при рассмотрении их в плане и сбоку пришел к выводу о неравномерности первых делений дробления.

Достаточно точные измерения объемов (масс) бластомеров дробящихся яиц костистых рыб и бесхвостых амфибий убедительно свидетельствуют о том, что равномерных делений дробления вообще не существует. Первое, второе и тем более последующие деления дробления приводят к возникновению неодинаковых по объему бластомеров. Размеры (объем, масса) — один из многих показателей все более увеличивающегося по мере дробления разнообразия бластомеров в зародыше (рис. 43).

Кроме неодинаковых размеров бластомеров выявлено переменное положение различающихся объемами бластомеров в зародыше. При этом сохраняется тенденция соседства мелких клеток с мелкими и крупных клеток с крупными и преимущественного происхождения мелких и крупных клеток соответствующей стадии развития (рис. 44).

Неравномерность делений дробления делает весьма приблизительной классификацию по признаку симметричности. Интересно отметить ситуацию с дроблением яиц ланцетника. Считалось (частично считается и сейчас), что дробящееся яйцо ланцетника обладает радиальной симметрией. Более тщательное рассмотрение привело к выводу о существовании билатеральной симметрии. В действительности же можно утверждать, что зародыш асимметричен.

Однако, как указывает В. В. Махотин, различия в размерах бластомеров ранних зародышей костистых рыб определяют ось била-

I. Голобластическое (полное) дробление

А. Изолецитальные яйцеклетки
(желтка мало, рассеян по всей
цитоплазме)

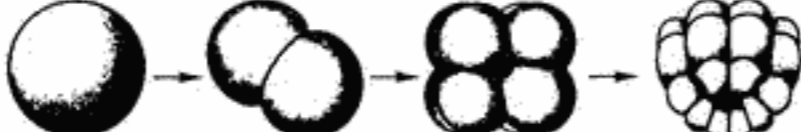
1. Радиальное
(иглокожие, ланцетник)



2. Спиральное
(кольчатые черви,
моллюски, плоские черви)



3. Билатеральное
(оболочники)



4. Вращательное —
чередующееся
(млекопитающие, нематоды)



Б. Мезолецитальные яйцеклетки
(умеренное количество желтка,
собранного на вегетативном полюсе)

Радиальное (амфибии)



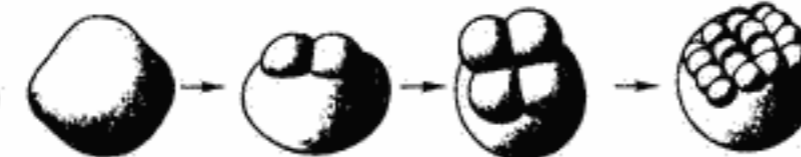
II. Меробластическое (неполное) дробление

А. Телолецитальные
(желтка много во всей яйцеклетке)

1. Билатеральное
(головоногие моллюски)



2. Дискондальное
(рыбы, рептилии, птицы)



Б. Центролецитальные яйцеклетки
(желток в центре яйцеклетки)

Поверхностное
(большинство насекомых)



Рис. 43. Основные типы дробления

теральной симметрии зародыша. То же характерно для дробящегося яйца лягушки.

Классификация дробления по признаку синхронности также весьма приближительна. Исследование динамики митозов дробя-

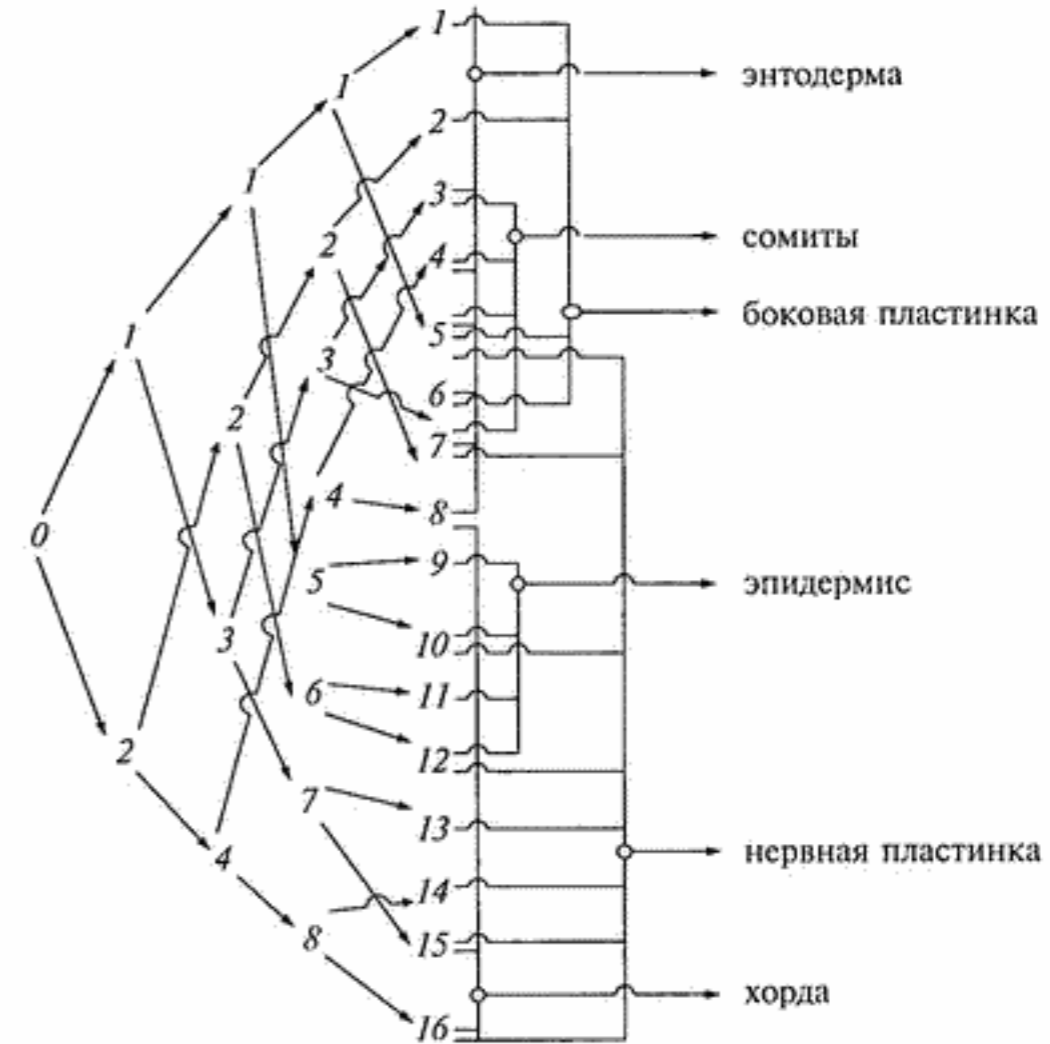


Рис. 44. Схема расположения blastомеров у низших позвоночных (Ю. К. Доронин, 1988). Цифрами обозначены размерные ранги blastомеров от большего к меньшему

щихся яиц костистых рыб привело к заключению о том, что клеточные циклы синхронизированы только во время профазы митоза, а остальные фазы митоза протекают асинхронно. Это происходит потому, что профаза более длительна, чем другие фазы митоза, и клетки, циклы которых сдвинуты один относительно другого ненамного (временной сдвиг меньше длительности профазы), достигают стадии профазы раньше, чем находящиеся в профазе клетки выйдут из этого состояния. Поскольку другие фазы митоза короче профазы, в промежутке между последовательными профазами в разных клетках обнаруживаются все фазы митоза.

Вероятно, можно найти достаточно кратковременный комплекс обязательных событий клеточного цикла, который в каждый момент развития будет обнаружен только в одной из множества клеток зародыша, в то время как остальные миновали либо приближаются к нему. Итак, на протяжении раннего развития клетки зародышей сравнительно долго остаются синхронизированными по порядковому номеру текущего клеточного цикла. Однако из

этого не следует, что одинаковые события клеточного цикла осуществляются одновременно в разных клетках зародышей.

Таким образом, критерии, выбранные для классификации яиц и типов дробления, весьма относительны и теряют четкость при внимательном рассмотрении. При этом нетрудно различить характер дробления, приблизительно симметрию дробящегося яйца. Отсюда следует, что критерии классификации в достаточной мере адекватны для целей опознания, однако не отражают основных характеристик процессов раннего развития. При сравнении процессов дробления разных яиц ясно прослеживается корреляционная связь между совокупной характеристикой количества и распределения желтка и типом его дробления. Суть этой корреляции определяется известным правилом Сакса — Гертвига (см. рис. 43).

В заключение следует сказать о классификации яиц по признаку регуляционности и мозаичности. Разделение яиц на регуляционные и мозаичные скорее отражает исторические концепции преформизма и эпигенеза, противоборствовавшие на заре экспериментальной эмбриологии, чем существо процессов развития. К настоящему времени накопилось достаточно экспериментальных фактов для утверждения того, что для развития всякого яйца в определенной мере характерны и регуляция, и мозаичность.

Эмбриональные регуляции определяют как явления, состоящие в том, что «после удаления, добавления и перемешивания эмбрионального материала возникают тем не менее целые зародыши нормальной структуры» (Л.В. Белоусов, 1980). Для периода дробления эти экспериментальные воздействия — «удаление, добавления эмбрионального материала» — соответствуют естественной варибельности масс (объемов) зиготы, частей зародыша и отдельных бластомеров; «перемешиванию эмбрионального материала» соответствует варибельность в положении и происхождении различающихся по размерам бластомеров. Сходство между явлением регуляции, выявляемым с помощью экспериментальных вмешательств в процесс развития, и варибельностью состава нормально развивающихся зародышей не исчерпывается формальными признаками, поскольку каждое из этих явлений определяется свойствами кортекса яиц.

Согласно некоторым современным представлениям, карты презумптивных зачатков, по крайней мере у зародышей амфибий, предлагается рассматривать не как детерминистское, а как вероятностное отражение событий онтогенеза по оценке доли участия бластомера в формировании закладки. У зародышей шпорцевой лягушки с идентичной ориентацией I—IV борозд дробления каждый орган формируется преимущественно клонами одного набора бластомеров; в пределах закладки органа каждый клон имеет постоянную локализацию и размеры. В целом же с учетом вариации структуры 16-клеточных зародышей каждый из бластомеров

в той или иной мере участвует в формировании каждого зародышевого листка. Последнее заключение достаточно хорошо коррелирует со схемой (рис. 44), представляющей наиболее вероятную (наиболее часто встречающуюся) генеалогию различающихся размерами бластомеров. Проспективные потенции бластомеров определили, накладывая наиболее вероятную топологическую схему разноразмерных бластомеров (т. е. схему наиболее часто встречающегося варианта положения различающихся размерами бластомеров) друг относительно друга на известные карты проспективных зачатков.

Весьма рискованно делать какие-либо предположения об эволюционных взаимоотношениях различных групп животных на основе сравнения типов дробления. Более вероятно, что эти типы, кстати весьма разнообразные, отражают вторичные адаптации процесса развития или же процессы, отражающие формы образования многоклеточности.

Начальный период развития иногда называют цитотипическим (П. П. Иванов, 1937), т. е. таким периодом, в течение которого элементы зародыша состоят из самостоятельных одноклеточных единиц, и их физиология не что иное, как сумма физиологических процессов этих самостоятельных клеток. Иными словами, надклеточные процессы — формирование дробящегося зародыша и бластулы — являются непосредственным результатом клеточной динамики, еще не «затушеванной» возникающими позже межпопуляционными взаимоотношениями дифференцированных клеток в ткани, межклеточными взаимодействиями в органе и т. д.

Значение кортикального слоя. К настоящему времени почти не осталось сомнений в том, что процесс дробления определяется кортикальной структурой яйца. Об этом свидетельствуют, во-первых, сохранение паттерна дробления индивидуальных яиц одного вида организмов и, во-вторых, многочисленные эксперименты, среди которых наиболее показательны знаменитые опыты с низкоскоростным центрифугированием яиц.

Что же представляет собой кортикальный слой яйца и ранних бластомеров? По современным представлениям, непосредственно под клеточной мембраной яйца и бластомеров локализованы пучки микрофиламентов, причем распределение их неравномерно как на сравнительно ограниченных участках мембраны, так и под поверхностью клеточной мембраны в целом. «Сгущения» микрофиламентов и их неравномерное распределение под поверхностью мембраны, вероятно, определяется неравномерным распределением структурных белков собственно мембраны (доменная организация мембраны). У соматических или культивируемых клеток часто можно идентифицировать мембранные макромолекулы или их комплексы с клеточными рецепторами, поскольку известны вещества, взаимодействующие с ними с последующей акти-

вацией специфической реакции клетки. Рецепторная функция кортикальных белков яйца и бластомеров (так же как множества мембранных белков соматических клеток) неизвестна. Непосредственно под кортикальными микрофиламентами заканчиваются (и начинаются) микротрубочки, входящие в состав цитоскелета либо образующие лучи звезды во время митоза.

Таким образом, кортикальный слой яйца и бластомеров весьма богат ориентированными комплексами, которые в определенные моменты клеточного цикла, вероятно, могут проявить свойство центров организации микротрубочек (ЦОМТ).

При формировании звезд веретена соединяются два ЦОМТ — клеточные центры с каждой или по крайней мере с большинством гипотетически «активных групп» в кортикальном слое посредством динамической полимеризации субъединиц тубулина. Вероятно, посредством такого же механизма, как в митотическом веретене, происходит «натяжение» нитей звезд и веретено смещается в объеме яйца или бластомера, занимая положение, определяемое равновесием приложенных сил. Сократимое кольцо, формируемое микрофиламентами, подстилающими клеточную мембрану, образует борозду дробления, нормально ориентированную к оси митотического веретена и проходящую через его середину. Таким образом, если центр митотического веретена фиксируется точно в геометрическом центре объема клетки, разделение такой клетки будет равномерным. Если ее активные группы в кортексе распределены неравномерно, то митотическое веретено будет в той или иной степени смещено из геометрического центра и соответственно деление клетки будет неравномерным.

Принято различать два вида процесса цитотомии — посредством натяжения уже существующей плазматической мембраны (аллецитальные и олиголецитальные яйца) либо путем новообразования мембран в пограничных областях между бластомерами (мезо- и полилецитальные яйца). В действительности оба процесса происходят при всяком делении, но выражены в разной степени. При цитотомии, осуществляемой первым способом, как правило, существенно нарушается рельеф яйца. При цитотомии второго рода рельеф яйца не слишком изменен и можно полагать, что исходное распределение активных групп по кортексу яйца в значительной мере сохраняется на внешних поверхностях бластомеров. Это объясняет упоминавшийся выше «план» сохранения пространственного и временного паттерна дробления яиц амфибий и рыб.

В соответствии с чисто геометрическими свойствами при всякого рода цитотомии увеличивается удельная поверхность (число единиц поверхности, приходящееся на единицу объема) дочерних клеток в сравнении с материнской. При неравномерном делении удельная поверхность малого бластомера превышает таковую у крупного бластомера. В соответствии с определяемым кортексом

механизмом деления абсолютное число кортикальных активных групп в обоих дочерних бластомерах одинаково, но при этом уменьшается их число, приходящееся на единицу объема, т. е. происходит «удельное разбавление» активных групп. Можно также ожидать перераспределения кортикальных групп по поверхности вновь образованных мембран (латеральная диффузия). В случае цитотомии по типу натяжения это «разбавление» должно быть более выражено, но, вероятно, это бывает и при цитотомии, осуществляемой преимущественно путем новообразования клеточных мембран. В результате после 3—4 делений дробления исходная «удельная» плотность активных групп в кортексе разбавляется настолько, что становится сравнимой с удельной плотностью взаимоиндуцированных (в смысле «наведенных») групп на пограничных между соседними клетками гранях. Этим, возможно, объясняется возникновение тангенциально направленных борозд дробления, для которых необходима радиальная ориентация митотического веретена.

Незавершенное дискоидальное дробление полилецитальных яиц, вероятно, определяется как скоплением кортикальных активных групп на сравнительно малой площади поверхности яйца, так и недостаточностью количества элементов цитоскелета для разделения гигантской желточной массы.

Ядерно-плазменные отношения. Вопрос о взаимоотношениях ядра и цитоплазмы клетки имеет долгую историю. Началом ее следует считать появление представлений о ядерно-плазменном отношении и ряда довольно умозрительных теорий о регуляции процессов роста, деления и дифференцировки клеток, отражающихся на изменении этой величины. Выяснение роли нуклеиновых кислот и этапов белкового синтеза, т. е. механизмов, посредством которых делятся ядро и структуры цитоплазмы, отодвинуло представления о ядерно-плазменном отношении на второй план. Вопрос об обратных влияниях — клеточной периферии на активность ядра — стал разрешаться в течение последнего десятилетия. По современным представлениям, реакция ядра клетки (активация комплексов ранее не функционировавших генов) происходит в результате взаимодействия внешнего фактора (гормон, антиген, медиатор) со специфическими для этого фактора образованиями на клеточной поверхности (рецепторами), в результате которого «запускаются» внутриклеточные ферментативные процессы (аденилатциклазы — цАМФ — протеинкиназы) на периферии клетки.

Роль ядра в период первых делений дробления минимальна, поскольку процесс может осуществляться в яйцах с гаплоидным набором хромосом, либо вовсе без хроматина, но с сохраняющимися клеточными центрами. Однако с полной уверенностью нельзя сказать, что цитотомия дробления безразлична для ядер нормально развивающихся зародышей. Накапливается все больше фактов,

свидетельствующих о неслучайном расположении как интерфазных хромосом в ядре, так и митотических хромосом в метафазной пластинке. Среди оригинальных сообщений следует отметить великолепную и совершенно бесспорную работу Н.С. Навашин (1947), выполненную на клетках корневой меристемы растения *Crepis capillaris*, ядра которого содержат только три пары хорошо различимых хромосом. Выводы из этой работы таковы:

1. Хромосомы сохраняются как целое в период интерфазы.
2. Каждая хромосома сохраняет свое положение среди прочих в ряду клеточных поколений.
3. В интерфазном ядре каждая хромосома фиксируется в строго определенном месте, вероятно, связываясь с ядерной оболочкой посредством центромеры.

Сведения о строгой морфологической локализации хромосом в ядре появляются в результате исследования самых разнообразных объектов, что позволяет обобщить это свойство для всякого рода клеток. Один из наиболее известных фактов такого рода для зародышевых клеток — возникновение хромосомного моста между одной и той же парой хромосом на протяжении десятков клеточных циклов — приведен в работе А.А. Прокофьевой-Бельговской, выполненной на ранних стадиях развития зародышей лосося.

Если принять, что в зародышевых клетках (как и во всяких клетках) хромосомы строго ориентированы в ядре, а ядро, в свою очередь, ориентировано относительно кортикального слоя, то можно утверждать, что существует строгое пространственное соответствие положения хромосом относительно клеточной поверхности. При этом следует иметь в виду преемственность, которая существует между цитомембраной, мембранами эндоплазматической сети и аппаратом Гольджи и мембранами ядерной оболочки. Последние реорганизуются в каждом клеточном цикле.

Процесс дробления завершается образованием бластулы.

Вслед за этим начинается период гаструляции, смысл которой состоит в образовании зародышевых листков: эктодермы, энтодермы и мезодермы. Следовательно, с процесса гаструляции начинаются эмбриональная дифференцировка и морфогенез. Различные процессы — передвижение отдельных клеток, групп клеток и клеточных пластов, согласованные изменения клеточной формы, деление клеток, контактные взаимодействия между клетками, вселение и выселение клеток — приводят к расчленению зародыша на зародышевые листки. Зародыш, расчлененный на зародышевые листки, называется гаструлой.

Еще Ф. Кейбель (Keibel, 1901) описал гаструляцию как путь, по которому энтодермальные, мезодермальные и хордальные клетки попадают внутрь эмбриона. В данном определении уже подразумевается существование у бластулы органообразующих пространств. Приняв это, легко перейти к одному из ныне существующих определений, согласно которому «гаструляция представляет собой ряд морфогенетических движений, в результате которых перспективные зачатки тканей (будущие эктодерма, хордомезодерма и энтодерма) перемещаются в места, предназначенные для них в соответствии с планом организации» (Ч. Бодмер, 1971).

Расположение перспективных зачатков на бластуле показано на картах презумптивных зачатков (рис. II цв. вкл.).

С позиций реализации плана строения позвоночных гаструляция представляет собой промежуточный этап единого динамического процесса, в течение которого органообразующие участки бластулы перестраиваются так, чтобы затем было легче перейти к органогенезу и сформировать организм.

На рис. III цв. вкл. показано, как презумптивная эктодерма становится наружным эктодермальным листком гаструлы. Презумптивная хорда, мезодерма и энтодерма образуют первичную кишку. На этой же вкладке показаны дальнейшие преобразования листков в структуры зародыша в соответствии с общим планом строения позвоночного животного: образуется нервная трубка, обособляются осевая и боковая мезодермы, вторичная кишка.

ПРОЦЕССЫ, ОСУЩЕСТВЛЯЮЩИЕ ГАСТРУЛЯЦИЮ

Перемещение клеток и клеточных пластов. В самом общем виде гастрюляцию характеризуют понятия эпиболии и эмболии. Под эпиболией понимается процесс перемещения клеток по поверхности зародыша, под эмболией — перемещение клеток внутрь зародыша. Эпиболия и эмболия — это описательные характеристики морфогенетических движений клеток, происходящих на всех этапах онтогенеза, но во время гастрюляции они наиболее выражены.

Основные типы движения клеток следующие: инвагинация — впячивание пласта клеток, инволюция — подворачивание пласта клеток, однополюсная и многополюсная (иммиграция) клеток внутрь, деламинация — разделение единого пласта клеток на два слоя, растяжение клеток, конвергенция — схождение клеток и дивергенция — расхождение клеток (рис. 45). На рис. 46 изображены четыре способа образования мезодермы.

В формообразовательных процессах заметную роль играет согласованное изменение формы клеток. В изменении формы клетки принимают участие элементы цитоскелета и прежде всего такие структуры, как микротрубочки (МТ), микрофиламенты (mf) и промежуточные филаменты. В создании формы клетки играют роль промежуточные филаменты, также входящие в состав цитоскелета. Помимо определения формы цитоскелет обуславливает движение клеток и клеточное деление, тем самым участвуя в создании структуры тканей и формы органов.

С известной долей условности можно принять, что вытяжение и поляризация клеток осуществляются с помощью ориентировки микротрубочек. У некоторых кишечнополостных поляризация наружного слоя клеток служит основным механизмом гастрюляции. В то же время в сложных типах гастрюляции этот процесс является одним из элементов перестроек.

Сокращение клеточных тел осуществляется с помощью микрофиламентов, выполняющих функцию цитомускулатуры.

В процессе гастрюляции могут принимать участие как свободно мигрирующие клетки, так и перемещение клеточных пластов. Направление клеточной миграции определяется дистантными и контактными взаимодействиями. Дистантные взаимодействия в обычных морфогенезах, тем более ранних, маловероятны, специализированы и редки. Контактные взаимодействия, открытые П. Вейсом в 20-х годах XX в. для клеток в культуре, по-видимому, случаются и в эмбриогенезе. Ориентирующим субстратом здесь могут служить фибриллы межклеточной среды и соседние клетки.

Для оценки значимости биологии клеток в морфогенетических процессах вообще и гастрюляции в частности чрезвычайно важны данные опытов Дж. Гольтфретера. Еще в 30-х годах он, помещая кусочки ранних зародышей амфибий в бескальциевую и безмагни-

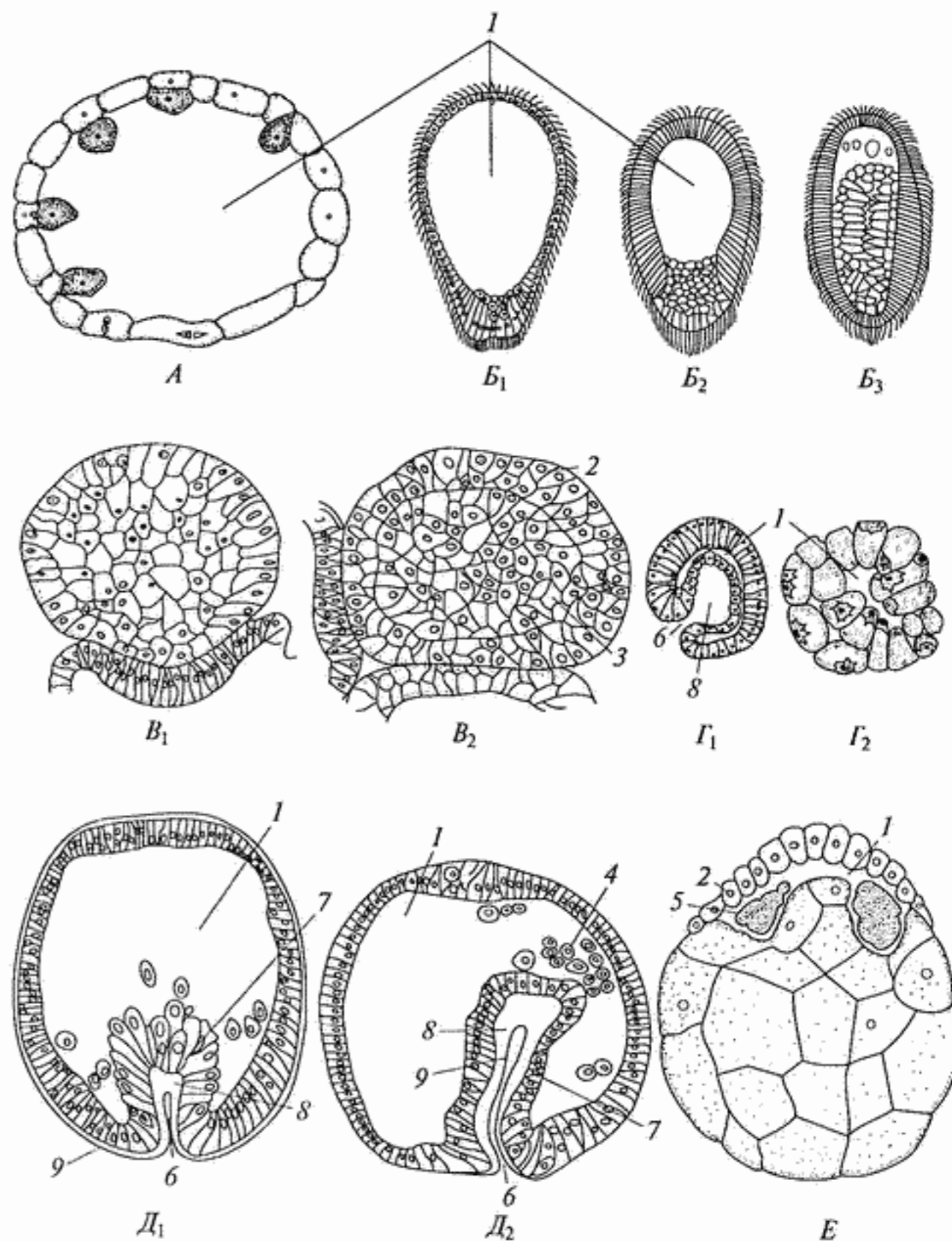


Рис. 45. Типы гастрюляции:

A — мультиполярная иммиграция; B₁—B₃ — последовательные стадии униполярной иммиграции; B₁, B₂ — деламинация у гидроидного полипа *Clava multicornis*; G₁, G₂ — гастрюляция у сцифомедузы *Aurelia marginalis*; D₁, D₂ — последовательные стадии гастрюляции у морского ежа *Joxorpeustes lividus*; E — эпиболия у малощетинкового червя *Rhynchelmiss*; 1 — бластоцель; 2 — эктодерма; 3 — энтодерма; 4 — эмбриональная мезенхима; 5 — целомическая мезодерма; 6 — бластопор; 7 — стенка архентерона; 8 — гастрюцель; 9 — гиалиновый слой, покрывающий поверхность бластул иглокожих (B₁, B₂ — по Т. В. Остроумовой; D₁, D₂ — по Л. В. Белоусову; остальное — по П. П. Иванову, 1937)

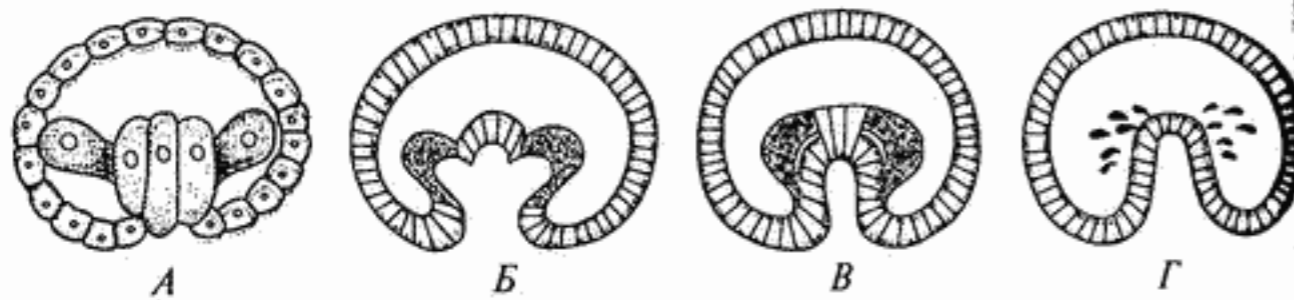


Рис. 46. Способы закладки мезодермы (В.В. Малахов):

А — телобластический; Б — энтероцельный; В — деламинационный; Г — пролиферационный. Густыми мелкими точками обозначены зачатки целомической мезодермы

вую среду, добивался того, что они рассыпались на отдельные клетки. При добавлении в среду кальция происходила реассоциация этих клеток и образовывались клеточные конгломераты. Если диссоциации подвергались гастролы амфибий, то в реассоциированных конгломератах наблюдалось воссоединение клеток в соответствии с их происхождением из того или иного листка. Клетки эктодермы соединялись с клетками эктодермы, клетки мезодермы — с клетками мезодермы, клетки энтодермы — с клетками энтодермы. В результате такой сегрегации зародышевые листки в реассоциированном конгломерате восстанавливали нормальное взаиморасположение. Предполагается, что процесс реассоциации и сегрегации — стохастический, т. е. основан на случайных контактах клеток друг с другом, а избирательная реорганизация зависит от взаимной адгезивности их мембран при контактных взаимодействиях. По гипотезе Т. Роземана, узнавание клеток основано на механизме типа фермент-субстрат. На поверхности взаимодействующих клеток расположены субстрат и фермент. Фермент, соединяясь с субстратом, не «откусывает» его, а соединяет клетки. Интересно отметить, что дальнейшее существование клеток на стадии гастролы у амфибий сопряжено с обязательным изменением их формы, характерной для амебоидного движения. Клетки зародышей амфибий в культуре, не прошедшие фазы амебоидной миграции, не способны использовать свой желток и погибают.

Адгезивность и подвижность неодинаковы у клеток разных листков. 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 и даже в то, которое образуют сами. Клетки энтодермы относительно неподвижны.

Избирательное сродство у клеток амфибий появляется на стадии поздней бластулы, а характерно оно не только для амфибий, но для всех животных вообще. Возможно, что для морфогенезов губок, гидр, гастрол морских ежей и отчасти амфибий достаточна

способность клеток ползать, узнавать и избирательно соединяться друг с другом. Более сложные формы морфогенезов предполагают и другие качества, из которых многие неизвестны.

Экспрессия генов зиготы и появление активных клеток. Часто с гастрულიей связывают начало работы (экспрессию) генов зиготы. Существует правило, согласно которому у видов с мелкими яйцеклетками (200 мкм) гены начинают работать раньше, а у видов с большими яйцеклетками (от 0,3 мм и больше) — позже. Суть множества не прямых методов определения экспрессии генов состоит в инактивации ядер зародыша различными способами на той или иной стадии развития. Далее изучают последствия этой инактивации и фиксируют время, когда они наступают.

В частности, у выюнов методом инактивации ядра сильной дозой ионизирующего облучения А. А. Нейфах определил стадию «9 часов» и установил периодичность работы ядер. Через 9 ч развитие всегда останавливалось, если инактивация проводилась в любое время в первые 6 ч развития. С помощью этого и других сходных методов было показано, что у рыб (выюн) и амфибий при облучении ядра зиготы развитие останавливается на стадии поздней бластулы и, следовательно, именно с этого момента должны были начинать работать ядра зародыша. У морского ежа в аналогичных опытах развитие прекращается на стадии средней бластулы, у моллюсков (большой прудовик) — на стадии 16, у аскарид — 2—4 бластомеров, у млекопитающих — после первых двух делений.

Если начало работы ядер зародыша считать началом собственно развития, то гастрულიю, с которой связывают возникновение различий в клетках и самую раннюю дифференцировку зародыша, следует сопрягать с экспрессией генов зародыша.

Дифференциальную активность генов в процессе гастрულიи отражают понятия компетенции и детерминации.

Компетентность — это способность клетки дифференцироваться в нескольких немногих направлениях. **Детерминация** — состояние, при котором клетка уже вступила на путь определенной дифференциации и находится в самом его начале (т. е. между детерминацией и дифференцировкой нет четкой границы).

Данный пример еще раз свидетельствует о сложности гастрულიи, многокомпонентности, относительной независимости и самостоятельности осуществляющих ее процессов и об их подвижности, благодаря которым возможны гетерохронии.

Для гастрულიи характерна активность особых групп клеток. Еще до начала гастрულიи для многих форм (амфибии, костистые рыбы, морской еж) было отмечено погружение окрашенных нильским голубым клеток (так называемая ингрессия) с поверхности почти до бластоцеля. У морских ежей в начале гастрულიи необычайно активны клетки первичной мезенхимы. Они перемещаются от внутренней стенки зародыша в области бластопора в

бластоцель, выпускают псевдоподии и активно мигрируют к тому месту, где они образуют скелет. Вслед за ними начинает активно инвагинировать остальная часть. Входящие в нее и осуществляющие инвагинацию клетки ведут себя так же, как первичные мезенхимные. Они изменяют форму, сокращаются, расслабляются, образуют псевдоподии и уже окончательно прикрепляются изнутри к анимальному полюсу. Сокращаясь, они втягивают за собой соединенные с ними остальные клетки первичной кишки дальше в бластоцель так, что первичная кишка доходит почти до анимального полюса. В составе первичной кишки активных клеток лишь определенное количество. В конце концов они отделяются от первичной кишки и образуют вторичную мезенхиму.

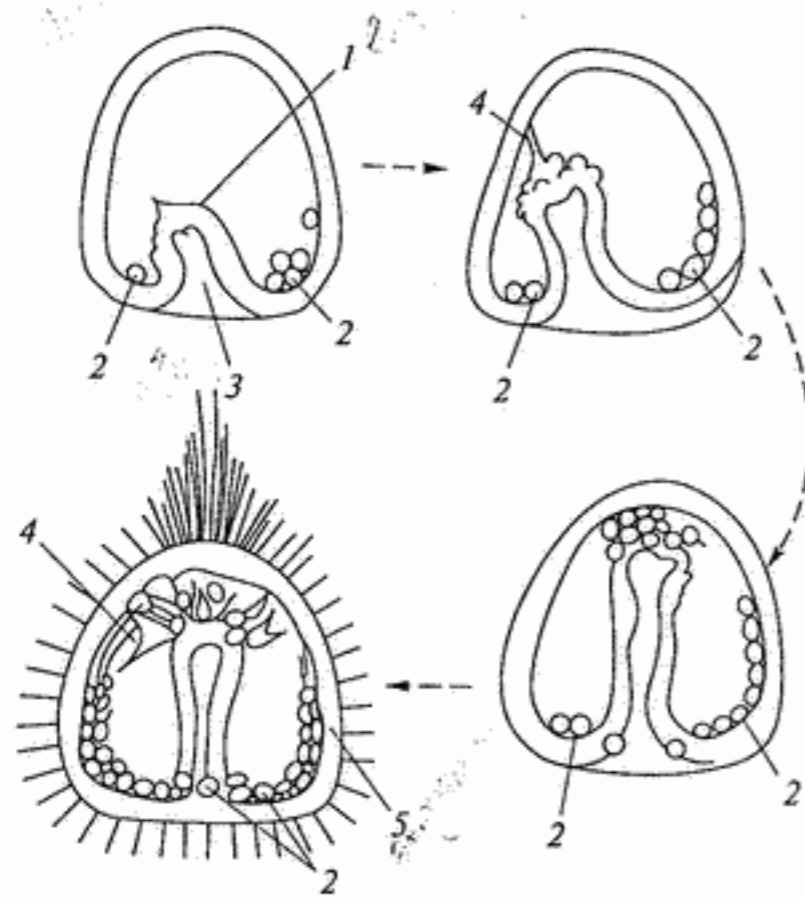


Рис. 47. Поведение мезенхимных клеток в ходе гастрюляции у морского ежа (Ч. Бодмер, 1971). Первичные мезенхимные клетки уже мигрировали внутрь бластоцели. Вторичные мезенхимные клетки попадают внутрь бластулы вместе с инвагинирующей первичной кишкой. Эти клетки проявляют большую активность и образуют псевдоподии. Мезенхимные клетки сохраняют свое положение на вершине первичной кишки, а их нитевидные отростки пересекают полость тела и соприкасаются с внутренней поверхностью эктодермы. Сокращение этих отростков способствует непрерывной инвагинации первичной кишки, а также отделению мезенхимных клеток от первичной кишки:

1 — вторичная мезенхима; 2 — первичная мезенхима; 3 — первичная кишка; 4 — псевдоподии в клетках вершины первичной кишки; 5 — эктодерма

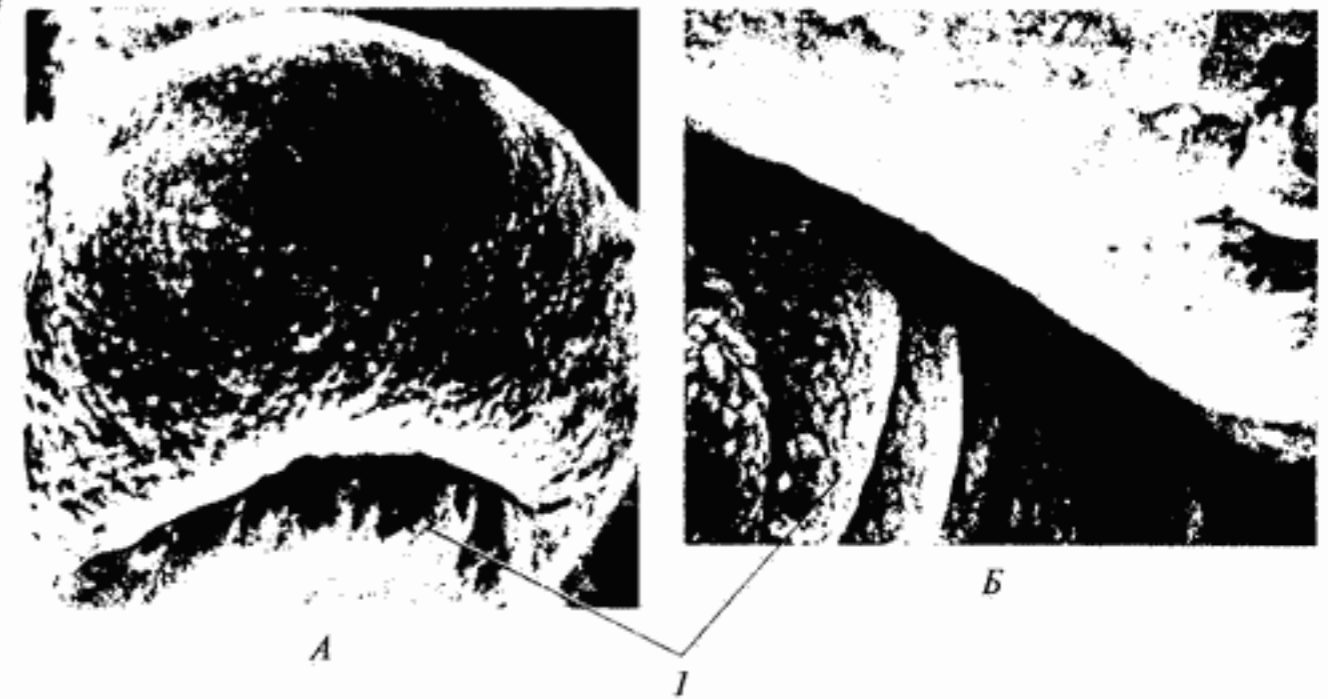


Рис. 48. Движение клеток в период гастрюляции у хвостатых амфибий (С. Ф. Гилберт, 1991):

А, Б — поверхность ранней гастрюлы в области верхней губы бластопора; 1 — колбовидные клетки

Клетки вторичной мезенхимы образуют дефинитивную мезодерму взрослого организма, клетки первичной мезенхимы — скелет личинки морского ежа. Выделение вторичной мезенхимы из состава первичной кишки завершает процесс гастрюляции у морских ежей (рис. 47).

У амфибий в области бластопора наблюдаются колбовидные клетки (рис. 48). Они способны сокращаться, активно перемещаться внутрь, и тянуть за собой остальные клетки.

ОСОБЕННОСТИ ГАСТРЮЛЯЦИИ БЕСХВОСТЫХ АМФИБИЙ

Изучение морфогенетических потенциалов участков бластулы *Anura* продолжается и сегодня. В результате такого исследования, осуществленного в оригинальных работах Т. А. Детлаф (1983) и других эмбриологов, появилось новое представление о морфогенетических свойствах бластулы *Anura* и была создана новая трехмерная карта расположения презумптивных зачатков (рис. IV цв. вкл.).

Ученые установили, что наружный слой эктодермы и хордомезодермы составляет монослой эпителиальных клеток, объединенный плотными контактами. Внутренний слой эктодермы образован большим числом более рыхло расположенных и связанных друг с другом отростками клеток. Между этими слоями во время эпиволии нет обмена клетками. Данные о морфогенетических потенциалах клеток этих слоев были получены в опытах по разделению и пересадке слоев хордомезодермы, эктодермы и энто-

дермы. Было показано, что наружный монослой клеток презумптивной эктодермы бластулы *Anura* обладает одинаковыми морфогенетическими потенциями как в области презумптивного эпидермиса и нервной пластинки, так и в области презумптивной хордомезодермы. Монослой этих клеток везде имеет ограниченные морфогенетические потенции, приобретает свойства эпителия, растет пластом по внутреннему слою первичной эктодермы и не растет по энтодерме, а когда он подостлан мезенхимными клетками, то образует правильный однослойный эпителий. Без мезенхимы эпителий становится неорганизованным и формирует клетки, выделяющие муцин (так называемые присосковые клетки ранней личинки). Клетки наружного слоя участка презумптивной хорды не обладают индуцирующим действием и под влиянием внутреннего слоя клеток презумптивной хордомезодермы приобретают колбовидную форму, погружаясь внутрь зародыша. Клетки наружного слоя эктодермы в составе зачатка нервной системы превращаются в клетки выстилки спинномозгового канала и желудочков головного мозга — эпендимные клетки. Наружный слой презумптивной хордомезодермы, подстилающий изнутри материал хорды и мезодермы сомитов, образует эпителиальную гипохордальную пластинку (т. е. крышу первичной кишки).

Внутренний слой первичной эктодермы включает области эпидермиса, нервной пластинки, хордомезодермы. В норме внутренний слой, состоящий из рыхло расположенных интердигитирующих клеток, не имеет свойств эпителия. Эти свойства могут быть приобретены им при длительном контакте с внешней средой или средой внутренних полостей зародыша. Морфогенетические потенции внутреннего слоя первичной эктодермы шире, чем наружного, и шире их собственного проспективного значения. Недетерминированные в эктодерму клетки внутреннего слоя в контакте с внешней средой и внутренними полостями зародыша уплощаются, приобретают свойства эпителия и могут формировать присосковые клетки. В окружении мезенхимы клетки внутреннего слоя дифференцируются в структуры мозга и хорды. Детерминированные на стадии ранней гаструлы в хордомезодерму внутренние клетки этой области при пересадках дифференцируются не только в хорду и мышцы, но и в мозг. Однако внутренние клетки детерминированной области хордомезодермы в эксплантатах и экспериментальных пересадках не способны формировать эпителиальные структуры, т. е. различия в морфогенетических свойствах клеток внутреннего слоя первичной эктодермы в разных областях между презумптивными закладками меньше, чем между клетками наружного и внутреннего слоев в одной и той же презумптивной области. В опытах Т. А. Детлафа было показано, что наружный слой первичной эктодермы по морфогенетическим свойствам одинаков в областях презумптивных хордомезодерм, нервной пластинки и эпидермиса,

но отличается от энтодермы. Эти опыты подтверждают справедливость представления о трехмерном расположении презумптивных шпатков на карте бесхвостых амфибий.

У хвостатых амфибий в период гаструляции еще нет расчленения эктодермы и хордомезодермы на наружный и внутренний слои и поэтому гипохордальная пластинка у них отсутствует (Lehman, 1938; Keller, 1975) (рис. V цв. вкл.).

Наружные клетки бластул бесхвостых амфибий объединяются в эпителиальный пласт под действием ионов кальция при контакте с внешней средой. Это сопровождается ограничением их морфогенетических потенций и приобретением способности к ингибиции и инвагинации.

Гаструляция и нейруляция представляют собой яркие примеры согласованного поведения больших масс эмбриональных клеток. Как осуществляется такая согласованность, каковы ее цитологические основы? Работы лаборатории Л. В. Белоусова на кафедре эмбриологии показали, что существенный компонент этой согласованности — феномен контактной поляризации клеток (КПК), который состоит в том, что в ответ на морфологическую поляризацию одной клетки поляризуется соседняя. Таким образом возникают сомкнутые группы поляризованных клеток, например пучки колбовидных клеток при гаструляции или столбчатый нейроэпителий в ходе нейруляции. КПК — довольно быстрый процесс: требуется всего несколько минут, чтобы поляризация перешла с одной клетки на соседнюю. С той же скоростью подворачиваются клетки в ходе гаструляции через дорзальную губу бластопора (одна клетка за 2—5 мин). КПК — процесс самоограничивающийся: поляризация группы клеток неизбежно вызывает растяжение соседних, а это тормозит дальнейшую поляризацию. Данный процесс был математически смоделирован Б. Н. Белинцевым, и результаты модели подтверждаются в эксперименте. Таким образом, согласованное поведение клеток при гаструляции и нейруляции в значительной мере можно объяснить взаимодействием КПК с ею же порождаемыми силами упругого натяжения.

Процессы, подобные КПК, распространяются не только вдоль пласта, 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, клетки начинают вести себя хаотично. Но стоит хотя бы на короткое время (несколько минут) вернуть натяжение, как морфогенез снова возвращается к норме (А. В. Лакирев, 1989). Непосредственная функция натяжения состоит в стимуляции сборки пучков микрофиламентов и ассоциированных с ними клеточных контактов. Сборка этих структур — неременное условие интегрированного морфогенеза.

ОБРАЗОВАНИЕ ОСЕВЫХ СТРУКТУР
И РЕАЛИЗАЦИЯ ПЛАНА СТРОЕНИЯ

После периода гаструляции у всех метамерно построенных животных начинается процесс выделения и сегментации осевой мезодермы. У хордовых на этом этапе развития закладывается и образуется центральная нервная система (ЦНС). В силу наглядности ее преобразований и важности самой ЦНС весь период получил название «нейруляция». В этот период развития и у хордовых, и у сегментированных беспозвоночных отмечается много общих важнейших событий: формируется комплекс осевых структур, происходит начальное обособление и окончательное расположение в организме закладок всех остальных органов — производных энтодермы, эктодермы и мезодермы. Таким образом, на этом этапе развития у животных реализуется план строения организма, имеющий общие черты.

Указанные общие гомологичные события в развитии членистых беспозвоночных и всех хордовых позволяют использовать термин «нейруляция» как синоним понятия «закладка осевых структур и реализация плана строения» и называть так этот период развития, помня, что у беспозвоночных нет центральной нервной системы, структурно гомологичной хордовым животным.

Генетический контроль нейруляции. Исследования двух последних десятилетий в полной мере подтвердили глубинное сходство этого этапа развития у всех метамерно построенных беспозвоночных и позвоночных животных. Более того, на молекулярно-генетическом уровне были найдены и изучены высокогомологичные конструкции, общие для представителей самых удаленных неродственных таксонов, с функцией которых связывают реализацию плана строения. При исследовании регуляции процесса сегментации в онтогенезе *Drosophila* было установлено, что гены-регуляторы процесса сегментации имеют общие черты. У всех их отмечена общая высокогомологичная последовательность ДНК размером в 183 пары оснований, названная гомеобоксом (W. Gehring, 1987). Позднее было показано, что гомеобокс есть и в других генах, не связанных с сегментацией, и найден даже у несегментированных животных (рис. 49). На дрозофиле показано, что гомеобоксодержащие гены независимо от сегментации участвуют в передаче

позиционной информации — информации о специфической дифференцировке клеток, соответствующей их месторасположению в организме. Еще большую гомологию вследствие вырожденности кода имеет кодируемый гомеобоксом 60-аминокислотный полипептид, названный гомеодоменом. У беспозвоночных генам гомеобокса присвоена аббревиатура Ном, у хордовых — Нох. Гомеобоксодержащие гены сегментации собраны в кластер. Структура кластера и алгоритм экспрессии генов в нем преформируют структуру и план посегментного строения организма. Такое соответствие генетической и морфологической организации называется коллинеарностью. Принцип коллинеарности, выявленный Э. Льюисом, справедлив для всех сегментированных животных. Организованные таким образом группы генов, контролирующих строение сегментов, функционируют посегментно. Специфические продукты их функционирования должны выявляться в тканях соответствующих сегментов. Как выяснилось, их распределение по преимуществу скорректировано с транскриптами. Из этого следует, что регуляция экспрессии генов сегментации, лежащих в пределах изучаемого комплекса, является «внутренним делом» самого комплекса. Все гены гомеобокса, регулирующие сегментацию, характеризуются ранней посегментной транскрипцией, и их работа ограничена во времени и пространстве, т. е. они активны в местах будущих сегментов и далее в самих сегментах в период раннего эмбриогенеза.

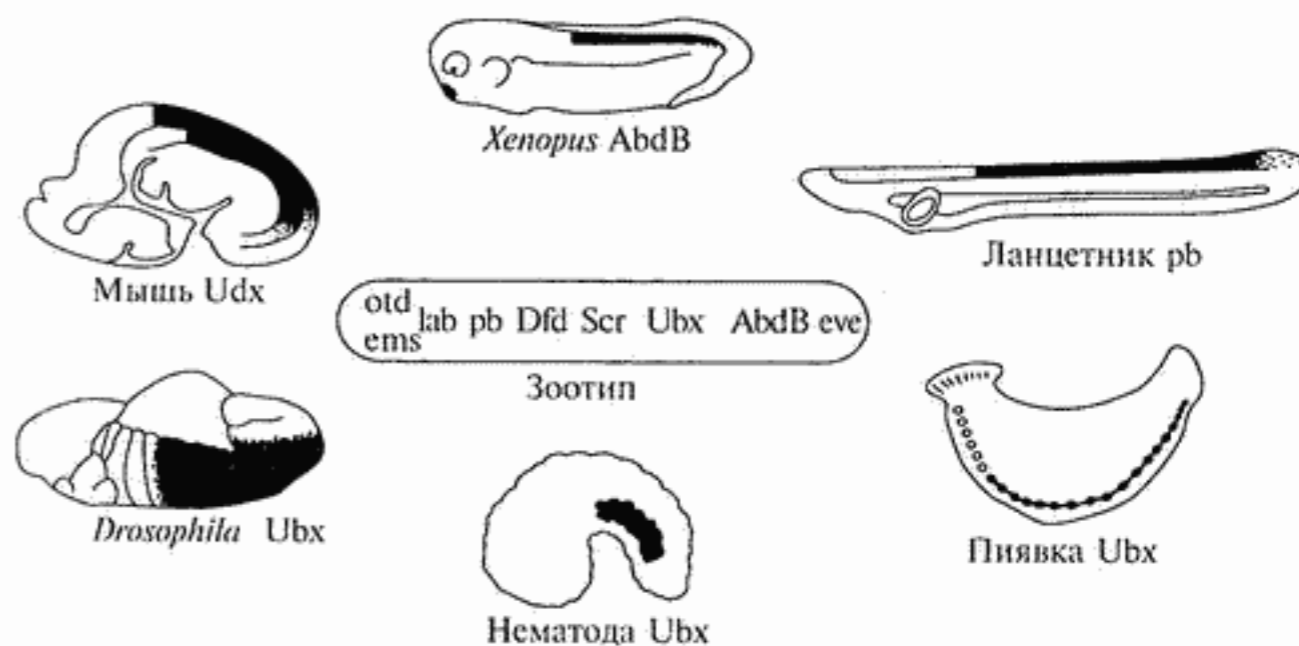


Рис. 49. Животные из широко дивергировавших таксонов имеют гены Нох; каждый ген Нох в ходе развития зародыша экспрессируется в четких пространственных границах (J. M. W. Slack et al., 1993). В центре показан полный набор генов-гомеобокс (зоотип), характеризующих животный организм. Районы экспрессии отдельных генов Нох показаны для трех хордовых, членистоногого, нематоды и кольчатого червя

Все это позволило сделать следующие выводы.

1. Гены гомеобокса представляют собой группу генов-регуляторов раннего эмбрионального развития, чье функционирование реализуется в определенной иерархической последовательности (В.Д.Геринг, 1985).

2. Эволюционная история этих генов восходит к прокариотам, и функция их состоит в обеспечении клеточных ядер зародыша начальными сигналами дифференцировки (D. Carraso et al., 1985; L. Simeon et al., 1986).

3. В ходе эволюции функции этих генов могли меняться.

4. Механизмы развития эволюционно различающихся животных (как свидетельствует присутствие этих генов у всех сегментированных групп животных) гораздо более универсальны, чем полагали ранее.

Итак, гены, обеспечивающие метамеризацию, нейруляцию и план строения организма, образуют сложную систему участия в данных процессах. При этом выделяют три основных момента:

время «включения» (экспрессии);
место локализации;

значение генов в онтогенезе. Оно тем больше, чем раньше гены начинают работать и поэтому на большее число генов, включающихся позже, могут оказывать влияние.

Отношения между генами укладываются в следующие рамки: 1) независимое действие; 2) «включение — выключение» одних другими; 3) сложная иерархическая сеть отношений, в которой возможно как прямое, так и опосредованное действие одних генов на другие.

Такая система взаимоотношений генов в организме совпадает с «регионализацией» и прогрессивной дифференцировкой в процессе развития. Раньше других в реализации плана строения в развитии начинают работать материнские гены. Они осуществляют переднезаднюю (антерио-постериорную) (А—Р) полярность яйца в оогенезе. Это гены *bicoid*, необходимые для формирования передних структур, гены *oscar* — для задних структур и ген *torso*, участвующий в формировании передних и задних структур зародыша (рис. 50). В опытах с пересадками цитоплазмы было показано, что гены *bicoid* и *oscar* включаются непосредственно в синтез передних и задних детерминантов, которые локализованы в яйце еще до оплодотворения, что подтверждается, в частности, выявлением транскриптов гена *bicoid* путем гибридизации *in situ*. Работа генов приводит к тому, что создается А—Р-градиент, появляются региональные различия цитоплазмы — основы последующей ее сегрегации и затем дифференцировки клеток (рис. 51). Эти же гены влияют на сегментацию. Они создают рисунок химических различий цитоплазмы в начале дробления, который затем превращается в саму сегментацию. Эти различия цитоплазмы воздей-

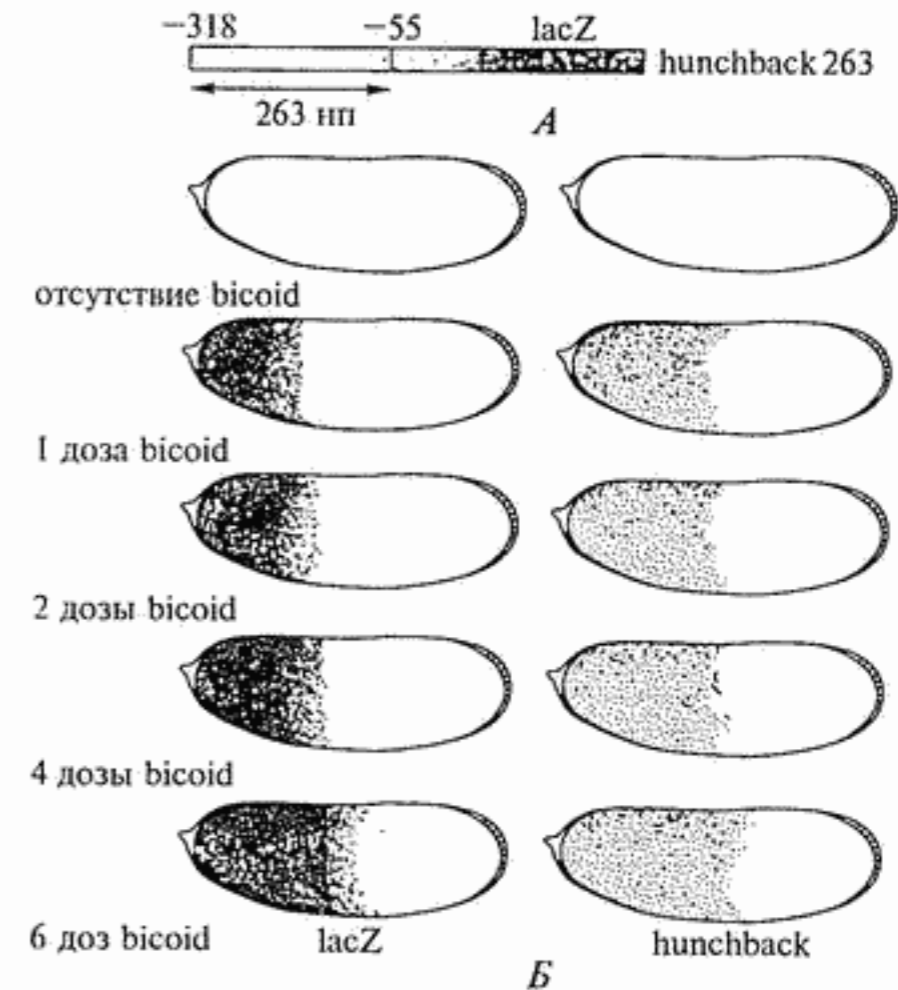


Рис. 50. Взаимодействие генов в становлении переднезаднего градиента в развивающемся яйце дрозофилы (Л.И.Корочкин, 1999). Промотор *hunchback* (А) отвечает за концентрацию белка *bicoid*. (Б) Это положение подтверждается экспериментами, в которых фрагмент промотора *hunchback* длиной 263 нп контролирует экспрессию репортерного гена *lacZ* (схема в верхней части рисунка). Транскрипция зависит от количества белка *bicoid*. Когда количество доз гена *bicoid* у матери возрастает, экспрессия бета-галактозидазы и белка *hunchback* сдвигается кзади

ствуют на активность генов следующего уровня регуляции сегментации — генов *GAP* и *Pair-rule*. Мутации гена *oscar* меняют выражение генов *GAP* и *Pair-rule* (рис. 52).

Гены *GAP* включают материнские и зиготические гены и по фенотипическому проявлению мутаций подразделяются на:

1) восемь генов, экспрессирующихся в оогенезе;

2) пять генов, экспрессирующихся после оплодотворения в зиготе, из которых три собственно зиготические (*hunchback* — *hb*; *Kruppel* — *kr*; *knirps* — *kni*). Эти гены кардинальные — мутация любого из них «зачеркивает» сегментацию в подконтрольном ему районе.

Гены *GAP* контролируют метамеризацию, осуществляемую генами *Pair-rule*, но влияют и на гомеотические гены (гены гомеозиса), осуществляющие индивидуальную идентификацию сегментов (об этом будет сказано чуть позже). Гены *Pair-rule* транс-

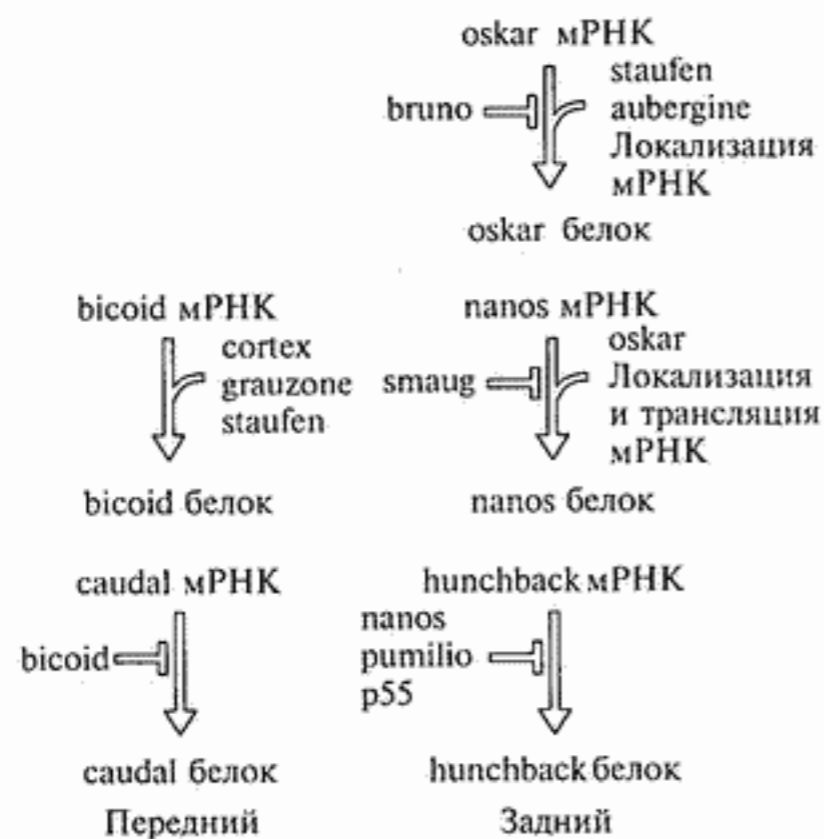


Рис. 51. События, ответственные за трансляционный контроль формирования развивающегося эмбриона дрозофилы (Л.И. Корочкин, 1999). Цепи взаимодействия генов, детерминирующих формирование переднего и заднего полярных градиентов

крибируются на стадии синцитиальной бластулы одними из первых генов зиготы и начинают работать почти одновременно с GAP.

Большинство генов группы Pair—rule находится в сложном взаимодействии с геном *fushi tarazu* (*ftz*). Этот ген имеет гомеобокс и является геном сегментации (C.F. Graham, 1989). Его транскрипция начинается на 2—4-м часах развития, идет на стадии бластодермы и по расположению транскрипта претворяется в паттерн из семи поперечных полос еще до формирования клеточных мембран (E. Hafen, 1984). В период роста зародышевой полоски *ftz* протеины исчезают и вновь появляются теперь уже в ядрах сегментов развивающейся нервной системы. Заметнее всего метамеризацию определяет хорошо изученный ген *engrailed* (*en*), отнесенный к группе Pair—rule. Экспрессия *en* приводит к образованию 15 рядов клеток (парасегментов) внутри зародышевой полоски, из которой развивается большая часть зародыша. Больше половины материала зародышевой полоски расходуется на построение сегментированной части тела. Сначала сегментация выявляется как серия утолщений мезодермы. Ко времени окончательного формирования зародышевой полоски паттерн выявляемых транскриптов *en* становится очень похожим на настоящие сегменты. Дальнейшая метамеризация выражает активность гомеотических генов — собственных генов гомеозиса.

Гены	Эффекты мутаций	Время ранней экспрессии
GAP: hunchback kruppel knirps giant tailless		<11 ядерных делений
Pair—rule: runt hairy ftz even skipped paired odd paired sloppy paired odd skipped		11—12 ядерных делений
Гены сегментарной полярности: engrailed wingless gooseberry cubitus inter- rupts patched hedgehog dishevelled costal2 fused		13 ядерных делений

Рис. 52. Три группы генов сегментации дрозофилы (Л.И. Корочкин, 1999)

Таким образом, сегментация представляет собой сложный процесс с многоуровневой генетической регуляцией. Первыми его начинают гены материнского эффекта, чей транскрипт еще накапливается в оогенезе (*bicoid*, *torso*, *oscar*). Следующий уровень — смешанные гены GAP (раннезиготические) и гены Pair—rule. Последними работают так называемые гомеотические гены (гены гомеозиса) комплексов, экспрессирующихся на «месте» и определяющих структуру парасегментов. Активность генов предыдущего уровня определяет работу следующего (рис. 53, 54).

Гены гомеобокса. Как уже говорилось, гены гомеобокса (Нох-гены) собраны в кластер, и физическое расположение гомеобоксных генов в кластерах идентично порядку, в котором эти гены экспрессируются вдоль переднезадней (А—Р) оси эмбриона в процессе развития (коллинеарность).

Это дает основание полагать, что эволюция хордовых шла путем дупликации генов Нох, и геном ланцетника сохранил неизменной эту структуру кластера Нох, которая была у предков по-

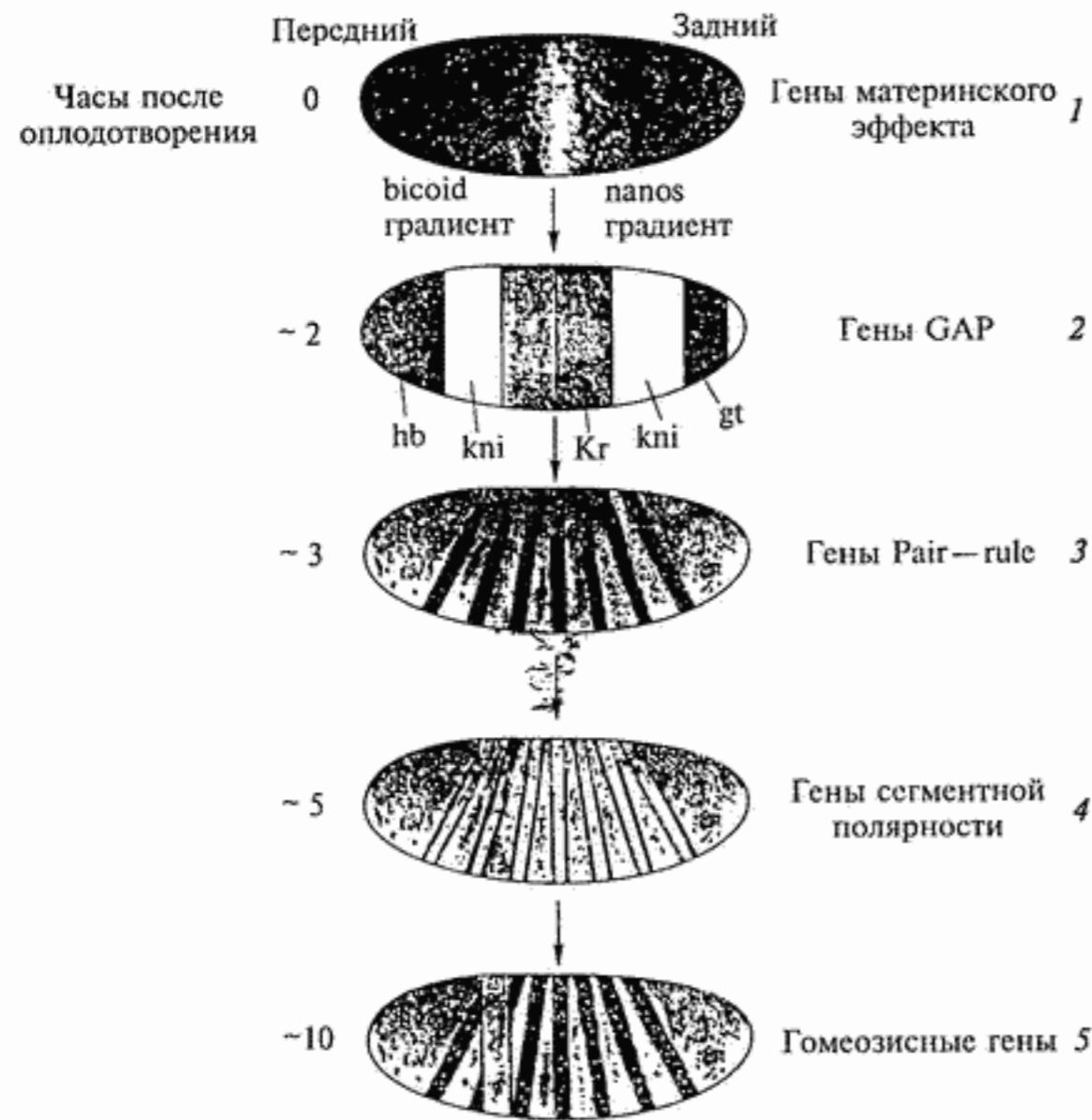
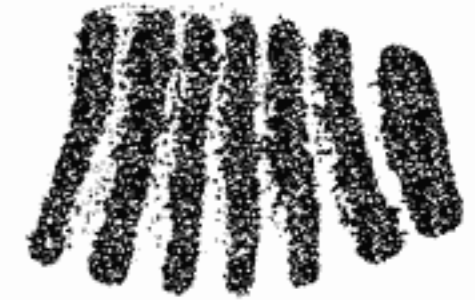


Рис. 53. Гены, осуществляющие процесс последовательного деления тела развивающегося эмбриона дрозофилы на сегменты:

1 — начальная переднезадняя полярность эмбриона устанавливается продуктами генов материнского эффекта, подобным *bicoid* и *nanos*; 2 — экспрессия генов GAP-группы подразделяет эмбрион на широкие зоны; 3 — гены *Pair-rule* (например, *fushi tarazu* — *ftz* экспрессируется в семи полосках, осуществляя дальнейшее подразделение эмбриона вдоль переднезадней оси; 4 — гены сегментарной полярности (например, *engrailed*, эффект которого отражен на схеме) экспрессируются в 14 узких полосках вдоль переднезадней оси; 5 — гомеозисные гены, такие, как *Ultrabithorax*, эффект которых показан на схеме, экспрессируются в специфических областях вдоль переднезадней оси. Эти гены вместе с *Pair-rule* генами и генами сегментарной полярности детерминируют идентификацию индивидуальных сегментов в развивающемся эмбрионе

звоночных. Справедливость этого утверждения подтверждается дупликацией многих неродственных гомеозисных генов, но расположенных с ними в одной хромосоме или ее части, претерпевающей дупликацию. Так, у ланцетника имеется один инсулиноподобный ген, которому гомологичны три гена у млекопитающих.

Рис. 54. Транскрипторы гена *fushi tarazu* локализованы в семи полосках соответственно семи парасегментам. У мутантов *ftz* эти полоски отсутствуют. Гибридизация *in situ* на целом эмбрионе (Л.И. Корочкин, 1999)



У беспозвоночных эволюция шла путем изменения гомеобоксодержащих генов посредством тандемных дупликаций.

Если рассмотреть сегментацию с точки зрения феногенетики, то анализ этого явления следует вести с позиций современных представлений об эффекте генов, контролирующих этот процесс.

Гены, непосредственно контролирующие сегментацию, называются гомеозисными (гомеотическими). Понятие «гомеозис» ввел У. Бетсон в 1894 г. Под гомеозисом он понимал способность одних сегментов, на которые разделен организм, приобретать признаки, свойственные другим.

Из определения следует, что гены, контролирующие сегментацию, являются частью системы, а не отдельно и независимо действующими единицами. Генетический контроль и регуляция сегментации полнее всего изучены и разработаны на дрозофиле и далее приводятся на этой модели. Сегментация характеризуется количеством сегментов и их качественными особенностями. Количество сегментов детерминируется сегрегационными генами (табл. 2). Их у дрозофилы около 20. Мутации сегрегационных генов нарушают переднезаднюю полярность сегментов, вызывают их слияние, уменьшение количества сегментов и образование нежизнеспособных уродов (см. табл. 2).

Таблица 2

Сегрегационные гены

Гены GAP	Гены <i>Pair-rule</i>	Гены сегментарной полярности
Kruppel (Kr)	hairy	engrailed
knirps (kni)	evenskipped	wingless
hunchback (hb)	runt	cubitus interruptus
giant (gt)	fushi tarazu	hedgehog
tailless	oddskipped	fused
huckebein	sloppy-paired	armadillo
	paired	patched
		gooseberry

Качественные особенности сегментов контролируют гомеозисные гены, которых у дрозофилы около 50. Гомеозисные гены подразделяют на два комплекса: Antennapedia-Complex (ANT-C) и Bithorax-Complex (BX-C). ANT-C-гены контролируют развитие головных и передних грудных сегментов. BX-комплекс изучен лучше, и контроль за развитием сегментации удобно проследить на его примере. BX-комплекс состоит из трех субкомплексов: Ubx, контролирующего сегменты груди, и субкомплексов abdomen-A и abdomen-B, контролирующих развитие брюшных сегментов. Субкомплекс Ubx наиболее полно сочетает в себе отличительные характеристики локусов сегментации.

Для генов субкомплекса Ubx характерны три особенности:

1. Они собраны в кластер в небольшом участке 3-й хромосомы.
2. Для них характерен цис-транс-эффект, т. е. зависимость действия двух мутантных генов одной особи от положения в двух родительских хромосомах.
3. Полярность проявления означает, что аллели дикого типа, лежащие справа от мутантного локуса, инактивируются, а их рецессивная мутантная аллель обнаруживает свое действие.

Кластер субкомплекса Ubx занимает два диска в небольшом участке (зона 89-й цитогенетической карты) 3-й хромосомы. В кластер входят следующие гены в порядке их расположения: 1) bithorax (a) (bx); 2) contrabithorax (b) (cbx); 3) ultrabithorax (c) (ubx); 4) bithoraxoid (d) (bxd); 5) postbithorax (e) (pbx).

По мутации этих генов удобно проследить их значение в морфогенезе (рис. 55).

1. Мутация $a+ \rightarrow a$ (bithorax, bx) превращает переднюю часть заднегруди в переднюю часть среднегруди. Фенотипически полу-

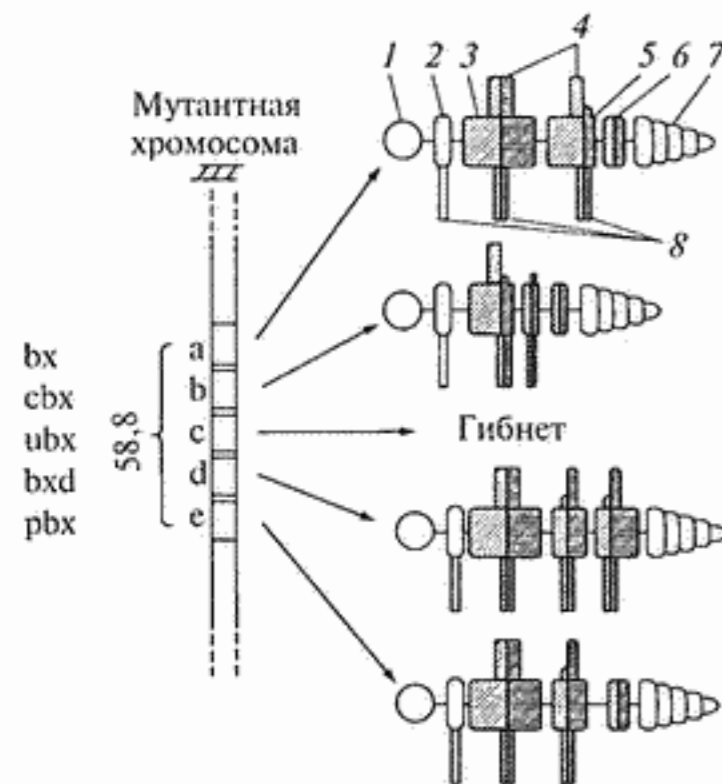
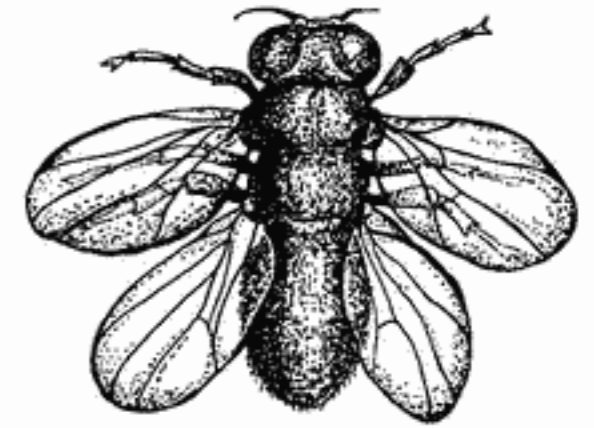


Рис. 55. Влияние гомеозисных мутаций на развитие (по В.Льюису, 1963):

1 — голова; 2 — передняя грудь; 3 — средняя грудь; 4 — крылья; 5 — задняя грудь; 6 — первый брюшной сегмент; 7 — брюшко; 8 — ноги

Рис. 56. Четырехкрылая дрозофила, полученная путем сочетания мутаций bithorax и postbithorax (Л.И. Корочкин, 1999)



чается четырехкрылая муха с задней парой дефектных крыльев. Эти крылья образуются из задней части жужжалец и передней части крыла.

2. Мутация $e+ \rightarrow e$ (postbithorax, pbx) дополняет мутацию bx и располагается на другой (противоположной) части кластера. Она обуславливает превращение задней части заднегруди в заднюю часть среднегруди (рис. 56). Если в одной особи объединить bx и pbx, то заднегрудь превращается в среднегрудь, и фенотипически у мухи будут 2 среднегруди с 2 парами одинаковых крыльев.

3. Мутация $d+ \rightarrow d$ (bithoraxoid, bxd) обуславливает трансформацию первого брюшного сегмента в сегмент заднегруди, который несет жужжальца и ноги. Муха bxd будет иметь дополнительные дефектные крылья (всего 6 крыльев) и дополнительную пару ног.

4. Мутация $s+ \rightarrow s$ (ultrabithorax, ubx) в гомозиготе обычно летальна. У многих выживших обнаруживаются дефекты, отчего весь субкомплекс носит название ubx.

5. Мутация $b+ \rightarrow b$ (contrabithorax, cbx) приводит к тому, что задняя часть среднегруди развивается в заднюю часть заднегруди. Поэтому мухи имеют дефектные крылья. Цис-транс-эффект субкомплекса ubx означает, что действие двух мутантных генов у одной особи зависит от их положения в родительских хромосомах.

Особь $\frac{a+}{+c} \left(\frac{bx+}{+ubx} \right)$ имеют вид мутанта, а особь $\frac{ac}{++} \left(\frac{bc+}{+} \frac{ubx}{+} \right)$

выглядят как дикий тип из-за эффекта положения, когда одни и те же гены ведут себя неодинаково, если находятся в разных хромосомах.

Полярность проявления заключается в том, что аллели дикого типа (+), лежащие справа от мутантного аллеля, инактивируются и свое действие обнаруживает рецессивный мутантный аллель. При этом трансгетерозиготная особь $\frac{bxid+}{+pbx}$ развивается по pbx, а не bxd.

Трансгетерозиготы $\frac{bxid+}{+pbx}$ и $\frac{ubx+}{+bxd}$ развиваются по типу pbx и bxd.

Эти три особенности с феногенетических позиций получили объяснение в гипотезе Э.Льюиса:

1. Сходство серии мутантов *bithox* с опероном бактерий.

2. Предположение, что аллели дикого типа продуцируют морфогены, т. е. вещества, дающие морфогенетический эффект, а мутанты — нет. Это означает, что продукт *e+* (*a+* и т. д.) подавляет потенцию развития заднегруди по типу среднегруди, а продукт *d* подавляет потенциальное развитие первого брюшного сегмента по типу заднегруди. Таким образом, регуляция качественного развития метамеров гомеозисными генами во многом состоит в том, что от предыдущего сегмента к последующему эти гены меняют формообразовательную потенцию, ограничивая ее, что приводит к отличию следующего сегмента от предыдущего. Если белок-регулятор в результате мутации типа *a+*, *b+*, *e+* → *a*, *b*, ...*e* не синтезируется, то последующий сегмент проявляет потенции предыдущего. Этот механизм, вероятно, действовал и в эволюции онтогенеза, т. е. в филогенезе. Например, мутация *d* → *d+* привела к утрате способности брюшных сегментов образовывать торакальные структуры. Таким путем из многоножек могли образовываться насекомые и так же вторая пара крыльев могла превратиться в жужжальца путем снижения пролиферации в диске крыла.

Из гипотезы Э. Льюиса следует:

1. В самом *bx*-комплексе преформирована структура сегментов и «план» сегментарного строения обеспечивает сама функциональная организация этого локуса.

2. Гомеозисные гены, контролирующие строение сегмента, должны функционировать посегментно, а их продукты выявляться в тканях соответствующих сегментов.

3. Координированная работа генов сегментации предполагает наличие регуляторных участков, обеспечивающих эту работу.

4. Предположение о том, что гомеозисные гены посредством контроля над сегментацией эволюционно обусловлены, свидетельствует об универсальности такого рода генов и о присутствии их у самых разных организмов.

5. Подводя итоги сказанному, можно заключить, что гены, содержащие гомеобокс, представляют собой группу генов-регуляторов раннего развития. Их эволюция прослеживается от прокариот, а их общая функция состоит в обеспечении первыми сигналами детерминации клеточных ядер раннего зародыша, в управлении развитием. Эти гены, содержащие гомеобокс, в определенной иерархической последовательности регулируют деятельность групп определенных генов. В ходе эволюции функции генов с гомеобоксом могли меняться, хотя процессы, которые они регулируют у эволюционно более старых таксонов, могли включаться в процессы, регулируемые ими у эволюционно более молодых. И наиболее важный вывод из рассмотренного материала состоит в том, что механизмы развития эволюционно разнящихся животных, возможно, гораздо более универсальны, чем полагали.

Процесс сегментации. Кластерная организация Нох-генов характерна для млекопитающих (человек, мышь), птиц (курица), амфибий (шпорцевая лягушка), рыб (данио), бесчерепных хордовых (ланцетник), насекомых (дрозофила, хрущаки), червей (нематоды). Но если геномы беспозвоночных имеют по одному кластеру, то у млекопитающих они составляют четыре кластера, охватывающих 38 генов. Эти гены разделены на 13 паралогических групп.

Установлено, что каждой группе генов млекопитающих гомологичен один ген ланцетника (рис. 57).

Метамеризация мезодермы у всех метамерно построенных организмов на морфологическом уровне осуществляется сходно, поэтому в качестве примера рассмотрим процесс образования сомитов у зародыша курицы. В дорзальной области осевой мезодермы вблизи от заднего края последнего сформировавшегося к данному моменту времени сомита имеются особые веерообразные группировки из небольшого числа клеток — «клеточные веера». Эти клеточные веера растут за счет вовлечения все новых и новых клеток с заднего конца. По мере своего роста веер загибается назад, возможно, из-за того, что при отсутствии загиба клетки перерастягивались бы при вовлечении в веер. Загиб очередного веера означает формирование задней границы каждого последующего сомита. Можно предположить, что именно такой механизм лежит в основе сегментации мезодермы и у других позвоночных.

Однако еще до формирования клеточных вееров по осевой мезодерме кзади от последнего к данному моменту времени сомита

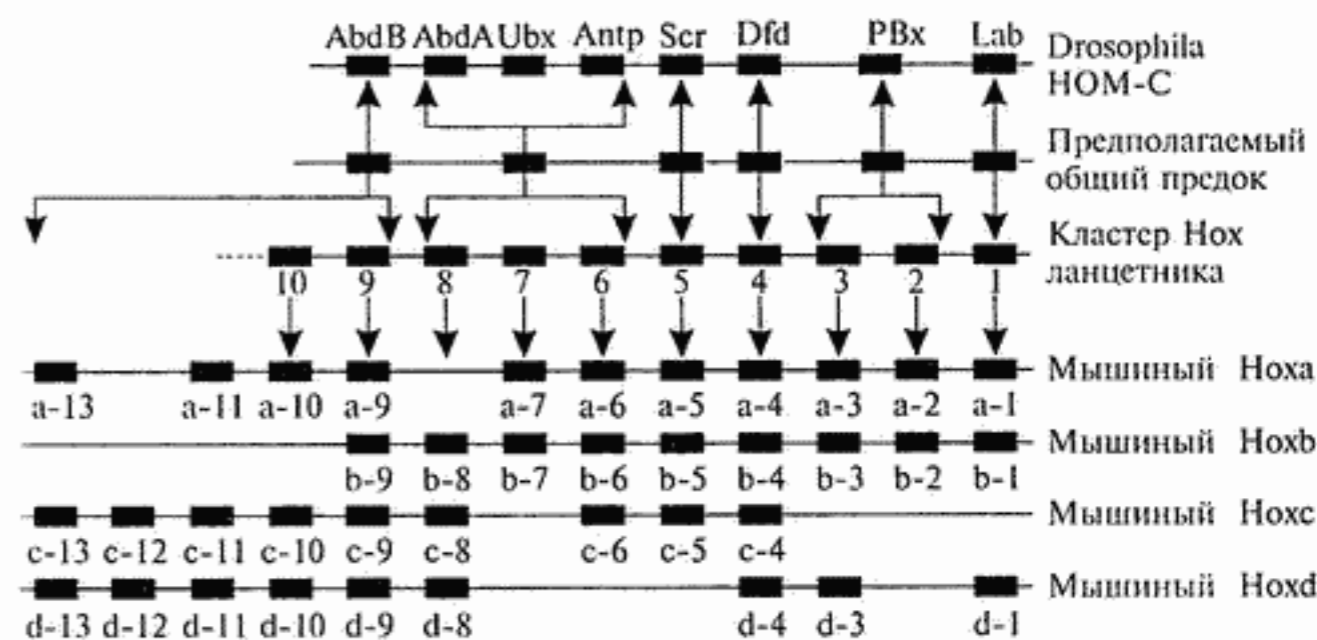


Рис. 57. Паралогические группы генов позвоночных животных:

AbdA, AbdB — абдоминальные гены; *ubx* — ультрабиторакс; *Antp* — антопедико-комплекс; *Dfd* — деформирующий ген; *Scr* — скру-ген; *PBx* — постбиторакс; *Lab* — лабильный ген

распространяется невидимая «волна», определяющая компетентность данной области осевой мезодермы к эпителизации и, в частности, к образованию веера. Более задние области мезодермы, до которых волна компетенции еще не дошла, не способны к эпителизации и образованию вееров. Следовательно, процесс сегментации строится на основе двух последовательных волн: невидимой «волны компетенции» и видимой на клеточном уровне волны веерообразования.

Осевая мезодерма сегментируется в краниокаудальном направлении. Ход сегментации на уровне клеточных взаимодействий связан с волнами поляризации. Упорядоченность сегментации во времени позволяет по аналогии с Тау-нулевым (время синхронного деления дробления) выделить так называемое Тау-сомитное время — время образования парасомитов.

Сегментированная мезодерма распадается на три закладки: дерматом, склеротом и миотом. Дерматом вместе с эпителием формирует покровы и придатки покровов. Именно дерматом компетентен к образованию региональной специфики покровов, что подтверждается опытами с гетеротропными пересадками. Склеротом дает скелет, из него образуются два основных клеточных элемента дифференцировки скелета — хондробласты и остеобласты.

Мышцы формируются из миотома по плану первоначальной сегментации и оказываются между позвонками. Причина этого заключается в том, что тело позвонков образуется из задней части склеротома переднего сегмента и передней части склеротома последующего сегмента (так называемый процесс пересегментации позвонков). Так же сегментируются, располагаясь между позвонками, и спинальные ганглии — производные медуллярных валиков. Полагают, что именно они и порядок их сегментации служат причиной описанной формы сегментации склеротома. Функциональный смысл порядка сегментации этих закладок понятен и объясняется анатомией и физиологией развивающихся из них структур — позвонков, скелетных мышц, спинальных ганглиев, спинномозговых нервов.

Боковая мезодерма не сегментируется. Ее висцеральный листок, кроме выстилки вторичной полости тела, образует гладкую мускулатуру кишечника, сердце. Parietalный листок, кроме выстилки вторичной полости тела, видимо, принимает участие в формировании боковых покровов тела. Его мезенхима компетентна к образованию конечностей. Нефрогонотом (ножки сомита) формирует почку и гонаду.

У хордовых этап сегментации сопряжен с закладкой и образованием нервной системы. Комплекс осевых структур, включающий хорду, осевую мезодерму, развивается сопряженно. Развитие нервной системы в этом процессе зависит от развития хорды и осевой мезодермы.

ХОД НЕЙРУЛЯЦИИ У АМФИБИЙ

У хвостатых амфибий нейроэктодерма на поздней гастрале представлена однослойным эпителием из столбчатых клеток, расположенных в дорзальной части зародыша над крышей первичной кишки. Последующие морфологические события нейруляции — следствие изменения клеток этого зачатка. В процессе нейруляции дорзальная поверхность зародыша теряет округлые формы и уплощается в диск, который сжимается сзади и принимает грушевидную форму, будучи расширенным впереди. Расширенная передняя часть этой закладки, называемая нервной пластинкой, развивается в головной мозг, а узкая задняя — в спинной. Изучение морфогенеза центральной нервной системы показало, что преобразование нервной пластинки в нервную трубку — следствие двух независимых процессов: изменения формы клеток пластинки и изменения формы подлежащей хорды. От поздней гастралы к ранней нейруле клетки нейральной закладки из плоских превращаются в столбчатые. Поскольку увеличение высоты клеток развивающейся нервной системы на этой стадии не сопровождается увеличением объема, площадь закладки уменьшается. Способность клеток нейральной эктодермы к удлинению запрограммирована до самого осуществления процесса нейруляции, что подтверждается в экспериментах с нейроэктодермой в культуре. Но способность клеток к удлинению и превращению в столбчатые не объясняет характерной формы в виде «замочной скважины», которую принимает закладка в процессе нейруляции. Среди факторов, изменяющих форму нервной закладки, следует назвать процесс округления и удлинения материала хорды в направлении А—Р. Так, если эксплантировать вместе материал хорды и нейроэктодермы, то последняя принимает характерную форму. Если же удалить хорду из зародыша, то морфогенез нервной пластинки будет нарушен. Хорда плотно контактирует со средней частью нервной пластинки, движения их синхронизированы. Хорда механически изменяет форму лежащего над ней участка нервной пластинки, создавая в ней механическое напряжение, толкая среднюю часть пластинки вперед и расширяя ее переднюю часть. При этом задняя часть нервной пластинки сокращается по ширине, превращаясь в узкую туловищную часть нервной трубки. Когда утолщение нервной пластинки заканчивается, ее края приподнимаются и превращаются в нервные валики (рис. VI цв. вкл.). В это время зародыш удлиняется в переднезаднем направлении, а пластинка превращается в нервный желобок (рис. 58). Нервные складки, встречаясь на дорзальной стороне, срастаются, и желобок превращается в нервную трубку. Процесс смыкания развивается в краниокаудальном направлении от границы презумптивного переднего и заднего отделов головного мозга. В передней части закладки, где она была шире, и в

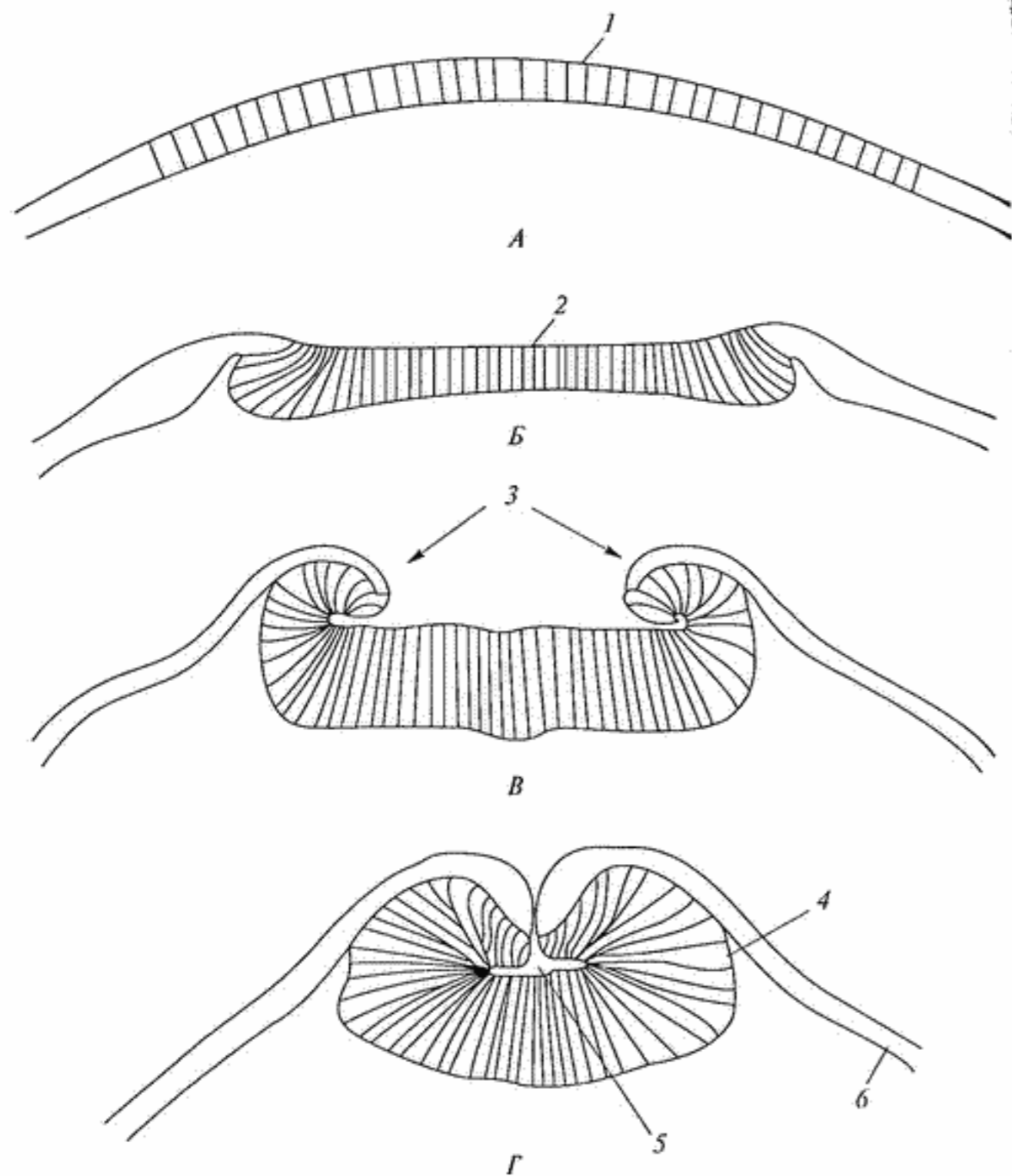


Рис. 58. Последовательные стадии образования нервной трубки (А—Г): 1 — нейральная эктодерма; 2 — нервная пластинка; 3 — нервные валики; 4 — нервная трубка; 5 — невроцель; 6 — покровная эктодерма

задней, куда процесс смыкания еще не дошел, нервная трубка до завершения процесса смыкания остается открытой, а соответствующие отверстия называются передней и задней нейропорами. Тем временем боковая покровная эктодерма отделяется от валиков и смыкается над трубкой и материалом валиков, которые оказываются между покровной эктодермой и дорзальной частью нервной трубки. Объединенный материал валиков называется нервным греб-

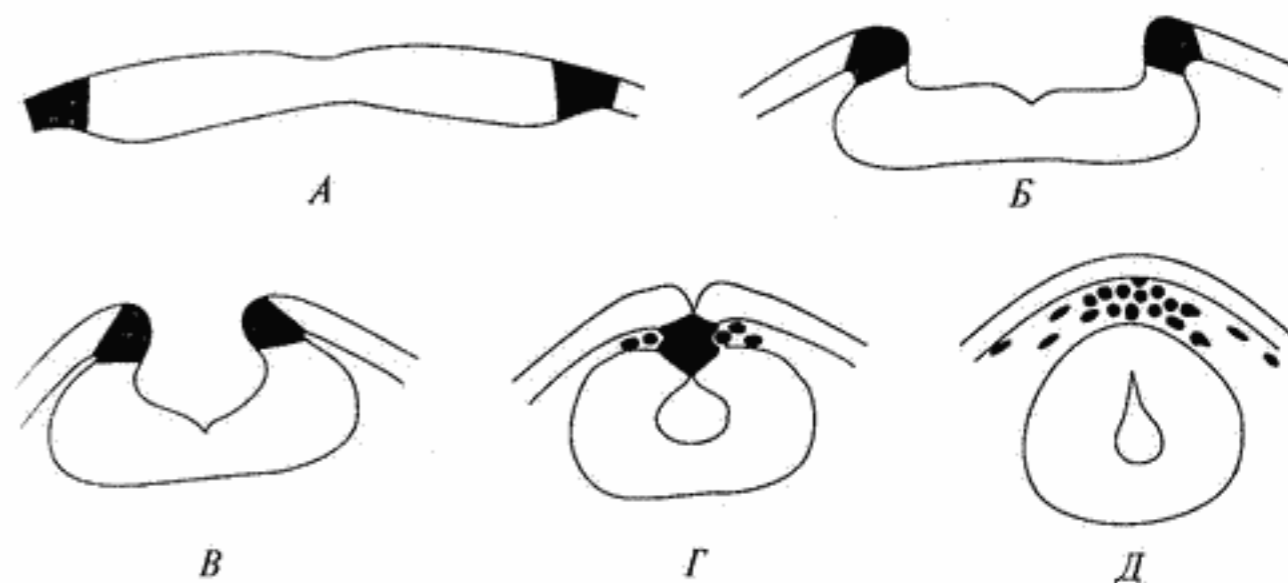


Рис. 59. Расположение клеток нервного гребня в ходе образования нервной трубки (А—Д). Клетки нервного гребня отмечены черным цветом

нем (рис. 59). Впоследствии клетки нервного гребня мигрируют и дифференцируются в различные типы клеток.

НЕЙРУЛЯЦИЯ У ДРУГИХ ПОЗВОНОЧНЫХ

Процесс образования нервной трубки у позвоночных в общем сходен, хотя существуют видовые вариации и важные отличия. Так, у шпорцевой лягушки нейральный эпителий состоит более чем из одного слоя клеток, а нервные валики образуются одновременно с удлинением клеток нервной пластинки. Интересно, что больший зародыш тритонов совершает нейруляцию быстрее, чем меньший зародыш шпорцевой лягушки.

У нейрулы курицы нервная пластинка построена из одного слоя очень высоких столбчатых клеток (высота к ширине относится, как к 10 : 1).

Нервная пластинка эмбриона курицы начинает сворачиваться, образуя бороздку с относительно прямыми краями, нервные складки сильно вогнуты и изгибаются до встречи и слияния по средней линии (рис. 60; рис. VII цв. вкл.).

У рыб способ формирования нервной трубки иной. Нервная система закладывается как плотный тяж из округлых клеток, который отделяется внутрь от покровной эктодермы. В центре его впоследствии образуется нейральный канал.

Процесс нейруляции, изученный сначала на амфибиях и птицах, выявил общую закономерность: изменение высоты клеток нервной пластинки и согласованное изменение их формы. Вследствие изменения высоты нервная пластинка утолщается, а в результате согласованного апикального сужения клеток нейроэпи-

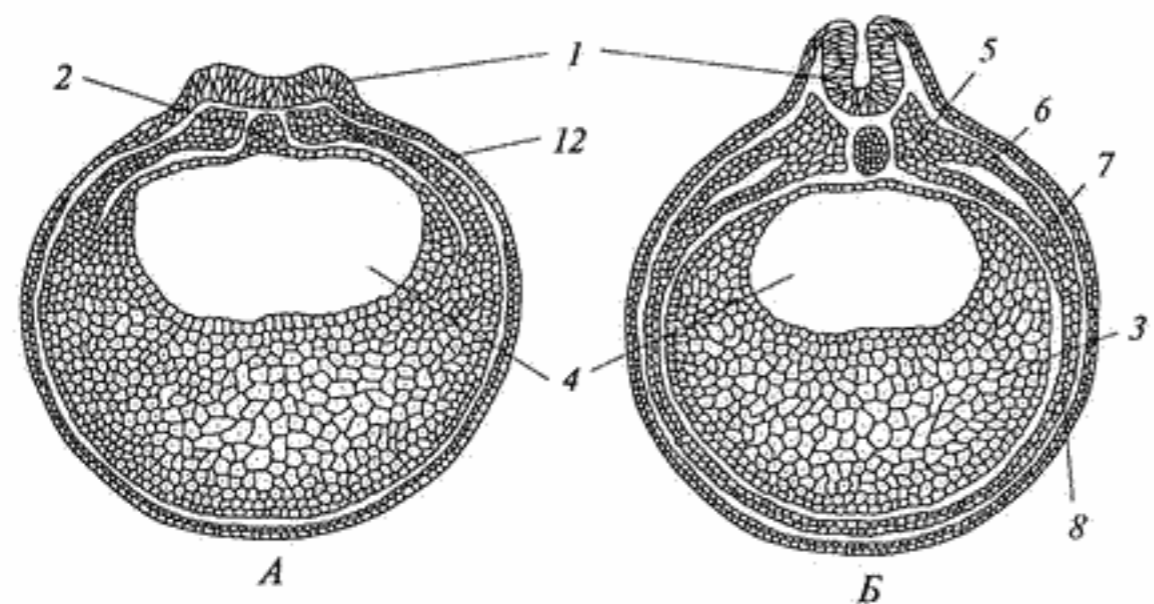


Рис. 60. Сравнение зародышей амфибий и птиц на стадии нейрулы (поперечные срезы) (А—В по Rugh, 1951; Г—Е по Potter, 1951):

А—В — нейруляция амфибий; Г — нейрула птиц; Д — куриный зародыш (удалена часть желтка); Е — зародыш лягушки. Лишенная большей части желтка куриный зародыш (Д) похож на зародыш амфибий (Е); 1 — нервная пластинка; 2 — хорда; 3 — энтодерма; 4 — кишка; 5 — сомит; 6 — париетальный листок мезодермы; 7 — висцеральный листок мезодермы; 8 — мезодерма боковой пластинки; 9 — нервная трубка; 10 — нервный гребень; 11 — целом; 12 — эктодерма; 13 — место разреза для снятия с желтка зародыша; 14 — желток

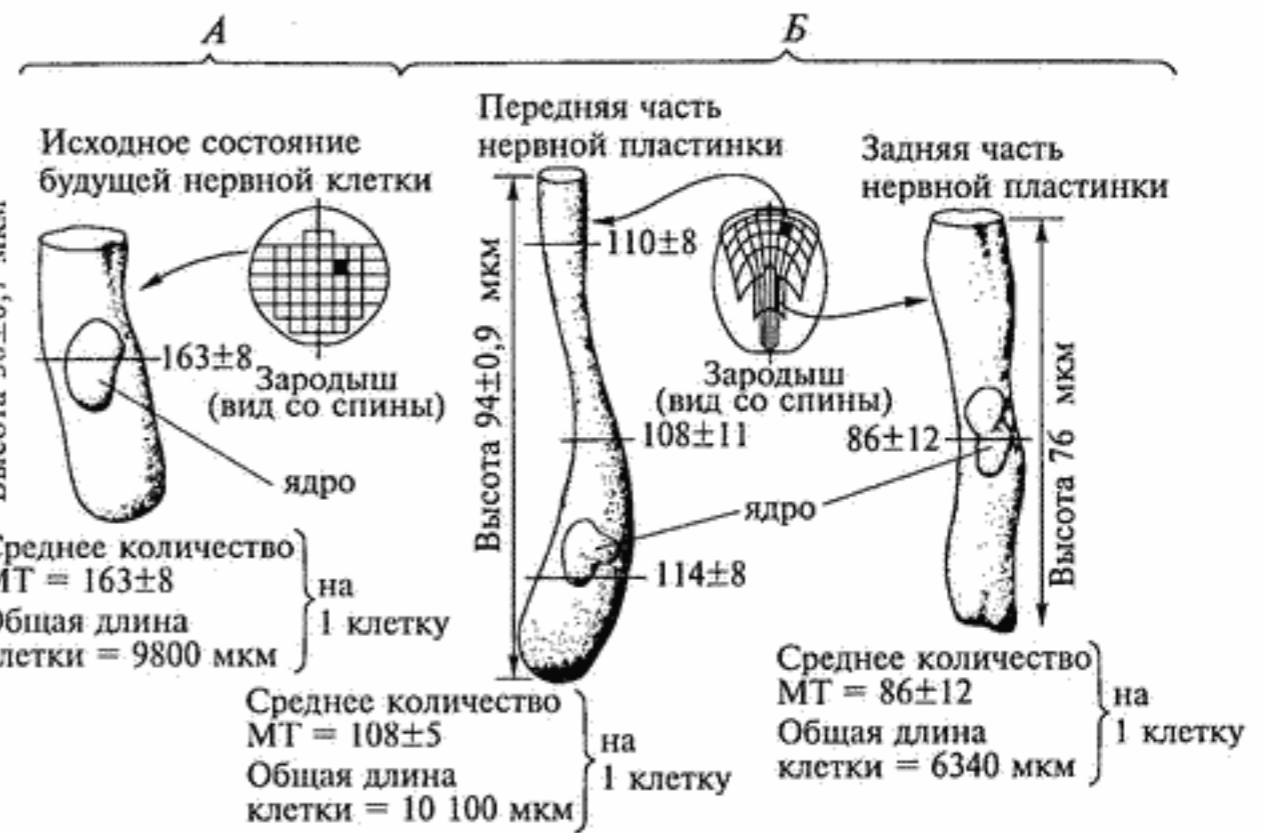
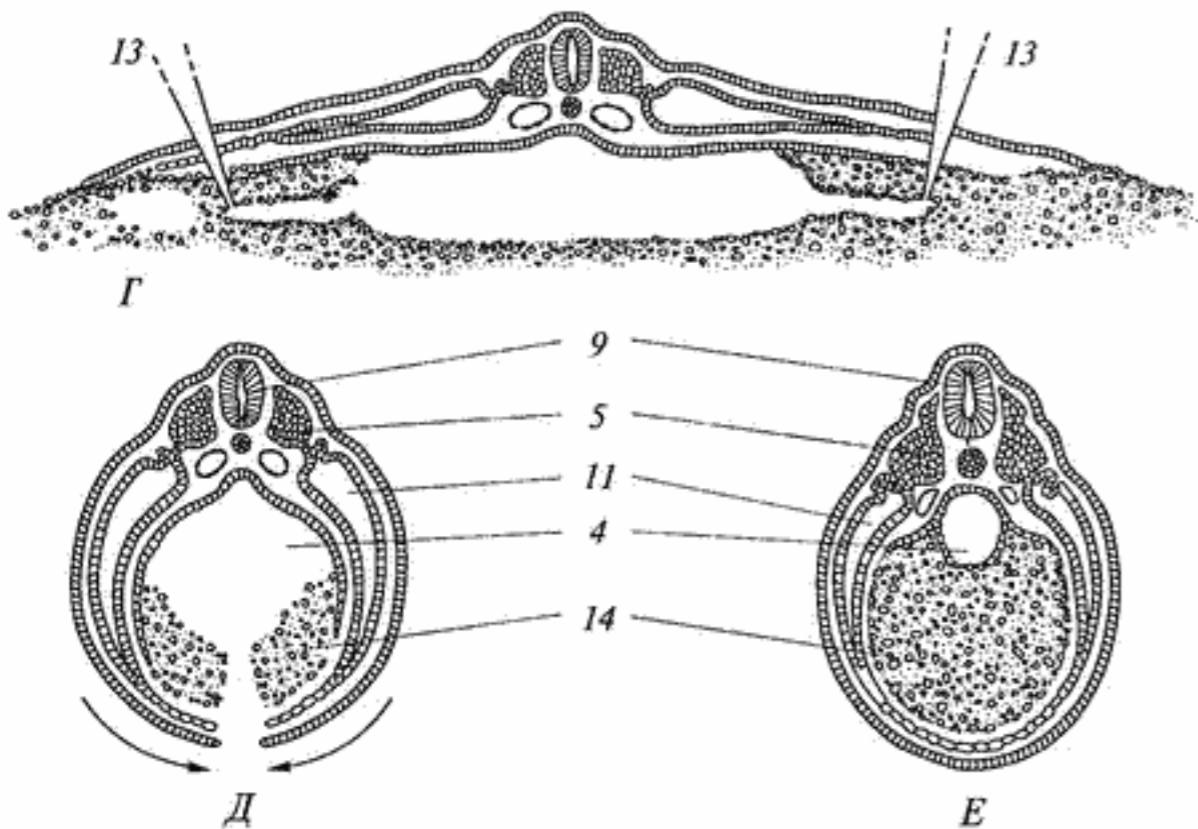


Рис. 61. Участие микротрубочек (MT) в процессе образования нервной трубки (удлинение клеток при формировании нервной пластинки и нервной трубки) (S. Oppenheimer, G. Lesevre, 1984):

А — ранняя нейрула; Б — средняя нейрула

телия пластинка превращается в желобок. Удлинение эктодермы сопровождается появлением мощных пучков микротрубочек, ориентированных по длинной оси клеток (рис. 61). В апикальных частях столбчатых клеток нейроэпителия располагаются микрофиламенты, кооперативно выполняющие «кисетный эффект», ведущий к изгибанию пластинки (рис. 62). Участие микротрубочек и

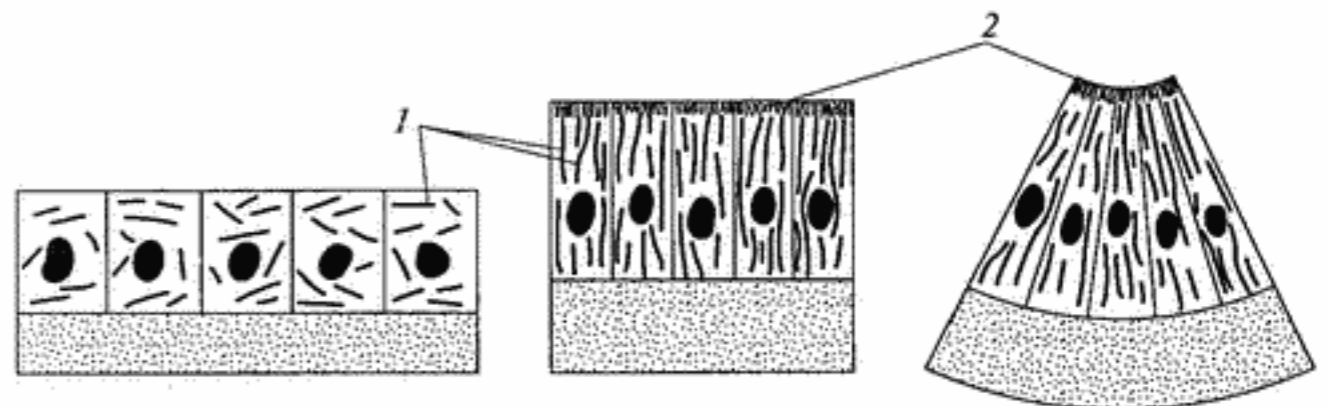


Рис. 62. Схема, иллюстрирующая изменения формы клеток эктодермы в период нейруляции. Нейральные эпителиальные клетки удлиняются, образуя нервную пластинку, а затем при формировании нервной трубки их апикальные концы сужаются, наблюдается «кисетный эффект»:

1 — микротрубочки; 2 — микрофиламенты



ПЕТР ПАВЛОВИЧ ИВАНОВ

микрофиламентов в утолщении и гибели нервной закладки подтверждается экспериментально. Так, воздействие винбластином на зародыше-шпорцевой лягушки предотвращает нейруляцию, а клетки нервной пластинки возвращаются к исходной форме. У зародыша курицы клетки нервной пластинки округляются после обработки колхицином, а после обработки цитохалазином В утрачивают способность сокращаться на апикальном конце. По-видимому, при образовании центрального канала происходит запрограммированная гибель клеток путем апоптоза.

В процессе нейруляции реализуется весь набор свойств клеток, который впервые отмечается на гаструляции, но

в иных пропорциях и с другими акцентами. Это процессы пролиферации, миграции, поляризации клеток и образования клеточных пластов, изменение геометрии клеток, групп клеток и пластов, процессы избирательной гибели клеток. В разных таксонах доля каждого из этих процессов в развитии и дифференцировке осевых органов и нервной системы разная, но в итоге их суммирования всегда образуются осевые органы и нервная трубка.

В процессе сегментации мезодермы и нейруляции реализуется принцип двойственности, или гетерономности, метамерии. Теорию двойственной метамерии разработал выдающийся русский эмбриолог П. П. Иванов (1946). Метамерия рассматривается как особый род симметрии, характерный для живого. Гетерономность метамерии в эволюции возникает с артикуляцией. Суть явления состоит в том, что метамеры головы гомономны метамерам личинки (ларвальным сегментам трохофоры) и не гомономны сегментам туловища. Ларвальные сегменты появляются одновременно в виде трех парных образований мезодермы. Метамеры туловища (туловищные сомиты) закладываются последовательно.

Ларвальные (головные) сегменты развиваются в онтогенезе иначе, нежели туловищные, поэтому головные и туловищные сегменты гетерономны. У хордовых ларвальным сегментам соответствуют головные сомиты. Их тоже, как правило, три пары. Появляются они одновременно и вне связи с туловищными. Интересно, что принцип гетерономности как бы переносится на развитие нервной трубки и проявляется в надтаксономическом сходстве развития ее головного отдела и многообразии туловищного.

Если головной отдел — это всегда и у всех сначала расширенная передняя часть нервной пластинки (ранняя нейрула), затем

глубокий желоб, трубка, открытая в области переднего нейропорра (средняя и поздняя нейрула), затем одновременно три (!) и, наконец, пять мозговых пузырей, то туловищный отдел при одинаковости результата приходит к нему неодинаковыми у разных видов путями. Так, у миног нервная пластинка в области туловища (ранняя нейрула) превращается в борозду (средняя нейрула), и затем в плотный тяж, в котором вторично образуется нервный канал. У костистых рыб нервная система в области туловища сразу складывается в виде плотного тяжа, в котором вторично путем расхождения клеток образуется нервный канал и формируется нервная трубка. Для хвостатых и бесхвостых амфибий характерно сходное развитие нервной системы в туловищном и головном отделах через стадии нервной пластинки, желобка, трубки.

У млекопитающих (крысы) центральный канал в туловищном отделе образуется после шизоцельного расхождения и направленной гибели клеток.

Таким образом, консервативность и надтаксономическое сходство в развитии переднего отдела нервной трубки в сочетании с разнообразием построения туловищного отдела иллюстрируют, согласно П. П. Иванову, принцип гетерономности в развитии нервной системы, подобно тому как он ранее был показан для осевой мезодермы. Метамерное строение мезодермы и ее гетерономность эволюционно старше, чем такое образование, как центральная нервная система. Интересно, что старая закономерность — гетерономность — распространяется на новую структуру и ее развитие. Развитие центральной нервной системы — пример зависимого развития. В пределах территории, занимаемой ее индуктором, в согласии с принципами гетерономности различают туловищный и головной организаторы.

Для перемещений пласта и смыкания его в трубку имеют значение межклеточный матрикс, поверхность клеток и вещества адгезии.

МОЛЕКУЛЫ АДГЕЗИИ

В связи с нейруляцией и развитием собственно нервной системы удобно на частном примере вкратце коснуться молекулярных основ клеточной адгезии и так называемых САМов (Cellular Adhesion Molecules), с изучением которых связывают надежды на понимание того, как линейный генетический код «прочитывается» в онтогенезе, разворачиваясь в трехмерную структуру организма.

Многие стороны морфогенеза могут быть поняты и объяснены особенностями временной и пространственной экспрессии соответствующих генов и активностью веществ адгезии в эмбриональных клетках.

Полагают, что существует не более десяти молекул клеточной адгезии, которые, располагаясь на поверхности клеток, через специфику клеточных контактов определяют морфологию развивающегося организма. Модуляцией свойств молекул адгезии можно объяснить всю динамику и всю мозаику отношений между клетками зародыша через изменение адгезивных отношений между ними, а через него — влияние на деление, дифференцировку, миграцию и гибель клеток.

Рассмотрим три отдельные молекулы адгезии (САМ): N-САМ (молекулы адгезии нейтральных клеток); L-САМ (молекулы адгезии клеток печени); Ng-САМ (молекулы адгезии нейроглиальных клеток). Все они были выделены как специфические очищенные белки, и преинкубация с соответствующими антителами нейтрализовала их активность и ингибировала адгезию.

N-САМ существует в двух модификациях. В эмбриональной (EN), содержащей очень много сиаловой кислоты, и взрослой (AN), которая включает треть сиаловой кислоты по сравнению с эмбриональной и синтезируется *de novo*.

По данным электрофореза, N-САМ состоит из двух отдельно мигрирующих компонентов (Mг 170 000 и 140 000 Да) и минорного компонента (Mг 120 000 Да). По составу и последовательности соединения аминокислот E- и A-формы N-САМ идентичны.

Активация N-САМ кальцийнезависима. Активированный N-САМ осуществляет адгезию однородных клеток (гомофилетическую), хорошо показанную на искусственных липидных мембранных пузырьках, в которые был встроен очищенный N-САМ. Такие пузырьки агрегировали друг с другом, но агрегация блокировалась антителами к N-САМ и не шла с пузырьками, не содержащими N-САМ. На этой модельной системе было показано, что двукратное повышение концентрации N-САМ в 30 раз увеличивает адгезию пузырьков.

A-форма N-САМ (с более низким содержанием сиаловой кислоты) осуществляет адгезию в 4 раза быстрее, чем E-форма. В эволюции активность высококонсервативна, что показано методом кроссвидовой адгезии с использованием этих веществ из мозга лягушки, цыплят и мышей.

L-САМ, подобно N-САМ, представляет собой гликопротеин, аминокотерминальная часть которого служит для клетка-клеточного взаимодействия, а карбоксилтерминальная часть закрепляет молекулу в цитомембране. L-САМ состоит только из одной полипептидной цепи (Mг 124 000 Да), структура которой в течение развития не меняется. L-САМ работает в присутствии кальция, осуществляя адгезию однородных клеток (гомофилетическую). N- и L-САМы первичны, т. е. осуществляют адгезию структур на ранних стадиях онтогенеза. Есть и вторичные САМы, участвующие в частных гистогенезах, например Ng-САМ, осуществляющие сли-

пание нейронов с клетками глии. Адгезия здесь кальцийзависимая. Ng-САМ не содержит заметных количеств полисиаловой кислоты и не меняет своей структуры в процессе развития.

В развитии нервной системы в эмбриогенезе цыпленка N- и L-САМы определяются на очень ранних стадиях и выступают, таким образом, как первичные. Они обнаруживаются более чем в одном зародышевом слое и выявляются в делящихся клетках. Ng-САМ (в противоположность N- и L-САМам) есть только в производных нейроэктодермы, он активен в постмитотических клетках и поэтому определяется как вторичный.

Развитие нервной системы можно представить в виде двух больших стадий:

- 1) индукция нервной системы, образование нервной трубки;
- 2) гистогенез и установление структурных связей, определяющих функциональную активность ЦНС.

На первой стадии — индукции — вариации количеств N- и L-САМ отражают границы нервной пластинки. На второй стадии — гистогенезе — появляется Ng-САМ, а L-САМ исчезает. N-САМ есть на стадии гистогенеза и у взрослых форм, но в перинатальный период меняет E-форму на A-форму.

N- и L-САМы коэкспрессируются в клетках бластодермы. На стадии 10 сомитов у цыпленка, т. е. когда нейруляция выражена, N-САМ собирается в районе нервной пластинки и исчезает из латеральной эктодермы. Позднее активность N-САМ возобновляется в области латеральной эктодермы, в месте формирования хрусталиковых и фарингиальной плакод. В противоположность этому активность L-САМ утрачивается в районе нервной пластинки, но сохраняется в области латеральной эктодермы.

Нервная пластинка превращается в нервную трубку, состоящую из нейроэпителиальных клеток. В ней предшественники нейральных и глиальных клеток являются N-САМ позитивными, а L- и Ng-САМ негативными.

Ng-САМ сосредотачиваются в вентральном районе нервной трубки на стадии 31 сомита. В это время Ng-САМ содержится в нейритах, которые образуют белое вещество спинного мозга, но отсутствуют в телах нейронов. По мере роста нейритов Ng-САМ активируется там, где отросток увеличивается, а по мере стабилизации и миелинизации исчезает из миелинизированных трактов. В центральной нервной системе взрослых животных Ng-САМ остается только в немиелинизированных трактах (обонятельный).

N-молекулы в противоположность Ng-САМ присутствуют в телах и нейритах всех клеток нервной системы, но количество и состав N-САМ неодинаковы (A- и E- формы) в разное время в разных областях нервной системы.

В каждой области развивающегося мозга количество N-САМ снижается по мере взросления. К трем неделям оно достигает взрос-

лого уровня, т.е. 1/3 от пика. Е-форма (характерная для зародыша) заменяется А-формой (характерной для взрослых) постепенно между 1-й и 3-й неделями после рождения. Отношение Е-формы к А-форме в разных местах мозга неодинаково, что, вероятно, отражает необходимую там силу адгезии, ибо следует иметь в виду, что двукратное увеличение концентрации молекул приводит к 30-кратному возрастанию адгезии. Сначала уровень EN-молекул отражает стадию ускоренного роста нервных пучков и необходимость достижения контакта, поэтому концентрация относительно невысокая. Во время функциональной стабилизации, обуславливающей прочную структурную организацию, EN-САМы заменяются высокоадгезивной А-формой, фиксирующей нервные связи. Гипотеза подтверждается мутантными мышами, страдающими вертячкой. У них замедлена Е—А-конверсия, и в гранулярном слое клетки Пуркинье не формируют зрелых синапсов.

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ РАЗВИТИЯ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

В настоящее время нейральную индукцию объясняют взаимодействием активаторов и ингибиторов — полипептидных сигнальных молекул. К их числу относят следующие:

1. *Ноггин (noggin)* — в чистом виде вызывает нейтрализацию в наномолярных концентрациях, тогда как другие сигнальные факторы — в пикомолярных.

2. *Фоллистатин (follistatin)* — идентифицирован у млекопитающих как секретируемый белок, ингибирующий высвобождение активин-релизинг-фактора. Активин секретируется также шпемановским организатором амфибий и в низких концентрациях поддерживает эпидермальную дифференцировку эктодермы. У зародышей амфибий фоллистатин участвует в процессах нейральной индукции (см. гл. 7). Он экспрессируется в шпемановском организаторе и, подобно ноггину, вызывает нейтрализацию эмбриональной эктодермы при инъекциях его иРНК. При этом эффект зависит от дозы. Так как активин поддерживает эпидермальную дифференцировку, то полагают, что нейтрализующее действие фоллистатина опосредовано активином. Связываясь активином, фоллистатин открывает эктодерме путь к нейродифференцировке.

3. *Хордин (chordin)* — экспрессируется уже в презумптивном «организаторе» на поздней бластуле, продолжает нарабатываться в собственно организаторе на гастрале и затем исключительно в хорде (поэтому хордин). Инъекция его иРНК в вентральную часть бластулы вызывает образование дополнительных осевых комплексов, а добавление очищенного хордина в культуральную среду с эксплантатами эктодермы гастралы вызывает их нейтрализацию. Полагают, что он действует, создавая градиент вычитания и тем са-

мым дорзализирует ткани, связываясь с вентрализаторами BMPs (bone morphogenetic proteins). BMPs также экспрессируются в шпемановском организаторе и других структурах ранних зародышей амфибий. Подобно тому как фоллистатин связывается с активином, хордин связывается с BMPs, оставляя эктодерме путь к нейральной дифференцировке.

4. *Ген церберус (cerberus)* — экспрессируется в глубоких слоях организатора, активируясь фоллистатином, хордином и ноггином. Второй по представленности в организаторе после хордина. Белок его не выявлен. КДНК церберуса кодирует 270-й аминокислотный полипептид, не имеющий гомологии с другими белками. иРНК церберуса *in vitro* и при эктопической инъекции *in vivo* индуцирует переднеголовные части мозга. В шпемановском организаторе найдены ростовые факторы млекопитающих, способные нейтрализовать эктодерму ранних гастрал амфибий.

5. *Xnr3* — принадлежит к надсемейству TGF (трансформирующие рост). Инъекция иРНК *Xnr3* вызывает нейтрализацию эктодермы.

6. *FGF3* и *FGF4*. Принадлежит к семейству FGF (факторы роста фибробластов). Способны нейтрализовать клетки эктодермы *in vitro* при условии их дезинтеграции. Если эктодерма не дезинтегрирована на клетки, то только очень высокие нефизиологические концентрации FGF3 и FGF4 нейтрализуют ее. Полагают, что они служат факторами экспансии нейральной дифференцировки в эктодерме и действуют совместно с другими нейрализаторами (Л. И. Корочкин, А. В. Михайлов, 2000). Наряду с секретируемыми организатором сигнальными полипептидами-эффекторами в нейтрализации эктодермы участвуют гомеобоксодержащие гены, экспрессируемые в нем.

7. *Xlim1* — относится к семейству Lim. Иницирует экспрессию хордина (но не ноггина и фоллистатина). иРНК *Xlim1* индуцирует синтез нейроспецифических транскриптов в эктодерме гастралы.

8. *Saimois* — вместе с *Xlim1* определяет способность шпемановского организатора к индукции головных структур. Экспрессируется на поздней бластуле—ранней гастрале в начальный период нейрализующей активности шпемановского организатора.

В опытах с дезинтеграцией эктодермы *in vitro* наблюдали эффект аутонейрализации клеток. На эктодермальных клетках есть рецепторы к мезодермализующим, эпидермализующим и нейрализующим факторам. Как указывалось выше, шпемановский организатор секретирует эндогенный фоллистатин, который инактивирует активин, вызывающий мезодермализацию и эпидермализацию эктодермы и приводит к нейрализации. Это свидетельствует о том, что сигнальные молекулы, секретируемые шпемановским организатором, являются «инструктивной» причиной нейрализации и лишь снимают запреты на нее. Это так называемая «де-

фолт»-гипотеза нейтрализации. Согласно гипотезе «уклонения» ранних стадиях индуцируется эпидермальный путь развития эктодермы. Шпемановский организатор секреторирует факторы, ингибирующие этот путь. При этом возникают две возможные трактовки последующей нейтрализации:

1) либо клетки эктодермы следуют по эпидермальному пути, сохраняя способность к нейтрализации, что и проявляется, когда они освобождаются из-под эпидермализующего контроля;

2) либо уход из-под эпидермализующего контроля — всего лишь предпосылка к началу последующих преобразований в направлении нейтрализации под влиянием специфических воздействий.

Л. И. Корочкин считает более вероятным второй путь. Согласно его гипотезе, об этом свидетельствует множество обнаруженных нейтральных индукторов. Действуя в высоких концентрациях, они связывают факторы эпидермальной дифференцировки и (или) инактивируют их клеточные рецепторы. Другие факторы, активные в относительно низких концентрациях, действуют как специфические нейтрализаторы. Они могут секретироваться не только шпемановским организатором, но и, как показывают опыты, с помощью нейтрализованными клетками (гомологическая индукция) и действовать (горизонтально) на соседние клетки своими эндогенными факторами по механизму ауто- и (или) паракринной регуляции. Возможно, механизм нейтральной индукции состоит в активации к этим факторам рецепторов, находящихся на эктодермальных клетках.

ЭМБРИОНАЛЬНАЯ ИНДУКЦИЯ

КЛАССИЧЕСКИЙ ПЕРИОД РАБОТЫ ШКОЛЫ ШПЕМАНА

В конце XIX в. настала эра экспериментальной эмбриологии, которая продолжается и сейчас. Начавшись с микрохирургических экспериментов на ранних стадиях развития животных, главным образом амфибиях, сегодня она использует методы молекулярной биологии и генетики. При этом между работами классиков экспериментальной эмбриологии (главным образом эмбриологов-микрохирургов) и работами современных биологов развития (эмбриологов — молекулярных биологов) сохраняется идейная преемственность. Это означает, что поставленные классиками задачи решаются и сегодня, приближая исследователей к более глубокому пониманию механизмов, управляющих индивидуальным развитием. Одна из самых плодотворных теорий развития, которая объединяет усилия эмбриологов на протяжении всего XX в. и по настоящее время, — теория эмбриональной индукции.

Экспериментальная разработка будущей теории началась с разнообразных опытов по пересадке закладок у ранних зародышей амфибий в лаборатории Ганса Шпемана. Сначала в опытах по пересадке эктодермы из области будущей нервной системы в различные места зародыша на стадии ранней гаструлы — в область дорзальной губы бластопора, в область презумптивной нервной пластинки, в область покровов была показана зависимость судьбы трансплантата от дифференцировки клеток окружения. В области дорзальной губы бластопора трансплантат становился ее частью, в области презумптивной нервной пластинки — частью нервной пластинки, а затем и трубки (G. Spemann, 1921). Однако, когда таким же образом пересаживали материал дорзальной губы бластопора, трансплантат вел себя иначе: его клетки инвагинировали под эктодерму хозяина точно так же, как это было бы в районе



ГАНС ШПЕМАН

собственного бластопора. Под эктодермой хозяина трансплантат дифференцировался в хорду (G. Spemann, H. Mangold, 1924). Используя непигментированный трансплантат из дорзальной губы бластопора тритона (*Triturus cristatus*) и поместив его вблизи бластопора пигментированного хозяина (*T. taeniatus*), исследователи обнаружили, что при этом на теле хозяина формировался фактически еще один зародыш. У этого зародыша развивались хорда, сомиты, нервная трубка, дифференцированная на головной и спинной отделы, а в энтодерме хозяина возникал дополнительный кишечный канал. Различия в пигментации клеток трансплантата и хозяина позволили установить, что хорда развивалась исключительно из клеток трансплантата, сомиты были частично образованы клетками трансплантата, а частично — хозяина и небольшая часть клеток трансплантата вошла в состав нервной трубки нового организма, которая была выполнена главным образом клетками хозяина (рис. 63). Из опытов следовали два важных вывода:

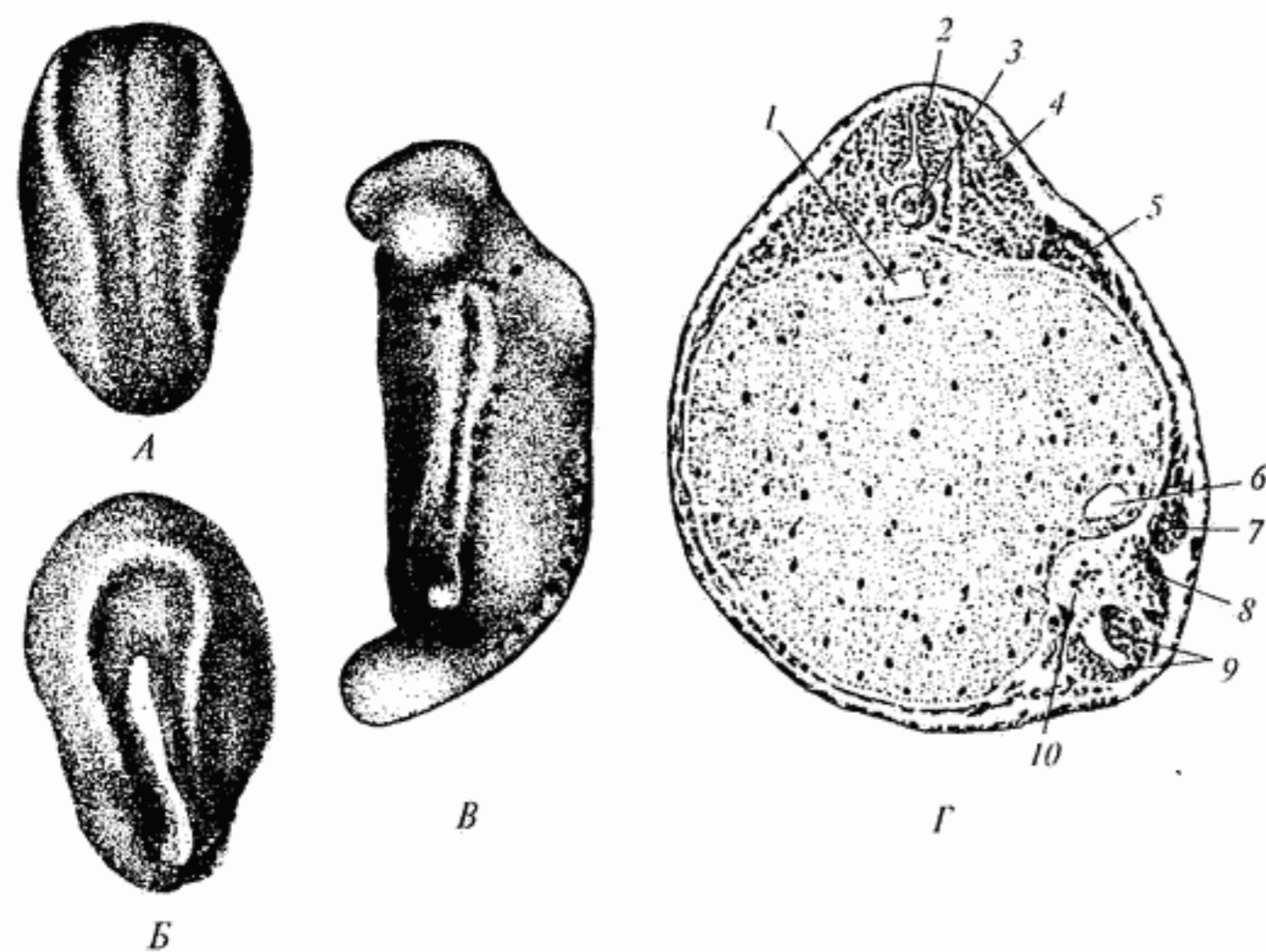


Рис. 63. Индукция дополнительного эмбриона у тритона (реципиент) пересаженным кусочком губы бластопора (по В. Balinsky, 1965):

А — вид реципиента со стороны нервной трубки; Б — то же, со стороны индуцированной нервной трубки; В — то же, зародыш на стадии почки хвоста; Г — то же, на поперечном срезе; 1 — просвет кишки реципиента; 2 — нервная трубка; 3 — хорда; 4 — сомит; 5 — почечный канал; 6 — просвет индуцированной кишки; 7 — индуцированный почечный канал; 8 — сомит индуцированного эмбриона; 9 — индуцированная нервная трубка; 10 — подсаженная хорда

1. Судьба материала трансплантата (дорзальной губы бластопора) определена и не зависит от окружения.

2. Пересаженный материал дорзальной губы влияет на судьбу окружающих его клеток хозяина таким образом, что покровная эктодерма превращается в дополнительную нервную трубку, мезодерма — в осевую мезодерму, а в энтодерме формируется дополнительный кишечный канал.

Все эти структуры возникли под влиянием трансплантата — клеток дорзальной губы бластопора. Явление, при котором одна структура развивается в зависимости от присутствия и под влиянием другой, получило название эмбриональной индукции. Структура — источник определяющих и организующих развитие влияний — получила название индуктора или организатора. Последующие, более тщательные исследования показали, что вся дополнительная центральная нервная система может быть построена из клеток хозяина, а трансплантат — индуктор становился хордой, сомитами и прехордальной пластинкой, если он содержал материал из соответствующих презумптивных областей (Н. Bautzmann, 1926).

Представление о развитии, при котором одна саморазвивающаяся часть выступает как причина становления другой, а сам онтогенез представляет собой последовательную цепь таких событий, в работах Г. Шпемана и его школы оформилось в теорию эмбриональной индукции. Первой самоопределяющейся частью зародыша амфибий была дорзальная губа бластопора и возникающие из нее структуры. Именно ее независимое развитие в опытах с ее пересадками ранним зародышам давало импульс к включению всей цепи развития. Поэтому дорзальная губа бластопора была названа первичным организатором развития или индуктором. Значение теории эмбриональной индукции трудно переоценить. Она определила направление поисков экспериментальных эмбриологов и биологов развития от момента создания и на протяжении всего XX в. Современные исследования молекулярно-генетических механизмов развития также во многом с ней связаны. В процессе разработки этой теории изменялись приоритеты и подходы, находились существенные поправки к ней. Однако и сегодня исследователи предпочитают придерживаться намеченного ею направления.

Уже к 30-м годам XX в. было известно, что верхняя губа бластопора амфибий обладает организующим воздействием на окружающие ее части зародыша. Когда рассматривалась самоорганизация структур, проходящих через дорзальную губу бластопора и зависящая от нее организация нервной пластинки и нервной трубки, предполагалось, что организующие стимулы исходят из области организатора еще до гаструляции и после гаструляции. В первом случае они воздействуют сквозь клетки зародыша. В после-

днем случае их источник — клетки крыши первичной кишки, образованной из организатора.

Была показана региональная специфичность материала индуктора. Так, дорзальная губа бластопора, взятая со стадии ранней гаструлы, при пересадке ее в бластоцель действовала как организатор дополнительной головы, со средней гаструлы — как организатор туловища. Это соответствовало такому же действию первичной кишки на лежащую поверх эктодерму. Оба предполагаемых способа действия первичного организатора подтверждали и результаты опытов, в которых презумптивная нервная система зародыша над крышей первичной кишки заменялась презумптивной покровной эктодермой донора и затем дифференцировалась в нервную систему. Но уже тогда исследователи показали, что и сама бластула имеет лабильную организацию и что ее возникновение связано с обретением зародышем билатеральной симметрии при оплодотворении яйцеклетки. Это чрезвычайно важное наблюдение только в наше время нашло подтверждение и объяснение на молекулярном уровне. Тогда же представлялось, что организатор действует в две фазы. На первой (до гаструляции) он функционирует как часть градиент-поля и как бы зарисовывает презумптивные области «в карандаше». На второй фазе «он проходит по тем же линиям несмываемой тушью» (Д.Гексли, 1936).

СОБЫТИЯ РАННЕГО РАЗВИТИЯ И ПРОЦЕСС ИНДУКЦИИ

На первой фазе сам организатор еще не связан с определенным типом преддетерминированных клеток в том смысле, что клетки презумптивного эпидермиса, пересаженные в область организатора, приобретают его свойства и становятся его частью (Spemann, Geinitz, 1927). Это может свидетельствовать как о том, что здесь существует так называемая гомогенетическая индукция (в отличие от гетерогенетической, когда клетки реагирующей ткани превращаются в иной тип клеток, нежели клетки индуктора), так и о том, что свойства организатора связаны с тем, что его клетки занимают определенное место в зародыше. Но исследователи классического периода в становлении теории эмбриональной индукции в понятие «организатор» включали и материал серого серпа на том основании, что кортикальный слой цитоплазмы, занимаемый серым серпом в оплодотворенной яйцеклетке, затем распределяется между клетками презумптивной дорзальной губы бластопора. Достаточные основания для признания формоорганизующей роли материала серого серпа дали результаты опытов по изоляции бластомеров в раннем дроблении. Было показано, что только бластомеры, содержавшие материал серого серпа, способны к дроблению и дифференцировке. Определяющая роль серого сер-

па в детерминации клеток организатора позже была подтверждена в прямых опытах Кертиса по удалению и пересадкам цитоплазмы серого серпа (A. S. G. Curtis, 1960, 1969). Без серого серпа яйцеклетка только дробилась, а серп вызывал образование дополнительной дорзальной губы бластопора. Но серый серп в процессе оплодотворения формируется в результате активации и так называемого поворота оплодотворения. Вследствие этого поворота и формирования серого серпа (образуется на диаметрально противоположной стороне по отношению к месту вхождения сперматозоида из-за частичного оттока гранул пигмента в границах серпа) определяются плоскость билатеральной симметрии, а также анте-риопостериорная и дорзовентральная оси зародыша.

Анимально-вегетативная ось яйца и раннего зародыша задаются распределением желтка в градиенте поля тяжести. Дорзовентральная ось и билатеральная симметрия задаются расположением серого серпа. Однако в опытах с искусственным партеногенезом у амфибий (укол иглой, смоченной кровью животного) было показано, что становление сагиттальной плоскости не связано с местом укола и, следовательно, в неоплодотворенном яйце уже имеется преддетерминированная плоскость ее образования. Эта преддетерминированная плоскость выявляется при «слабом», т. е. искусственном активаторе развития, но легко заменяется новой плоскостью при активации «сильным» сперматозоидом (B. Betellion, 1910; J. Brachet, 1911).

СВОЙСТВА ПЕРВИЧНОГО ОРГАНИЗАТОРА

Далее получение дифференцированной структуры в развитии связывали с двумя источниками — с организатором и с реагирующей тканью. В многочисленных опытах с пересадками организатора (гомо-, гетеро- и ксенопластических) даже чужой организатор вызывал видоспецифический морфогенетический ответ реципиента.

Первичный организатор был открыт на хвостатых амфибиях. Вскоре гомологичные ему структуры были найдены у всех позвоночных и низших хордовых. Правда, у низших хордовых предварительная разметка «в карандаше» выражена сильнее. Все события морфогенеза в самой дорзальной губе бластопора и вокруг нее в конце концов сконцентрировали внимание исследователей на развитии центральной нервной системы как самом заметном и сложном процессе зависимого развития. Индукция нервной пластинки подлежащей хордо-мезодермой предполагает анализ природы воздействий, оказываемых индуктором на реагирующую эктодерму. Сам активный участок — индуктор, будучи самодостаточным в развитии, является организатором развития в целом. При этом

Шпеман говорил, что термин «организатор» не просто метафора и что процесс организации следует относить к тем процессам, которые невозможно понять, несмотря на знание тонкостей работающих в нем механизмов. Тем не менее это мнение творца теории не остановило попыток и его современников, и последующих поколений исследователей изучать физико-химическую природу факторов индукции.

Первым был поставлен и решен вопрос о том, обязательно ли индуктор центральной нервной системы должен быть живым? Оказалось, что организатор — дорзальная губа бластопора, будучи убит кипячением, замораживанием, спиртом и т. п., при пересадке в раннюю гастралу вызывал образование дополнительной нервной пластинки. Таким образом, жизненная активность индуктора не обязательна для индукции.

Далее решался вопрос о том, необходим ли прямой контакт между индуктором (крышей первичной кишки) и реагирующей эктодермой ранней гастралы. В условиях *in vivo* этот контакт предотвратить трудно. Поэтому в опытах *in vitro* между крышей первичной кишки и эктодермой гастралы ставили 20-микронный миллиметровый фильтр с диаметром пор 0,8 мк, через которые могли проникать очень большие молекулы, включая молекулы белка (L. Saxen, 1961). В этих условиях презумптивная эктодерма реагировала образованием нейральных структур.

Из сказанного следует, что индукция опосредуется действием некоторых химических соединений. Сложность их идентификации связана с исчезающе малым и поэтому недостаточным для химического анализа количеством вещества индуктора. Ее пытались преодолеть как путем подбора химических индукторов известной природы, так и поиском иных, нежели архентерон, факторов воздействия (иные ткани). Первоначально нашли, что сама начавшая дифференцироваться нервная пластинка может стать фактором собственной индукции (H. Mangold, G. Spemann, 1927). Нейроиндуктивными свойствами обладали и производные дифференцировки нервной пластинки — кусочки головного мозга. Затем было показано, что и хорда, и осевая мезодерма еще длительное время после того, как индукция нервной пластинки произошла, сохраняют индукционную способность. В этих обстоятельствах все перечисленные индукторы могли быть названы атипичными. Далее оказалось, что эффективны ткани печени, почки, мышцы, кишки, кожи и многие другие так называемые гетерогенные индукторы (J. Holtfreter, 1934). Пересаженные в бластоцель амфибий ксенотрансплантаты (ткани гидры, насекомых, рыб, рептилий, птиц, млекопитающих) действовали как индукторы. Из этих опытов следовало, что либо индуцирующее вещество широко распространено, либо что индуктором могут выступать самые разные вещества. Было замечено, что если нормальный индуктор сохра-

няет индукцию, будучи убитым, то к этому способны и многие атипичные индукторы и, более того, некоторые из них именно тогда и приобретают свойства индуктора.

Попытки изолировать активное начало из индуцирующих тканей предприняли С. Уоддингтон и Дж. Нидхэм (С. H. Waddington, D. M. Needham et al., 1934), которые использовали для этого эфирные экстракты из тканей эмбрионов амфибий и печени человека и установили их способность к индукции нервной пластинки. Дальнейшая очистка показала, что это вещества стероидной группы. Затем, взяв различные чистые стероиды, эмульгировав их яичным альбумином и коагулировав его, кусочки коагулята подсаживали в бластоцель ранних гастрал и наблюдали слабый индукционный эффект нервной пластинки. Авторы решили, что индуктор — стероид. Однако вскоре было показано, что активным оказался и водный экстракт, выделенный после длительного кипячения мышц (W. Wehmigier, 1934). Выяснилось, что нейрализующее воздействие на презумптивную эктодерму оказывают слабые органические кислоты, выдерживание эксплантата презумптивной эктодермы в слабом растворе метиленового голубого (С. H. Waddington, D. M. Needham, J. Brachet, 1936). Нейрализацию вызывает короткая экспозиция презумптивной эктодермы в солевом растворе с рН ниже 5 или выше 9,2 (J. Holtfreter, 1947). Индукция нервной системы может, наконец, стать следствием цитолиза части клеток самой эктодермы. Очевидно, что во всех этих случаях механизм контроля направленной дифференцировки отличается от механизма действия индуктора в норме, так как там нет заметных изменений рН и не наблюдается цитолиз клеток эктодермы.

Однако случаи самоиндукции, при которой частично поврежденные ткани индуцируют гомологичные себе образования, свидетельствуют также о выходе из клеток активных веществ, вызывающих индукцию (M. C. Niu, V. C. Twitty, 1953; M. C. Niu, 1956). Их малые количества затрудняют идентификацию. Путем длительного культивирования тканей изучаемого индуктора в солевом растворе получали среду, обогащенную выделяемыми им веществами. После этого в висячую каплю такой среды помещали презумптивную эктодерму. В такой обогащенной выделениями индуктора среде презумптивная эктодерма претерпевала нейральную дифференцировку в отсутствие самого индуктора. Однако и в обогащенной среде веществ для химической идентификации индуктора также не хватало, но в ней выявлялись следы РНК и белки. Обработка среды рибонуклеазой не влияла на эффект индукции, а обработка трипсином снимала его. Таким образом, было показано, что вещество, вызывающее индукцию, имеет белковую природу (M. C. Niu, 1956).

Химическую природу индукторов изучали Т. Ямада и К. Таката в Японии (T. Yamada, K. Takata, 1961) и Тидеман в Германии

(Н. Tiedemann, 1962). В их работах была подтверждена белковая природа индукторов и выявлена его дозовая активность (0,0001–0,002 мг). Белковые факторы индукции различно реагируют на тепловую обработку: при кипячении сначала исчезают нейрализующие свойства, а затем мезодермализующие. Это позволяет говорить о двух началах индукции — нейрализующем и мезодермализующем (Н. Н. Чжуан, 1940; С. Тойвонен, 1940). Возникновение всего многообразия дифференцировок в онтогенезе объясняется ответом тканей-реагентов на градиент нейрализующих и мезодермализующих веществ и на их совместное действие в зоне перекрытия. Мезодермализующий фактор не действует в самой передней части зародыша, там, где дифференцируется прехордальная пластинка, и усиливается в краниокаудальном направлении. Нейрализующее начало равномерно распределено в краниокаудальном направлении и уменьшается в латерально-вентральном направлении, создавая градиент. Сочетание градиентов дает все разнообразие дифференцировок. Л. Саксен и С. Тойвонен, сочетая и комбинируя нейрализующий (печень) и мезодермализующий индуктор (клетки HeLa), получили все многообразие региональных ответов на действие индукторов (Л. Саксен, С. Тойвонен, 1955, 1961).

РАБОТЫ П. НЬЮКУПА ПО ЭМБРИОНАЛЬНОЙ ИНДУКЦИИ

В организаторе сосредоточены два начала — нейрализующее и мезодермализующее. По логике, нейрализующее начало должно быть исходящим из организатора и направленным вовне. Мезодермализующее относится к самому организатору, поскольку он сам презумптивная хордомезодерма. В этом случае, как полагал Г. Шпеман, это начало либо сразу должно быть присуще организатору, либо инициируется в нем извне. В последнем случае должен существовать внешний по отношению к нему организатор организатора. Именно это было установлено в опытах П. Ньюкупа (P. D. Nieuwkoop, 1969, 1973, 1977), который показал значение презумптивной энтодермы в индукции мезодермы (рис. 64). Ученый удалял пояс экваториальных клеток у бластулы шпорцевой лягушки и выявил, что оставшиеся анимальная и вегетативная части бластулы по отдельности не способны к образованию мезодермы. Однако когда эти две части совмещались, то клетки анимальной части на границе с вегетативной восстанавливали способность к образованию мезодермы. На стадии 32–64-клеточного зародыша (стадия ранней бластулы) бластомеры, геометрически соответствующие будущим клеткам хордо-мезодермального пояса, при эксплантации превращаются в клетки ресничной эктодермы. Способность дифференцироваться в производные мезодермы при-

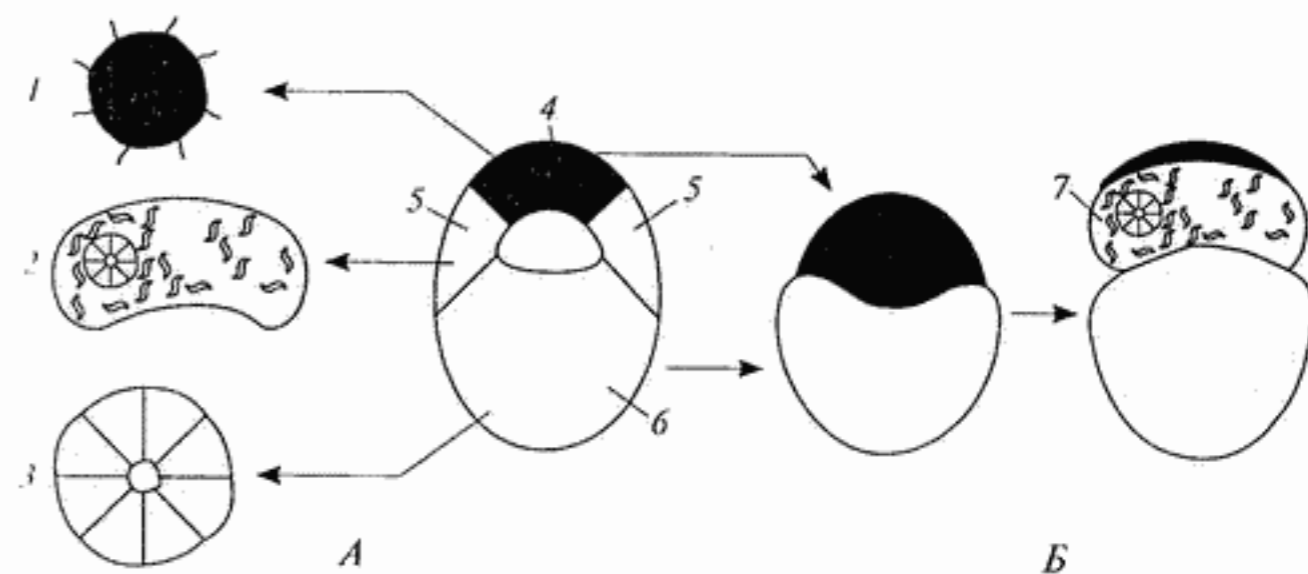


Рис. 64. Обобщение опытов П. Ньюкупа, Накамуры и Тагасаки, показывающие индукцию мезодермы клетками энтодермы вегетативного полушария:

А — изолированные клетки анимальной чаши превращаются в ресничный эпидермис (1). Изолированная вегетативная часть зародыша образует клетки энтодермы кишечника (3), а экваториальная (пограничная) часть зародыша становится мезодермой (2); Б — индукция мезодермы клетками энтодермы вегетативного полушария. Если удалить экваториальные клетки (5) и анимальную чашу (4) соединить с вегетативной (6), то многие клетки анимальной чаши превращаются в мезодерму (7)

обретается клетками этой части постепенно — к стадии средней бластулы в процессе взаимодействия клеток вегетативного и анимального полушария. Таким образом, после опытов Ньюкупа уже можно говорить об индукции первичного организатора (по Г. Шпеману) некоторым предшественником, а именно ньюкуповским организатором (рис. 65).

Мезодермализующий сигнал исходит от вентральных клеток презумптивной энтодермы и направляет лежащие над ней клетки в вентральную, боковую и дорзальную мезодерму (L. Dale, J. M. Slack, 1987).

В настоящее время развитие рассматривается как цепь следующих событий: образование переднезадней оси и радиальной симметрии — стадия оогенеза; формирование билатеральной симметрии и дорзовентральной плоскости вследствие поворота оплодотворения и образования серого серпа — стадия оплодотворения; закладка ньюкуповского центра организации — процесс дробления, стадия средней бластулы; образование первичного организатора — шпемановского индуктора — дробление, стадия поздней бластулы. Как следствие этих событий, начинаются и совершаются процессы гастрюляции и далее осуществляется собственно индукция нервной системы (нейруляция).

При рассмотрении эмбриональной индукции серьезное внимание следует обратить на химическую «предразметку» раннего

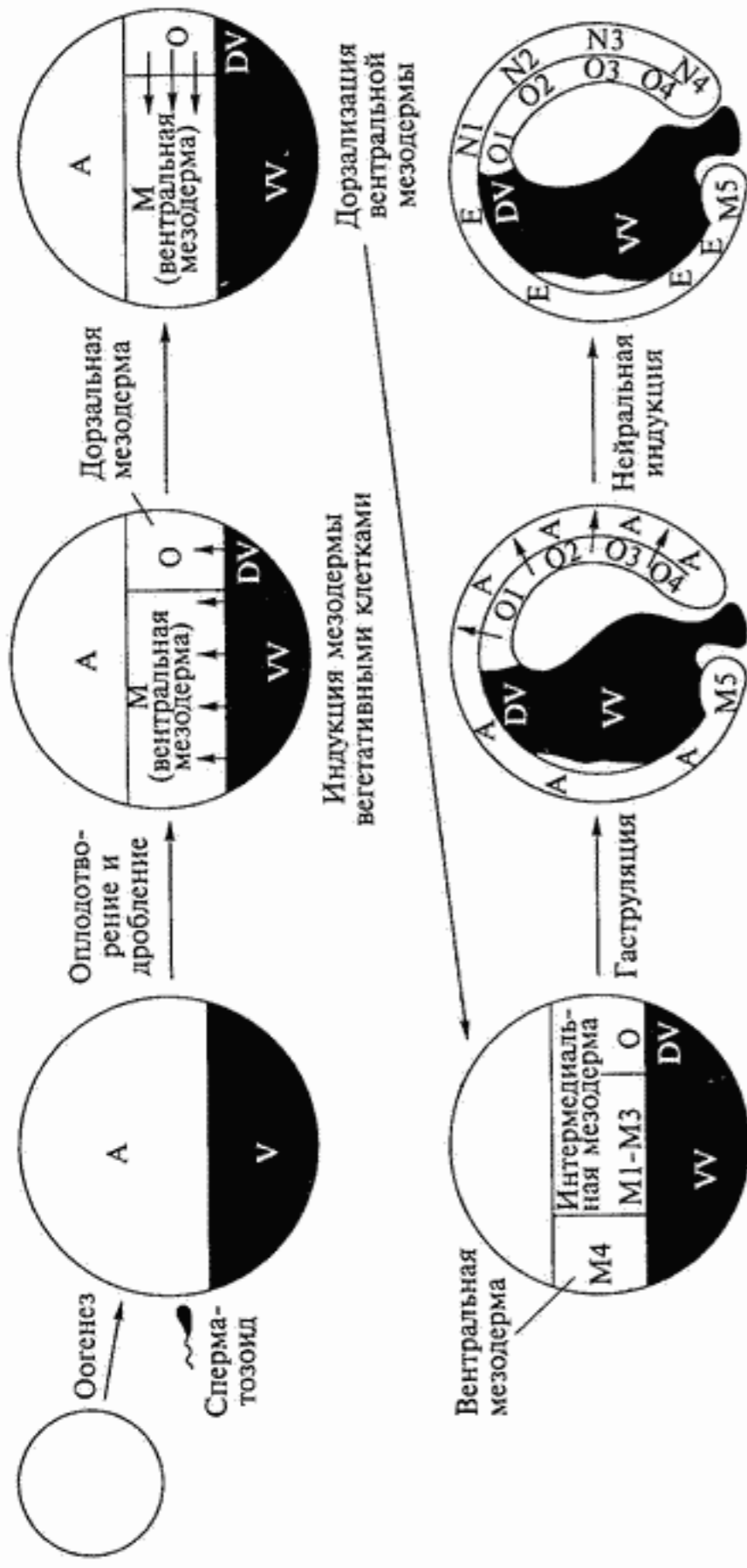


Рис. 65. Индукционные взаимодействия в раннем развитии зародыша *Xenopus* (J.C. Smith et al., 1985). В процессе оогенеза устанавливается анимально-вегетативная ось. Сегрегация цитоплазмы после оплодотворения разделяет зиготу на дорзальную вегетативную (DV) и вентровегетативную (VV) части (будущая эктодерма зачернена). В процессе дробления происходит индукция мезодермы. При этом DV часть зародыша индуцирует организатор (O — будущая хорда — O1—O4) в дорзальных краевых клетках, расположенных выше, а VV индуцирует превращение в мезодерму расположенные выше клетки (M — M1—M4). В процессе гаструляции вентральная M5 и латеральная (на срез полагает) мезодермы располагаются по бокам и внизу гаструлы, а экспансия дорзальной мезодермы (хорды O1—O4) определяет полярность клеток эктодермы (A), расположенных над ней, которая дифференцируется соответственно в разные части нервной трубки (N1—N4). Неиндуцированная эктодерма (A) становится эпидермисом (E).

зародыша, в общем совпадающую с картой расположения презумптивных зачатков. Так, различие между покровной и нейральной презумптивными территориями отмечается уже у 8-клеточного зародыша. В бластомерах, по расположению соответствующих презумптивной покровной эктодерме, обнаруживается специфический маркер эпидермиса Epi—1 (P. D. Phillips et al., 1989). Становится четче граница между будущими покровной и нейральной эктодермами. Таким образом, по этому маркеру различия между вентральной и дорзальной эктодермами существуют еще до воздействия на них хордомезодермы. Сама «предразметка» обеспечивается работой материнских генов в период оогенеза. Если презумптивную нейральную эктодерму изъять из организма в самом начале гаструляции, до ее контакта с хордомезодермой, то ее клетки тем не менее уже синтезируют молекулы специфической адгезии клеток нервной системы — гликопротеин N-CAM. Здесь N-CAM используется как очень чувствительный маркер нейральной дифференцировки (K. E. Dixon, C. R. Kintner, 1989). Более того, эта «предразметка» касается и более ранних стадий развития. Как говорилось выше, в неоплодотворенной яйцеклетке даже место прохождения первой борозды дробления не случайно. Это место выявляется при искусственной активации «слабым» партеногенетическим активатором, хотя в норме определяется местом проникновения в яйцеклетку «сильного» активатора — сперматозоида.

Интересно, что презумптивная нейральная эктодерма быстрее реагирует на действие хордомезодермы, чем презумптивная покровная, клетки которой сначала должны потерять Epi—1 белок. Здесь, как и в предыдущем примере, предразметка нивелируется им и преодолевается «сильным» индуктором, хотя, видимо, и помогает ему, если совпадает с направлением его действия. Таким образом, следует констатировать, что в регуляторных яйцеклетках амфибий, как и в мозаичных, существует химическая предразметка. У регуляторных яиц в атипичных случаях развития (например, в эксперименте) она преодолевается действием индуктора и идет в русле направления его действия.

СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ ОБ ИНДУКЦИОННОМ ПРОЦЕССЕ

После опытов П. Ньюкупа стало известно, что вегетативные бластомеры в норме и эксперименте вызывают мезодермализацию граничащих с ними клеток анимальной части зародыша — проспективной эктомезодермы. Ньюкуповский центр организации расположен в наиболее дорзальных бластомерах вегетативной части зародыша *Xenopus*. В клетках презумптивной мезодермы клетки ньюкуповского центра вызывают экспрессию гена *Brachyury* (*Xbra*).

Протеин Xbra активирует гены, контролируемые специфически протеины мезодермы. Наиболее вероятный фактор воздействия вегетативных клеток на анимальные — бета-катенин, накопление которого начинается в дорзальной части яйцеклетки во время поворота оплодотворения и продолжается в течение всего дробления. Сначала его трансляция и накопление охватывают зоны обоих организаторов, но в течение последнего цикла дробления он локализуется в зоне ньюкуповского центра. Сначала бета-катенин синтезируется во всем зародыше. Главную роль в его распределении играет гликогенсинтазакиназа (Gsk-3), под влиянием которой бета-катенин деградирует. Но в области будущей дорзальной губы бластопора в кортикальном слое цитоплазмы яйцеклетки располагается белок Dsh (Dishevelled), являющийся супрессором Gsk-3. При вхождении сперматозоида в яйцеклетку с противоположной стороны из кортикальной цитоплазмы выходит Dsh, проникая в более глубокие слои цитоплазмы. Он располагается вдоль микротубулярных лучей, создавая градиент понижающейся концентрации. Такое распределение Dsh повышает градиент бета-катенина из глубоких слоев цитоплазмы кнаружи пропорционально угнетению его супрессора Gsk-3. Дорзовентральная плоскость зародыша устанавливается по градиенту распределения бета-катенина. Там он захватывает район ньюкуповского и шпемановского центров организации. В течение последнего деления дробления бета-катенин специфически располагается в ньюкуповском центре. Ньюкуповский центр остается в энтодерме, а шпемановский — в будущей хордомезодерме. Важнейшая роль в придании шпемановскому организатору присущих ему свойств принадлежит гену goosecoid. Белковый продукт гена goosecoid необходим для активации множества генов в шпемановском организаторе. Организующее влияние ньюкуповского центра осуществляется через его активацию. В активации goosecoid важная, хотя и не исчерпывающая, роль принадлежит гену ньюкуповского центра saimois. Этот ген активируется комбинацией бета-катенина как фактора транскрипции с имеющимся фактором Tef-3. Tef-3 самостоятельно ингибирует ген saimois, но в комбинации с бета-катенином активирует его. Активация происходит на стадии средней бластулы. Однако для создания шпемановского организатора одного гена saimois недостаточно.

Исследования показали, что максимальная экспрессия goosecoid наблюдается при совместном действии белков Vg 1, Veg T семейства Tgf- β и белков Nodal. Главная роль здесь принадлежит белкам Nodal. Их направленное ингибирование приводит к утрате индукции первичного организатора ньюкуповским организатором. В течение поздней бластулы эти белки экспрессируются в дорзовентральном градиенте. Шпемановский организатор возникает в зоне максимальной концентрации этих белков. Полная активация

goosecoid достигается путем совместного действия белков saimois с белками надсемейства Tgf-6.

Район экспрессии гена goosecoid практически совпадает с территорией, занимаемой первичным организатором Шпемана. Ген goosecoid выступает как регулятор других генов организатора, таких, например, как noggin, chordin, nodal, follistatin (см. гл. 7). Все они являются антагонистами факторов, вентрализирующих мезодерму и направляющих превращение эктодермы в эпидермис (рис. 66).

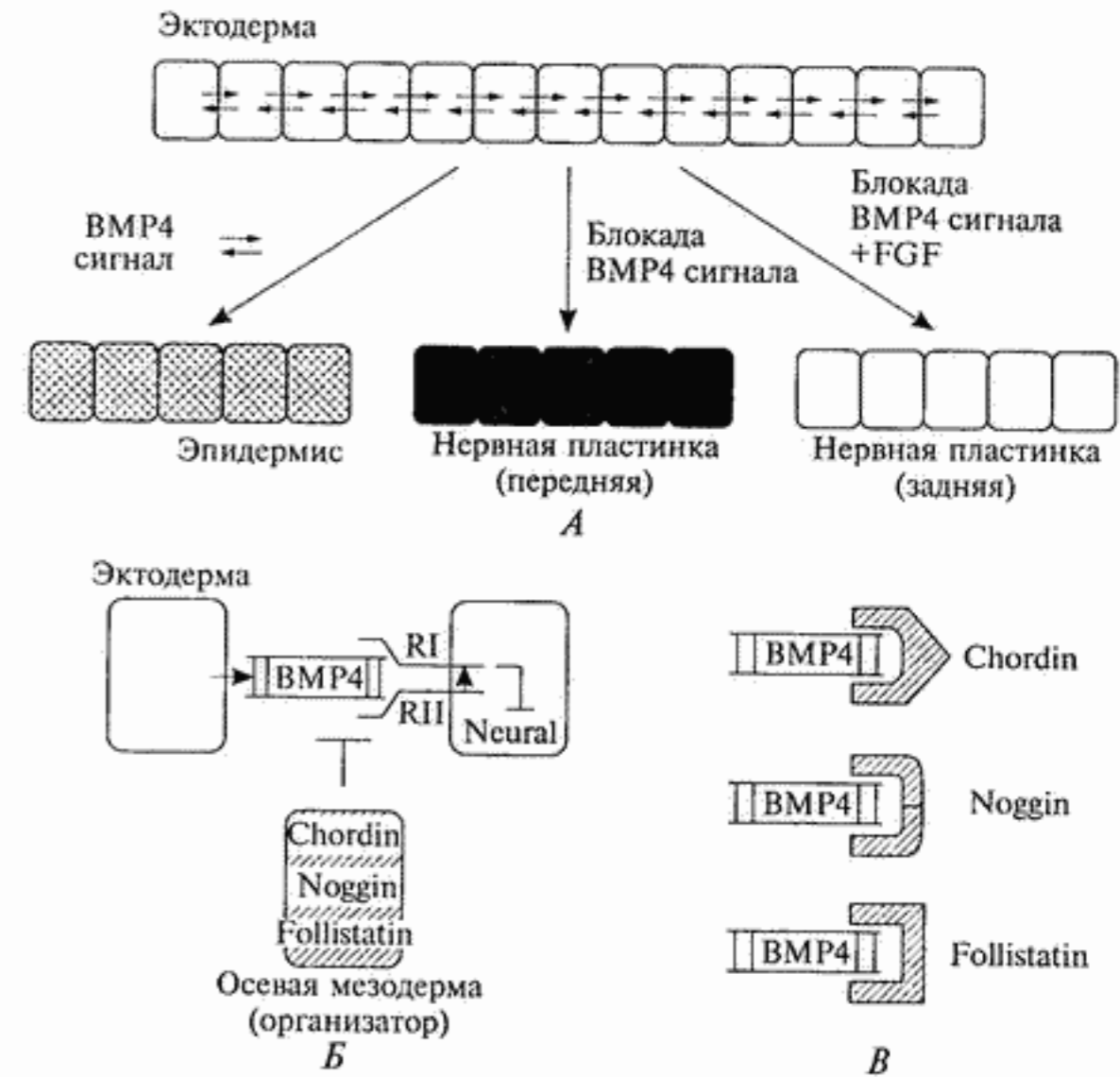


Рис. 66. Механизмы нейральной индукции у эмбрионов *Xenopus* (Л.И.Корочкин, 1999):

А — эктодермальные клетки анимального полюса гастрულიрующего эмбриона служат мишенью для стимулирующего сигнала, опосредованного белками BMP4 — фактора роста кости (стрелки), который способствует их дифференцировке в эпидерму. Блокада BMP4 сигнала вызывает формирование ткани передней нейральной пластинки. Выдерживание эктодермы с FGF (фактор роста фибробластов) при условии блокады BMP4 ведет к образованию ткани задней нейральной пластинки; Б — возможный механизм действия передних нейральных индукторов, производных проспективной осевой мезодермы (область организатора). Chordin, noggin и follistatin секретируются клетками организатора и индуцируют развитие нервной ткани путем блокады BMP4 — опосредованных сигналов между эктодермальными клетками. RI и RII — BMP рецепторные субъединицы; В — noggin, chordin и follistatin связываются с BMP4

Ген *poggin* — первый ген, экспрессирующийся в дорзальной губе бластопора. В шпемановском организаторе он дорзализирует мезодерму, препятствуя ее вентрализации, ингибируя белок BMP4. Ген *chordin* экспрессируется в хорде и также выступает как фактор, препятствующий вентрализации. Экспрессия в клетках хорды *poggin* связана с индукцией нервной системы.

Итак, шпемановский организатор, возникнув, выполняет свои основные функции: дорзализирует мезодерму, инициирует движения гаструляции и превращает эктодерму в нейроэктодерму (нервную пластинку).

В 1994 г. была предложена модель «дефолт нейруляции» (A. Hemmati-Brivanlon). Согласно этой модели проэктодерма вне индуцирующих воздействий организатора превращается в нервную ткань. Индукция проэктодермы происходит на ранних стадиях развития и осуществляется белками BMP4 в направлении ее развития в эпидермис. Таким образом, индукция нервной системы состоит в препятствии эпидермальной индукции как на ранних стадиях развития, так и в полной мере на поздних, где она осуществляется уже шпемановским центром.

Эмбриональная индукция есть у всех хордовых, но в нисходящем ряду обнаруживаются особенности взаимодействия индуктора и клеток реагирующей ткани. У всех позвоночных отношения между индуктором и реагирующей тканью сходны с таковыми у амфибий. У всех имеются функциональные гомологи бластопора, но морфологически модифицированные. Различия касаются взаиморасположения презумптивных закладок в связи со строением яйцеклетки, типом дробления и гаструляции.

В общих чертах можно проследить становление организационно-индукционного способа развития от мозаичного у беспозвоночных до регуляционного у позвоночных.

У большинства беспозвоночных независимое развитие закладок определяется ранней сегрегацией морфогенов. У асцидий детерминация закладок, как и следует ожидать, в мозаичном развитии наступает еще в период дробления. На стадии 8 бластомеров материал хордомезодермы и нервной пластинки располагается главным образом в дорзоветегативных бластомерах, но меньшая часть материала нервной закладки сосредоточена в дорзоанимальных бластомерах. При повороте анимальных бластомеров на 180° передняя часть мозга не закладывается. Это показывает, что компетентный материал точно обозначен по мозаичному типу, но для реализации этой компетенции необходимо воздействие индуктора.

У ланцетника презумптивная нейроэктодерма при развитии в границах температурного оптимума способна к самодифференцировке. При отклонениях температуры от оптимальной для нормального развития необходима «страховка» со стороны индуктора.

В филогенезе позвоночных с увеличением числа клеток в раннем зародыше хотя и имеется химическая «разметка» презумптивных территорий, но она одна не в состоянии обеспечить нормальное развитие. Подобно закладкам мозаиков, у них самодостаточен только материал шпемановского организатора. Его воздействие направляет развитие, при этом «предразметка» по мозаичному типу хотя и недостаточна, но существует и небезразлична для взаимодействия индуктора и реагирующей части.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОЦЕССА ОРГАНОГЕНЕЗА

Предпосылки органогенеза. Индивидуальное развитие многоклеточных организмов естественно укладывается в ряд общих надтаксономических стадий, которые последовательно рассматривались в предыдущих главах. Эти стадии — дробление, гастрюляция, нейруляция и теперь органогенез. На стадии дробления создается многоклеточность. На стадии гастрюляции образуются зародышевые листки — основа всех будущих дифференцировок организма в процессе онтогенеза. На стадии нейруляции реализуется план строения организма — устанавливаются все оси симметрии, зародышевые листки дифференцируются в системы осевых структур, внутренних и наружных органов. Во время гастрюляции и нейруляции части организма перемещаются, и в процессе перемещения между ними происходит взаимодействие, определяющее судьбу этих частей. Этот процесс получил название эмбриональной индукции. Эмбриональная индукция начинается на самых ранних стадиях развития (ее начало можно отнести к стадиям оогенеза) и продолжается в процессе органогенеза. Сначала индукции предшествует химическая предразметка, обусловленная перераспределением в процессе оплодотворения различающихся участков цитоплазмы. Затем в процессе дробления эта цитоплазма перераспределяется между бластомерами, что создает неоднородность и неравнозначность частей раннего зародыша для будущих морфогенезов. Участки зародыша, способные после этого к независимому развитию (в пределах своей презумптивной компетенции), выступают как индукторы для других частей зародыша. К числу первых индукторов относятся ньюкуповский организатор и первичный (шпемановский) организатор. Именно они осуществляют первичную эмбриональную индукцию и управляют ходом нейруляции. В результате этих событий многообразие клеток зародыша нарастает, а организм обретает свою базовую структуру (план строения). Выделяется комплекс осевых структур. В результате эктодерма дифференцируется на покровную и нейроэктодерму, в которой выделяются головной и спинной отделы центральной нервной системы. В процессе нейруляции мезодерма делится на осевую, дающую вместе с хордой, сомитами и центральной нервной

системой весь комплекс осевых структур, и мезодерму боковых пластинок, подразделяющуюся на висцеральный и париетальный листки. В энтодерме образуется полость кишки, закладываются рот и анальное отверстие, легкие, печень, пищеварительные железы, формируется почка хвоста (рис. 67, 68). Таким образом, развитие вступает в период органогенеза.

Все многообразие образующихся в онтогенезе структур достигается комбинацией таких свойств клеток, как способность к движению, изменению формы, пролиферации, дифференциальной

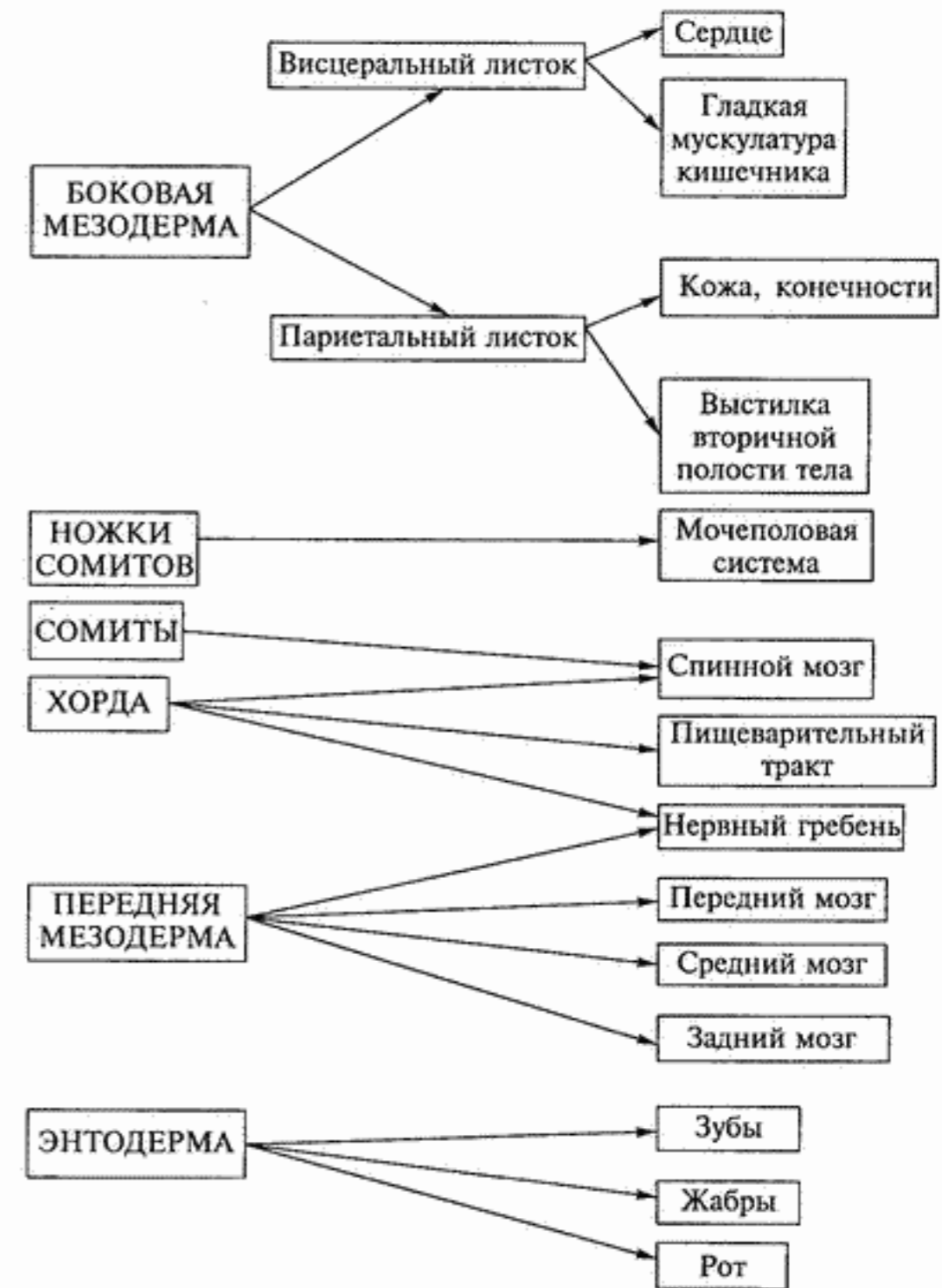


Рис. 67. Схема индукционных взаимодействий развивающегося зародыша (J. M. Oppenheimer, 1984)

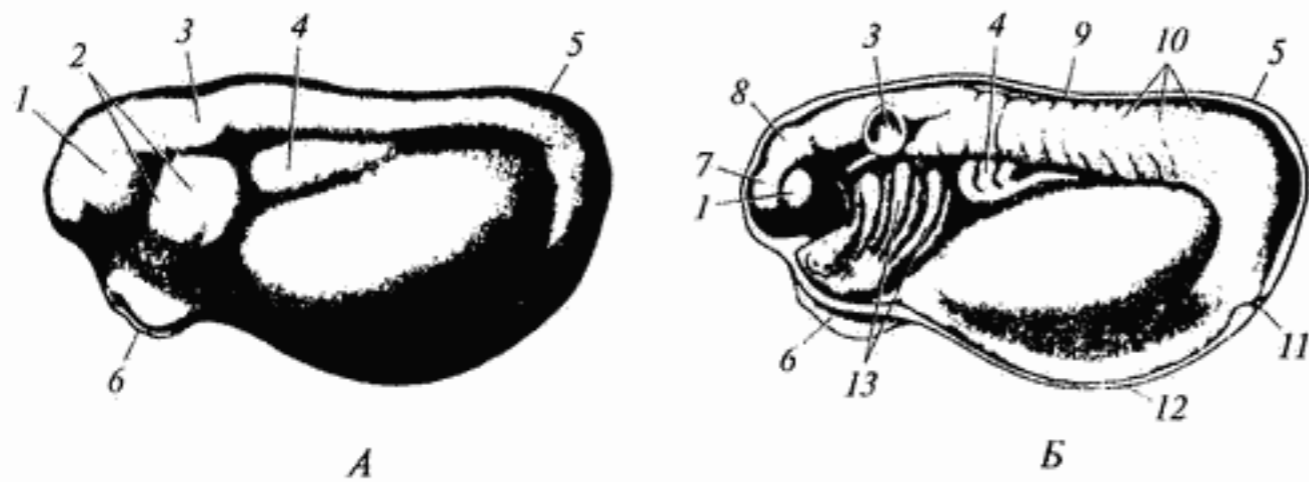
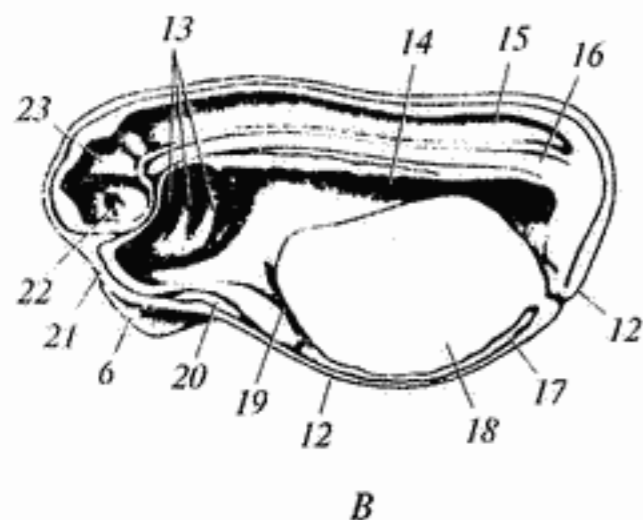


Рис. 68. Зародыш амфибий на стадии развития хвостовой почки (B. I. Balinsky, 1965):



A — вид сбоку; *B* — вид сбоку (эктодерма удалена); *B* — сагиттальный срез; 1 — глазной пузырь; 2 — жаберный бугор; 3 — слуховой пузырек; 4 — пронефрос; 5 — почка хвоста; 6 — присоска; 7 — передний мозг; 8 — средний мозг; 9 — нервная трубка; 10 — сомиты; 11 — анальное отверстие; 12 — эпидермис; 13 — жаберные дуги; 14 — кишка; 15 — спинной мозг; 16 — хорда; 17 — мезодерма; 18 — желток; 19 — печеночный вырост; 20 — зачаток сердца; 21 — место будущего ротового отверстия; 22 — глазной стебелек; 23 — головной мозг

активности генов. Для нормального развития надо, чтобы клетки в необходимом количестве оказались в нужном месте, приняли нужную форму и осуществляли нужные синтезы.

Одно из важнейших свойств клеток — способность воспринимать сигналы, обмениваться сигналами и отвечать на них. В этом ключе могут быть восприняты и интерпретированы само развитие зародыша и примеры самоорганизации групп клеток *in vitro* при дезагрегации частей организма. Носителями информации могут быть слабые электрические токи (дистантный бесконтактный обмен информацией), неорганические ионы и даже относительно крупные молекулы, переходящие из клетки в клетку.

Клеточные движения. На разных этапах эмбриогенеза отдельные клетки, группы клеток и целые клеточные пласты двигаются из одной части зародыша в другую. Перемещения могут быть или очень короткими, или на большие расстояния. Отдельные клетки мигрируют путем амебоидного движения. Во время такой миграции все клетки выглядят как мезенхимные независимо от того, из какого зародышевого листка они происходят. Примерами мигра-

ции отдельных клеток в закладках могут служить клетки нервного гребня (эктодерма), клетки — производные сомитной мезодермы, первичные половые клетки Amniota, мигрирующие из энтодермы в половую железу. Движение пласта — главное свойство эпителиальных клеток.

Клеточная гибель. Кажется парадоксом, но деструктивные процессы и даже гибель клеток играют жизненно важную роль в развитии зародышей. Более того, гибель клеток необходима на многих этапах (развитие пальцев, резорбция хвоста при метаморфозе бесхвостых амфибий). Процесс этот генетически детерминирован и регулируется разными факторами, в том числе гормонами и позиционной информацией. Например, мюллеровы протоки у самцов регрессируют под влиянием секрета мужских гонад, тогда как расположенные рядом мужские протоки продолжают развиваться. Гибель клеток между пальцами в закладке конечности может быть предотвращена, если до определенной стадии развития конечности эксплантировать эти клетки в другое место. После определенной стадии развития конечности пересадка межпальцевых клеток не предотвращает их апоптоза — генетически запрограммированной гибели и резорбции. Очевидно, что момент этот связан с восприятием и реализацией ими позиционной информации. Многие структуры зародыша возникают из малого числа исходных клеток. Группа клеток, развивающихся из одной клетки-предшественницы, называется клоном. Это представление о клоне возникло из иммунологических исследований, в которых было показано, что в ответ на введение в организм чужеродных антигенов одна иммунологически компетентная клетка пролиферирует в ответ на это, образуя множество идентичных ей потомков, так же как и исходная предшественница, способная продуцировать антитела против этого антигена (на этом основана иммунологическая теория «клональной селекции» Т.Барнета (1969)). Иллюстрацией клональности эмбриогенеза может служить тот факт, что на стадии примерно 64 клеток у млекопитающих на построение собственно зародыша пойдут только 3 клетки (3 бластомера внутренней клеточной массы).

Регуляция и регенерация. Уже на ранних этапах развития организм в целом и его части «распознают», когда нарушена их целостность, и восполняют ее. Восполнение утраченной части до ее дифференцировки называется регуляцией. Участки тела, способные реконструировать утраченные части, называются морфогенетическими (формообразующими) полями. Морфогенетическое поле — это участок тела вокруг почки органа (закладки), клетки которого имеют компетенцию самой почки (закладки). Морфогенетические поля имеют границы, которые могут быть определены экспериментально, но не имеют анатомических границ.

Онтогенез осуществляется в режиме обязательных количественных изменений, диапазон которых чрезвычайно велик — от

0,15 мм (диаметр яйцеклетки млекопитающих) до 100 т (масса взрослого организма кита). Все эти изменения происходят за счет увеличения клеточной массы и гипертрофии самих клеток. Фактор клеточной массы, возможно, сыграл решающую роль в создании самого онтогенеза, а затем и его усложнения (см. ниже). В онтогенезе на разных стадиях разные закладки, ткани и органы растут неодинаково. Это дифференцированный рост (специальный термин — аллометрический). Какие механизмы регулируют рост, сказать трудно. Можно только обратить внимание на то, что чем больше сред обитания освоила таксономическая группа, тем больше амплитуда изменений роста у входящих в нее таксонов. В этом отношении млекопитающие, освоившие землю, воздух и воду, наиболее успешные формы. Развитие всех их начинается с самой маленькой в животном царстве яйцеклетки (порядка 100 мк), а во взрослом состоянии их размеры колеблются от 3—5 г (землеройки) до 100—150 т (киты).

На тканевом уровне открыты ростовые факторы — стимуляторы роста (факторы роста фибробластов, кости, эпидермиса, нервов и т.д.) и его ингибиторы — кейлоны.

МОРФОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ, ВКЛЮЧЕННЫЕ В ОРГАНОГЕНЕЗ

Морфогенетические процессы в эпителии. Условно процессы, наблюдаемые в клетках эпителия и участвующие в образовании органов, можно разделить на следующие типы:

1. *Местные утолщения эпителия.* Это один из общих способов образования органов. Так, при формировании нервной пластинки эпителий утолщается в области ее презумптивного расположения — в дорсальной части зародыша. По существу такой же процесс идет в местах множественных закладок — в местах образования хрусталиков, обонятельных плакод, слуховых пузырьков и в закладках волосяных фолликулов, размещенных по всей поверхности зародыша, где будут расти волосы. Часто за локальным утолщением эпителиальных слоев следует их расщепление.

2. *Разделение эпителиальных слоев.* Между слоями эпителиальных клеток или в скоплениях клеток могут возникнуть разъемы — щели, прерывающие контакты клеток по разным сторонам разъема и тем самым разделяющие их на слои. Эти щели могут появляться как локальными пятнами, так и образовываться параллельно всей поверхности зародыша. Начальная щель может расширяться за счет секреции туда жидкости, превращаясь в объемную полость. Так происходит при разделении латеральной мезодермы на висцеральный и париетальный листки и образовании вторичной полости тела. Разъемы, возникающие перпендикулярно оси тела,

наблюдаются при разделении осевой мезодермы на сомиты. При этом образуются сходные по размерам и массе отдельности. Предполагается, что каждый сомит формируется вокруг некоего центра, чья сила притяжения ограничена и уменьшается с расстоянием от центра до величины, уже не способной объединять вокруг него клетки, выходящие за поле действия этой силы. Процесс возникновения центров этого притяжения имеет правильную ритмичность. (Один из механизмов сомитогенеза обсужден выше.)

3. *Образование складок — сворачивание эпителиальных слоев.* Эпителий может сворачиваться линейно, образуя борозды, или точечно, в виде округлых выпячиваний, образуя карманы. Эти элементы свойственны многим морфогенетическим процессам. Вворачивающаяся нервная пластинка превращается в желобок или бороздку. Край углубляющейся и все круче сворачивающейся нервной бороздки, соприкасаясь, сливаются, бороздка превращается в полую нервную трубку, отделяющуюся внутрь от покровного эпителия. Здесь формообразовательное движение пласта сопровождается изменением адгезивности его краевых клеток. Карманообразное выпячивание, также направленное внутрь от эпителиального слоя, может сопровождаться смыканием краев кармана с образованием полого пузырька и отделением его от эпителия. Так возникают слуховой пузырек, хрусталик. Большинство желез формируется таким же способом. Этот процесс лежит в основе движений инвагинации при гастрюляции.

4. *Утолщения эпителия, сопровождаемые выпячиванием и образованием трубочек и пузырьков.* В результате этого типа формообразования часто реализуются морфогенезы, гомологичные вышеописанным, но у других видов. Так, у миксин центральная нервная система закладывается как плотный тяж, внутри которого формируется полость. Наружные выросты, образующиеся таким способом (отростки хориона, жабры амфибий), могут возникать путем изменения формы клеток, их концентрации и размножения как в результате каждого процесса отдельно, так и в их сочетании.

5. *Смешение отдельных масс клеток.* Происходит при слиянии краев нервного желобка. Капилляры, растущие из артерий и вен, сливаются, открывая пути циркуляции крови.

6. *Дезинтеграция эпителиальных слоев с образованием мезенхимы.* Таким путем образуются медуллярный гребень, закладки будущего скелета, мышц и дермального слоя кожи из сомита, так из висцерального листка мезодермы возникают клетки мезенхимы, из которых разовьется гладкая мускулатура кишечника.

Морфогенетические процессы в мезенхиме. Эти процессы можно подразделить на следующие формы:

1. *Агрегация.* Отличается от утолщения эпителия тем, что клетки в агрегате не связаны друг с другом. Характерна для дифференцировки хряща, кости, мышц.

2. Скопление клеток мезенхимы вокруг немезенхимных структур. Мезенхима часто скапливается вокруг эпителиальных структур, таких, как слуховой пузырек. В этом случае из мезенхимы образуется слуховая капсула. Мезенхима вокруг глазного бокала в морфогенезе глаза превращается в склеру и сосудистую оболочку глаза. При образовании многих внутренних органов (почки, печень, селезенка) из мезенхимы развиваются фиброзные капсулы этих органов.

3. Образование эпителиев из мезенхимы. Многие морфогенезы начинаются и какое-то время обеспечиваются мезенхимными клетками. Позже при формировании дефинитивных структур мезенхимные закладки трансформируются в эпителиальные (первичная полоска, первичная бороздка у птиц и у всех высших позвоночных, дифференцировка на сомиты, боковую мезодерму). Эндотелий сосудов образуется мезенхимными клетками, превращающимися затем в эпителий. Однако клетки эндотелия сохраняют способность к фагоцитозу — процессу, общему для многих клеток соединительной ткани позвоночных. У эпителиев экто- и энтодермального происхождения мезенхима не обнаружена.

4. Дегенерация. Многие морфогенезы совершаются путем направленной генетически детерминированной гибели клеток (апоптоз).

5. Способность к миграции и избирательная адгезивность клеток. Практически нет морфогенезов, где не были бы использованы вещества клеточной адгезии, адгезии с субстратом и миграция.

Вряд ли нужно останавливаться на конкретных морфогенезах. Это область частной эмбриологии. Однако на двух из них, на примере которых могут быть проиллюстрированы отношения между развивающимся органом и организмом в целом, между частями развивающегося органа, клеточными процессами и межклеточными взаимодействиями, следует остановиться. В качестве таких примеров удобно рассмотреть развитие конечности и развитие почки.

РАЗВИТИЕ КОНЕЧНОСТИ

Развитие конечности — один из наиболее изученных органогенезов. Многие экспериментальные работы по эмбриологии были выполнены на этой модели. Сам по себе этот морфогенез включает практически все компоненты органобразования, характерные для любого другого органа, и поэтому может рассматриваться как достаточно представительный.

Конечность позвоночных — комплексный орган с асимметричным расположением частей. При этом в какой бы форме ни была, например, передняя конечность — крыло, рука, плавник или лапа, — она построена по единому плану. Ее проксимальной струк-

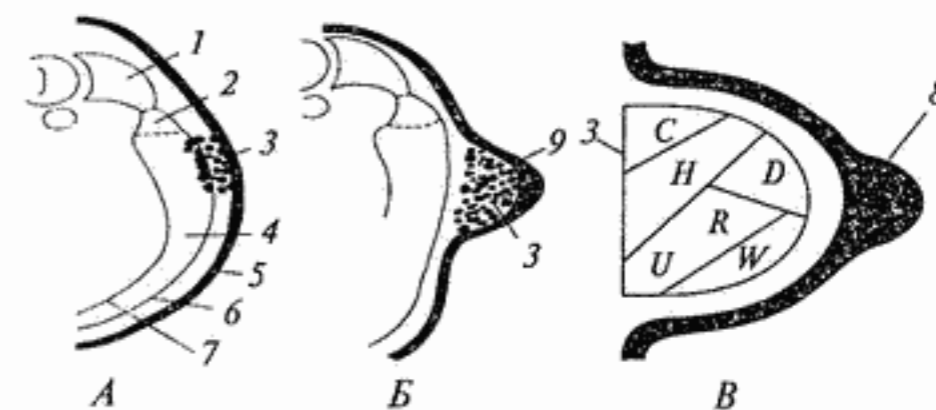


Рис. 69. Карта презумптивных зачатков почки конечности цыпленка (J. M. Oppenheimer, 1984):

A, B, B — стадии последовательного развития почки конечности цыпленка; 1 — сомит; 2 — ножка сомита; 3 — мезодерма почки конечности; 4 — целом; 5 — эктодерма; 6 — париетальная мезодерма; 7 — висцеральная мезодерма; 8 — апикальный эктодермальный гребень; 9 — эктодерма почки конечности; C — коракоид; H — плечо (будущее плечо); R — радиус; U — ульна (будущее предплечье); W — запястье; D — пальцы (будущая кисть)

турой является плечо, средней — предплечье, дистальной — кисть, включающая кости запястья и пальцы. Расположение каждой кости и мышцы в конечности точно определено. Каждая клетка этой сложной структуры, имеющей дорзовентральную, переднезаднюю и проксимо-дистальную оси и наделенной зеркальной лево-правой симметрией с конечностью на противоположной стороне, «умеет» оценивать свое месторасположение в общей структуре и соответствовать своим статусом этому расположению. Зачаток конечности образуется из мезенхимы, происходящей из париетального листка мезодермы. Клетки мезодермы скапливаются под эктодермой сбоку от зародыша и формируют почку конечности (рис. 69). У многих животных над мезенхимой почки эктодерма образует утолщение, получившее название апикального гребня. В процессе развития конечности и мезодерме, и эктодерме почки принадлежит определенная роль. Почка конечности и окружающая ее территория создают эмбриональное образовательное поле — участок, способный к образованию конечности. В результате опытов по удалению, пересадкам и мечению материала почки и клеток окружающей ее территории составлена карта презумптивных зачатков поля и почки конечности (рис. 70). Такие же образовательные поля имеют закладки глаза, уха, сердца и других органов. Все они обладают рядом общих свойств:

1. Потенция ткани, формирующей данную структуру, шире, чем морфообразовательные потенции самой структуры.

2. Образовательные способности снижаются по мере удаления от проспективной структуры.

3. Части образовательного поля и части почки способны воспроизводить всю структуру.

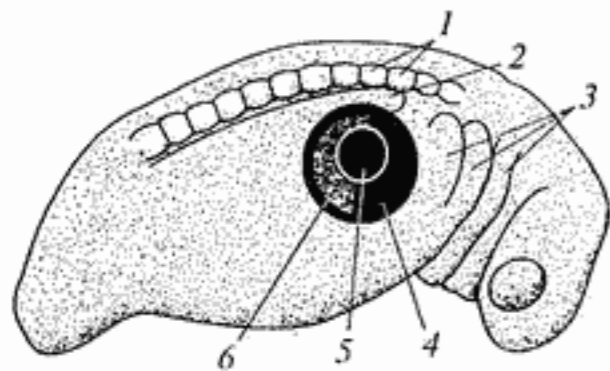


Рис. 70. Проспективные области передней конечности аксолотля (D.L. Stocum, A.M. Fallon, 1982):

1 — сомиты; 2 — proneфрос; 3 — жлезы; 4 — плечевой пояс; 5 — конечность; 6 — перебранхиальная ткань

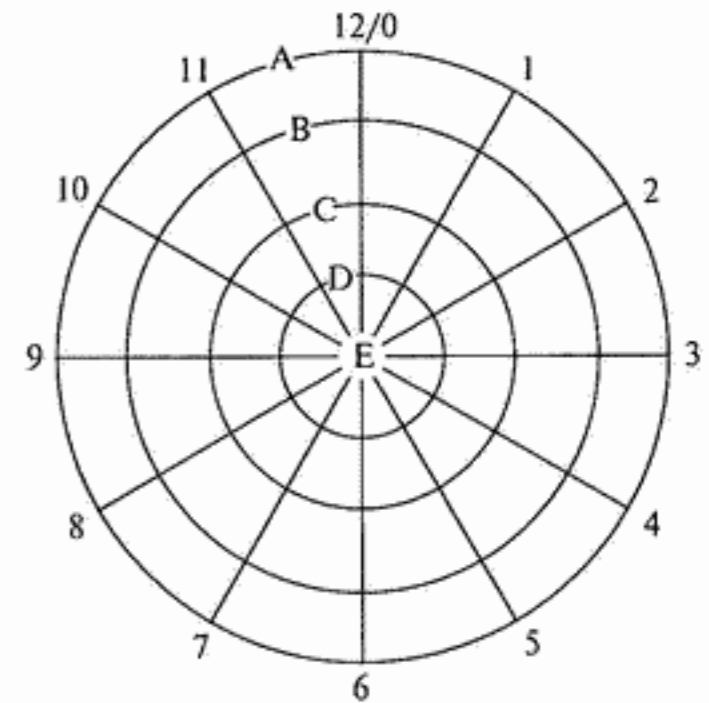
4. Увеличение закладки (поля или почки) регулируется, и в результате увеличения закладка образует одну структуру.

Если удалить часть поля, то оно восстанавливается, т.е. клетки поля распознают свою позицию и способны в соответствии с ней определять свое развитие. До определенной стадии развития изъятая почка восстанавливается за счет материала поля, которое имеет более широкие формообразовательные потенции, чем сама почка. Второе свойство образовательного поля хорошо иллюстрируется опытом Б.И. Балинского по так называемой гетерогенной индукции. Подсаживая слуховой пузырек на бок зародыша тритона и варьируя его удаленностью от места образования передней и задней конечности, он показал, что способность к образованию передней (задней) конечности сохраняется, но убывает по мере удаления от нее. В точке, равноудаленной от почек передней и



Рис. 71. Части зачатка конечности, способные дать целую конечность. Большой круг — вся формообразующая область. Показаны варианты ее разделения и удаления частей, после чего остающаяся часть давала целую конечность

Рис. 72. Позиционная информация в системе полярных координат



задней конечности, подсаженный слуховой пузырек индуцирует конечность со смешанными чертами передней и задней конечности. Таким образом, поля перекрывают друг друга. Третье свойство подтверждается опытами Р.Г. Гаррисона (рис. 71). Он удалял 1/2 и даже 3/4 материала почки конечности в любой комбинации по отношению к четырем квадрантам, на которые была условно поделена закладка. Из оставшейся части развивалась нормальная конечность.

Справедливость четвертого свойства поля подтверждается опытом с подсадкой под эктодерму конечности дополнительного компетентного материала (способного к дифференцировке в конечность). Из увеличенной закладки образуется одна нормальная конечность.

Восстановление конечности при всех этих нарушениях закладки связано с восстановлением полной позиционной информации, которая или частично утрачивается, или искажается в результате экспериментальных манипуляций. Позиционную информацию объясняют с помощью гипотезы полярных координат. По этой гипотезе информация задается положением клетки на радиусе (главная буква) и на круге (цифра) (рис. 72). Утраченная информация восстанавливается согласно правилу «полного круга». В соответствии с этим правилом потеря части информации (утрата цифр на круге) отмечается клетками-соседями, по границе с которыми она была утрачена. Восстанавливаются все утраченные номера по меньшей дуге, восполняющей пропущенные цифры. С точки зрения цитологии, направление дифференцировки оставшихся клеток, восстанавливающих конечность, будет соответствовать утраченной в порядке номеров по кругу дифференцировки.

Механизмы развития конечности

Условно можно сказать, что почка конечности состоит из двух больших частей: мезодермы почки и покровной эктодермы с апикальным гребнем. Каждой из названных частей развития конечности принадлежит своя роль. В опытах с реципрокными пересадка-

ми мезодермы почки крыла цыпленка под эктодерму с апикальным гребнем задней конечности и, наоборот, орган развивался по мезодерме. Таким образом, специфичность конечности определяет ее мезодерма. Однако в развитии конечности столь же важная роль принадлежит апикальной эктодерме. Если у цыпленка в почке конечности заменить эктодерму апикального гребня на эктодерму, взятую не из эктодермы конечности, то развитие прекращается. У бескрылых мутантов (почка закладывается, но крыло не развивается) отсутствует апикальный гребень. Если подсадить к почке конечности дополнительный апикальный гребень, то у конечности, образовавшейся из такой почки, окажутся удвоенными дистальные структуры. Эктодерма апикального гребня взаимодействует с мезодермой почки конечности. Так, если мезодерму из почки крыла бескрылых мутантов подсадить под нормальную апикальную эктодерму, апикальный гребень дегенерирует. Гребень исчезает и в том случае, если между эктодермой и мезодермой в нормальной почке конечности поместить кусочек слюды. Клетки гребня предотвращают гибель клеток мезодермы почки конечности *in vitro*. Возможно, тот же фактор гребня регулирует развитие конечности в норме.

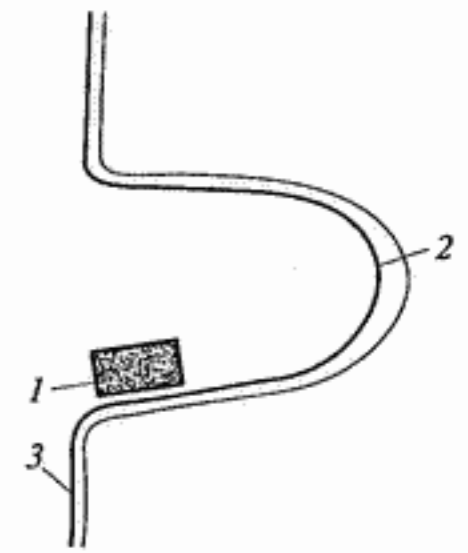
В развитии конечности определенную роль играет гибель клеток. Развивающиеся пальцы конечности отделяются друг от друга в результате гибели клеток между ними на 24-й стадии. Если клетки из зоны гибели в крыле цыпленка 17-й стадии развития пересадить реципиенту в область сомита или в культуру, то их гибель наступит к 24-й стадии, как в контроле, т. е. «часы смерти» оказываются включенными и работают эктопически. Однако если эти клетки (с 17-й стадии) пересадить в дорзальную область конечности, то там «часы смерти» останавливаются и клетки не гибнут. Если такую же пересадку сделать с 22-й стадии, то и в дорзальной области они погибнут и, следовательно, ход «часов смерти» окажется необратимым.

Оси конечности

Переднезадняя ось конечности детерминируется клетками мезодермы почки, расположенными в ее задней части на границе почки с телом организма. Называются они зоной поляризующей активности. Если клетки из зоны поляризующей активности пересадить под апикальный гребень, то в месте трансплантации разовьются дополнительные апикальные структуры, зеркально симметричные нативным (рис. 73). Видимо, носителем позиционной информации клеток зоны поляризующей активности служит градиент концентрации секретируемого ими морфогена. Если поставить непроницаемый барьер между основанием и вершиной почки, апикальные структуры (кисть, пальцы) не разовьются.

Рис. 73. Зона поляризующей активности развивающейся конечности цыпленка:

1 — зона поляризующей активности (ZPA); 2 — почка крыла; 3 — боковая стенка тела



Дорзовентральная ось конечности детерминируется эктодермой почки конечности. Так, если мезодерму почки извлечь, диссоциировать и реплантировать под эктодерму, то дорзовентральная ось различной дифференцировок клеток в такой почке восстановится, а переднезадняя — нет (клетки зоны поляризующей активности оказываются диспергированными, а эктодерма остается интактной).

РАЗВИТИЕ ВЫДЕЛИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ

Общие сведения. Как пример другого органогенеза удобно рассмотреть развитие выделительной системы. Выделительная система позвоночных — производная мезодермы. Клетки ее закладки — нефротомы — располагаются в ножках сомитов — частях мезодермы, соединяющей осевую мезодерму с каждой стороны с боковой мезодермой.

Расслаиваясь, так же как расслаивается вся боковая мезодерма, на париетальный и висцеральный листки, нефротом образует внутри полость, называемую нефроцелем. Вскоре ножки сомитов теряют связь с сомитом, а нефроцель — с полостью сомита. Связь нефроцеля с целомом (спланхноцеломом) остается. Продолжительность и значение этой связи у животных разных таксономических групп неодинакова. У форм с примитивными выделительными органами она функциональна и сохраняется. Вообще предполагается, что почка позвоночных — это сумма всех мочевиноносящих секретирующих канальцев, которые в самом примитивном случае открываются своими воронками в целом, как у гипотетических предков позвоночных, посегментно по всей длине тела. Противоположными концами они открываются в развивающийся из нефротомов общий мочевиноносящий канал.

У современных низших позвоночных в эмбриональном периоде развивается так называемая предпочка (пронефрос), или головная почка. Канальцы пронефроса закладываются в переднем отделе тела посегментно и метамерно по одному на каждый сегмент в видоспецифическом количестве (от 2—3 до 12). Канальцы пронефроса открываются в целом воронкой с мерцательным эпителием и с другого конца собираются в общий мочевиноносящий ка-

нал — первичный мочеточник, или пронефрический проток (вольфов канал). Во взрослом состоянии пронефрос функционирует у бесчелюстных и некоторых низших рыб. У всех других позвоночных впоследствии предпочка сменяется первичной почкой (мезонефросом), которая по месту локализации оказывается туловищной.

В туловищной почке устанавливается связь между почечными канальцами и кровеносной системой. При этом из стенки дорзальной аорты образуются сосудистые клубочки (гломусы). Они соединяются с выростами канальцев, формирующих так называемые боуменовы капсулы, вмещающие эти клубочки. В боуменовых капсулах приносящие артерии сворачиваются в клубок (гломерулу) и составляют вместе мальпигиево (или почечное) тельце. Канальцы первичной (туловищной) почки не образуют воронок и не связаны с целомом. Через такие почки фильтруется уже не полостная жидкость, а кровь. Канальцы мезонефроса открываются в вольфовы каналы.

У большинства рыб и амфибий мезонефрос представляет собой дефинитивную почку. У высших позвоночных мезонефрос функционирует в эмбриональный период, а дефинитивной почкой является вторичная, или тазовая, почка (метанефрос). Мета-нефрос образуется из несегментированной массы нефротомов задних туловищных сегментов. В закладке происходит дифференцировка канальцев, а при соприкосновении с выросшими в нее разветвлениями почечных артерий развиваются мальпигиевы тельца. Из эпителиального зачатка начинает формироваться вторичный мочеточник.

Следует подробнее остановиться на развитии выделительной системы позвоночных по трем важным причинам: 1) как на примере органогенезов; 2) для сравнительного анализа эволюции данной системы путем сложных, но логически связанных перестроек в систематическом ряду онтогенезов, позволяющих как бы «уловить» логику эволюции; 3) для уяснения того, что усложнение выделительной системы в целом и ее единиц нефронов сопряжено с увеличением и компактизацией клеточной массы закладки, из которой развивается эта система или ее единицы.

Сравнение показывает, что система сложнее строится и дифференцируется (даже независимо от таксономической принадлежности) тогда, когда увеличивается клеточная масса закладки, из которой она развивается.

В образовании почек принимают участие: нефротомная пластинка; примыкающая к ней целомическая ткань, подстилающая нефротом в течение развития; эндотелиальная выстилка и окружающая мезодерма каудального конца пищеварительной трубки; покровная эктодерма в районе выходных отверстий уrogenитальной системы; примордиальные зародышевые клетки.

Экскреторная система включает:

- 1) серию экскреторных единиц, называемых нефронами;
- 2) почку — структуру, в которой нефроны сгруппированы вместе;
- 3) серию собирательных трубочек, которые соединяют нефроны с основным экскреторным протоком;
- 4) клоаку или ее производное — мочевой пузырь.

Развитие различных типов почек. Принято различать следующие типы почек:

1. Голонефрос (термин введен Д.Прайсом в 1896 г.) — почка, образующаяся из нефротомной пластинки, где каждый нефрон возникает из отдельного нефротомы.

2. Пронефрос, мезонефрос, метанефрос, опистонефрос (названия различных типов почек).

В течение эволюции всех гнатостомных позвоночных нефротомная пластинка с каждой стороны тела образует не единый голонефрос, а дает три типа почек, представляющих три типа развития и функционирования. Эти почки развиваются в краниокаудальной последовательности в трех основных районах нефротомной пластинки (рис. 74). В самом переднем участке появляется пронефрос, в средней части нефротомной пластинки — мезонефрос, в наиболее каудальной части — метанефрос. Выделяют еще опистонефрос для почки, которая развивается сзади от пронефроса у поздних личинок рыб и амфибий. Опистонефрическая почка образуется из всей каудальной части нефротомной пластинки.

При развитии почки у разных позвоночных возникают четыре типа нефронов (почечных единиц).

Для типа I характерны нефункционирующие (вестигиальные) трубочки. Функция такого типа нефронов — инициировать образование пронефрического протока для пронефрических почек (элазобранхии, рептилии, птицы и млекопитающие), где они соприкасаются с передней частью мезонефрических почек.

Тип II характерен для пронефрической почки личинок (например, для головастика лягушки), а образующийся для этого типа реснички нефротом соединяет целомическую полость через секреторную часть трубочки с пронефрическим протоком.

Тип III формируется на ранней стадии развития мезонефрической почки низших позвоночных. Он есть также в пронефрической почке у безногих амфибий, а с некоторыми модификациями этот тип может быть найден во взрослой почке.

Тип IV похож на тип III, но утрачивает мерцательную часть нефростомального соединения с целомической полостью. Это поздняя почечная единица мезонефрической почки большинства рыб и амфибий и типичная единица мезонефрической почки рептилий, птиц и эмбрионов млекопитающих. С некоторыми уточнениями такой нефрон характерен для метанефрической почки рептилий, птиц и млекопитающих.

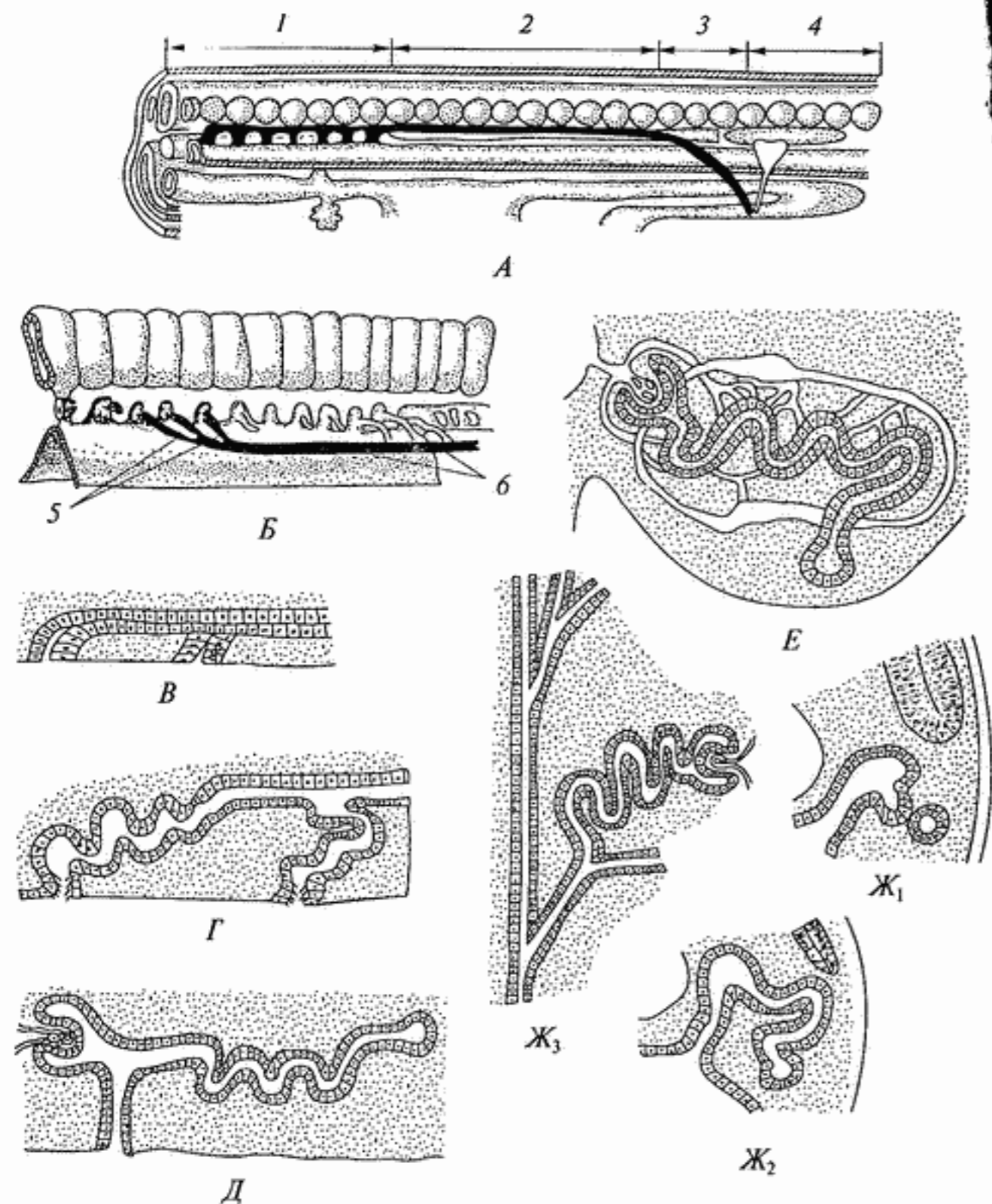


Рис. 74. Развитие выделительной системы позвоночных (С. Nelsen, 1953): А, Б — зоны формирования почек позвоночных: 1 — пронефрос; 2 — мезонефрос; 3 — опистонефрос; 4 — метанефрос; 5 — пронефрические трубочки; 6 — пронефрический (мезонефрический) проток. Типы нефронов: В — I тип; Г — II тип; Д — III тип; Е — IV тип; Ж₁, Ж₂, Ж₃ — стадии развития мезонефрических трубочек акулы

У позвоночных в эмбриогенезе функционируют пронефрос и мезонефрос. Пронефрос работает у видов, имеющих свободноживущих личинок, т. е. у костистых рыб, ганоидов, легочных рыб и у амфибий. У них же вслед за пронефросом и именно в личиночный период работает мезонефрос. Мезонефрическая почка функцио-

нирует у эмбрионов элазобранхий и у всех высших позвоночных. У млекопитающих мезонефрос развивается в обратной зависимости от эффективности работы плаценты. Метанефрос — это почка взрослых рептилий, птиц и млекопитающих. Опистонефрос — чревая почка рыб и амфибий.

Опыты и наблюдения показывают, что пронефрическая почка позвоночных имеет большое значение для всего последующего развития выделительной и репродуктивной систем в качестве работающей системы и необходимого предшественника.

Пронефрическая почка развивается из передней части нефротомной пластинки на уровне сердца. Этот участок сегментируется на отдельные нефротомы. В течение дифференцировки каждый нефротом пронефрической территории пластинки теряет связь с дермамиотомом, от которой остается небольшой дорзолатеральный отросток в средней части нефротома. Этот цилиндрический отросток простирается в дорзолатеральном направлении к развивающейся коже, затем поворачивает назад и растет каудально, где встречается с задним нефротомом — такой же трубочкой, с которой и соединяется. Участок, образованный соединением таких трубочек, растет назад к следующему нефротому, соединяясь с его трубочкой, и т. д. В результате соединения частей пронефрических трубочек образуется пронефрический или сегментированный проток. Этот способ образования пронефрического протока описан для элазобранхий, рептилий, птиц и млекопитающих. Иной способ образования пронефрического протока существует у амфибий и костистых рыб, у которых проток образуется путем продольного расщепления нефротомной пластинки. Сформировавшийся пронефрический проток продолжает расти в каудальном направлении до самого конца пластинки, где растущий конец протока поворачивает вентрально и соединяется с клоакой.

Мезонефрос развивается из части нефротомной пластинки, расположенной сзади от пронефрической почки (рис. 75). Мезонефрическую почку от пронефроса отличают следующие признаки.

1. Примитивная сегментация, заметная в пронефрических почечных трубочках, обычно теряется в мезонефрической почке, хотя тенденция происхождения трубочек посегментно наблюдается для переднего отдела мезонефроса. Посегментное происхождение трубочек мезонефроса по всей длине раннего мезонефроса отмечается у эмбрионов круглоротых, акул и лягушек.

2. Мезонефрические трубочки соединяются с образовавшимся перед этим пронефрическим протоком и тем самым захватывают этот проток. Пронефрический проток после этого становится мезонефрическим вольфовым протоком.

3. Переднезадняя протяженность мезонефрической почки много больше, чем пронефрической. Мезонефрическая почка утилизирует большую часть нефротомной пластинки.

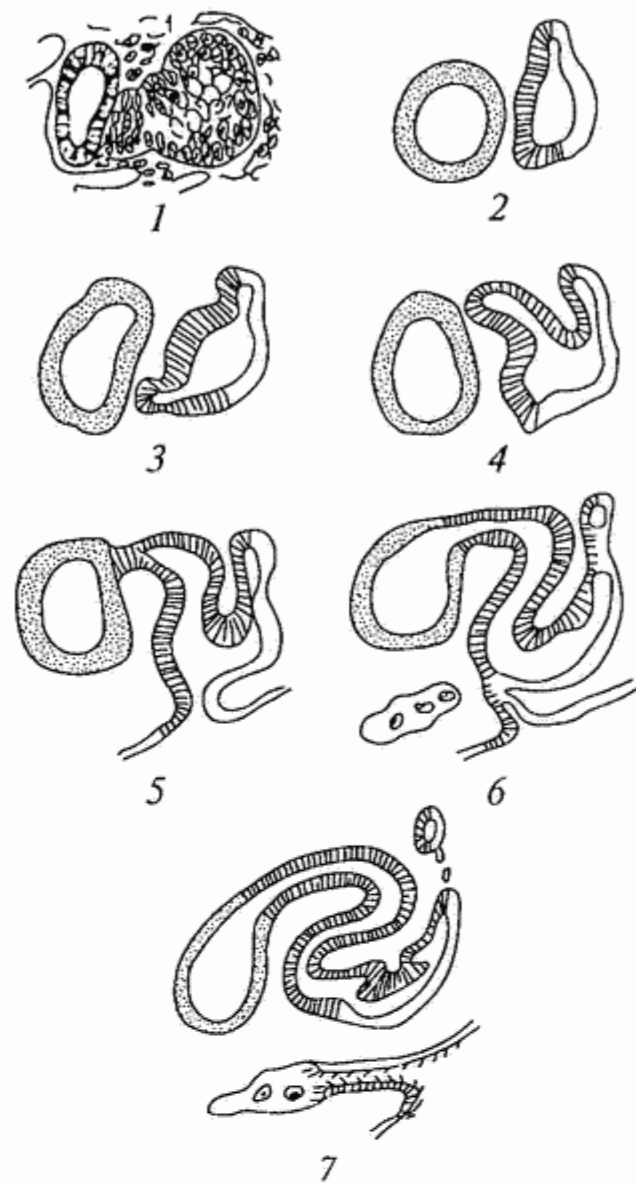


Рис. 75. Развитие мезонефрической почки (С. Е. Nelsen, 1953):

1 — срез через развивающуюся мезонефрическую трубочку, видна конденсация клеток трубочки в направлении к пронефрическому (мезонефрическому) протоку; 2—7 — развитие почечной единицы (нефрон правой стороны тела), латеральная часть заштрихована, внутренняя оставлена на схеме светлой (лягушка)

4. В то время как функционирующая пронефрическая почка характерна для видов со свободноживущими личинками, мезонефрическая почка функционирует у всех позвоночных, за исключением, возможно, некоторых видов млекопитающих.

Мезонефрические нефроны у лягушки, как и у зародышей акул, образуются посегментно.

В промежуточной зоне нефротомной пластинки между мезонефросом и пронефрической почкой нефроны не развиваются.

Почечные единицы образуются как сгущения мезодермальных клеток внутри клеточной массы нефротомной пластинки (см. рис. 75). Эти клеточные сгущения вытягиваются, в них появляются каналы, в итоге соединяющиеся с мезонефрическим протоком.

Связь нефростома с целомической полостью существует, но нефростомальный сегмент вскоре приобретает вторичную связь с почечной веной.

По мере развития мезонефрической почки добавляется много новых мезонефрических нефронов: в каждом сегменте тела их появляется по несколько штук. В результате теряется начальный посегментный порядок и прежде всего в каудальном районе нефротомной пластинки, где почка развита более всего. Собирающие протоки развиваются как выпячивания мезонефрического протока.

Каудально расположенный материал нефротомов сравним с метанефрическим участком почки высших позвоночных и лежит вдоль мезонефрической почки, как у эмбрионов акул. Таким образом, взрослая почка может считаться опистонефросом, построенным из мезо- и метанефрических почечных единиц.

Мезонефрос цыпленка развивается из нефротомной пластинки в районе между 13-м и 30-м сомитами. Нефротомная пластинка быстро наращивает массу за счет клеточной пролиферации задней части пронефрической почки.

По мере развития масса нефротомов увеличивается посредством пролиферации составляющих их клеток, и уже по несколько нефронов формируется в каждом сегменте тела. В дополнение к этому процессу мезонефрический проток путем выпячивания образует собирающие протоки, которые достигают участка, где развиваются почечные единицы, и группы таких единиц (нефронов) соединяются с ним.

У млекопитающих мезонефрические трубочки образуются в нефрогенном шнуре, как у птиц. Они также развиваются из конденсированной массы эпителия внутри нефротомной пластинки (нефрогенного шнура). Эти уплотнения S-образной формы вытягиваются, становятся трубчатыми (образуется канал внутри) и соединяются с мезонефрическим протоком. Развивается мальпигиево тело с его гломерулярными и васкулярными соединениями. Железистая трубка сильно скручивается и тесно сплетается с венами. Собирающие протоки образуются из выпячивания мезонефрического протока, как у цыпленка.

Метанефрическая почка — это поздняя эмбриональная и взрослая форма почки у рептилий, птиц и млекопитающих. Как и мезонефрическая (описание выше), она включает три структуры: 1) мочеточник, или вольфов проток; 2) серию собирающих протоков, которые выпячиваются из мезонефрического, или вольфова протока, и соединяются с нефронами; 3) нефроны, или почечные единицы.

Образование метанефрических почечных единиц (рис. 76) напоминает образование мезонефрических почечных единиц. На 7—8-й день инкубации нефрогенная ткань округляется, на концах выпячивания собирающих трубочек из полости первичной почечной лоханки формируются плотные эпителиальные массы. Каждая из конденсированных масс принимает S-образную форму. Один конец S-образного зачатка почечной единицы соединяется с дистальным концом развивающегося собирающего протока, а с другого конца этот зачаток образует мальпигиево тельце, или почечную капсулу.

Наружняя капсула почки образуется из периферической части нефрогенной ткани и окружающей мезенхимы. Метанефрическая почка расположена сзади и лежит снаружи от перитонеальной полости. Задний конец метанефрического протока, или мочеточник, получает независимый выход в клоаку.

У птиц и млекопитающих метанефрическая почка имеет двойное происхождение: одна часть образуется как выпячивание каудального конца мезонефрического протока, а другая возникает из

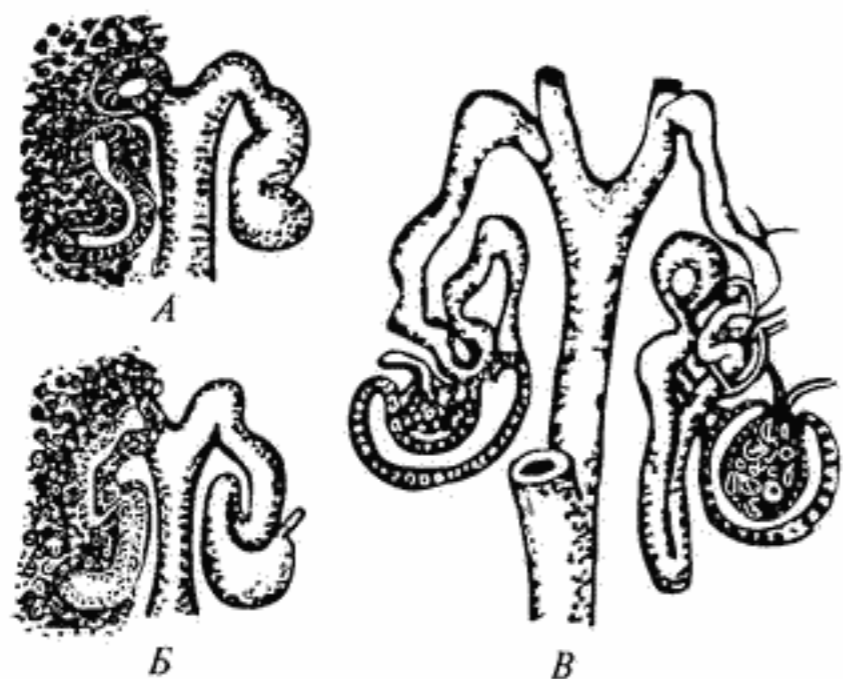


Рис. 76. Развитие метанефрической почки (С. Е. Nelsen, 1953):

А — конденсация материала рудиментарных почечных трубочек в направлении дуги собирательного канала; *Б* — рудимент почечной трубочки соединяется дугой собирательного канала; *В* — поздняя стадия дифференцировки почечной единицы

клеток нефрогенного шнура сзади от границы мезонефрической почки.

У эмбриона человека (14—15 мм, 7 недель) можно назвать четыре дефинитивных зачатка метанефрической выделительной системы:

1. Нефрогенная ткань вокруг начального отростка собирательных протоков.
2. Материал из системы развивающихся собирательных протоков, которые представлены выпячиваниями из первичной почечной лоханки.
3. Материал из первичной почечной лоханки, образующей зачатки передней и задней чашек.
4. Материал мочеточника (метанефрического протока), в котором исходная почечная лоханка дистально расширена.

Из каждой большой чашечки формируются вторичные, или маленькие, чашечки, а из каждой маленькой чашечки образуются и продолжают в окружающую нефрогенную клеточную массу прямые, или первичные, собирательные протоки. Каждая первичная чашечка и зачаток ее прямой собирательной трубочки (протока) вместе с окружающими нефрогенными клетками образуют зачаток будущей почечной дольки.

Прямые собирательные протоки вытягиваются и выступают в окружающую нефрогенную ткань. Вследствие этого на дистальном конце каждой собирательной трубочки в окружающий не-

фрогенный материал выходит несколько меньших выпячиваний (обычно 3—4). Эти меньшие терминальные выпячивания представляют собой зачатки изогнутых собирательных трубочек системы собирательного протока. Вокруг каждого зачатка изогнутых трубочек масса нефрогенной ткани конденсируется в S-образную структуру типичной почечной единицы типа мезонефрической почки лягушки, цыпленка, млекопитающих и метанефрической почки цыпленка. Сигмовидная концентрация нефрогенных клеток сливается с каждой собирающей трубочкой и выпячивается дистально, дифференцируясь в части типичной метанефрической трубочки млекопитающих.

Приведенный выше пример онтогенеза выделительной системы в сравнительном ряду позвоночных наглядно иллюстрирует предлагаемый здесь принцип усложнения онтогенеза. Согласно этому принципу морфологическое и функциональное усложнение органа в онтогенезе причинно связано с увеличением клеточной массы его закладки.

ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ О ПРОЦЕССЕ РЕГЕНЕРАЦИИ

В постэмбриональный период каждый организм на протяжении всего онтогенеза поддерживает свой статус, постоянно восполняя структурами — идентичными или модифицированными — структуры, расходуемые в процессе нормальной жизнедеятельности. Это базовое свойство любого организма получило название физиологической регенерации. Но уже в античные времена была хорошо известна способность некоторых животных восполнять свои части, утраченные в результате случайной травмы или болезни. В начале XVIII в. выдающиеся европейские ученые стали изучать это свойство на пресноводной гидре, различных рачках и амфибиях. Тогда же О. Реомюр предложил и название этому свойству — регенерация. Можно сказать, что вся экспериментальная биология началась именно с изучения регенерации.

Регенерация — это замещение самых разных структур — от частей клетки до частей тела после естественного изнашивания или случайной утраты. Базовая способность каждого организма восполнять структуры, утраченные в процессе нормальной жизнедеятельности, получила название физиологической регенерации. Способность организма восстанавливать свои части после их утраты от случайных травм, болезней или намеренной ампутации называется репаративной регенерацией.

Таким образом, регенерация — это восстановительный морфогенез. Г. П. Короткова дает такое определение: «...регенерация — это восстановительный морфогенез, имеющий всегда многоуровневый характер и варьирующий по своим механизмам в зависимости от специфики, степени и локализации повреждения, а также от стадии индивидуального развития и сложности организации особи...». Регенерация — явление очень сложное и поэтому предполагает разные подходы к классификации охватываемых ею процессов.

Классифицируя регенерацию по масштабу процессов, различают:

— восстановление целого организма из фрагмента тела (развитие гидры из фрагмента тела, развитие планарии из ее части, дождевого червя из нескольких сегментов);

— развитие утраченных органов — конечности, хвоста, антенн и т.д.;

— восстановление утраченных частей органов (печени, частей глаза);

— восстановление утраченных тканей (кожных покровов, мускулатуры, костной ткани);

— восстановление утраченных органоидов клетки (ресничек, отростков нервных клеток);

— восстановление утраченных макромолекул.

Классификация на основе поведения клеток в остатке органа предложена Т. Морганом (1901) и разделяет регенерацию на осуществляющуюся путем эпиморфоза и морфаллаксиса. Эпиморфоз характеризуется образованием регенерационной бластемы на раневой поверхности остатка органа. Раневая бластема образуется под раневым эпителием однотипными мезенхимными клетками из дедифференцированных клеток тканей культи. Образование бластемы сопровождается пролиферацией клеток входящей в него мезенхимы. Морфаллаксис предполагает перегруппировку клеток во всем остатке органа после эпителизации раны и восстановление утраченной части без митозов. Промежуточное положение между эпиморфозом и морфаллаксисом занимает так называемая компенсаторная регенерация. В свою очередь, компенсаторная регенерация подразделяется на компенсаторную и регенерационную гипертрофию. Компенсаторная гипертрофия касается парных органов и заключается в морфологическом и функциональном усилении работы оставшегося органа после утраты парного. При компенсаторной гипертрофии не рассматриваются процессы на ампутационной поверхности, а лишь изучаются механизмы стимуляции интактного органа. Строго говоря, здесь изучают не регенерацию, а компенсаторный ответ всего организма. Регенерационная гипертрофия касается восстановительного морфогенеза в травмированном органе, особенно — того, которого оказываются обретенные после травмы клетками оставшейся части органа способности делиться и сохранение при этом их специфических функциональных особенностей.

Восстановительный морфогенез можно характеризовать на основе его зависимости от состояния организменных, органных и тканевых интегрирующих систем. Здесь восстановительные процессы предполагается разграничивать по степени реконструкции интегрирующих систем организма, таких, как нервная, гормональная, циркуляторная (Б. П. Токин, 1959; Г. П. Короткова, Б. П. Токин, 1979). Если в ходе восстановительного морфогенеза исходная организация и симметрия сохраняются, то следует говорить о регенерации, если же в остатке органа или целого организма изменяются полярность и исходная симметрия, то такой восстановительный морфогенез следует считать соматическим эмбриогене-

зом. Для высокоинтегрированных организмов (высших или специализированных) характерна регенерация, для низкоинтегрированных — соматический эмбриогенез. Пример соматического эмбриогенеза — восстановление губок или гидр, пропущенных через мельничный газ.

Восстановительный морфогенез можно классифицировать по итогу восстановления. По этому критерию регенерацию подразделяют на типичную и атипичную (М. А. Воронцова, 1949; М. А. Воронцова, Л. Д. Лиознер, 1957). При атипичной регенерации восстанавливаемая структура в итоге может оказаться больше или меньше утраченной. В данном случае соответственно говорят о гипер- или гипоморфозе. Если восстановившийся орган отличается от утраченного качественно, то это гетероморфоз. В пределах гетероморфозов различают так называемую атаксическую регенерацию, при которой восстановившаяся структура не воспроизводит утраченную, а воссоздает морфологию ее генетического предше-



Рис. 77. Классификация регенерационных процессов (по М. А. Воронцовой, 1949)

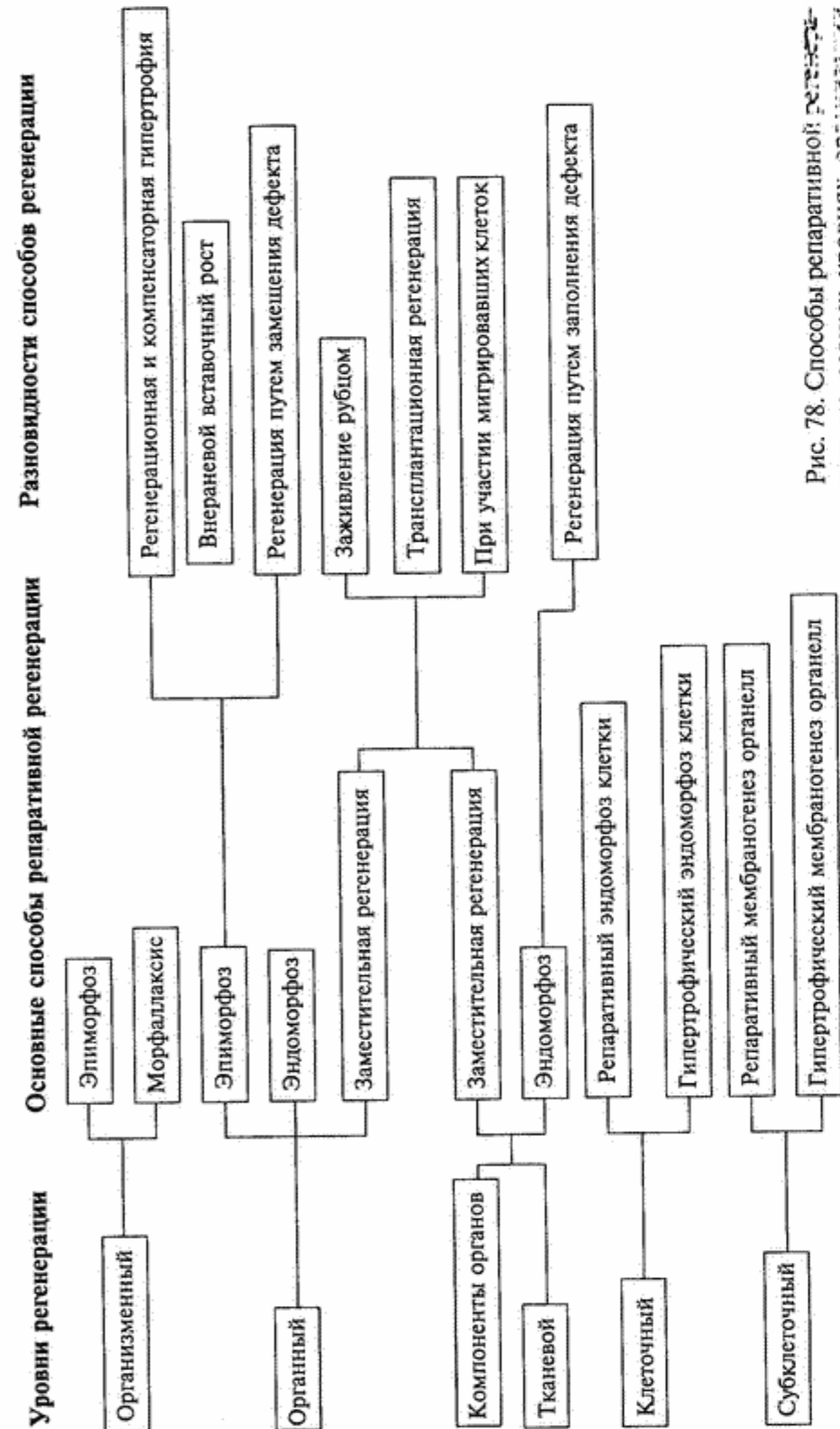


Рис. 78. Способы репаративной регенерации на разных уровнях организации (по Л. К. Романовой, 1954)

Соотношение различных типов восстановительного морфогенеза и состояния организменных интегрирующих систем после повреждающего воздействия

Показатель	Тип морфогенезов			Соматический эмбриогенез
	Регенерация	Увеличение количества макрочастей тела, гиперморфозы, адипции, патогенезы	Нарушение количества	
Состояние организменной интеграции, при котором осуществляется морфогенез	Сохранение организменной интеграции и исходной морфофункциональной организации	Частичное нарушение организменной интеграции и локальное нарушение морфофизиологической организации	Нарушение организменной интеграции	Нарушение организменной интеграции
Результат повреждающего воздействия и общая характеристика морфогенетической реакции на повреждение	Сохранение исходной морфологической оси, полярности и типа симметрии. Морфогенез контролируется организменными интегрирующими системами	Частичное или локальное изменение полярности и типа симметрии. Морфогенетический процесс не полностью контролируется организменными интегрирующими системами	Исчезновение исходной полярности и появление одной или нескольких морфологических осей новых организмов. Морфогенез не контролируется организменными интегрирующими системами на начальных стадиях, пока не появятся собственные системы интеграции развивающихся организмов	Исчезновение исходной полярности и появление одной или нескольких морфологических осей новых организмов. Морфогенез не контролируется организменными интегрирующими системами на начальных стадиях, пока не появятся собственные системы интеграции развивающихся организмов
Примеры восстановительных морфогенезов	Заживление ран. Полноценное или неполноценное восстановление поврежденных (утраченных) частей тела, органа, ткани, клетки. Регенерационная и компенсаторная гипертрофия. Развитие целых организмов из небольших фрагментов тела без изменения полярности	Развитие добавочных к существующим отделов тела (переднего, заднего, брюшного, спинного). Адипции (развитие добавочных к существующим органов или их частей). Раздвоение или умножение осевых структур. Гетероморфозы. Патологические разрастания тканей, эндоморфоз, компенсаторные процессы и др.	Развитие добавочных к существующим отделов тела (переднего, заднего, брюшного, спинного). Адипции (развитие добавочных к существующим органов или их частей). Раздвоение или умножение осевых структур. Гетероморфозы. Патологические разрастания тканей, эндоморфоз, компенсаторные процессы и др.	Развитие особей из одиночных соматических клеток или из их комплексов. Развитие особей из фрагментов тканей, органов или более крупных частей тела (зародыш, личинка или взрослый организм). Изменение полярности целой особи или колонии
Способы осуществления различных морфогенезов	Эпиморфоз, морфаллаксис			

ственника (например, после ампутации четырехпалой конечности у амфибий восстанавливается пятипалая, как у предков). Гетероморфная регенерация может носить характер гомеозисной. В этом случае утраченная структура замещается на орган из другого места организма (например, восстанавливается не утраченный придаток данного сегмента, а придаток предыдущего или последующего).

Иногда восстановительный морфогенез проявляется в форме развития на месте травмы дополнительных структур, гомологичных травмированной, но не удаленной. Поэтому говорят о развитии аддидий (дополнительных структур). Аддидии можно рассматривать и как вариант гиперморфоза (например, если наложить лигатуру на конечность аксолотля, повредить покровы и вызвать воспаление, то поврежденное место покроется раневым эпителием и на нем разовьется дополнительная конечность, иногда не одна).

Ответные реакции на повреждения организма, находящегося на ранних стадиях развития, получили название эмбриональных регуляций. Обычно здесь удаляется лишь образовательная территория органа и изучается не ее восстановление, а развитие органа и влияние на него данного воздействия.

У тех животных, у которых удаленный орган не может восстанавливаться, ответом на травму и ампутацию будут заживление раны и рубцевание (рис. 77, 78).

Основные способы регенерации — эпиморфный, путем морфаллаксиса и компенсаторной регенерации — удобно разобрать на конкретных примерах (табл. 3).

ЭПИМОРФНАЯ РЕГЕНЕРАЦИЯ КОНЕЧНОСТИ ТРИТОНА

После ампутации конечности оставшиеся в культке клетки вновь воссоздают утраченное. Остаток органа как бы знает, «что утрачено», и восстанавливает только утраченное. Восстановление идет от плоскости ампутации в соответствии с правилом дистализации.

Раньше всего раневая поверхность закрывается фибриновым сгустком (так на травму реагируют кровь и поврежденные сосуды). Уже приблизительно через час после ампутации в эпидермисе вблизи раны наблюдаются признаки мобилизации клеток к миграции: меняется форма клеток, увеличиваются промежутки между ними. Клетки ориентируются длинными осями по радиусам к центру раны. Сама миграция начинается уже через два часа. Миграция возможна при тесном контакте клеток с субстратом, поэтому все неровности поверхности заполняются мигрирующими клетками. Стимулом к направленной миграции оказывается поте-

ря клеток-соседей со стороны раны. Миграция будет продолжаться вплоть до полного обретения соседей, характерного для интактного эпителия покровов. Эпидермальные клетки наползают на раневую поверхность в течение 6—12 ч, образуя однослойный раневой эпидермис. В течение последующих четырех дней под раневым эпидермисом клетки тканей культи — мышц, костей, хряща — теряют признаки тканевой принадлежности, дедифференцируются и становятся однородными мезенхимоподобными клетками. В них перестают работать и снижают свою активность гены специфической дифференцировки (такие, например, как *myf4* и *myf5* в миоцитах), а активность генов, связанных с пролиферацией мезенхимы, возрастает (например, ген *msx1*). Дедифференцированные клетки мезенхимы собираются под апикальной эктодермальной чашей, образованной на раневой поверхности наплывающим эпидермисом, и формируют скопление, называемое регенерационной бластемой. Образование бластемы зависит от появления отдельных одноядерных клеток из тканей остатка органа. Возможно, что этот процесс частично инициируют макрофаги, проникающие на раневую поверхность. Они секретируют металлопротеазы, растворяющие экстрацеллюлярный матрикс, удерживающий клетки вместе. Под действием тромбина многоядерные мышечные волокна, чьи ядра вышли из митотического цикла, превращаются в одноядерные мезенхимоподобные клетки, способные к делению. Интересно, что в аналогичных условиях миофибриллы мышц к этому не способны. Другой источник формирования миогенного компонента бластемы — находящиеся в дифференцированных мышцах сателлитные клетки. Сателлитные клетки — это линия резервных одноядерных клеток, дифференцирующихся в мышцы при физиологической и репаративной регенерации.

Еще одно отличие конечностей хвостатых земноводных от конечностей млекопитающих состоит в том, что амфибии сохраняют способность к реэкспрессии Нох-генов, работающих в раннем развитии и отвечающих за позиционный порядок организма и органов. Количество клеток, образующих бластему, увеличивается, бластема растет. Пролиферация клеток бластемы зависит от глиального ростового фактора (GGF), вырабатываемого нервными клетками тритона. Поэтому для регенерации необходима иннервация регенерирующего органа. Этот фактор вырабатывается любыми нервными клетками, и поэтому влияние нервов на регенерацию неспецифическое.

В инициацию митозов в бластеме включаются и факторы роста фибробластов (FGFs). Введенные в бластему, они инициируют и стимулируют митотическую активность ее клеток. Другой важный нейтральный фактор, необходимый для инициации митозов, — белок трансферрин — переносчик железа, необходимого для всех

делящихся клеток. И трансферрин, и экстракт из нервной ткани стимулируют деление клеток в денервированной конечности.

Регенерационная бластема во многом похожа на почку конечности зародыша. Механизмы регенерации и развития конечности схожи на клеточном и молекулярном уровнях. Регенерационная бластема, подсаженная к почке развивающейся конечности, превращается в конечность. Это означает, что клетки бластемы воспринимают сигналы, адресованные клеткам почки, и интерпретируют их адекватным формообразованием. И в регенерационной бластеме, и в почке конечности, в задней части — зоне прогресса (progress zone) мезенхимы экспрессируется ген *Sonic hedgehog*. Если на начальных этапах развития паттерн экспрессии генов *Нох* в почке и бластеме различается, то впоследствии порядок и последовательность экспрессии генов *Нох* становятся одинаковыми.

Важную роль в постампутационной дедифференцировке и респецификации клеток играет ретиноевая кислота. Если регенерирующую конечность обработать ретиноевой кислотой или ретиноидами в достаточной концентрации, то структуры конечности удваиваются по проксимо-дистальной оси. Ответ дозозависимый. Протяженность удваиваемых структур увеличивается до определенной концентрации. В нарушение правила дорзализации в процессе такой регенерации может развиваться вся конечность, а не только ее утраченная часть (рис. 79). Доза выше этой («глубже основания») регенерацию ингибирует. Синтезирует ретиноевую кислоту и создает ее проксимо-дистальный градиент убывающей концентрации раневой эпителий. Ретиноевая кислота по градиенту дифференциально активирует гены в клетках бластемы, создавая паттерн активности генов регенерирующей конечности. Одним из таких генов, отвечающих на ретиноевую кислоту, является уже упоминавшийся *msh1* — ген, влияющий на пролиферацию мезенхимы.



Рис. 79. Влияние витамина А на регенерацию конечности аксолотля (по М. Maden et al., 1982). Пунктирной линией обозначено место ампутации: А — нормально регенерирующая конечность аксолотля; В — регенерация после ампутации под воздействием ретинола (витамина А) в течение 15 дней

Гены *Нох* также активируются ретиноевой кислотой. Таким образом, градиент ретиноевой кислоты от раневого эпителия активирует *Нох*-гены, чьи позиционные команды через регуляцию генов пролиферации и специфической дифференцировки выполняют клетки регенерационной бластемы.

КОМПЕНСАТОРНАЯ РЕГЕНЕРАЦИЯ ПЕЧЕНИ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Печень млекопитающих способна к восстановительному морфогенезу. Известно, что утраченная часть не восстанавливается, но оставшаяся часть увеличивается, функционально и количественно компенсируя удаленную. Восстанавливается печень путем пролиферации клеток оставшейся части. Пролиферирующие клетки — гепатоциты, тучные клетки, клетки протоков, эндотелия, купферовские макрофаги — приобретают способность делиться, не утрачивая специфической дифференцировки и продолжая функционировать (рис. 80). Каждый тип клеток сохраняет свою идентичность, а орган в целом способен исполнять свои функции.

Как и в случае с конечностью хвостатых амфибий, клетки печени как бы возвращаются, хотя и не полностью, в состояние

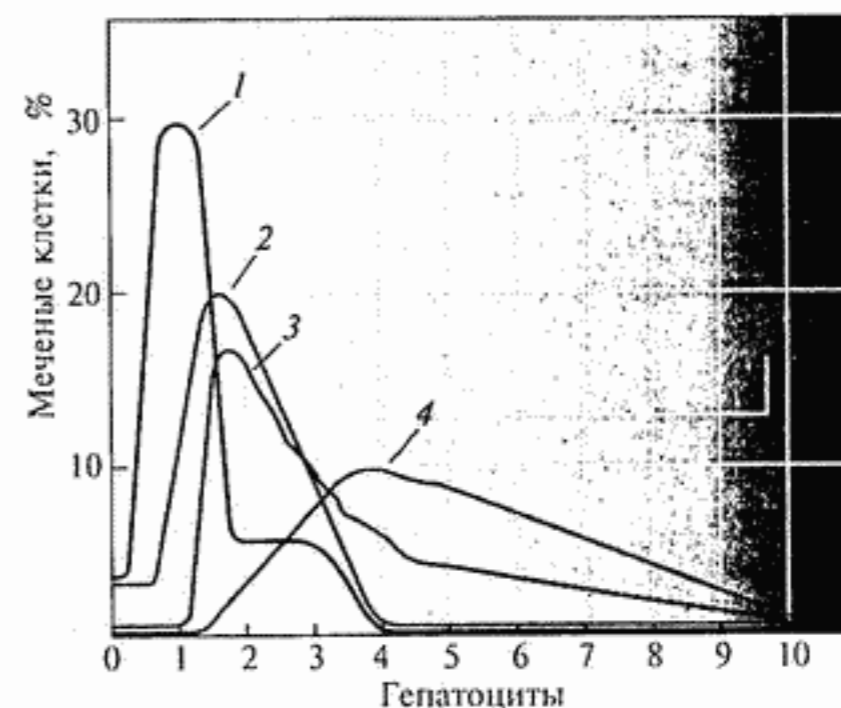


Рис. 80. Кинетика синтеза ДНК в четырех основных типах клеток печени млекопитающих (М. Mishalopoulos, М. Defrances, 1997). Самый быстрый ответ гепатоцитов, возможно, свидетельствует о том, что они секретируют паракриновые факторы, индуцирующие репликацию ДНК в других типах клеток печени млекопитающих после частичной гепатомии: 1 — гепатоциты; 2 — клетки протоков; 3 — клетки Купфера и Ito (жиро-запасяющие) клетки; 4 — эндотелиальные клетки

эмбрионального органогенеза. В ряду факторов инициации регенерации печени и возвращения ее клеток к митотическому циклированию одним из важнейших является фактор роста гепатоцитов (HGF). Уже через час после гепатотомии уровень HGF в крови повышается в 20 раз. Травма или гепатотомия активируют металлопротеазы, которые переваривают экстрацеллюлярный матрикс, высвобождают гепатоциты, позволяя им пролиферировать.

МОРФАЛАКТИЧЕСКАЯ РЕГЕНЕРАЦИЯ ГИДР

Если гидру разрезать поперек пополам, то «голова» восстановит «ногу», а «нога» — «голову». Средняя часть гидры, не меняя полярности, регенерирует щупальцы и гипостом («голову»), а также стебелек с подошвенным диском («ногу»). Для восстановления деления клеток регенерирующей части не требуется. Такое восстановление без деления оставшихся клеток называется морфаллаксисом.

Полярность гидры координируется серией морфогенетических градиентов. Существуют градиенты морфогенов — активатора головы и ингибитора головы. Так, если ткань от гипостома одной гидры пересадить на середину другой, то в месте пересадки образуется новый гипостом, и формируется новый дополнительный апикально-базальный градиент (рис. 81). Если подсадить ткань базального диска, то развивается дополнительная подошва (см. рис. 82). Если на середину гидры-реципиента подсаживали по кусочку от гипостома и подошвы, то могли возникнуть три варианта морфогенезов: ткани трансплантаты встраивались в тело гидры, и морфогенез отсутствовал, в двух других случаях образовывался «недоразвитый» диск или «недоразвитый» гипостом (см. рис. 82). В то же время подсадка гипостома к «голове», а тканей диска к «ноге» сопровождалась встраиванием в тело гидры. Если участок из гипостомальной области подсаживать в разные места гидры по ее длине, то в области гипостома трансплантат встроится в тело гидры-хозяина при интактном собственном гипостома. Если гипостом хозяина удалить, то «голова» восстановится из трансплантата. Вблизи подошвы, там, где концентрация ингибитора наименьшая, из трансплантата разовьется гипостом (рис. 82).

Полагают также, что существуют активатор и ингибитор базального диска. Градиенты ингибиторов головы и ноги играют важную роль в определении того места на теле гидры, где может образоваться почка при бесполом размножении. У молодой (короткой) гидры почкование невозможно именно потому, что по ее длине не создается необходимый минимум концентрации ингибиторов, допускающий почкование. С ростом гидры градиенты «растягиваются», появляется место их пересечения, где концент-

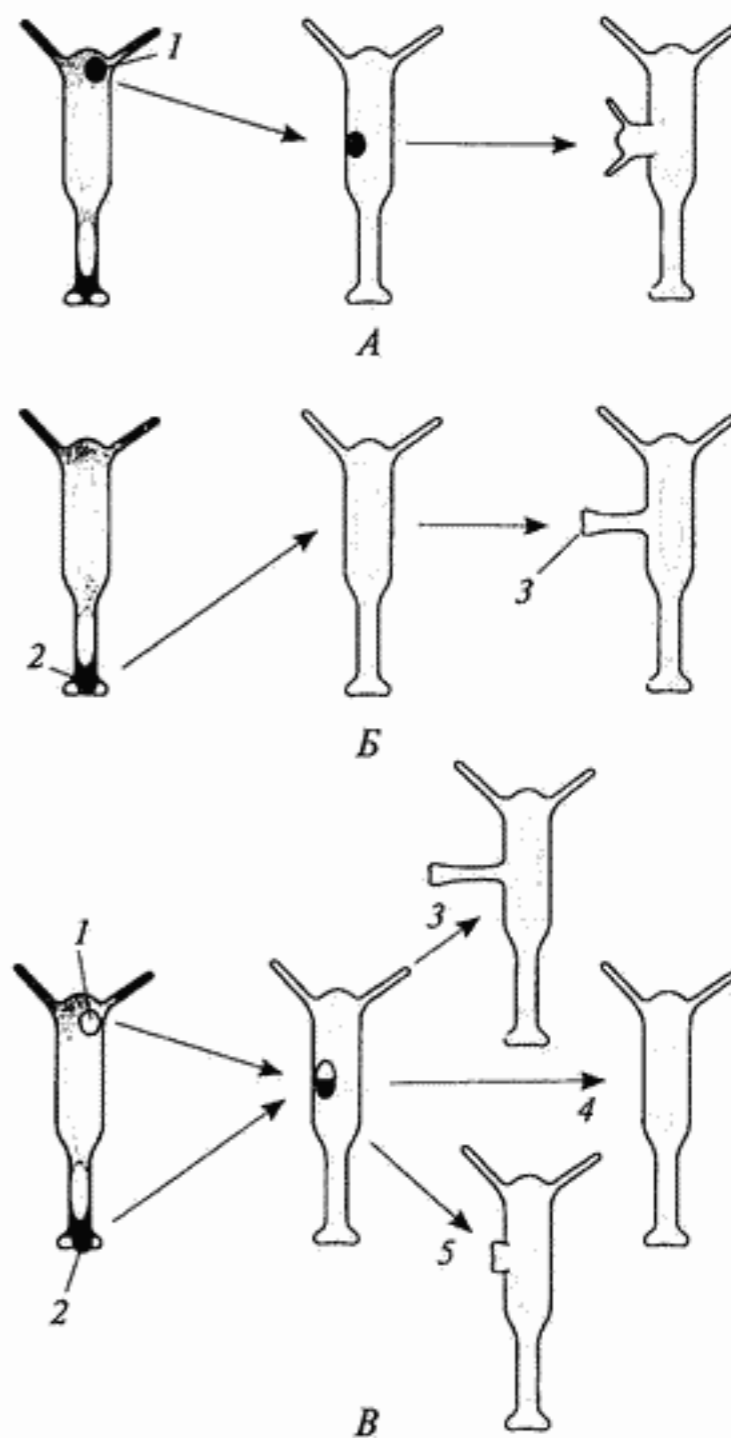


Рис. 81. Схема экспериментов, демонстрирующих различные морфогенетические способности участков тела гидры *Hydra axis* (S. Newmann, 1974): А — ткань гипостома (1), пересаженная в центральный участок тела (вызывает образование гипостома со щупальцами); Б — ткань подошвы (2), пересаженной в центральный участок тела (вызывает образование дополнительной подошвы (3) на теле гидры); В — пересадка участков, состоящих из двух типов тканей — подошвы и гипостома (ослабляет индукцию вплоть до полного ее отсутствия); 1 — гипостом; 2 — базальный диск; 3 — слабая апикальная индукция; 4 — отсутствие индукции; 5 — слабая базальная индукция

рации ингибиторов и активаторов оказываются ниже порогового уровня и где может формироваться почка (рис. 83), у почкующихся гидр-мутантов способность к почкованию восстанавливается по вышеприведенному механизму при увеличении размеров гид-

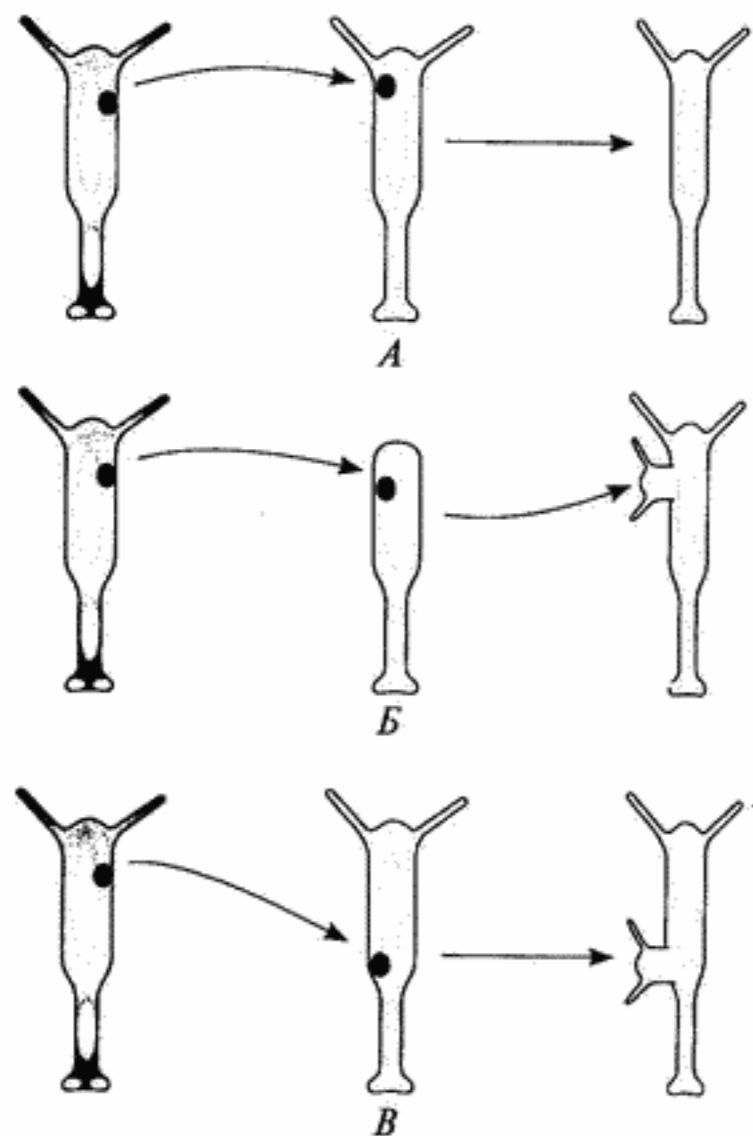


Рис. 82. Схема экспериментов, демонстрирующих «эффект градиента» головного конца гидры:

A — участок субгипостома, пересаженный в непосредственной близости к гипостому (не вызывает формообразования новой головы); *B* — участок ткани субгипостома, пересаженный в головной конец гидры, лишенной «головы» (вызывает образование дополнительного гипостома); *B* — участок, пересаженный из головного конца ближе к основанию подошвы (вызывает образование дополнительного гипостома в районе подошвы)

ры. Градиенты активатора и ингибитора информируют гидру о морфологическом «верхе» и «ниже», определяя позиционное значение находящимся в них клеткам.

На вопрос, как изменяется в эволюции способность к регенерации, односложно ответить нельзя. С одной стороны, у высших позвоночных, безусловно, отсутствует типичное гомологичное восстановление утраченных структур. Все попытки активизировать регенерацию утраченной фаланги у броненосцев привели к слабой стимуляции процесса, заметной лишь самим экспериментаторам. Однако хорошо известна способность печени млекопитающих к быстрому восстановлению путем регенерационной гипертрофии. Птицы восстанавливают функцию яичника путем ком-

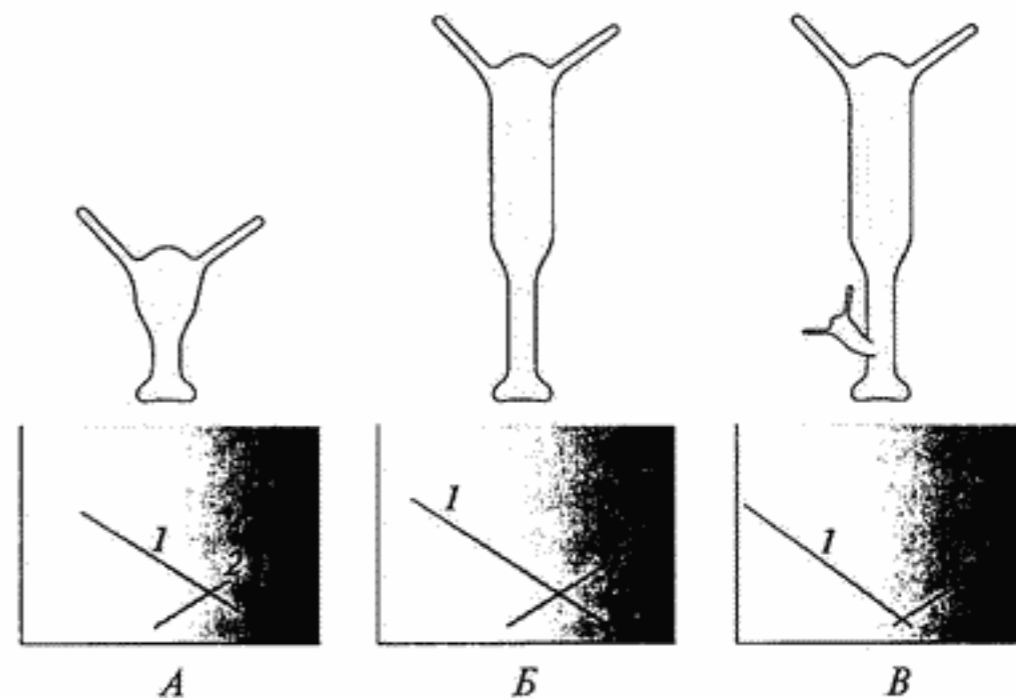


Рис. 83. Соотношение градиентов головного и подошвенного ингибиторов у молодой гидры (*A*), взрослой особи (*B*) и взрослой почкующейся особи (*B*):

1 — ингибция головы; *2* — ингибция ноги

пенсаторной гипертрофии парного неработающего. При этом глубокие повреждения кожных покровов, заживление ран после ампутации конечностей у млекопитающих заканчиваются рубцеванием. С другой стороны, губки, способные восстанавливаться после их растирания, плохо и долго репарируют небольшие повреждения. При этом утраченная часть не восстанавливается. Данные крайние случаи объясняются с позиций противопоставлений регенерации как свойства высокоинтегрированного организма и соматического эмбриогенеза — качества, в большей мере присущего менее интегрированным организмам или отдельным органам.

В то же время, если проанализировать способность к регенерации по ступеням эволюционной лестницы, картина будет следующая.

Среди беспозвоночных — первичноротых и вторичноротых — есть формы, способные восстанавливать целое из части. Это — губки, кишечнополостные, плоские черви, кольчатые черви (первичноротые), иглокожие и асцидии (вторичноротые).

Способность восстанавливать утраченные части прихотливо представлена у беспозвоночных. Как уже говорилось ранее, губки не способны восстанавливать утраченную часть, хотя, если саму эту часть пропустить через мельничный газ, то составляющие ее клетки вновь агрегируют и развиваются в губку. Медузоидные кишечнополостные и гребневники регенерируют плохо и способны лишь закрыть рану. Среди плоских червей (излюбленный объект изучения экспериментальных биологов) в силу способности не-

которых планарий к неограниченной регенерации есть плохо регенерирующие формы. Все круглые черви регенерируют плохо. Кольчатые черви относятся к числу прекрасно восстанавливающихся форм (кроме пиявок).

У членистоногих способность к регенерации связана с линьками, и среди этой огромной группы много видов, прекрасно восстанавливающих утраченные части, но есть и такие, которые не могут восполнить утраченное.

Взрослые асцидии и иглокожие не только восстанавливают утраченную часть, но и сама часть может превращаться во взрослое животное (асцидии) или достраивать утративший ее организм (например, луч морской звезды), а сам организм восполняет утраченную часть. В то же время личинки иглокожих и асцидий регенерируют слабо.

Среди позвоночных нет форм, которые могли бы из части восстановить целое. Круглоротые и все рыбы регенерируют плохо. Хвостатые амфибии проявляют высшие среди позвоночных способности к восстановлению утраченных частей. Тритоны и аксолотли могут столько раз восстанавливать потерянные конечности, хвост и даже части головы, сколько те будут утрачиваться.

Установлено, что способность к регенерации затухает вместе с затуханием репродуктивной функции. У тритонов известна особая форма регенерации — регенерация хрусталика. Это так называемая вольфовская регенерация, которая хорошо изучена и представляет собой пример трансдифференцировки в восстановительном морфогенезе. Утраченный хрусталик — структура эктодермального происхождения, замещается регенератом, образующимся из верхнего края радужки — структуры нейрального происхождения.

Бесхвостые амфибии регенерируют плохо, однако их личинки могут восполнять утраченные части и делают это лучше, чем личинки хвостатых.

Все рептилии не могут восполнять утраченные части и регенерируют плохо. Расхожий пример с ящерицей, «отпускающей», а затем отрастающей хвост, является случай атипичной регенерации. Образующийся регенерат отличается от нормального хвоста.

Птицы и млекопитающие не восстанавливают утраченные части. Выше приводился пример того, как травма конечности реактивирует у хвостатых амфибий функцию генов, работающих в зародышевый период, чего не наблюдается у мыши. Другой причиной отсутствия способности к регенерации у млекопитающих могут быть конкурентные отношения при репарации повреждения между специальными клетками остатка органа и соединительноткаными клетками.

В работах на молодых петушках и крысах при изучении многократно повторяемой регенерации кости, вылущенной из-под надкостницы и скелетных мышц, изъятых из соединительнотканой

сумки, размельченных и вновь реплантированных, была показана способность этих тканей к регенерации. При каждом следующем повторе соединительнотканый компонент занимал все больше места в регенерате. Этим, кстати, как бы создавалась модель «ускоренного старения» мышцы, ибо количеству соединительной ткани каждого последующего регенерата соответствовала нормальная мышца все более старшего организма контрольного возраста. Известно, что у хорошо регенерирующих хвостатых амфибий рана затягивается однослойным раневым эпителием, где соединительная ткань отсутствует. Но если раневую поверхность закрыть старой кожей с развитой соединительнотканой дермой, то регенерационной бластымы не образуется и регенерации не будет. Это свидетельствует о том, что в тех случаях репарации повреждения, в которых соединительнотканый компонент оказывается более быстрым и регенерации нет, образуется рубец. Возможно, такое ускоренное рубцевание раны у млекопитающих есть одно из проявлений высокой интегрированности их организма. В экспериментах на млекопитающих удавалось настолько активизировать органоспецифическую регенерацию, насколько инактивировался соединительнотканый компонент этого восстановительного морфогенеза.

ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ ПЕРВИЧНОАЗЕМНЫХ ЖИВОТНЫХ

РАЗВИТИЕ ПРИЗНАКОВ, ПРИВЕДШИХ К ВЫХОДУ ПОЗВОНОЧНЫХ НА СУШУ

Все позвоночные животные подразделяются на первичноводных — Anaptia и первичноназемных — Amniota в зависимости от того, в каких условиях происходит их эмбриональное развитие. Эволюционный процесс у животных был связан с освоением новой среды обитания — суши. Это прослеживается как на беспозвоночных, где высший класс членистоногих (насекомые) стал обитателем наземной среды, так и на позвоночных, где сушу освоили высшие позвоночные: рептилии, птицы и млекопитающие. Выход на сушу сопровождался адаптивными изменениями на всех уровнях организации — от биохимического до морфологического. С позиции биологии развития, адаптации к новой среде выразились в появлении приспособлений, сохраняющих для развивающегося зародыша условия жизни предков, т. е. водную среду. Это относится как к обеспечению развития насекомых, так и высших позвоночных. В обоих случаях яйцо, если развитие происходит вне организма матери, одевается оболочками, обеспечивающими защиту и сохранение макроструктуры полужидкого содержимого яйца в воздушной среде. Вокруг самого зародыша, развивающегося внутри яйцевых оболочек, формируется система зародышевых оболочек — амнион, сероза, аллантоис. Зародышевые оболочки у всех Amniota гомологичны и развиваются сходным образом (рис. 84). Развитие вплоть до выхода из яйца идет в водной среде, сохраняющейся вокруг зародыша с помощью амниотической оболочки, по названию которой вся группа высших позвоночных именуется Amniota. Функциональный аналог амниону позвоночных есть и у насекомых. Таким образом, задачи находят общее решение у двух столь разных групп животных, каждая из которых может считаться высшей в своей эволюционной ветви. Амниотическая оболочка образует вокруг зародыша амниотическую полость, заполненную жидкостью, по солевому составу близкую к составу плазмы клеток. У рептилий и птиц поднимающийся над желтком зародыш постепенно охватывается спереди, с боков и сзади двойной складкой, образованной эктодермой и париетальной мезодермой. Складки смыкаются над зародышем и послойно срастаются: наружная эктодерма с наружной эктодермой, подстилающая ее париетальная мезодерма с па-

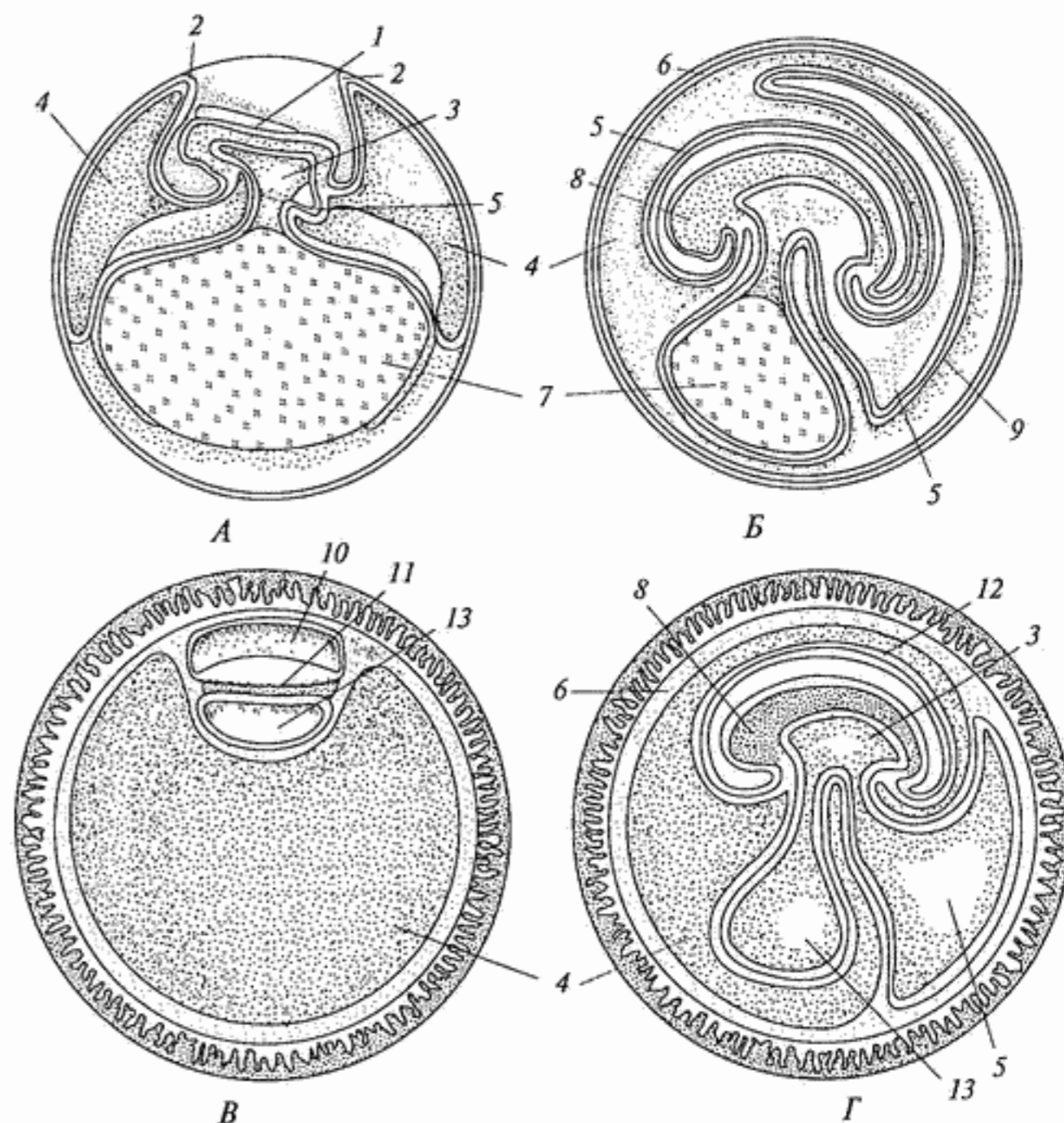


Рис. 84. Образование зародышевых оболочек у рептилий (А), птиц (Б) и млекопитающих (Б, Г) (передний конец зародыша слева):

А — ранняя стадия. Зародыш несколько приподнят над желтком, но область перехода собственно полости кишки в полость желточного мешка довольно обширна. Желточный мешок не вполне сформирован, так же как складки амниона и хорион; аллантоис едва намечен; Б — более поздняя стадия: зародышевые оболочки сформированы и желток уже частично израсходован; Б — соответствующие стадии развития млекопитающих на примере приматов. Внутренняя клеточная масса расщепилась на вентральной стороне, образовав полость кишки (главный результат гастрюляции) и на дорзальной стороне, образовав амниотическую полость. Между этими двумя полостями расположен зародыш в виде диска, в котором формируется первичная полоска, в основном так же, как у рептилий или птиц. Уже появилась мезодерма, и ворсинки хориона вступают в связь с прилежащей стенкой матки; Г — более поздняя стадия развития млекопитающего, соответствующая позиции Б; 1 — зародыш; 2 — амниотическая складка; 3 — кишка; 4 — экзоцелом; 5 — аллантоис; 6 — хорион; 7 — желток; 8 — голова зародыша; 9 — стенка аллантоиса; 10 — амниотическая полость; 11 — зародышевый диск; 12 — стенка амниона; 13 — желточный мешок

риетальной мезодермой противоположной складки. При этом весь зародыш и его желточный мешок сверху покрыты эктодермой и подстилающей ее париетальной мезодермой, которые вместе образуют наружную оболочку — серозу. Эктодерма внутренней части складок, обращенная к зародышу, и париетальная мезодерма, покрывающая ее, смыкаются над зародышем, образуя амниотическую оболочку, в полости которой он и развивается. Позже у зародыша в области задней кишки возникает вырост ее вентральной стенки (энтодерма с висцеральной мезодермой), который увеличивается и занимает экзоцелом между серозой, амнионом и желточным мешком. Этот вырост — третья зародышевая оболочка, называемая аллантоисом (рис. VIII цв. вкл.). В висцеральной мезодерме аллантоиса развивается сеть сосудов, которые вместе с сосудами серозной оболочки вплотную подходят к подскорлуповым оболочкам и снабженной порами скорлуповой оболочке яйца, обеспечивая газообмен развивающегося зародыша.

Преадаптации, предшествующие образованию зародышевых оболочек Amniota (их общего «перспективного стандарта») в ходе эволюции, можно проиллюстрировать двумя примерами.

1. Рыбки нотобранхии (*Notobranchius*) и афиосемионы (*Aphioseimion*) в Африке и цинолебии (*Cynolebias*) в Южной Америке живут в пересыхающих водоемах. Икра откладывается еще в воду, а развитие ее приходится на время засухи. Многие взрослые рыбы в засуху погибают, но отложенная икра продолжает развиваться. В сезон дождей из икринок выводятся мальки, сразу способные к активному питанию. Рыбки быстро растут и в возрасте 2—3 месяцев уже сами откладывают икру. При этом сначала в кладке находится всего несколько икринок, но с возрастом и ростом размер кладок увеличивается. Интересно, что приспособление к размножению в периодически пересыхающих водоемах привело к зависимости развития от этого фактора: без предварительного подсушивания икра теряет способность к развитию. Так, для развития золотополосого афиосемиона его икра должна пройти через полугодовое подсушивание в песке. В икре этих рыбок желток под зародышем разжижается и зародыш начинает погружаться в него, увлекая за собой верхнюю стенку желточного мешка. В результате вокруг зародыша замыкаются складки из наружных стенок желточного мешка, образующие камеру, которая сохраняет влагу и в которой зародыш переживает засуху. Этот пример показывает, как могли возникать зародышевые оболочки Amniota и он как бы имитирует и предвосхищает способ и путь образования амниона и серозы у высших позвоночных.

2. Зародыш примитивных рептилий, чьи яйца лишены белка, в процессе развития увеличивается, обособляется от желтка и упирается в скорлупу. Неспособный изменить форму скорлупы, зародыш тонет в желтке, а внезародышевая эктодерма (по фактичес-

ким данным сначала именно она) смыкается двойными складками над погружающимся зародышем. Позже в складки вырастает париетальная мезодерма.

Сопоставление этих двух примеров подсказывает возможную схему эволюционного происхождения двух из трех зародышевых оболочек — серозы и амниона.

Происхождение аллантоиса изначально связано с выведением продуктов азотистого обмена в эмбриогенезе высших позвоночных. У всех амниот аллантоис выполняет одну общую функцию — функцию своего рода эмбрионального мочевого пузыря. В связи с ранним функционированием почки зародыша полагают, что аллантоис возник в результате «преждевременного» развития мочевого пузыря. Мочевой пузырь есть и у взрослых амфибий, но не развит сколько-нибудь заметно у их зародышей (А. Ромер, Т. Парсонс, 1992). Кроме того, аллантоис выполняет дыхательную функцию. Соединяясь с хорионом, пронизанный сосудами хориоаллантоис действует как дыхательная система, поглощающая поступающий через скорлупу кислород и удаляющая диоксид углерода. У большинства млекопитающих аллантоис также располагается под хорионом, но уже как составная часть плаценты. Здесь сосуды аллантоиса тоже доставляют кислород и питательные вещества зародышу и переносят диоксид углерода и конечные продукты обмена к кровяному руслу матери. В разных руководствах аллантоис называют производным висцеральной мезодермы и эктодермы или энтодермы. Разночтение объясняется тем, что анатомически он сближен с клоакой, которая, по Г. Дж. Ромейсу, является первичным признаком позвоночных. Сама же клоака в эмбриогенезе имеет двойное происхождение. У зародышей всех позвоночных она образована расширением заднего конца энтодермальной задней кишки. До относительно поздних стадий развития она отгорожена от внешней среды мембраной, снаружи от которой располагается впячивание эктодермы (proctodeum) — задняя кишка. С исчезновением мембраны эктодерма включается в состав клоаки, и становится трудно различить, какая часть выстилки клоаки происходит из эктодермы, а какая из энтодермы.

У всех рептилий и птиц яйца крупные, полилецитальные, теллецитальные с меробластическим типом дробления. Большое количество желтка в яйцеклетках у животных этих классов служит основой для удлинения эмбриогенеза. Постэмбриональное развитие у них прямое и не сопровождается метаморфозом.

ЭМБРИОНАЛЬНОЕ РАЗВИТИЕ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Основные способы размножения амниот — яйцекладность, яйцерождение и живорождение. При яйцекладности эмбриональ-

ное развитие происходит вне организма матери. У некоторых рептилий встречается яйцеживорождение. Иная стратегия обеспечения эмбрионального развития у сумчатых и плацентарных млекопитающих — живорождение. Вообще живорождение широко представлено у животных многих таксономических групп. Так, у рептилий встречается яйцеживорождение, при котором яйца задерживаются в половых путях самки. У гадюки (*Vipera berus*), живородящей ящерицы (*Lacerta vivipara*) и других рептилий вылупляются вполне готовые к самостоятельной жизни животные. У яиц всех этих животных скорлуповая оболочка очень тонкая. Благодаря развитию сосудов аллантоиса и малой толщине оболочек возможен газообмен между кровью матери и зародыша. У живородящей ящерицы (*Seps*) участки скорлупы в яйцеводах разрушаются и выросты серозной оболочки контактируют со слизистой расширенного участка яйцевода «матки», т.е. образуется орган, связывающий зародыш с материнским организмом — плацента. Зародыш продолжает питаться желтком, а роль «матки» сводится к участию в газообмене эмбриона. На этом плацентарность современных рептилий достигает своего максимума.

Примитивные клоачные млекопитающие, такие, как утконос и ехидна, откладывают крупные яйца, богатые желтком. Благодаря размеру яиц, большому количеству желтка, дискоидальному дроблению и развитию яиц вне организма матери эмбриогенез этих животных сходен с эмбриогенезом рептилий.

У сумчатых яйца уже мелкие (0,13—0,2 мм), но еще содержат умеренное количество желтка (до 1/4 от объема). У каменной куницы (*Dasyurus*) яйцо после оплодотворения одевается третичными белковой и скорлуповой оболочками. Уже первое деление дробления меридионально-широтное, вследствие чего желток выталкивается в белок, и дробление с самого начала полное. Третья борозда, как первые две, меридиональная, что характерно для дискоидального типа дробления полилецитальных яйцеклеток рептилий и птиц. Обрастание желтка у каменной куницы начинается со стадии 16 бластомеров, т.е. гораздо раньше, чем у *Sauropsida* и заканчивается быстрее. У опоссума (*Didelphis*) желтка еще меньше. Он также выталкивается из бластомеров при дроблении. Третья борозда у них экваториальная, и следы дискоидального дробления исчезают. Часть бластомеров начинают обрастать разжиженный желток и внутриклеточную массу, образуя трофобласт. Собственного питательного материала у зародыша мало и хватает до стадии завершения сомитогенеза, обособления головы, образования конечностей, амниона и аллантоиса. После всех этих дифференцировок зародыш все еще остается в матке и растет. Зародыш теперь питается за счет секрета желез слизистой матки (маточное молоко). Питательный секрет поступает в сосуды желточного мешка через трофобласт. Таким образом, впервые не только в дыхании,

но и питании зародыша принимает участие материнский организм. Трофическая деятельность желез продолжается недолго, и на 8-й день очень маленький и совершенно несамостоятельный детеныш появляется на свет. Таких детенышей рождается несколько. Они переползают в сумку и еще не способны сосать, но взаимодействие рта детеныша с соском приводит к тому, что сосок глубоко вводится в полость рта, удлиняется и достигает пищевода. Детеныш фактически повисает на соске. Мать кормит детеныша, выдавливая с помощью особых мышц молоко в его пищевод.

У других сумчатых, например у бандикута (*Perameles*), на поверхности серозной оболочки в том ее месте, где сероза срастается со стенкой аллантоиса, образуются богатые сосудами ворсинки, контактирующие со слизистой матки, в которой в месте контакта также концентрируются кровеносные сосуды. Такая плацента, в которой ворсинки плода внедряются в слизистую матки, не разрушая ее эпителий, называется полуплацентой. Место серозной оболочки, на котором формируются ворсинки, называется хорионом. Полуплацента, в которой ворсинки хориона не разрушают эпителий слизистой матки, называется эпителиохориальной.

Особенности развития плацентарных млекопитающих

У высших млекопитающих (*Eutheria*, *Placentalia*) живорождение достигает возможного совершенства. Механизмы, его обеспечивающие, повлияли на весь ход эмбриогенеза, привнеся в него существенные особенности.

Яйцеклетка млекопитающих практически лишена желтка. Ооцит выходит из яичника, окруженный блестящей оболочкой (*zona pellucida*) и лучистым венцом (*corona radiata*), образованным фолликулярными клетками. Оплодотворение происходит в ампулярном, примыкающем к яичнику отделе яйцевода на стадии метафазы II мейоза. В результате овоцит завершает мейоз. Дробление начинается через 12—24 ч (рис. 85).

Осуществляется полное асинхронное дробление с ротационным типом врезания борозд. Само дробление относится к самому медленному в животном царстве (12—24 ч у млекопитающих против 3—10 мин у дрозофилы — диапазон одного цикла дробления). Геном млекопитающих в отличие от других групп животных активируется на самых ранних стадиях дробления. Например, у мыши и козла переключение с материнского на зиготический контроль происходит уже на 2-клеточной стадии (R.S.Prather, 1989; L.Pikko, K.V.Clegg, 1982). При этом продуцируются белки, необходимые для дробления. В процессе дробления наблюдается специфическое для млекопитающих явление компактизации. На стадии 8 бластомеров зародыш образован округлыми бластомерами с заметными промежутками между ними. В ходе врезания третьей борозды и ко

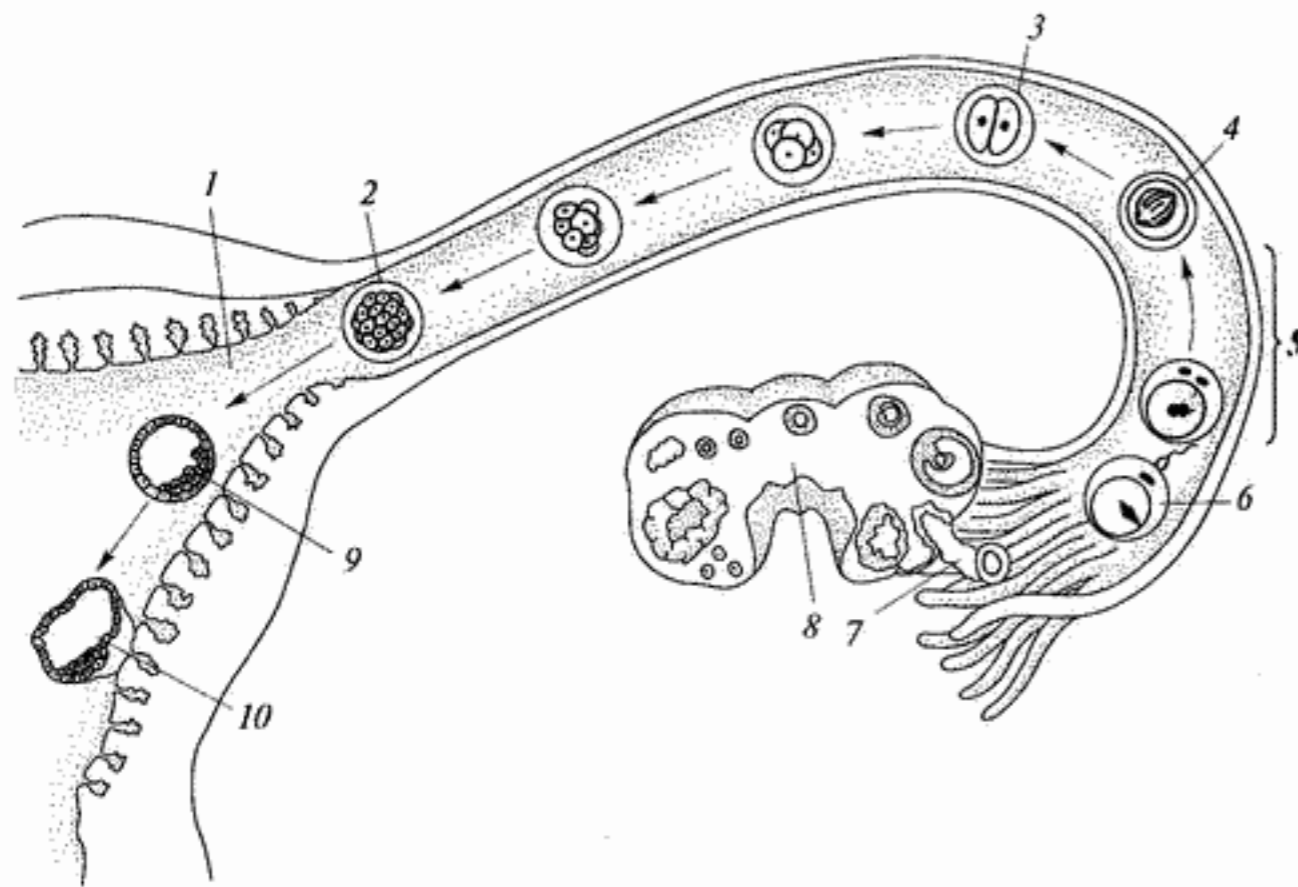
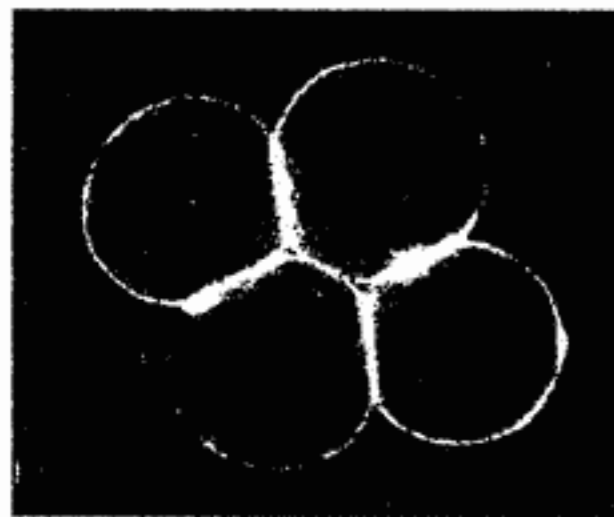


Рис. 85. Развитие зародыша млекопитающих от момента оплодотворения до имплантации:

1 — матка; 2 — морула; 3 — два бластомера; 4 — первое деление зиготы; 5 — ампулярный отдел яйцевода; 6 — оплодотворение; 7 — овуляция; 8 — яичник; 9 — бластоциста; 10 — имплантация зародыша



А



Б

Рис. 86. Поляризация мембраны раннего зародыша мыши (С.Ф. Гилберт, 1991):

А — мембрана не поляризована; Б — мембрана поляризована

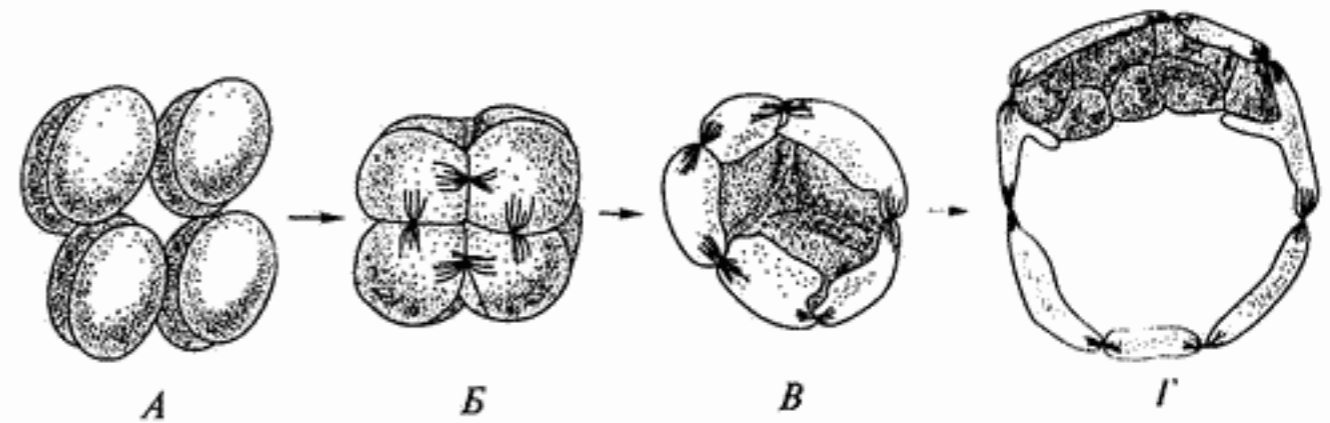


Рис. 87. Схематический рисунок компактизации и образования бластоцисты:

А, Б — 8-клеточный зародыш; В — морула; Г — бластоциста

времени образования 8-клеточного зародыша свойства образующих его бластомеров меняются. Клетки начинают плотно прилегать друг к другу, образуя компактный шар (рис. 86, 87). Наружные бластомеры зародыша соединяются путем установления плотных контактов между ними (рис. 88). Эти бластомеры «запечатывают» полость сферы и те бластомеры, которые в ходе компактизации оказались внутри. Между внутренними клетками образуются щелевые контакты, позволяющие небольшим молекулам и ионам переходить из клетки в клетку. У 16-клеточного компактизированного зародыша внутри находятся всего 1—3 клетки, окруженные большой группой наружных клеток.

Большая часть потомков наружных клеток становится трофобластом (трофоэктодермой). Позже эти клетки вместе с клетками мезодермы участвуют в образовании хориона — эмбриональной части плаценты. В плаценте кровеносная система зародыша и матери вступают в тесную связь друг с другом (о разнообразии этих связей см. рис. 90). Через плаценту зародыш снабжается кислородом и питательными веществами и выводит в материнскую кровь продукты обмена и диоксид углерода. Плацента выполняет также барьерную, гормональную и иммунорегуляторную функции, благодаря которым зародыш не отторгается организмом матери.

Зародыш образуется из потомков клеток внутренней клеточной массы, которые обособляются на стадии 16 клеток и до стадии 32-клеточного зародыша могут пополняться случайными клетками трофобласта (R.A. Pedersen et al., 1986; T.P. Fleming, 1987). Клетки внутренней клеточной массы отличаются от клеток трофобласта месторасположением, внешним видом (см. рис. 41) и тем, что уже на самых ранних стадиях синтезируют другие белки. У 64-клеточного зародыша клетки внутренней клеточной массы и клетки трофобласта разделяются несмешиваемыми слоями зародыша (J. Duce et al., 1987).



Рис. 88. Блостоциста мыши, выходящая через отверстие в прозрачной оболочке (С.Ф.Гилберт, 1991)

Разделение на трофобласт и клетки внутренней клеточной массы представляет собой первый этап дифференцировки в развитии млекопитающих.

Ранний зародыш млекопитающих, не имеющий внутренней полости, называется морулой.

Полость зародыша формируется в результате процесса, получившего название кавитации. В ходе кавитации клетки трофобласта секретируют внутрь зародыша жидкость, которая раздвигает клетки, образуя в центре зародыша полость — бластоцель. Процесс компактизации плотно соединяет клетки трофобласта. Вследствие их раздвигания при образовании бластоцели клетки трофобласта растягиваются и принимают характерную форму. Клетки внутренней клеточной массы располагаются на одном из полюсов внутри трофобласта (см. рис. 41, 87). Образуется характерная для млекопитающих структура зародыша — бластоциста.

Механизмы компактизации

Компактизация — пример первой дифференцировки в развитии млекопитающих, разделяющей зародыш на трофобласт и внутреннюю клеточную массу. Компактизация осуществляется веществами клеточной поверхности, соединяющей бластомеры. Перед компактизацией в результате интенсивного изменения мембраны каждого из 8 бластомеров происходит поляризация. В процессе поляризации различные компоненты клеточной поверхности мигрируют в различные участки (С. А. Ziomek and E. M. Johnson, 1980). Это можно наблюдать, пометив молекулы клеточной поверхности флуоресцентными красками. Одна из них метит класс гликопротеинов клеточной поверхности, показывая, что на 4-клеточной стадии этот белок равномерно распределен по мембране (см. рис. 86). Однако к середине 8-клеточной стадии эти молекулы находятся уже на полюсах бластомеров, дальше всего отстоящих от центра зародыша (см. рис. 86). Явление поляризации обусловлено взаимодействием соприкасающихся мембран бластомеров (в изолированных бластомерах зародыша этой стадии поляризации мембраны нет).

Определяющая роль в компактизации принадлежит увоморулину, представляющему собой Е-кадгерин (L—CAM), т. е. относится к белку клеточной адгезии, играющему важную роль в морфогенезе.

Увоморулин — гликопротеин (120 000 Да), найденный на поверхности клеток всех типов, синтезируется уже на 2-клеточной стадии и равномерно распределяется по всей мембране. Компактизация сопровождается перераспределением увоморулина. Антитела к увоморулину вызывают декомпактизацию морулы.

В компактизации показана важная роль фосфатидилинозитола. Если 4-клеточных зародышей поместить в среду, содержащую вещества, активирующие протеинкиназу С, то начинается подготовка к компактизации. Диацилглицериды также могут вызывать компактизацию у 4-клеточных эмбрионов. При этом увоморулин обнаруживается в местах соединений бластомеров (G. K. Winkel et al., 1990).

Клеточная мембрана в процессе компактизации может быть также модифицированной путем реорганизации цитоскелета. В местах соединения клеток друг с другом появляются микроворсинки, заполненные актиновыми микрофиламентами. Полагают, что именно микроворсинки служат сайтами, где увоморулин обеспечивает клеточную адгезию. Утолщение клеток трофобласта может быть обусловлено укорочением микроворсинок вследствие деполяризации актина (G. E. Pratt et al., 1982).

Образование внутренней клеточной массы

Наблюдения показывают, что судьба клеток раннего зародыша определяется их положением в нем. До 8-клеточной стадии между клетками зародыша еще не видно ни морфологических, ни биохимических различий. Отсутствуют различия и в морфогенетических потенциях. Любой бластомер 4-клеточного зародыша, помещенный снаружи, превращается в трофобласт, а помещенный внутрь — в клетки внутренней клеточной массы. Таким образом, станет ли клетка раннего зародыша клеткой трофобласта или эмбриона, зависит от того, где окажется: снаружи или внутри эмбриона после компактизации.

Большинство клеток бластоцисты образует трофобласт. На вопрос о том, сколько бластомеров внутренней клеточной массы участвует в формировании собственно зародыша, удалось ответить с помощью экспериментов по созданию аллофенных мышей. Аллофенных зародышей получают методом объединения двух зародышей от разных родителей, обычно на стадии 4- или 8-клеточных. Родителей различают по контрастирующему признаку, например по окраске волос — белых и черных. Для этого zona pellucida снимают с каждого зародыша, и два липких на этой стадии эмбриона

соединяются вместе, образуя единую бластоцисту. Эту сложную бластоцисту имплантируют в матку предварительно подготовленной приемной матери. Родившихся аллофенных мышей по окраске волос можно отнести к одному из родителей. Если внутри бластоцисты оказалась одна клетка одного из партнеров, то потомство будет или черным, или белым; если две, то аллофенное потомство будет только в половине случаев (1ww:2wB:1BB); если три, то количество аллофенных мышей повышается до 75% (1www:3wwB:3wBB:1BBB); если 4, то до 87,5% случаев. В эксперименте В. Mintz (1970) получено 73% двухцветных эмбрионов, что свидетельствует о том, что первоначально должно было быть 3 бластомера, из которых развился эмбрион. Отсюда следует, что большая часть клеток бластоцисты никогда не войдет в состав развившегося организма.

Выход зародыша из zona pellucida и имплантация

По мере движения бластоцисты по яйцеводам к матке объем зародыша увеличивается. В мембранах клеток трофобласта работает натриевый насос (Na^+/K^+ -АТФаза), подающий ионы натрия в полость бластоцисты. Вслед за повышением концентрации натрия в полость бластоцисты поступает вода, увеличивая объем бластоцеля (L. M. Wiley, 1984). Zona pellucida защищает бластоцисту в трубах от прилипания к слизистой оболочке. Когда бластоциста преждевременно выходит из оболочки, она может имплантироваться в слизистую яйцеводов, что приведет к так называемой эктопической, или трубной, беременности. В норме бластоциста выходит из блестящей оболочки после попадания в матку, затем она прилипает к стенке матки и имплантируется.

Бластоциста мыши вылупляется из зоны, образуя в ее стенке маленькое отверстие, через которое она выходит (рис. 88). В оболочке оно появляется благодаря трипсиноподобной протеазе, называемой стрипсином, выделяемым клетками трофобласта. Стрипсин растворяет фибриллярный матрикс зоны, образуя выходное отверстие. Выйдя в полость матки, бластоциста прикрепляется к слизистой с помощью протеинрастворяющих ферментов, таких, как активатор пламиногена, стромелизин, коллагеназа, секретируемых клетками трофобласта, растворяет экстрацеллюлярный матрикс тканей матки и погружается в стенку матки (С. А. Brenner et al., 1989; К. Yamazaki, 1989).

Близнецы

Близнецы у млекопитающих и человека относятся к двум разным группам: 1) однояйцевые (монозиготные, идентичные); 2) двуяйцевые (дизиготные, братские).

Двухяйцевые близнецы возникают при оплодотворении двух яйцеклеток, однояйцевые — в результате обособления бластомеров зародыша, развивающегося из одной оплодотворенной яйцеклетки. Последнее вместе с теперь уже многочисленными опытами с ранними зародышами млекопитающих свидетельствует о том, что нормальный организм может развиваться из изолированных бластомеров и частей эмбриона.

Так, при разрушении одного из бластомеров двухклеточного зародыша кролика (F. Siedel, 1952) оставшийся бластомер нормально развивался в целый организм. Даже из одного бластомера 8-клеточного зародыша мыши может развиваться нормальная взрослая особь (J. D. Kelly, 1977). Монозиготные близнецы возникают путем деления ранних бластомеров или путем деления кле-

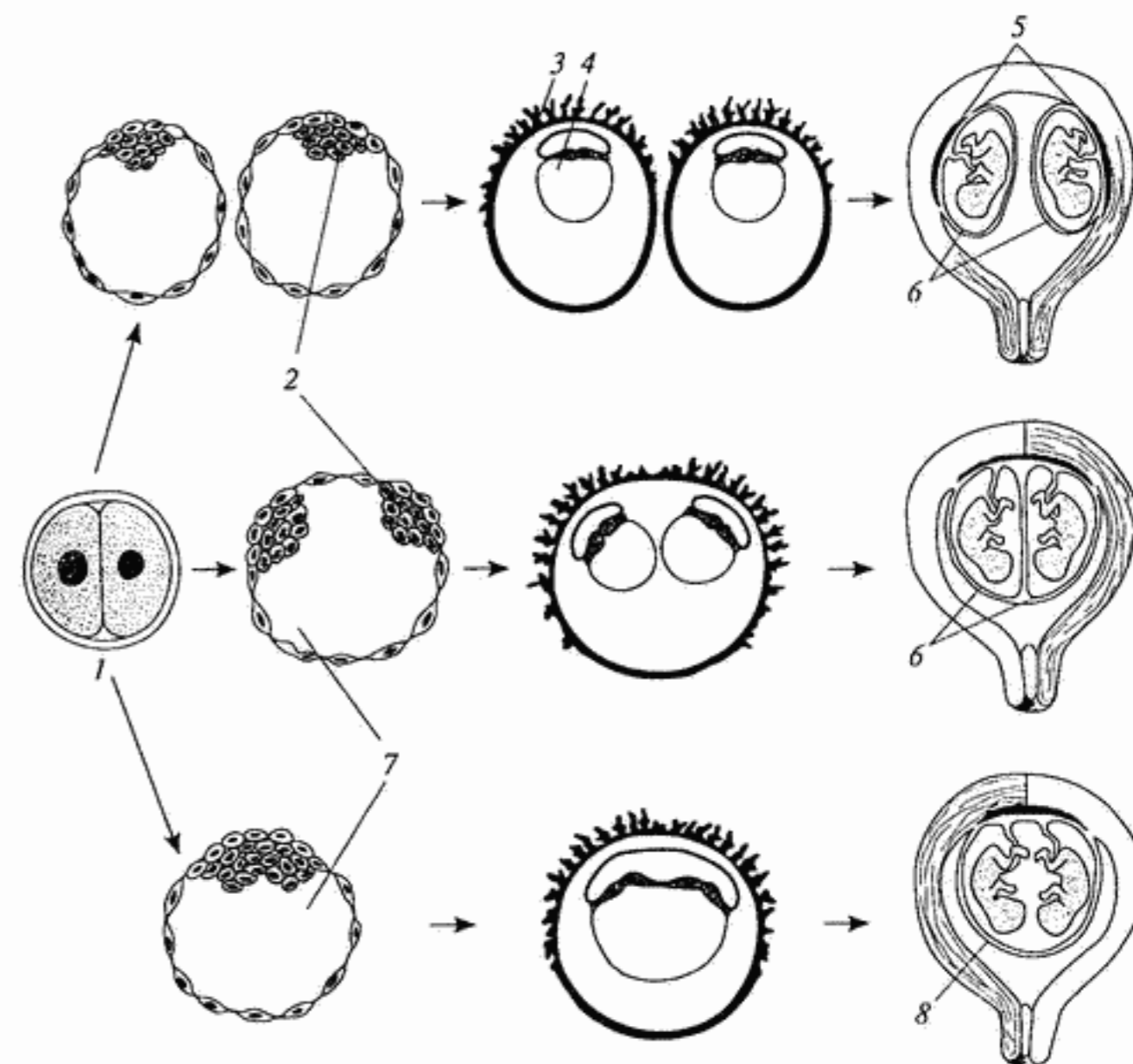


Рис. 89. Развитие однояйцевых двоен у человека и отношения их с зародышевыми оболочками:

1 — зародыш на стадии двух клеток; 2 — клетки внутренней клеточной массы; 3 — амнион; 4 — желточный мешок; 5 — два хориона; 6 — два амниона; 7 — бластоцель; 8 — амнион (общий)

ток внутренней клеточной массы внутри одной бластоцисты. Это случается в 0,25 % случаев рождений у человека. При этом 33 % идентичных двоен имеют два полных отдельных хориона. Это показывает, что разделение зародыша произошло до образования трофобласта — до 5-го дня эмбрионального развития (рис. 89). Остальные идентичные близнецы имеют общий хорион, что указывает на разделение после образования трофобласта. К 9-му дню формируется амнион. Если разделение произошло между 5-м и 9-м днями — после образования хориона и до образования амниона, то у близнецов будет общий хорион, но отдельные амнионы. Так случается у 2/3 идентичных близнецов. У небольшого процента идентичных двоен (5 %) бывает один хорион и общий амнион. Это свидетельствует о том, что разделение произошло после 9-го дня. Такие эмбрионы при неполном разделении зародышевого щитка могут давать различные варианты сросшихся «сиамских близнецов».

Способность воспроизводить целый организм из части называется регуляцией. К явлениям регуляции относятся и случаи образования одного организма из объединенных бластоцист. Аллофенные особи возможны и у человека. Известны организмы, содержащие хромосомы XX и XY одновременно. Это объясняется объединением в матке перед имплантацией двух ранних бластоцист разного пола, т. е. возможно объединение разнояйцевых братьев и сестер с образованием единого организма.

Плацента

Структура, обеспечивающая внутриутробное развитие млекопитающих, называется плацентой. В состав плаценты со стороны зародыша входят сначала первичные, а затем вторичные ворсинки хориона. Последние сильно разветвлены и содержат кровеносные сосуды зародыша. Со стороны матери в состав плаценты входит слизистая оболочка матки. У млекопитающих два главных вида плацент:

1) хориовителлиновая, в состав которой со стороны зародыша входят ворсинки с кровеносными сосудами желточного мешка (большинство сумчатых);

2) хориоаллантаидная, в состав которой входят вторичные ворсинки с кровеносными сосудами аллантаиса.

У высших млекопитающих сначала функционирует хориовителлиновая плацента, а затем она заменяется хориоаллантаидной. У некоторых млекопитающих функционируют плаценты обоих типов (кролик, крот, верблюд).

Плаценты отличаются по расположению ворсинок на хорионе и глубине их проникновения в слизистую матки. По расположению ворсинок на хорионе плаценты делятся на диффузные, у

которых ворсинки распределены равномерно по всей поверхности (свинья); котиледонные, чьи ворсинки собраны в группы (островки), в свою очередь, равномерно расположенные по всей поверхности хориона (жвачные); зонарные или поясковые, ворсинки которых располагаются пояском на хорионе (хищные) и дисквидные с расположением ворсинок в виде одного (грызуны) или двух дисков (бидисквидные) на полюсах хориона (приматы).

По глубине проникновения ворсинок в слизистую матки плаценты бывают эпителиохориальными — эпителий ворсинок кон-

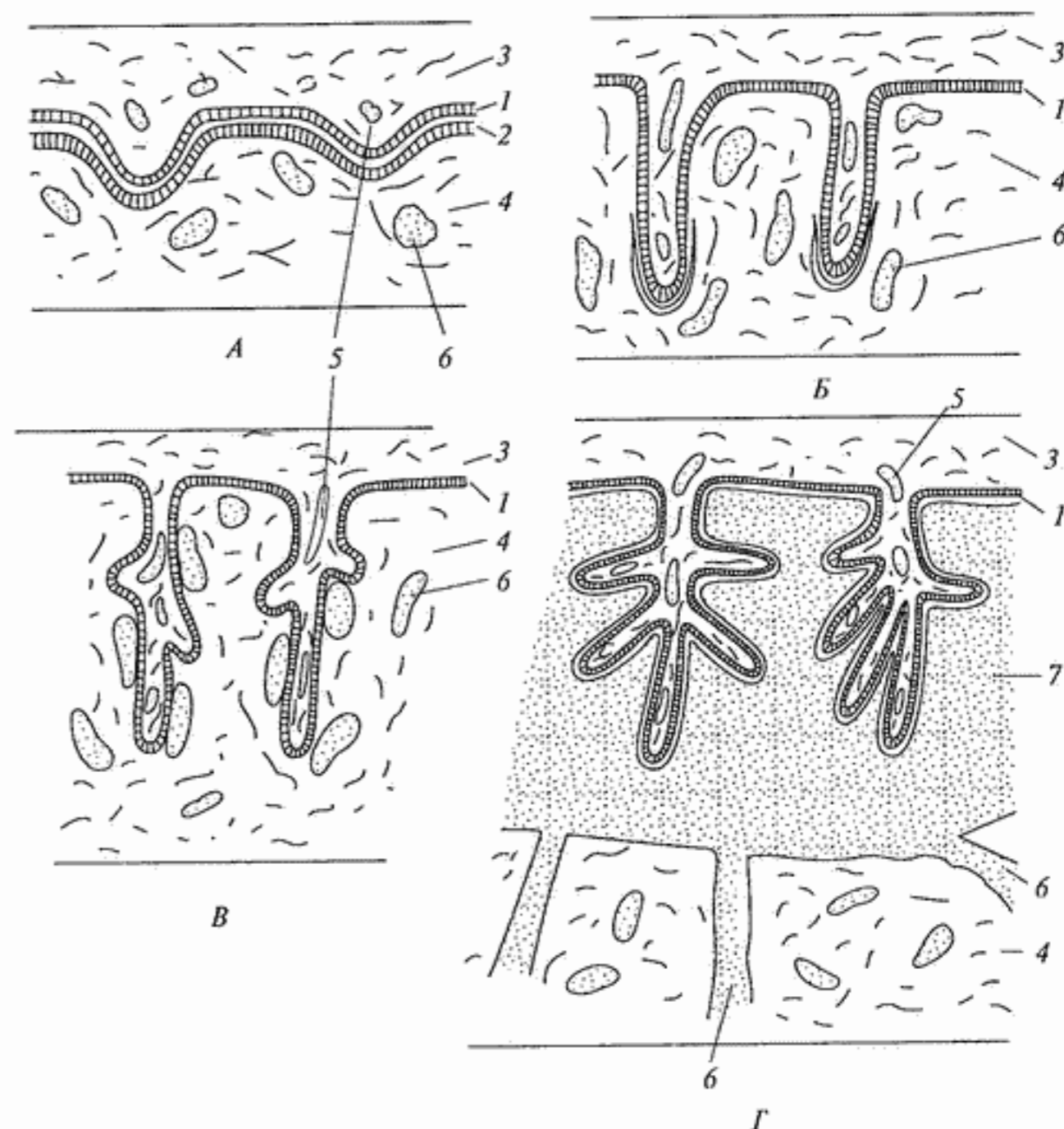


Рис. 90. Типы плацент:

А — эпителиохориальная; Б — соединительнотканая хориальная; В — эндотелиохориальная; Г — гемохориальная; 1 — эпителий хориона; 2 — эпителий стенки матки; 3 — соединительная ткань ворсинок хориона; 4 — соединительная ткань стенки матки; 5 — кровеносные сосуды ворсинок хориона; 6 — кровеносные сосуды стенки матки; 7 — материнская кровь

тактирует с эпителием матки, не разрушая его (диффузная плацента свиньи); десмохориальными — ворсинки в месте контакта разрушают эпителий слизистой и внедряются в ее соединительнотканый слой, не достигая, однако, сосудов слизистой (котиледонная плацента жвачных); эндотелиохориальными — ворсинки хориона проникают через соединительнотканый слой до эндотелиальных стенок сосудов (зонарные плаценты хищных); гемохориальными — эндотелий сосудов слизистой разрушается, и ворсинки хориона погружены в лакуны, заполненные кровью матери (дисквидная плацента приматов, рис. 90).

В отличие от большинства других животных у млекопитающих невозможен ни андрогенез, ни партеногенез, т. е. нормальное развитие возможно только при совместном функционировании материнского и отцовского геномов в зародыше. При андрогенезе, когда зародыш развивается на основе диплоидного ядра зиготы, образовавшегося из двух мужских пронуклеусов, сам зародыш не формируется, но усиленно развивается ткань плаценты, приводящая к образованию опухоли матки. При партеногенезе у мышей развитие зародыша может продолжаться до 11 суток, затем он погибает.

Приложение

ВЕРОЯТНОСТНАЯ МОДЕЛЬ УПРАВЛЕНИЯ КЛЕТОЧНЫМИ ДИФФЕРЕНЦИРОВКАМИ

В последние десятилетия методы математического моделирования все шире применяются в самых различных областях биологии. Здесь приводится один из возможных подходов к математическому описанию процессов детерминации и дифференциации зародышевых структур в регуляционном развитии.

Многоуровневая организация структуры управления дифференцировками

«Самоорганизующиеся системы — это своеобразные организмы, образованные из некоторого множества вещей, объединенных системой управления. Управление осуществляется путем передачи и переработки сигналов. Структура управления — это структура языка системы» (В. В. Налимов. Вероятностная модель языка, 1979). Из названной книги заимствованы элементы логики настоящей работы, ряд ключевых понятий и идея математического описания.

Прежде чем перейти к изложению и обоснованию исходных представлений, отметим, что проблема управления клеточными дифференцировками до настоящего времени сопряжена с большим числом нерешенных вопросов: о природе источников и носителей, управляющих развитием сигналов; о природе передающих информацию каналов; о механизмах преобразования в некую универсальную форму записи и хранения информации и т. д. Авторы намеренно не затрагивают названных вопросов там, где это не продиктовано основной темой работы.

Наиболее важное, ключевое свойство регуляционного развития — многоуровневая иерархическая организация процесса детерминации зародышевых структур. Ее исходный уровень образуют носители позиционной информации, строго локализованные в цитоплазме оплодотворенной яйцеклетки. Эти факторы обеспечивают начальную неоднородность пространственного распределения морфогенетической информации. При мозаичном типе развития (таких организмов, как моллюски, оболочники и

нематоды) иерархическая структура управления цитодифференцировками носит явно вырожденный характер: судьба любой клетки практически полностью определяется той частью цитоплазмы и содержащимися в ней детерминантами, которые она приобретает в процессе дробления яйцеклетки. В более высокоорганизованном регуляционном развитии тексты из морфогенетических детерминантов не являются изначально полностью заданными, но существенно и неоднократно изменяются, дополняются в ходе процесса доопределения клеточных потенций. В этом процессе первостепенную роль играют межклеточные информационные взаимодействия, а также обмен информацией на уровне клеточных комплексов. На определенных стадиях рассматриваемого процесса приводятся в действие механизмы интеграции отдельных клеточных образований в единое целое. Важная роль в таких интеграционных процессах принадлежит различным эмбриональным полям, в первую очередь концентрационным, т.е. градиентам морфогенов химической природы. Представляется закономерным участие в регуляционных процессах и более быстрых каналов передачи информации — не молекулярной и не механической, но иной физической природы, например волновой. Здесь важно другое. Для всех форм информации, по-видимому, существует единый, универсальный биологический код, на языке которого формируются команды, непосредственно управляющие экспрессией генов. В дальнейшем, употребляя термин «морфоген» или «детерминант», мы фактически будем иметь в виду информацию, преобразованную в такую универсальную форму.

Многоуровневая иерархическая организация рассматриваемых процессов имеет ряд важных следствий. В их числе — некоторая степень неполноты, недостаточности морфогенетической информации для однозначного и окончательного определения будущей специализации зародышевых структур на текущих, достаточно далеких от завершения стадиях формирования клеточных потенций. Направление клеточных дифференцировок окончательно определяется только в том случае, когда полностью сформирован текст из факторов, ответственных за экспрессию всех генов, участвующих в данной дифференцировке, когда этот текст имеет законченный, однозначный смысл, смысл терминальной директивы. В этом состоит принципиальное отличие промежуточных стадий процесса детерминации от его окончательного результата. Тот факт, что управляющая информация на начальных и промежуточных этапах рассматриваемого процесса не является исчерпывающей для однозначного определения будущей специализации зародышевых структур, имеет фундаментальное значение. В силу неполноты управляющей информации на промежуточных этапах процесса соответствующие морфогенетические тексты многознач-

ны по своему будущему действию и включают в себе некоторую неопределенность, т.е. не единственную перспективу развития данной клеточной структуры, а некоторую совокупность возможных перспектив. Эта неопределенность или множество возможных значений тем больше, чем дальше рассматриваемый процесс от окончательного завершения. Следовательно, механизмы эмбриональной регуляции допускают неоднозначную интерпретацию управляющего сигнала объектом управления — клеткой или клеточными комплексами таковых, если процесс детерминации не завершен.

Реально многозначность текстов из морфогенетических детерминантов (или неопределенность их будущего действия) выражается в существовании альтернативных вариантов дифференцировок, некоторого множества «потенциальных возможностей» в будущей судьбе зародышевых клеток. В биологии развития этому свойству неопределенности будущего действия, или многозначности управляющих текстов, соответствуют термины «мультипотентность» или «тотипотентность», если возможны все варианты дифференцировок. Реализация одного из альтернативных вариантов развития клеточной структуры зависит от «объективных обстоятельств», в том числе от действия дополнительных управляющих факторов, например индукторов, на следующих ступенях иерархии управления.

Еще раз подчеркнем: лишь полностью сформированные тексты из морфогенетических детерминантов, что достигается только на высших уровнях структуры управления развитием, имеют смысл однозначной терминальной директивы.

Таким образом, сущность процесса детерминации состоит в последовательном ограничении исходной многозначности вплоть до полного исключения всякой неопределенности, любых альтернатив в будущем предназначении зародышевых структур.

Сформулированное свойство многозначности языка морфогенетических детерминантов наряду с другим важным качеством рассматриваемого языка — его нелинейностью — составляет сущность регуляционного развития и его кардинальное отличие от развития, называемого детерминированным. Это свойство можно рассматривать как необходимое условие управляемости, «регулируемости» эмбриогенеза. Именно возможность выбора из существующих альтернатив оптимального варианта развития, наиболее полно отвечающего как внутренним собственным целям, так и объективным внешним обстоятельствам, является основой самоуправления.

Вывод о многозначности, полисемантической текстов из действующих в разное время до завершения процесса детерминации управляющих факторов подтверждается разнообразными данными экспериментальной эмбриологии, прежде всего результатами

сравнительного анализа проспективных потенций и проспективных значений отдельных частей зародыша. Опыты показали, что варианты или альтернативы в развитии частей (проспективные потенции) при любых условиях, отличных от нормальных, всегда значительно шире презумптивных значений, т.е. вариантов, наблюдаемых при нормальном развитии. Об этом свидетельствуют карты презумптивных зародышевых структур, получаемые методами прижизненной маркировки отдельных клеток эмбриона. Использование такого метода позволило прийти к следующему выводу: к стадии 32 бластомеров презумптивное значение большинства клеток еще не определено: один и тот же бластомер может в разном числе случаев давать разные закладки. Например, сомиты могут образовываться из тех же бластомеров, что хорда и нервная трубка (бластомер В1), или из тех же бластомеров, что и боковая пластинка (бластомеры В3, С3, В4, С4). С другой стороны, нервная трубка может возникать из любого следующего бластомера: А1, А2, В1, В2, В3, С1 или С2, хотя в других случаях из двух последних бластомеров может развиваться энтодерма.

Свойство многозначности управляющих будущими дифференцировками текстов и, следовательно, их существенная неполнота и «доопределяемость» сохраняются на значительно более продвинутых стадиях развития, например на стадии ранней гаструлы. Об этом свидетельствуют классические исследования Шпемана и Мангольд по трансплантации спинной губы бластопора зародыша-донора в брюшную область зародыша-приемника. Клетки донора индуцировали образование брюшными тканями зародыша-хозяина вторичных осевых структур, нервной пластинки и других органов, которые в норме в этой области зародышевого пространства никогда не развиваются.

В результате индукционных влияний тканей донора в ряде случаев наблюдали такое явление, как формирование «лицом к лицу» с зародышем-хозяином вторичного зародыша.

Согласно данным экспериментальной эмбриологии, даже после завершения гаструляции возможно изменение направления развития части зародышевых клеток, что свидетельствует о сохранении этими клетками свойства многозначности текстов из присутствующих в них детерминантов. Последнее явление логично объясняется перколяционной моделью распределения сигнальных факторов в пространстве зародыша, а точнее — статистическим характером формирования межклеточных информационных взаимодействий.

Значительные случайные флуктуации числа межклеточных контактов приводят ряд клеток, «обделенных» информационными связями, к существенным отклонениям от текстов, присущих данной проспективной структуре в норме, и к соответствующим отклонениям в дальнейшей судьбе этих клеток.

Случайность как закономерность в процессах детерминации клеточных структур

Многоуровневая организация управления клеточными дифференцировками и, как следствие, неполнота морфогенетической информации на промежуточных стадиях рассматриваемого процесса неразрывно связаны с другим принципиально важным свойством регуляционного развития — вероятностной природой причинности в становлении зародышевых структур. В предыдущих исследованиях закономерностей пространственного распределения молекулярных носителей морфогенетической информации с позиций теории перколяции мы учитывали случайность, обусловленную вероятностной природой формирования межклеточных взаимодействий, а именно, случайными вариациями числа контактов клеток друг с другом и, как следствие, не строго детерминированной интенсивностью управляющего сигнала в процессе взаимного индукционного влияния эмбриональных клеток. Элемент случайности в пространственном распределении морфогенетических детерминантов, с одной стороны, может быть скомпенсирован пороговым механизмом реакции клеток на сигнал или внутриклеточными нелинейными механизмами регуляции эффективности действующих факторов, но с другой — обуславливает возможные альтернативы в судьбе клеток, принадлежащих одной проспективной структуре.

В данной работе мы переходим от рассмотрения закономерностей распределения регуляторных факторов в зародышевом пространстве на существенно новый уровень описания — к попытке сформулировать на языке математической модели основные принципы, определяющие регуляторный смысл, направленность действия текстов из морфогенетических детерминантов. И в этом случае мы имеем дело с событиями, в значительной мере случайными, вероятностными. Однако причина случайности здесь не только в постоянном воздействии на ход эмбриогенеза неких случайных факторов, в том числе неравномерного пространственного распределения морфогенов, но и в неполноте, недостаточности управляющей дифференцировками информации. Еще раз подчеркнем, что именно эта неполнота, незаконченность текстов из морфогенетических детерминантов на всех промежуточных стадиях формирования клеточных потенций обуславливает многозначность, неопределенность будущего действия этих текстов и соответственно возможные отклонения в дальнейшей судьбе зародышевых клеток. Спектр возможных вариаций в будущей специализации клеточных структур может в какой-то мере ограничиваться, вырождаться по мере продвижения эмбриогенеза на новые уровни самоорганизации, но тем не менее сохраняется вплоть до полного завершения рассматриваемого процесса.

Последующее изложение упростится, если ввести обозначения, необходимые для формализации исходных представлений. Обозначим последовательность управляющих факторов, поступивших в данную клетку за время развития t , символами $D(t) = d_0, d_1, \dots, d_t$ (d_0 — исходный набор материнских детерминантов). Множество дифференцировок, потенциально возможных у организмов данного вида при определенном наборе детерминантов $D(t)$, обозначим символами $H = h_1, h_2, \dots, h_i, \dots, h_k$. Если процесс формирования текста продолжается и существует соответствующий набор потенциальных возможностей H , то выполнение комплекса условий $D(t)$ не равносильно наступлению одного определенного события h_i из множества H . Таким образом, событие h_i в условиях $D(t)$ недостоверно, так как может произойти, а может и не произойти. Если событие h_i не происходит, то реализуется один из альтернативных вариантов дифференцировок $h_1, \dots, h_{i-1}, h_{i+1}, \dots, h_k$, каждый из которых также недостоверен в силу существования других потенциальных возможностей. Такие события называются случайными и подчиняются вероятностным закономерностям.

Еще раз подчеркнем, что каждое из возможных направлений будущей специализации клеток, т.е. каждое из событий h_i нельзя считать полностью достоверным, если процесс детерминации не закончен. Смысл этого процесса по определению состоит в том, чтобы исключить всякую неопределенность, любые альтернативы в будущей специализации клеточной структуры. В условиях, когда детерминация продолжается и, следовательно, остается неопределенность, причинно-следственная связь комплекса условий D (заданного набора детерминантов) с будущим результатом его действия остается в той или иной мере случайной, вероятностной. Принципиально важно то, что причина стохастичности данной связи не столько в действии неких случайных факторов или «посторонних шумов», сколько в многоуровневой, иерархической организации рассматриваемого процесса. Достаточно убедительным свидетельством в пользу справедливости положения о закономерной стохастичности, случайной природе причинности в ходе детерминации эмбриональных структур может являться «статистический» характер карт презумптивных зачатков, построенных для зародышей амфибий (Л. В. Белоусов, 1993), а также множество других фактов экспериментальной эмбриологии.

Нелинейность механизма управления дифференцировками

Многоуровневая структура управления дифференцировками, а также вероятностная природа управляющих «смыслов» текстов из морфогенетических детерминантов и, как следствие, многозначность этих текстов неразрывно связаны с еще одним свой-

ством рассматриваемого языка. Это свойство — существенная нелинейность механизма регуляции активности морфогенов. Нелинейность названного механизма означает, что эффект от совокупности управляющих факторов не сводится к сумме независимых эффектов от каждого фактора в отдельности, но в значительной мере определяется их взаимодействием и взаимным влиянием. Это свойство распространяется не только на детерминанты одного иерархического уровня управления, но включает также эффективные межуровневые информационные взаимодействия.

Нелинейность есть необходимое, неотъемлемое свойство самоорганизующихся систем (Г. Г. Малинецкий, А. Б. Потапов, 2000; Хакен, 2000). Линейные системы без взаимодействий не способны не только к самоорганизации, но и к поддержанию структурной устойчивости (В. И. Арнольд, 2000). В данном случае эта высокоорганизованная гибкая система самоуправления существует и последовательно усложняется на основе простой суммы независимых эффектов от ограниченного набора детерминантов. Даже при мозаичном типе развития необходимы такие нелинейные механизмы, обеспечивающие поддержание структурной устойчивости и согласованности развития частей. Интеграция в единое целое отдельных зародышевых клеток в структуры, эмбриональных структур в целый организм и организма с внешней средой возможна только на основе нелинейных регуляторных эффектов.

Таким образом, выбор приоритетного направления дифференциации клеток, т.е. эффект от совокупности управляющих факторов, во многом определяется взаимным влиянием элементов языка при их объединении в текст, а также нелинейными механизмами регуляции их активности. Установлено, что под действием одних детерминантов может быть активирован внутриклеточный синтез или выход из соответствующих «депо» других факторов, управляющих развитием. Возможны также эффекты взаимного ингибирования, подавления активности морфогенетических детерминантов. В этом состоит принципиальное отличие рассматриваемого нами «живого» языка самоуправления развитием от множества других языковых конструкций. Именно нелинейные механизмы, взаимное влияние разных, в том числе разновозрастных, управляющих факторов логично объясняют весьма существенные, зачастую летальные нарушения нормального хода развития при весьма незначительных внешних воздействиях.

Итак, управляющие развитием факторы, или детерминанты, образуют открытую (имеется источник и «отток» или дезактивация детерминантов) нелинейную динамическую систему, состояние которой на каждом этапе развития определяется устойчивыми положениями равновесия (стационарными состояниями) системы. Если взаимодействия управляющих факторов подчиняются закономерностям, типичным для регуляции скорости фермента-

тивных реакций (например, с субстратной активацией или угнетением, а также с обратной связью), то в рассматриваемой системе возможно сосуществование по крайней мере двух устойчивых состояний с разными равновесными значениями динамических переменных. В рассматриваемом случае такими переменными будут концентрации или близкие по смыслу величины активности или эффективности действующих регуляторных факторов. Именно равновесная (стационарная) активность каждого фактора d_i из действующей совокупности $D(t)$ служит составным элементом текста, управляющего дифференцировками. Кроме того, устойчивые положения равновесия динамической системы детерминантов обеспечивают унификацию (выравнивание) пространственного распределения управляющих факторов в пределах одной проспективной структуры и защищают рассматриваемую систему от возможных случайных воздействий и флуктуаций ее параметров (если, конечно, эти флуктуации не превышают некоторой критической величины).

Поступление дополнительных регуляторных факторов на каждой последующей ступени развития может сопровождаться нарушением устойчивости прежнего состояния равновесия, что зависит от интенсивности энергоинформационного воздействия. Система переходит в новое состояние равновесия, свойственное расширенной совокупности управляющих параметров. Принципиально важно то, что при этом устанавливаются новые равновесные значения концентраций (или активностей) всех компонентов из действующей совокупности, как вновь поступивших, так и полученных клеткой ранее и хранящихся в ее оперативной памяти. Это означает, что поступление новых факторов не просто увеличивает прежде сформированный текст на один или несколько знаков, но может существенно повлиять на всю совокупность детерминантов, соответственно изменив ее управляющий смысл.

Заканчивая изложение основных свойств иерархии управления цитодифференцировками, отметим, что вывод о многозначности языка морфогенетических детерминантов справедлив на промежуточных этапах процесса как для не полностью сформированных текстов, так и для отдельных знаков рассматриваемого языка, участвующих в создании текстов. «Знак и значение не покрывают друг друга полностью. Их границы не совпадают во всех точках: один и тот же знак имеет несколько функций, одно и то же значение выражается несколькими знаками...» (В. В. Налимов, 1979).

Свойство многозначности текстов из управляющих цитодифференцировками факторов можно сформулировать в несколько ином виде: на промежуточных этапах процесса детерминации зародышевые клетки не могут быть отнесены к единственному, однозначно определенному типу, но одновременно в той или иной

степени принадлежат разным типам. Иными словами, на промежуточных стадиях процесса сохраняется возможность будущей реализации нескольких вариантов дифференцировок данной клеточной структуры. Представляет интерес вопрос об оценке степени принадлежности той или иной проспективной зародышевой структуры разным типам специализаций, а также о динамике соответствующих характеристик в ходе эмбриогенеза. Исследования такого рода сопряжены с необходимостью формализации изложенных выше представлений. Задача облегчается благодаря аналогии между рассматриваемыми процессами и широко распространенной в человеческой практике проблемой принятия решений при неполной (нечеткой) исходной информации. При решении задач такого рода наиболее адекватные математические методы — это теория вероятностей и менее известная теория возможностей, разработанная математиками относительно недавно. Первые работы пионера в этой области Л. Заде опубликованы в США в начале 70-х годов XX в. Здесь мы ограничимся анализом вероятностной модели рассматриваемых процессов.

Вероятностная модель клеточных дифференцировок. Основные понятия теории вероятностей в применении к объекту исследования

Попытка формализации изложенных выше представлений сопряжена с определенными трудностями. В данном случае понятие «вероятность» используется не в традиционном значении частоты того или иного исхода регулярного стохастического эксперимента, а в принципиально ином смысле — как оценка возможности или «потенциальной реализуемости» определенного исхода процесса дифференцировки каждой зародышевой клетки или ансамбля клеток, идентичных по составу детерминантов. При этом речь идет не столько об абсолютной величине вероятности (реализуемости), сколько об относительной оценке возможности данного вида дифференцировки по сравнению с альтернативными вариантами специализации отдельных клеток или клеточных объединений. Еще одна трудность изложения и восприятия вероятностного описания рассматриваемых процессов связана с тем, что постоянно сопоставляются события, весьма удаленные друг от друга не только по своей сути, но и по времени их реализации. Первый тип событий состоит в том, что каждая клетка эмбриона на каждом этапе развития содержит определенную информацию $D(t)$ для выбора дальнейшей дифференцировки. Второй тип событий — это реализация команд, содержащихся в морфогенетической информации. Очевидно, наступление событий второго типа может не совпадать по времени с действием отдельных информа-

ционных факторов (элементарных событий первого типа). Принципиальное значение имеет тот факт, что вероятность (или потенциальная реализуемость) конкретного типа дифференцировки данной зародышевой клетки является динамической переменной и по сравнению с другими вариантами специализаций постоянно изменяется в ходе доопределения клеточных потенциалов. Модель учитывает именно временную динамику вероятностей будущих дифференцировок отдельной зародышевой клетки или единой по составу детерминантов клеточной структуры и не затрагивает пространственной организации морфогенеза.

Итак, событие $D(t)$ первого типа, т.е. состав содержащейся в клетке информации (управляющий дифференцировками текст), подразделяется на частные случаи d_0, d_1, \dots, d_r . В предыдущем разделе работы всевозможные типы дифференцировок обозначались символами $H = h_1, h_2, \dots, h_k$, где k — их общее число. Поставим в соответствие каждому случайному событию h_i величину $p(h_i)$, т.е. его вероятность. На языке теории вероятностей объект исследования (всевозможные дифференцировки) классифицируется как качественная случайная величина $H(t)$, принимающая множество значений h_i , которые попарно не совместимы. В результате процесса детерминации каждая клетка обязательно дифференцируется в один из типов. Поэтому дифференцировки h_1, h_2, \dots, h_k образуют полную группу попарно несовместимых событий, для которой на каждом этапе рассматриваемого процесса справедливо равенство

$$\sum p(h_i) = 1. \quad (1)$$

Совокупность значений $p(h_i)$, удовлетворяющих условию (1), образует распределение вероятностей случайной величины H .

Отметим, что каждое случайное событие h_1, h_2, \dots, h_k не является элементарным, но представляет собой некоторое подмножество S_1, S_2, \dots, S_k пространства (множества) элементарных событий W . Под элементарными событиями этого множества понимаются клеточные потенциалы, точнее, подлежащие экспрессии гены. Таким образом, вероятность $p(h_i)$ есть аддитивная неотрицательная функция подмножества S_i . Упрощенно генеральную совокупность W исходных потенциалов, или множество генов, можно разделить на k непересекающихся подмножеств, каждое из которых соответствует определенному типу дифференцировки. В действительности взаимосвязь событий h_i с элементами множества W значительно сложнее: одни и те же потенциалы (гены) могут участвовать в разных специализациях, одни и те же дифференцировки могут достигаться разными комбинациями активных генов. Исходное множество элементарных событий (совокупность генов) и число их возможных сочетаний существенно превышает число будущих специализаций, и потому причинно-следственная связь отдель-

ных потенциалов с дифференцировками носит вероятностный характер. При этом отдельные гены или подмножества таких могут не участвовать в создании необходимых организму структур. У разных индивидуумов сочетания активно работающих (экспрессированных) генов и нереализованных клеточных потенциалов могут существенно различаться. В этом проявляется принцип неопределенности, случайности связи дифференцировок с полем элементарных событий, а также важнейший принцип резервирования, избыточности «возможностей», т.е. введение в систему излишних элементов, узлов и связей для обеспечения ее надежности (структурной устойчивости), способности к самоорганизации (усложнению) и «мягкому» самоуправлению.

По-видимому, вероятность каждого типа дифференцировки следует рассматривать как условную вероятность, поскольку реализуемость события h_i зависит от выполнения комплекса условий $D(t)$, состоящего в том, что данная клетка на стадии развития t содержит определенный набор детерминантов $D(t) = d_0, d_1, \dots, d_r$. Предположим, что вероятность $p(h_i)$ является безусловной только при отсутствии каких-либо управляющих факторов. В последнем случае все k дифференцировок равновероятны, или равновозможны. Равновероятным событиям h_i соответствует величина $p(h_i) = 1/k$, где k — полное число клеточных специализаций. Представляет интерес приближенная (по порядку величины) оценка вероятности рассматриваемых событий. Положим, для определенности $k = 10^2$, тогда $p(h_i) = 1/k \sim 10^{-2}$ (рис. 91). Тот факт, что в действительности число k , например, для зародышей амфибий несколько выше указанной величины, для дальнейшего анализа не существен. Точная оценка k достаточно проблематична по целому ряду причин и прежде всего потому, что понятие «дифференцировка» с трудом поддается строгому определению.

Недостаточная определенность понятия дифференцировки может иметь принципиальное значение в выборе наиболее адекватного математического описания рассматриваемых событий. По-видимому, клеточные дифференцировки можно отнести к классу нечетких событий, формальное описание которых составляет предмет так называемой теории возможностей (Л. Заде, 1976; Ю. П. Пытьев, 2000). Нечеткость рассматриваемых событий оправдывает более приемлемый способ изображения дискретной случайной величины H в непрерыв-

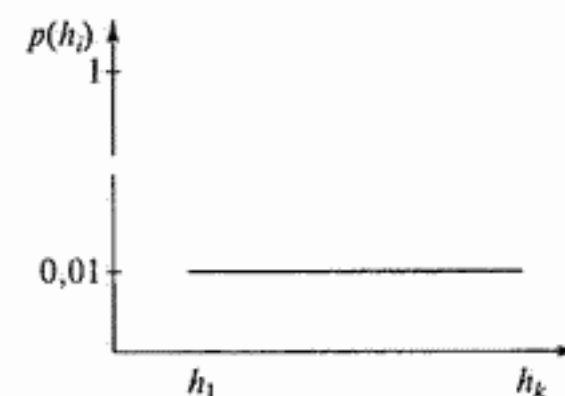


Рис. 91. Распределение вероятностей равновозможных дифференцировок при полном отсутствии каких-либо детерминантов ($k = 10^2$)

ной шкале значений, где каждому типу дифференцировки отвечает не точка, но некоторый интервал оси абсцисс. Под таким интервалом можно понимать либо «поле» допустимых модификаций данной дифференцировки, либо совокупность элементарных событий (клеточные потенции = экспрессированные гены), обеспечивающих i -ю специализацию зародышевых структур.

Итак, описание процессов детерминации клеточных структур в терминах теории вероятностей не единственно возможное. Представляет интерес рассмотрение тех же явлений и с позиций теории возможностей. Принципиальное отличие последней от теории вероятностей состоит в том, что понятие возможности ориентировано лишь на относительную оценку его предпочтительности по сравнению с любым другим событием из рассматриваемой совокупности. Она не отвечает на такие вопросы: чему равно значение возможности того или иного события? на сколько или во сколько раз возможность одного события больше, меньше или равна возможности другого? (Ю. П. Пытьев, 2000). Правомерны лишь утверждения типа возможность данного события больше, меньше или равна возможности другого. Есть основания полагать, что именно такой принцип сравнения (меньше, больше или равно) лежит в основе реального механизма интерпретации управляющего сигнала объектом управления — клеточным геномом.

Очевидно, динамика распределения вероятностей рассматриваемых событий на начальных стадиях развития обусловлена не столько включением в процесс новых детерминантов (активация или выход из «депо»), сколько дроблением яйцеклетки и, как следствие, делением исходного набора детерминантов на более специфичные по своему действию части (по числу образующихся дочерних клеток). Логично предположить, что исходный набор в цитоплазме зиготы строго локализованных носителей позиционной информации нарушает равновозможность клеточных потенций. Предположим, что вероятность каждой конкретной дифференцировки h_i в присутствии d_0 дается условной вероятностью $p(h_i/d_0)$:

$$p(h_i/d_0) = p(h_i d_0) / p(d_0), \quad (2)$$

где $p(h_i d_0)$ — вероятность пересечения, т. е. одновременной реализации событий h_i и d_0 ; $p(d_0)$ — вероятность присутствия в клетке набора детерминантов d_0 . При дроблении яйцеклетки на два бластомера, затем на 4 и т. д. исходный состав детерминантов также делится на соответствующее число частей. Очевидно, вероятность «попадания» на данный бластомер одной из этих частей d_{0j} определяется числом возможных вариантов, т. е. общим количеством клеток в зародыше. Тогда для двухклеточного зародыша $P(d_{01}) = P(d_{02}) = 1/2$, на следующей стадии $P(d_{0j}) = 1/4$ и т. д. После n синхронных делений дробления яйцеклетки, когда число зародышевых клеток равно 2^n , $P(d_{0j})_n = 1/2^n$ (индексом j обозна-

чен номер клетки и доля пришедшихся на нее материнских детерминантов). Из соотношения (2) получим, что после первого деления яйцеклетки вероятность дифференцировок, которым благоприятствует присутствующий в клетке набор детерминантов, возрастает вдвое: $P(h_i/d_{0j}) = 2 \cdot 1/n$, после второго — вчетверо и после третьего — соответственно в 8 раз (рис. 92, А, Б). Процесс детерминации каждой клетки (комплекса однородных по составу D_i клеток) завершится, когда вероятность приоритетного события h^* возрастет до 1, при этом данный единственный тип дифференцировки становится достоверным событием. Следует подчеркнуть, что степенной рост рассматриваемых вероятностей по сравнению с равновозможными дифференцировками бывает только в случае, если присутствующий в каждой клетке состав d_{0j} полностью исключает (блокирует) варианты специализаций, которым не благоприятствует. Очевидно, что столь жесткое требование — прогрессирующее ограничение клеточных потенций с каждым актом деления дробления зиготы — может в какой-то мере соблюдаться только при мозаичном типе развития, т. е. в случае «вырожденной» структуры управления дифференцировками. В регуляторном развитии, по крайней мере на стадиях 4—8 зародышевых клеток, реальный рост вероятностей специализаций, которым благоприятствует набор детерминантов d_{0j} , если и наблюдается, то значительно отличается от полученных оценок. Об этом свидетельствует сохранение зародышевыми клетками свойства тотипотентности после первых двух-трех делений яйцеклетки. Расхождение теоретических оценок с действительными обусловлено

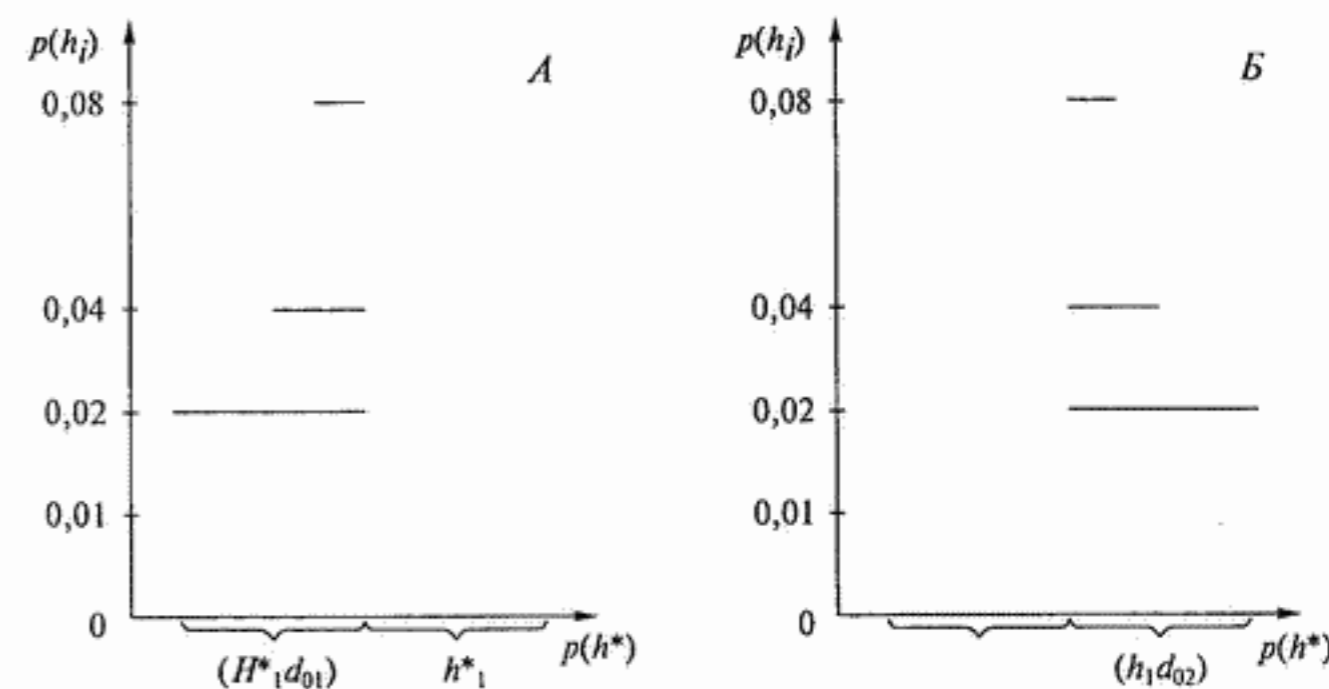


Рис. 92. Изменение функции распределения вероятностей дифференцировок $p(h_i/d_{0j})$ на первых трех стадиях деления дробления яйцеклетки. Модель адекватно описывает процесс детерминации в мозаичном развитии

не вполне оправданным применением для рассматриваемых начальных этапов регуляционного развития понятия условной вероятности. Последнее утверждение необходимо пояснить.

Фактически переход к условной вероятности означает признание достоверности («необходимости» в терминах теории возможностей) полного подавления тех вариантов дифференцировок, которым исходный состав носителей позиционной информации d_{0j} не благоприятствует. Согласно этому требованию, для двухклеточного зародыша доля заблокированных в каждой клетке потенциалов составит около половины исходного множества, на следующей стадии четырех клеток эта доля возрастет до $3/4$ и на стадии 2^n зародышевых клеток часть «запрещенных» вариантов развития равна $H - H^* = 1 - 1/2^n$ (см. рис. 91). Столь жесткое требование, вытекающее из определения условной вероятности, противоречит хорошо известному и уже упомянутому выше опытному факту — сохранению зародышевыми клетками свойства тотипотентности (т. е. полной неопределенности будущей специализации клеток-потомков каждого из бластомеров) после первых двух-трех делений дробления яйцеклетки.

Таким образом, в регуляционном развитии набор материнских детерминантов не несет информации, достаточной для ограничения исходной совокупности клеточных потенциалов и соответственно для корректного использования понятия условной вероятности. По-видимому, распределенные в цитоплазме яйцеклетки носители позиционной информации (при действии в совокупности не меньше $1/8$ от их общего состава) не являются детерминантами в полном смысле этого слова, так как не ограничивают неопределенность будущей специализации дочерних клеток.

Здесь уместно вспомнить условие (1), из которого следует, что между эффективностью данного состава детерминантов и избирательностью его действия существует прямая взаимосвязь (под избирательностью, или специфичностью, управляющих факторов мы понимаем размеры подмножества дифференцировок, на элементы которого эти факторы влияют положительно, способствуя росту потенциальной реализуемости соответствующих событий). Чем ниже избирательность, тем меньше выражено влияние заданного состава детерминантов на вероятность событий, которым он благоприятствует, по сравнению с вероятностью альтернативных вариантов дифференцировок (рис. 93). Детерминанты начальных уровней иерархии управления клеточными дифференцировками обладают заведомо низкой специфичностью и, как следствие, малой эффективностью. Об этом опять-таки свидетельствует сохранение зародышевыми клетками свойства тотипотентности после первых двух-трех делений дробления зиготы. Вследствие планомерного роста избирательности и результативности действия регуляторных факторов в ходе эмбриогенеза все более усиливаются доминантные признаки

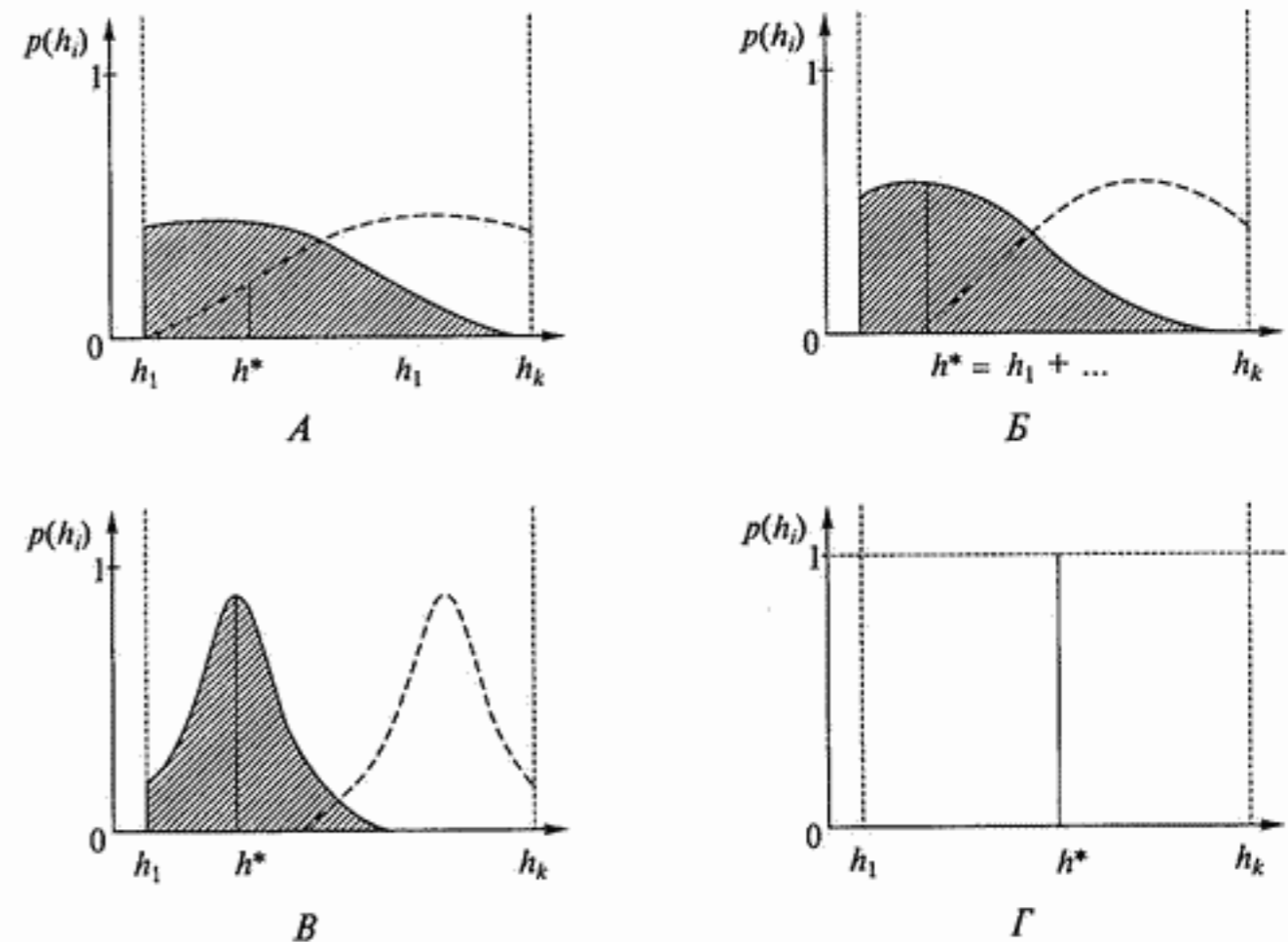


Рис. 93. Функции распределения вероятностей потенциально возможных клеточных дифференцировок на последовательных этапах процесса детерминации некоторой зародышевой структуры:

А — в присутствии сходного набора «материнских» детерминантов; Б, В — на двух промежуточных стадиях процесса (пунктирная кривая описывает «переопределение» клеточных потенциалов при действии нестандартных факторов); Г — «вырожденная» функция распределения вероятностей на завершающем этапе процесса детерминации — $p(h^*) = 1$

дифференцировки, ослабляются альтернативные, ставшие рецессивными клеточные потенциалы и, как правило, полностью (возможно, обратимо) блокируется ряд специализаций.

Сохранение зародышевыми клетками свойства тотипотентности в присутствии материнских детерминантов — прямое следствие многоуровневой организации рассматриваемого процесса. Лишь на достаточно высоких уровнях структуры управления дифференцировками достигается некоторая полнота информационного ресурса, необходимая и достаточная для ограничения исходной многозначности, неопределенности будущей специализации клеток. Напомним, что форма функций распределения вероятностей $p(h_i)$, индивидуальная для каждой зародышевой клетки на начальных этапах эмбриогенеза, характеризует степень связи отдельных дифференцировок с комплексом условий d_{0j} . Чем сильнее эта связь, тем выше вероятность специализации, отвечающей данному составу детерминантов. Таким образом, исходный набор носителей пози-

ционной информации, поступающий на каждую клетку после первых делений дробления зиготы, не обеспечивает силы и жесткости этой связи, необходимой и достаточной для исключения части событий H из полной совокупности дифференцировок. Неспособность отдельных бластомеров к автономному развитию, наблюдаемая после их искусственной изоляции на стадиях 16 и большего числа зародышевых клеток, по-видимому, объясняется не внезапным достижением «критической массы» информационного ресурса (без каких-либо дополнительных поступлений) и не потерей этими клетками свойства тотипотентности. Причина, скорее всего, иная: в ограничении регуляторных возможностей 1/16 и еще меньшей доли материнского состава детерминантов, т.е. в недостаточности этой информации для перестройки заданной программы развития и активации всех необходимых целостному организму процессов. В интерпретации этого явления важную роль играет то обстоятельство, что с каждым удвоением клеточной массы все более ограничивается число дифференцировок, которым благоприятствует приходящаяся на данную клетку доля исходного информационного ресурса; спектр угнетенных потенций становится все шире, причем степень их ослабления, по-видимому, усугубляется.

Бейесовская модель процесса детерминации зародышевых структур

Рассмотрим процесс постадийного формирования текстов и управляющего смысла команд, содержащихся в текстах из морфогенетических детерминантов. При этом правомерно использование понятия условной вероятности для описания динамики текстов и эволюции исходной многозначности их действия (управляющего смысла) на достаточно продвинутых стадиях процесса. Представим модель, отличающуюся многозначностью рассматриваемого языка и представляющую собой процесс доопределения клеточных потенций, состоящего, согласно изложенным выше представлениям, в последовательном ограничении этой многозначности. Основная идея бейесовской модели достаточно проста: ответ клетки на регуляторный сигнал определяется как вновь поступающими факторами, так и информацией, приобретенной клеткой ранее, на предшествующих стадиях процесса. Ключевое значение в формировании реакции имеет тот факт, что направленность действия вновь поступающей информации, например, в ходе индукционных взаимодействий зародышевых тканей, не может быть однозначно определена клеткой-приемником независимо от клеточной памяти, т.е. до «прочтения» ранее образованного текста D_t . Назовем управляющую информацию, которой распола-

гает клетка к моменту развития t , априорной. Этой информации соответствует априорное распределение вероятностей $p(h_i/D_t)$ каждого из возможных направлений дифференцировок (см. рис. 93, А). На следующем этапе процесса детерминации объект управления получает дополнительные сигнальные факторы d_{t+1} , которые воспринимаются клеткой только в совокупности с уже имеющейся априорной информацией D_t . Назовем дополненную новыми факторами информацию $D_t + d_{t+1}$ апостериорной. Информации D_{t+1} отвечает новое, измененное распределение апостериорных вероятностей дифференцировок $p(h_i/D_{t+1})$. Если сигнальные факторы, действующие на $(t + 1)$ стадии процесса, отвечают плану строения зародыша и нормальному ходу развития, т.е. заданному априорной информацией распределению вероятностей событий h_i , то изменение информации, управляющей дифференцировками, будет «мягким» и выразится в дальнейшем увеличении вероятностей приоритетных специализаций и соответствующем снижении вероятностей альтернативных вариантов развития. Если же вновь поступающая информация не вполне отвечает априорному соотношению «значимости» различных дифференцировок, то направленность действий (управляющий смысл) апостериорной информации может заметно отличаться от действия информации априорной. Под изменением направленности действия текста, дополненного новыми факторами d_{t+1} , понимается либо смещение максимума распределения $p(h_i/D_{t+1})$ в сторону альтернативной (бывшей на предыдущем этапе второстепенной) специализации, либо появление дополнительного максимума, который при достаточно продолжительном нестандартном воздействии становится преобладающим в распределении вероятностей рассматриваемых событий (см. рис. 93, Б, пунктир).

Этот эффект в терминах биологии развития означает «переопределение» клеточных потенций. Таким образом, управляющее значение, или направленность действия текстов из морфогенетических детерминантов, сформированных на данной стадии эмбриогенеза, зависит от поступающей на более поздних стадиях дополнительной информации.

Процесс доопределения клеточных потенций, т.е. процесс формирования ответа клеточного генома на действие дополнительных регуляторных факторов, раскрывается в терминах теоремы Бейеса. Обычно эта теорема используется для оценки вероятностей гипотез (В. В. Налимов, 1979; Т. Н. Голикова и др., 1981; Б. В. Гнеденко, 1965). В данном случае с помощью теоремы Бейеса моделируется процесс детерминации зародышевых структур как переход от априорной функции распределения вероятностей событий h_i к апостериорным функциям распределения. В применении к объекту нашего исследования теореме Бейеса можно записать следующим образом:

$$P(h_i/D_{t+1}) = mp(d_{t+1}/h_i)p(h_i/D_t), \quad (3)$$

где m — константа, получаемая из условия нормирования вероятностей. Апостериорная вероятность характеризует результат совместного действия как вновь поступающих детерминантов, так и ранее сформированных управляющих текстов. С каждым регуляторным фактором вероятно связано множество управляющих смысловых значений. Распределение вероятностей «смыслов» данного фактора определяется не только его природой и характеристиками (например, химическим строением или длиной волны, если этот фактор волновой), но в значительной мере совокупным содержанием априорной информации, полученной клеткой ранее. Действие одного и того же фактора на разных стадиях развития и в разных областях зародышевого пространства может существенно различаться. Априорная информация характеризует состояние готовности клетки-приемника к выбору определенного направления развития при действии дополнительных регуляторных факторов, что в конечном счете сказывается на их управляющем значении.

Величина $p(d_{t+1}/h_i)$ отражает существование причинно-следственной связи между потенциальной реализуемостью i -й дифференцировки, т.е. заданной априорной информацией «значимостью» события h_i по сравнению с альтернативными специализациями, и процессом активации (генерации и передачи к клетке) факторов, усиливающих шансы будущей реализации приоритетных направлений дифференцировок. Чем выше вероятность приоритетного направления h^* (см. рис. 92), тем сильнее связь этого события с получением дополнительных сигнальных факторов, благоприятствующих его реализации и тем самым увеличивающих его достоверность. На промежуточных этапах процесса доопределения клеточных потенциалов связь названных событий не должна быть слишком жесткой, однозначно детерминированной. Эта связь остается вероятностной, что обеспечивает необходимую в регуляторном развитии гибкость и мягкость управления рассматриваемым процессом.

Возвращаясь к байесовской модели, подчеркнем, что процедура перехода от априорной информации и отвечающего этой информации априорного распределения вероятностей (на стадии t) к апостериорному распределению на стадии $t + 1$ неоднократно повторяется в ходе процесса доопределения клеточных потенциалов. На каждом последующем этапе этого процесса в качестве априорной выступает информация, полученная клеткой на всех предшествующих стадиях. Пользуясь теоремой Байеса и рассматривая априорную информацию, мы как бы задаем вход в систему управления клеточными дифференцировками, а затем на основе аксиомы об умножении вероятностей получаем на выходе из этой системы ответ, который определяется апостериорными вероятностями

ми. Таким образом, модель отражает исходную многозначность априорной информации, содержащейся в материнских детерминантах, и описывает процесс поэтапного ограничения этой многозначности (см. рис. 93, $A—Г$). В результате последовательного дополнения текстов из морфогенетических детерминантов функции распределения вероятностей клеточных дифференцировок становятся все более четкими. Вероятности приоритетных направлений специализации зародышевых структур с каждым этапом рассматриваемого процесса увеличиваются, вероятности альтернативных вариантов дифференцировок соответственно убывают, растет число полностью заблокированных, в будущем не реализуемых данной структурой клеточных потенциалов (см. рис. 92). Окончательно детерминированной клеточной структуре отвечает единственное, полностью достоверное событие h^* , вероятность которого $p(h^*/D) = 1$ (см. рис. 92).

Важное свойство рассматриваемой модели управления клеточными дифференцировками заключается в том, что она, по выражению В. В. Налимова, обладает «короткой памятью». Если подвергнуть объект достаточно продолжительному воздействию факторов, не свойственных нормальному ходу эмбриогенеза, то можно переориентировать направление развития зародышевых структур. Очевидно, такое воздействие должно осуществляться на не слишком продвинутых стадиях процесса детерминации, когда управляющие развитием тексты сформированы не полностью и не обладают смыслом «терминальной директивы».

В качестве подкрепления справедливости утверждения о многозначности текстов из морфогенетических детерминантов на промежуточных этапах процесса доопределения клеточных потенциалов и соответствующей вероятностной модели можно привести достаточно фактов из экспериментальной биологии развития.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Белоусов Л. В.* Введение в общую эмбриологию. — М.: Изд-во МГУ, 1980. — 210 с.
- Белоусов Л. В.* Основы общей эмбриологии. — М.: Изд-во МГУ, 1993. — 301 с.
- Воронцова М. Н., Лиознер Л. Д.* Бесполое размножение и регенерация. — М.: Медгиз, 1957. — 417 с.
- Гилберт С.* Биология развития. — М.: Мир, 1993. — Т. 1—3.
- Голыченко В. А.* Биология развития. — М.: Изд-во МГУ, 1991. — 144 с.
- Иванов П. П.* Общая и сравнительная эмбриология. — М.; Л.: Огиз-Биомедгиз, 1947. — 809 с.
- Короткова Г. П.* Регенерация животных. — СПб.: Изд-во СПГУ, 1997. — 497 с.
- Корочкин Л. И.* Введение в генетику развития. — М.: Наука, 1999. — 252 с.
- Корочкин Л. И., Михайлов А. Т.* Введение в нейрогенетику. — М.: Наука, 2000. — 274 с.
- Нидхем Дж.* История эмбриологии. — М.: Изд-во иностранной литературы, 1947. — 340 с.
- Озернюк Н. Д.* Механизмы адаптаций. — М.: Наука, 1992. — 270 с.
- Ромер А., Парсон Т.* Анатомия позвоночных. — М.: Мир, 1992. — Т. 1. — 357 с. — Т. 2. — 406 с.
- Саксен Л., Тфайвонен С.* Первичная эмбриональная индукция. — М.: Изд-во иностранной литературы, 1963. — 340 с.
- Токин Б. П.* Общая эмбриология. — М.: Высшая школа, 1965. — 456 с.
- Токин Б. П.* Общая эмбриология. — М.: Высшая школа, 1970. — 507 с.
- Хохланд П., Гарсия-Фернандес Х.* Гены Hox, эволюция развития и происхождение позвоночных // Онтогенез, 1996. — Т. 27. — № 4. — С. 273—279.
- Balinsky B. I.* An Introduction to Embryology. — Philadelphia, London, Toronto: W. B. Saunders Company, 1975. — 648 p.
- Browder L. W.* Developmental Biology. — Saunders College Publishing, 1984. — 748 p.
- DeHaan R. L., Ursprung H.* Organogenesis. — N. Y., Chicago, San Francisco, Toronto, London, Holt: Rinehart and Winston. — 804 p.
- Garcia-Fernandes J., Hochland P. W. H.* Archetypical organization of the amphioxus Hox gene cluster. — Nature, 1994. — V. 370. — P. 563—566.
- Gering W. I.* A history of the homebox (Gaidbook to the homebox genes). — Ed. D. Duboule. — Oxford: University Press, 1994.
- Karp G., Berrill N. J.* Development. — McGraw — Hill Book Company. — 692 p.
- Oppenheimer S., Lesevre G.* Introduction to embryonic development. — Boston, London, Sydney, Toronto: Allyn and Bacon, Inc., 1984. — 482 p.

Scott F., Gilbert F. Developmental biology. — Sunderland, Massachusetts, Sinauer Associates, Inc. Publishers, 2000. — 891 p.

Scott F., Gilbert F. Developmental biology. — Sunderland, Massachusetts, Sinauer Associates, Inc. Publishers. — 891 p.

Spemann H., Mangold H. Induction of embryonic primordia by implantation of organizers from a different species. Foundations of Experimental Embryology, 1924. — P. 144—184.

СЛОВАРЬ ТЕРМИНОВ

Апоптоз — форма гибели клеток в результате активных, опосредованных через геном каскадов внутриклеточных процессов.

Амплификация — множественное копирование генов, кодирующих субъединицы (18S и 28S) рРНК.

Анималькулизм (см. *Преформизм*).

Анимальный полюс — область яйца, в которой расположено ядро.

Вегетативный полюс — область яйца, в которой расположен желток.

Вителлогенез — желтокообразование.

Денеиновые ручки — структурные элементы жгута, в состав которых входит белок денеин, относящийся к белкам, ассоциированным с микротрубочками, и ответственный за движение жгута.

Информосомы — частицы в эукариотических клетках, состоящие из иРНК и белков в соотношении 1:3 (по массе).

Лизосома — органоид клеток, осуществляющий внутриклеточное пищеварение.

Мозаичное развитие (см. *Регуляции эмбриональные*).

Моноспермия — проникновение и оплодотворение яйцеклетки одной мужской гаметой (сперматозоидом).

Овизм (см. *Преформизм*).

Перибласт — многоядерная цитоплазматическая структура, располагающаяся между зародышем и желтком и позволяющая зародышу использовать пищевой запас, заключенный в желтке.

Преформизм — теория, основанная на том, что в половых клетках находятся материальные структуры, предопределяющие развитие зародыша и признаки образующегося из него организма. До XVIII в. в биологии господствовало мнение о том, что в половых клетках зародыш полностью сформирован (учение о преформации). Первые преформисты XVII в. (Я. Сваммердам, М. Мальпиги, А. Левенгук и др.) полагали, что зародыш находится в сформированном состоянии в яйце (*овизм*) или в семени (*анималькулизм*).

Полиспермия — проникновение в яйцеклетку при оплодотворении нескольких сперматозоидов.

Пропубертатный период — внутриутробный период развития зародыша.

Перспективные (презюмтивные) области — участки будущих (предполагаемых) зачатков зародышей, выявляемых на более поздних стадиях развития.

Регуляции эмбриональные — осуществление нормального целостного развития, а также восстановление нормального плана строения и внутренней структуры развивающегося организма и отдельных зачатков его органов после экспериментальных нарушений его целостности (удале-

ние или добавление частей, их поворот, пересадка и т.д.). У одних животных (гребневики, круглые черви, асцидии и др.) способность к регуляции целого организма из части дробящегося яйца отсутствует или ограничена самыми ранними стадиями эмбриогенеза. У других животных (книдарии, иглокожие и др.) возможно образование целого организма из части дробящегося яйца. Яйца первой группы животных принято называть *мозаичными*, а второй — *регуляционными*.

Регуляционное развитие (см. *Регуляции эмбриональные*).

Спермиогенез — последний этап формирования сперматозоидов в сперматогенезе.

Триггер реакции — пусковой механизм.

Эпигенез — представление о зародышевом развитии как процессе, осуществляемом путем последовательных новообразований в противовес признанию существования в половых клетках изначального многообразия структур организма. Термин «эпигенез» был предложен У. Гарвеем (1661), однако эпигенетические представления и противоположная им концепция преформизма были известны еще с античных времен.

c-mos — ген, участвующий в регуляции перехода фазы G2 в M в ходе клеточного цикла.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие	3	Ход нейруляции у амфибий	117
Глава 1. История эмбриологии	5	Нейруляция у других позвоночных	119
Глава 2. Предзародышевое развитие — гаметогенез	18	Молекулы адгезии	123
Теория непрерывности зародышевой плазмы	18	Генетический контроль развития нервной системы	126
Основные положения теории А. Вейсмана	18	Глава 7. Эмбриональная индукция	129
Происхождение половых клеток	20	Классический период работы школы Шпемана	129
Оогенез	23	События раннего развития и процесс индукции	132
Типы питания яйцеклеток	26	Свойства первичного организатора	133
Сперматогенез	33	Работы П. Ньюкупа по эмбриональной индукции	136
Общая характеристика сперматогенеза	33	Современные представления об индукционном процессе	139
Строение и функции фолликулярного эпителия семенников		Глава 8. Органогенез	144
позвоночных	38	Общая характеристика процесса органогенеза	144
Фолликулярный, или ампульный, тип	39	Морфогенетические процессы, включенные в органогенез	148
Фолликулярно-цистный тип	41	Развитие конечности	150
Канальцево-цистный тип	42	Механизмы развития конечности	153
Канальцевый тип	43	Оси конечности	154
Глава 3. Оплодотворение	49	Развитие выделительной системы	155
Реакция активации сперматозоида	50	Глава 9. Регенерация	164
Активация яйцеклетки	55	Общие сведения о процессе регенерации	164
Поведение мужского и женского ядер		Эпиморфная регенерация конечности тритона	170
в цитоплазме яйцеклетки	60	Компенсаторная регенерация печени млекопитающих	173
Ооплазматическая сегрегация	61	Морфаллактическая регенерация гидр	174
Партеногенез	62	Глава 10. Особенности развития первичноназемных животных	180
Глава 4. Дробление	65	Развитие признаков, приведших к выходу позвоночных на сушу	180
Общая характеристика процесса дробления	65	Эмбриональное развитие млекопитающих	183
Классификация яиц	68	Особенности развития плацентарных млекопитающих	185
Классификация типов дробления	68	Механизмы компактизации	188
Классификация бластул	69	Образование внутренней клеточной массы	189
Характеристика процесса дробления у некоторых хордовых	71	Выход зародыша из zona pellucida и имплантация	190
Оболочки	71	Близнецы	190
Бесчерепные	73	Плацента	192
Позвоночные	75	Приложение. Вероятностная модель управления клеточными	
Дополнения к характеристике дробления	86	дифференцировками	195
Глава 5. Гастрюляция	95	Многоуровневая организация структуры управления	
Процессы, осуществляющие гастрюляцию	96	дифференцировками	195
Особенности гастрюляции бесхвостых амфибий	101	Случайность как закономерность в процессах детерминации	
Глава 6. Нейруляция	104	клеточных структур	199
Образование осевых структур и реализация плана строения	104	Нелинейность механизма управления дифференцировками	200
		Вероятностная модель клеточных дифференцировок.	
		Основные понятия теории вероятностей в применении	
		к объекту исследования	203
		Бейесовская модель процесса детерминации зародышевых	
		структур	210
		Список литературы	214
		Словарь терминов	216



УВАЖАЕМЫЕ ЧИТАТЕЛИ!
ИЗДАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
«АКАДЕМИЯ»

ПРЕДЛАГАЕТ ВАШЕМУ ВНИМАНИЮ
СЛЕДУЮЩИЕ КНИГИ:

В. А. ГОЛИЧЕНКОВ, Е. А. ИВАНОВ, Н. Н. ЛУЧИНСКАЯ и др.

ПРАКТИКУМ ПО ЭМБРИОЛОГИИ

Объем 208 с.

Пособие содержит материалы по изучению закономерностей нормального развития животных на основе микроскопических препаратов и прижизненных наблюдений эмбриональных объектов. Специальный раздел посвящен работе с живыми объектами. Приведены таблицы последовательных стадий нормального развития позвоночных животных.

Для студентов биологических специальностей высших учебных заведений.

В. Ф. ГАВРИЛЕНКО, Т. В. ЖИГАЛОВА

БОЛЬШОЙ ПРАКТИКУМ ПО ФОТОСИНТЕЗУ

Под ред. И. П. ЕРМАКОВА

Объем 256 с.

В пособии представлены современные методы комплексного исследования функциональной активности фотосинтетического аппарата, которые позволяют детально охарактеризовать пигментные системы, оценить фотохимическую активность работы ЭТЦ хлоропластов, определить интенсивность и энергетическую эффективность фотосинтеза и получить общую характеристику процессов фотосинтеза на уровне целого растения. В пособии даны основные сведения о технике лабораторных работ, приведены примеры расчетов и способы статистической обработки результатов исследований.

Для студентов биологических специальностей университетов. Может быть использовано студентами сельскохозяйственных и педагогических институтов, сотрудниками научно-исследовательских институтов.

Учебное издание

**Голиченков Владимир Александрович,
Иванов Евгений Алексеевич,
Никерясова Елена Николаевна**

Эмбриология

Учебник

Редактор *Н. А. Соколова*
Технический редактор *Е. Ф. Коржуева*
Компьютерная верстка: *Ю. А. Козлов*
Корректоры *В. В. Кожуткина, В. А. Жилкина*

Диaposитивы предоставлены издательством.

Изд. № А-736-1. Подписано в печать 05.11.2003. Формат 60×90/16.
Гарнитура «Тайме». Бумага тип. № 2. Печать офсетная. Усл. печ. л. 14,5 (в т.ч. цв. вкл. 0,5).
Тираж 5100 экз. Заказ №12637.

Лицензия ИД № 02025 от 13.06.2000. Издательский центр «Академия».
Санитарно-эпидемиологическое заключение № 77.99.02.953.Д.003903.06.03 от 05.06.2003.
117342, Москва, ул. Бутлерова, 17-Б, к. 223. Тел./факс: (095)330-1092, 334-8337.

Отпечатано на Саратовском полиграфическом комбинате.
410004, г. Саратов, ул. Чернышевского, 59.

«ИЗДАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР «АКАДЕМИЯ» ПРЕДЛАГАЕТ ВАШЕМУ ВНИМАНИЮ СЛЕДУЮЩИЕ КНИГИ:

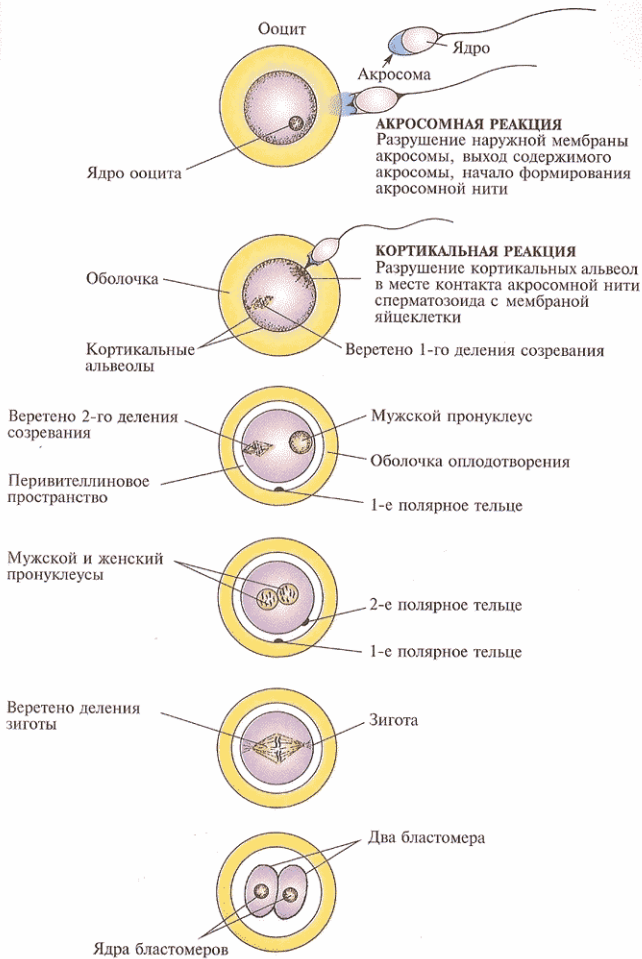


Рис. 1. Схема взаимодействия гамет в процессе оплодотворения (на примере аскариды)

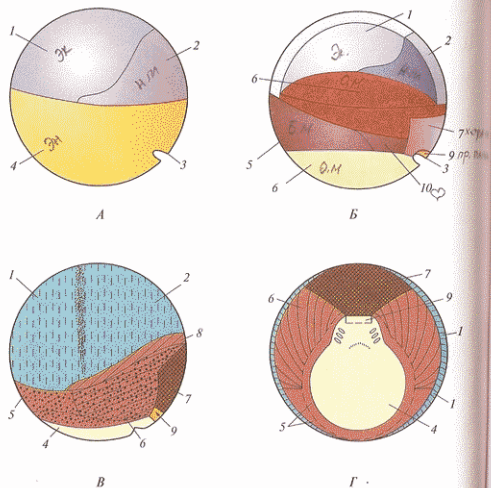


Рис. II. Карта презумптивных зачатков на бластулах бесхвостых (*Xenopus laevis*) и хвостатых амфибий:

A — вид сбоку для поверхностных клеток; *Б* — вид сбоку для внутренних клеток; *В* — вид сбоку; *Г* — вид с вегетативного полюса; 1 — эктодерма; 2 — нервная пластинка; 3 — место, где будет образовываться спинная губа бластопора; 4 — энтодерма; 5 — боковая мезодерма; 6 — осевая (сомитная) мезодерма; 7 — хорда; 8 — мезодерма хвостовых сомитов; 9 — прехордальная пластинка; 10 — сердце

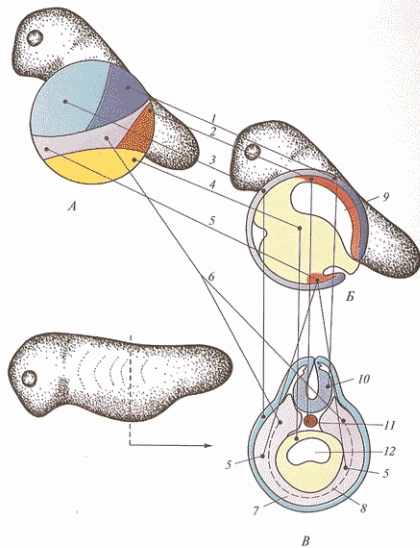


Рис. III. Взаимоотношения между презумптивными органообразующими областями бластулы (*A*) и схематическим расположением основных структур тела развивающегося позвоночного (хвостатая амфибия) (*B*). Гастрюла (*Б*) оказывается как бы промежуточной стадией между ними:

1 — нейральная эктодерма; 2 — хорда; 3 — покровная эктодерма; 4 — энтодерма; 5 — боковая мезодерма; 6 — осевая мезодерма; 7 — парietальный листок мезодермы; 8 — висцеральный листок мезодермы; 9 — гастронель (первичная кишка); 10 — нервная трубка; 11 — хорда; 12 — кишка

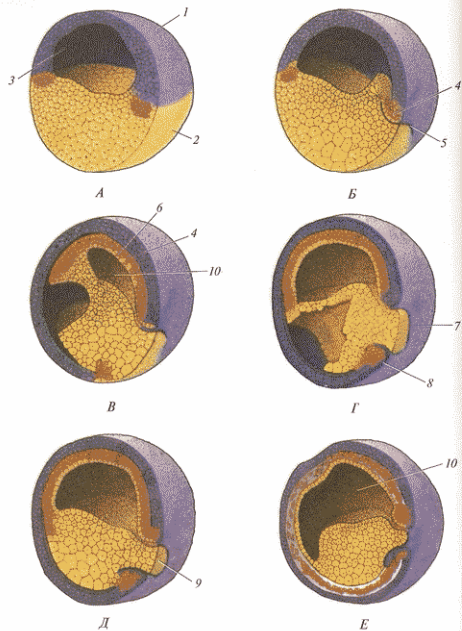


Рис. IV. Движения клеток в период гаструляции у лягушки (сагиттальный срез):

A — бластула; *B* — начало гаструляции; *B* — образование брюшной губы бластопора; *E* — зародки на стадии поздней гаструлы; *1* — эктодерма; *2* — энтодерма; *3* — бластоцель; *4* — клетки будущей хорды; *5* — спинная губа бластопора; *6* — гипохоральная пластинка; *7* — боковая губа бластопора; *8* — брюшная губа бластопора; *9* — желточная пробка; *10* — гастроцель

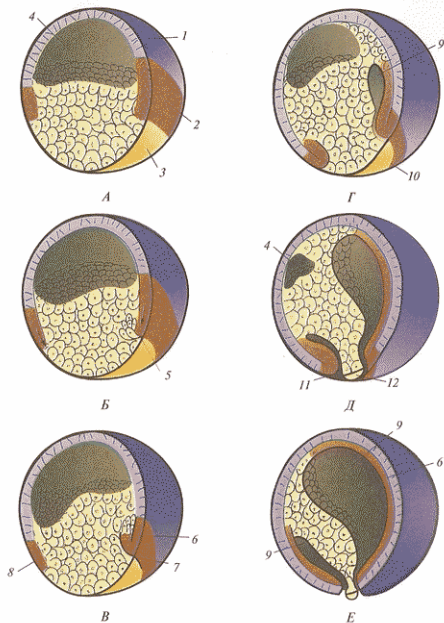


Рис. V. Движения клеток в период гаструляции у хвостатых амфибий (сагиттальный срез):

A — бластула; *B*, *B* — начало гаструляции (появление колбовидных клеток, образование спинной губы бластопора); *Г*, *Д* — образование гастроцели; *E* — поздняя гаструла; *1* — эктодерма; *2* — мезодерма; *3* — энтодерма; *4* — бластоцель; *5* — колбовидные клетки; *6* — клетки будущей хорды; *7* — спинная губа бластопора; *8* — мезодерма боковой пластинки; *9* — гастроцель; *10* — боковая губа бластопора; *11* — брюшная губа бластопора; *12* — желточная пробка

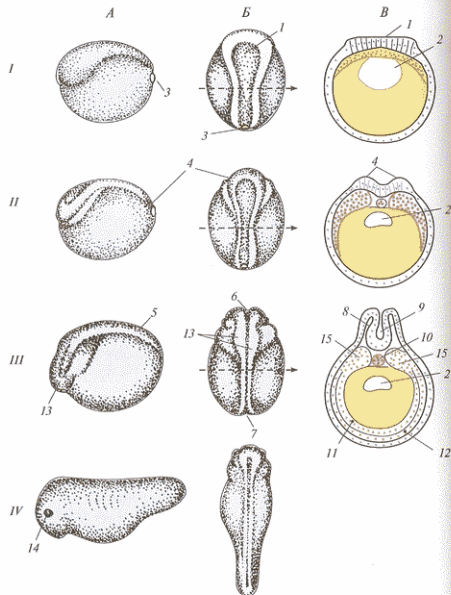


Рис. VI. Нейруляция у зародышей амфибий:

I — стадия ранней нейруляции; *II* — стадия средней нейруляции; *III* — стадия поздней нейруляции; *IV* — стадия хвостовой почки; *A* — вид зародышевой стороны; *B* — вид зародышевой со спинной стороны (пунктирные линии обозначают места поперечных срезов зародышей); *B* — поперечные срезы зародышей; 1 — нервная пластинка; 2 (*I*) — первичная кишка (гастронель); 2 (*II, III*) — вторичная кишка; 3 — бластопор; 4 — нервные валики; 5 — хвостовой отдел зародыша; 6 — передний невропор (вход в невроцель); 7 — задний невропор; 8 — стенка нервной трубки; 9 — невроцель; 10 — хорда; 11 — висцеральный листок мезодермы; 12 — паристальный листок мезодермы; 13 — нервные валики в головном отделе зародыша; 14 — зачаток глаза; 15 — осевая мезодерма

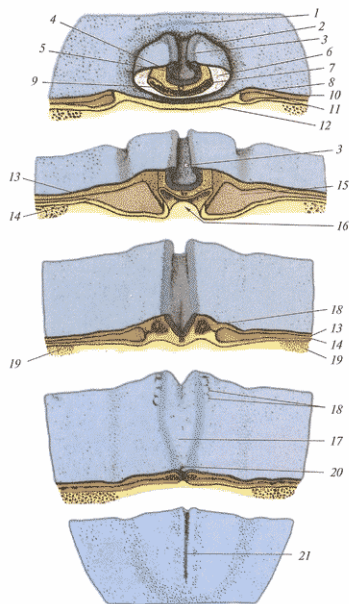


Рис. VII. Нейруляция у куриного зародыша (трехмерное изображение).

В головном отделе заканчивается нейруляция, в хвостовом отделе продолжается гаструляция — вытеснение клеток из гезеновского узелка и первичной бороздки; 1 — место образования амниотической складки; 2 — голова зародыша; 3 — нервный валик; 4 — нервная трубка; 5 — невроцель; 6 — мезенхимка; 7 — кишка; 8 — подголовное пространство; 9 — хорда; 10 — внезародышевая эктодерма; 11 — внезародышевая мезодерма; 12 — внезародышевая зиготерма; 13 — паристальный листок мезодермы; 14 — висцеральный листок мезодермы; 15 — целом; 16 — передние кишечные ворота; 17 — нервная пластинка; 18 — сомит; 19 — желток; 20 — гезеновский узелок; 21 — первичная бороздка

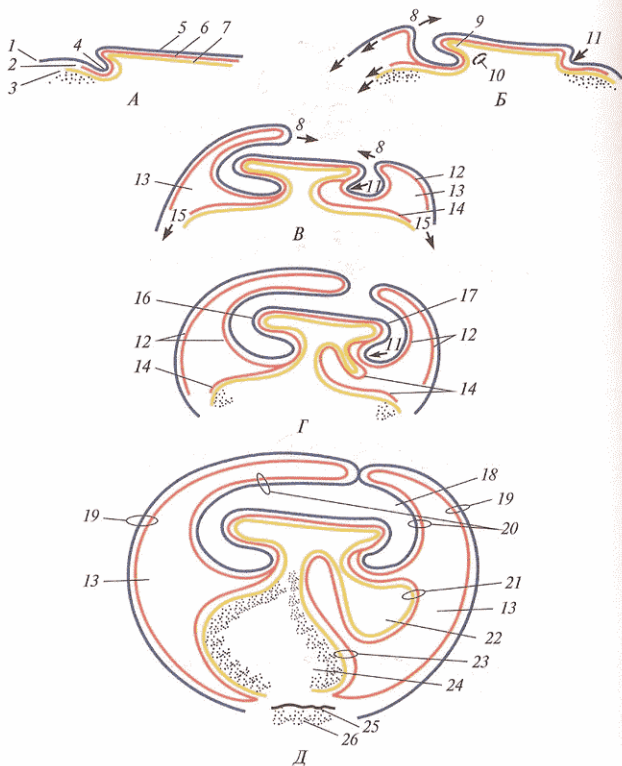


Рис. VIII. Последовательные стадии образования внезародышевых оболочек (внезародышевых органов): амниона, серозы, аллантаиса, желточного мешка у зародышей птиц:

А, Б, В, Г, Д — схематичное изображение последовательных стадий развития зародыша; 1 — внезародышевая эктодерма; 2 — внезародышевая мезодерма; 3 — внезародышевая энтодерма; 4 — головная складка; 5 — эктодерма зародыша; 6 — мезодерма зародыша; 7 — энтодерма зародыша; 8 — амниотическая складка; 9 — головная кишка; 10 — передние кишечные ворота; 11 — хвостовая складка; 12 — паритальный листок внезародышевой мезодермы; 13 — внезародышевый целом; 14 — висцеральный листок внезародышевой мезодермы; 15 — край обрастания клетками желтка; 16 — головной отдел зародыша; 17 — хвостовой отдел зародыша; 18 — полость амниона; 19 — хорийон (сероза); 20 — стенка амниона; 21 — стенка аллантаиса; 22 — полость аллантаиса; 23 — стенка желточного мешка; 24 — желток; 25 — желточная оболочка; 26 — белок