

МИНИСТЕРСТВО ВЫСШЕГО И СРЕДНЕГО СПЕЦИАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ РСФСР
КУДЫМОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

Л.Ф.Мавринская

Б И О Л О Г И Я
И Н Д И В И Д У А Л Ь Н О Г О
Р А З В И Т И Я

Учебное пособие
к спецкурсу
для студентов биологического
факультета

Кудымов 1979

Владмила Федоровна Мавринская

**БИОЛОГИЯ
ИНДИВИДУАЛЬНОГО
РАЗВИТИЯ**

**Учебное пособие
к спецкурсу
для студентов биологического
факультета**

Редактор - И.С. Колышева
Техн. редактор - В.В. Намакаренская
Корректор - Т.И. Мелокова

ЕО 13041. Подписано в печать 29.12.79. Формат 60x84/16.
Бумага оберточная белая. Усл. печ. л. 5,25, уч.-изд. л. 5.
Тираж 500 экз. Цена 20 коп. Заказ № 3572

Куйбышевский государственный университет,
г. Куйбышев, ул. Ак. Павлова, 1.
Ротапринт областной типографии им. Маяки,
г. Куйбышев, ул. Венеца, 60.

ПРЕДИСЛОВИЕ

Общая эмбриология за последние годы обогатилась большим количеством новых фактов из области разных научных дисциплин: молекулярной биологии, молекулярной генетики, цитологии, вирусологии, физики, химии и др. Это значительно расширило границы общей эмбриологии и послужило основанием тому, что обобщ эмбриологии стали называть Биологией индивидуального развития.

Особое внимание биологии индивидуального развития сосредоточено на самых ранних процессах развития, которые предшествуют возникновению самого зародка и которые можно было бы назвать "проэмбриологией". Многие современные данные проэмбриологии, касающиеся происхождения первичных половых клеток, особенностей оо- и сперматогенеза, молекулярно-биологических процессов, совершающихся и при развитии гамет, и на различных последующих этапах эмбриогенеза, уже вошли в современные отечественные или переводные учебники и монографии по общей эмбриологии (Б.П.Токин, 1977; Ч.Боденер, 1971) и биологии развития (И.Зуссман, 1977; Э.Дьвкар, 1978 и др.). Однако крайний дефицит этих книг, обусловленный большим расхождением между тиражом и потребностью в них, заставляет нас, преподавателей университетов, обращаться к составлению кратких, адаптированных учебных пособий.

Учебное пособие по биологии индивидуального развития может послужить полезным подспорьем для студентов-биологов третьего курса университета, которые изучают этот сложный предмет.

Пособие включает приблизительно половину программы курса: в нем рассматриваются процессы эмбрионального развития до гаструляции включительно. Органогенез и все последующие разделы курса составят содержание другого учебного пособия.

Глава I. ВМЕСТО ВВЕДЕНИЯ

В основе науки, называемой в наши дни биологией индивидуального развития, лежат представления классической эмбриологии-науки о развитии зародка (греч. *embryon* - зародок, *logos* - учение).

За длительный период своего развития (2 - 2,5 тысячи лет) эмбриология пользовалась разными методами исследования: описательным, сравнительно-эмбриологическим, эволюционным, экспериментальным с преобладанием того или иного метода в отдельные более короткие отрезки времени.

Примером описательной эмбриологии может служить описание Аристотелем на основе простого визуального наблюдения последовательного развития куриного зародка; эти описания почти во всех деталях совпадают с теми, которые делаются в наши дни.

Сравнительная эмбриология послужила и предпосылкой, и следствием создания эволюционной теории Дарвина (середина XIX в.). Удивительное сходство самих ранних зародков у различных животных явилось существенным доказательством единства происхождения живых существ и стимулировало дальнейшие исследования в области сравнительной эмбриологии. Благодаря знаменательным исследованиям И.И. Мечникова и А.О. Ковалевского, впервые показавшим существование зародышевых листков у беспозвоночных и хордовых, установившим единство плана развития у всех животных, сравнительная эмбриология начала перерастать в эволюционную. Создание и развитие эволюционной эмбриологии является предметом гордости нашей отечественной эмбриологической науки.

Конец XIX в. ознаменовался рождением нового этапа в учении о зародышевом развитии - экспериментальной эмбриологии, становлении которой способствовало совершенствование микроскопической, а так-

же микрохирургической техники. Постановка эксперимента служит одним из наиболее надежных методов выяснения причинной стороны любого природного явления. В эмбриологии же это общее положение усугубляется еще и необычной сложностью общей и конечной задачи, стоящей перед ней: выяснение тех законов, по которым из одной клетки, зиготы, развивается сложный интегрированный многоклеточный организм.

Все перечисленные направления эмбриологии — описательная, сравнительная (эволюционная) и экспериментальная, легли в основу современной эмбриологии.

Однако за последние годы процессами зародышевого развития начали интересоваться физики, химики, математики; в эмбриологии все глубже стали проникать методы современного цитологического и генетического анализа; она все больше впитывала в себя достижения молекулярной биологии. Этот творческий синтез многих современных естественных наук положил начало качественно новой эмбриологии, которую и стали называть биологией индивидуального развития или, короче, биологией развития. Когда-то, на заре текущего столетия, о синтезе эмбриологии и генетики мечтал Томас Морган — один из основоположников хромосомной теории наследственности; тогда ему это не удалось. Теперь, в период бурного плодотворного развития науки этот творческий синтез стал возможным.

Основной задачей биологии индивидуального развития является вскрытие загадочных механизмов процесса дифференцировки, а конечной целью — познание закономерностей удивительного превращения одной оплодотворенной клетки в сложный многоклеточный организм.

Студенту, приступившему к систематическому изучению биологии развития, следует помнить по крайней мере о трех методических задачах этого курса:

1. Новый синтетический характер, который начинает принимать современная эмбриология, благодаря использованию достижений смежных наук, не должен подрывать представлений о цельном последовательном развитии хотя бы некоторых, особенно хорошо изученных видов животных, таких, например, как лягушка, цыпленок или морской еж.

2. Студент должен стремиться к тому, чтобы получать знания из первых рук, т.е. из оригинальных источников. Ему не следует чудиться еще неустоявшихся гипотез, пренебрегать дискуссионными

моментами. Лишь полностью отвергнутые наукой теории можно не принимать во внимание.

3. Студент должен ориентироваться на то, что XX век с самого начала стал веком биологии и, что в последние 2-3 десятилетия в биологии совершились крупные открытия, и на то, что роль биологии в будущем будет все более неуклонно возрастать.

Необходимо помнить также, что биология индивидуального развития имеет многогранное прикладное значение:

в рыбоводстве (изучение оптимальных условий развития икры и мальков);

в шелководстве (работы Б.Л. Астаурова по регулированию пода у шелкопрячного червя и др.);

в паразитологии (изучение циклов развития паразитических червей);

в растениеводстве (культивирование растительных зародышей *in vitro*);

в медицине (достаточно сказать, что на земном шаре 2% детей рождаются с аномалиями развития, причины и устранение которых призвана осуществлять эмбриология);

в генетике (генная инженерия);

в экологии. Рациональная экология не может обойтись без эмбриологии. Незнание закономерностей зародышевого развития подрывает некоторые основы рациональной перестройки существующих биоценозов.

Изложение материала данного учебного пособия следовало бы предпослать краткий исторический очерк. Знание истории развития любой науки всегда имеет большое значение. В истории эмбриологии в разные времена переплетались различные точки зрения, направления, теории; мы уже встретились с описательной, сравнительной, эволюционной, экспериментальной, наконец, с зарождением синтетической эмбриологии; незнание сущности этих этапов развития может привести к недоразумениям, а иногда и к конфликтам.

Тем не менее, будет целесообразнее отказаться от составления даже краткого очерка истории эмбриологической науки, пользуясь тем, что об этом можно прочитать во многих книгах по эмбриологии и биологии вообще, и употребить усилия на изложение современного фактического материала, имеющего непосредственное касательство к нашему предмету.

2.1. Половые и соматические клетки. Из курса "Общей цитологии" нам известно, что в 1895-96 гг. немецкий ученый Август Вейсман, исходящий из резкого противопоставления половых и соматических клеток, создал теорию "зародышевого пути" или "непрерывности и бессмертия зародышевой плазмы". Это метафизическое и идеалистическое, почти мистическое, представление отвергнуто с тех пор, как эмбриология встала на твердую эмпирическую основу. Ни о какой филогенетической преемственности "бессмертных" зародышевых клеток не может быть и речи. Однако исследование возникновения и развития половых клеток в онтогенезе животных организмов стало важнейшей и к настоящему времени довольно полно разработанной проблемой. Рассмотрению этой проблемы необходимо предпослать принципиальное отношение к самой сущности зародышевых и соматических клеток.

Все современные эмбриологи (или подавляющее большинство) исходят из четкой позиции отсутствия принципиальных различий между половыми и соматическими клетками. Те и другие входят в состав тела животного и умирают вместе с ним. Но чтобы понять первоначальное образование и дальнейшее поведение половых клеток, нужно научиться отличать их от соматических, знать их специфику. Половые клетки высоко дифференцированы прежде всего морфологически, по размерам и форме.

Правда, у низших беспозвоночных (например, простейших) гаметы обоих полов одинаковы (изогамия); у подавляющего большинства многоклеточных животных они характеризуются разной морфологией (гетерогамия). По мере повышения организации животных гетерогамия становится все более выраженной. Яйцеклетка многоклеточных — одна из наиболее крупных клеток организма (у млекопитающих — до 500 мкм.); даже первичные гонocytes на ранних стадиях существования обычно крупнее окружающих соматических клеток. Сперматозоиды, не считая хвоста, напротив, очень мелкие клетки (не более малого лимфоцита), а вместе с хвостовой нитью достигают в длину, например, у кошки и человека 60 мкм., а у тритона + 5000 мкм.

Половым клеткам, в определенный период их развития, свойствен мейоз, которого никогда не наблюдается в соматических клетках. В силу этого половые клетки, в отличие от соматических,

именных двойной набор хромосом, гаплоидны.

Половые клетки резко отличаются от соматических своим ядерно-плазменным отношением. Этот параметр не столь отличен у молодых, первичных гонцитов, но достигает полного выражения у яйцеклеток, прошедших стадию большого (или гигантского) роста и у сформировавшихся сперматозоидов. В силу этого половые клетки обладают специфическим метаболизмом. Развивающаяся яйцеклетка всех млекопитающих (в эмбриональном или постэмбриональном периоде) на последнем этапе длительной профазы претерпевает блокаду мейоза и вступает в стадию диактиотены, оставаясь в таком состоянии порой несколько десятков лет (например, у человека). Метаболические процессы в такой клетке затухают, и ее состояние можно уподобить, как полагает Б.П.Токин (1955), анабиозу. Сперматозоиды в составе половых желез находятся также в анабиотическом состоянии (Б.П.Токин, 1977), а покинув их, живут, как правило, очень недолго.

Половые клетки обладают полнотой всех свойств, необходимых для развития целого организма (тотипотенциальность). Соматические клетки, вступая на определенный путь дифференцировки, по современным молекулярно-генетическим представлениям, претерпевают репрессию тех или иных генов, и ни одна соматическая клетка в условиях нормального существования не способна дать начало целому организму.

Наконец, половые клетки резко отличаются от соматических своей онтогенезом. Если онтогенеза соматической клетки соответствует периоду от одного митотического деления до другого, то половые клетки, сформировавшись, уже не могут вступать в митоз (разумеется, до наступления процесса оплодотворения).

2.2. Происхождение первичных половых клеток в онтогенезе.

Половые клетки или гаметы (гаметоциты) до того, как они приобретут способность к слиянию при оплодотворении, проходят длительный и сложный путь развития - от прогамет до зрелых гамет - яйцеклеток и сперматозоидов. Процесс развития половых клеток получил название гаметогенеза.

Начальные сроки и длительность периода гаметогенеза у разных животных различны. У одних животных половые клетки обособляются очень рано, у других - этот процесс длится в течение всей жизни.

Вопрос о времени обособления полового зачатка (гонобласта) имеет большое теоретическое значение. Дело в том, что существенным постулатом теории "зародышевого пути" было то, что детерминация полового зачатка предшествует детерминации всех соматических зачатков.

Раннее обособление гонобласта известно у немногих видов животных — у некоторых нематод, мелких ракообразных, насекомых, бесхвостых амфибий. Так, у *Maastor americano* (отр. *Diptera*) в зрелом яйце после оплодотворения, но еще до дробления, в вегетативном полсе яйца возникает так называемая половая или полярная плазма — участок зернистой, содержащей, по-видимому, митохондрии цитоплазмы. Этот участок автор (*Hegner*, 1913) определил как половой детерминант (рис.1).

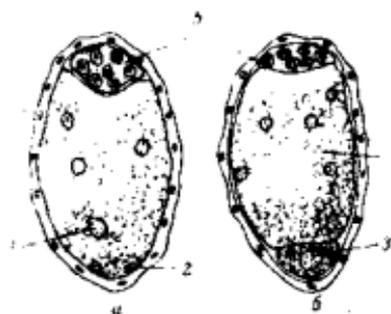


Рис.1. Обособление полового зачатка у *Maastor americana*. а — яйцо на стадии 8 бластомеров (видны 4): 1— половое ядро, 2—половой детерминант, б— более поздняя стадия; 3—первичная половая клетка, 4—сома, 5— питательные клетки. По *Hegner* 1913. Из Л.Бунур, 1968.

После третьего митотического деления зародыша одно из 8 ядер оказывается лежащим вблизи полового детерминанта, а на следующей стадии дробления в этом участке обособляется первичная половая клетка (первичный гоноцит), остальная, большая часть зародыша дает сому. Если поставить эксперимент и осторожно вымечь половой детерминант или локально облучить ультрафиолетом, дробление произойдет, разовьется взрослый организм, но в половых железах его не будет гоноцитов при наличии в них всех остальных компонентов, состоящих из соматических клеток.

Аналогичная картина наблюдается в яйце лягушки (*R. temporaria*) (рис.2). На вегетативном полсе оплодотворенного яйца лягушки при определенных условиях обработки обнаруживаются мелкие островки особого вещества, рассеянные между желточными зернами. Характер распределения этого вещества при дроблении и дальнейшем развитии позволяет назвать вещество островков "ясовой цитоплазмой".



Рис.2. Разрез через область вегетативного полюса яйца лягушки: 1-тонкий прерывистый слой "половой цитоплазмы"; 2- митохондрии; 3- желточные зерна.
По - Бунур, 1968.

У аскариды (*Parascaris equorum*) половой зачаток возникает не до дробления, а в ходе его. Уже первые два blastomeres зародыша аскариды отличаются друг от друга по крайней мере по признаку взаимно перпендикулярного расположения веретен будущих делений. Кроме того, в blastomere АВ, из которого впоследствии разовьются эктодерма и, далее, кожный покров, происходит диминуция хроматина, т.е. выбрасывание дистальных концов хромосом из ядра в цитоплазму. В другом blastomere - СД или Р, дающем впоследствии половые клетки (а также внутренние органы), диминуция хроматина не происходит. Этот второй blastomere при дальнейшем дроблении дает blastomeres P₂, P₃, а P₄ является исходной стволовой клеткой для полового зачатка и дает впоследствии только гонциты. Все остальные клетки, утратившие часть хромосомного материала, превращаются в соматические. Таким образом, здесь гонобласт обособляется у зародыша на стадии 16 blastomeres. Явление диминуции хроматина во время развития наблюдается, кроме аскариды, у многих двукрылых. У комарика *Sciara* в blastomeres, дифференцирующихся в гонобласт, содержатся особые хромосомы, называемые лимитированными. В blastomeres, дающих соматические клетки, лимитированные хромосомы исчезают. Эти хромосомы легко различаются в световом микроскопе.

Диминуция хроматина отмечена также у растений. Положение о диминуции хроматина много раз подвергалось критике и переисследованию. Ряд исследователей и сейчас считает диминуцию артефактом, так как это явление противоречит общепринятому современному представлению об эквивалентности геномов, а значит и хроматина, во всех без исключения клетках организма.

Однако в последние годы в ряде исследований, проведенных в частности на молекулярном уровне, факт диминуции хроматина был убедительно доказан. Тоблер, Смит, Уршпрунг (1972) показали, что в процессе элиминации хроматина у аскариды утрачивается 27% ДНК, среди которых имеются как повторы, так и уникальные последовательности (в отношении 1:1).

В настоящее время диминуция хроматина у аскариды и других животных считается одним из высокоспециализированных механизмов, участвующих в детерминации первичных гоноцитов (Дьяков, 1978). По всей вероятности, дифференцировка первичных гоноцитов регулируется генами, локализованными в тех участках хромосом, которые утрачиваются соматическими клетками, но сохраняются в будущих половых клетках.

В зародыше дрозофилы на стадии 256 клеток имеется группа так называемых полярных клеток, которые при нормальном развитии превращаются в первичные гоноциты. При облучении цитоплазмы полярных клеток ультрафиолетом развиваются особи со стерильными гонадами, полностью лишенными гоноцитов.

Образование первичных половых клеток хорошо изучено на многих позвоночных. У амфибий (например, у ксенопуса) зародышевая плазма гистохимически выявляется на стадии 2-4 бластомеров, в области их вегетативного полюса. В процессе дробления она входит в состав первичных гоноцитов, обнаруживаемых в зачатке вентральной энтодермы бластулы.

У птиц первичные гоноциты легко обнаружить у 48-часового эмбриона в области зачаткового серпа. Если осторожно вырезать этот участок (Дончакова, 1932), зачатковый эпителий не разовьется.

У млекопитающих в яйцеклетках зародышевая плазма не обнаруживается. Правда, Е.А. Пожидаев (1967) различает в яйцеклетке крысы две полусферы - базофильную и гидратированную, но дальнейшее превращение этих сфер убедительно не прослежено. Обособление гонобласта, когда его уже можно заметить, у млекопитающих происходит довольно рано. По данным Минци (1960) все гаметы мыши, особенно многочисленные у самцов, возникают лишь из 100 первичных половых клеток, локализованных у 8-дневного мышинного эмбриона в энтодерме желточного мешка в основании аллантоиса. Можно предположить, что на более ранних стадиях их было еще меньше.

Итак, в онтогенезе *Metazoa* возникает (рано или поздно) линия половых клеток, которая принципиально не отличается от других линий, например, линий клеток "на мезодерму", "на глаз", или "на позвонок".

Важно подчеркнуть, что как бы рано не возникал половой зачаток, он не образуется раньше соматических зачатков. Так, в случае дробления яйца аскариды, на который опирается Вейсман, окончательное обособление половой и соматической линий осуществляется лишь на стадии 16 бластомеров. Линия половых клеток до этой стадии оказывается общим источником как для соматических, так и для половых клеток. Своеобразие линий половых клеток в отличие от линий на лобные соматические клетки, возможно, состоит в том, что гомоциты как бы избегают процессов той дифференциации, которой подвергаются соматические клетки, иначе говоря, избегают процессов репрессирования тех или иных частей генома, "предохраняют" себя, как говорит Э. Вольф (1968), от "соматизации".

Существование линии половых клеток означает преемственность между гомоцитами (первичными половыми клетками) и дефинитивными (зрелыми) половыми клетками-яйцеклетками и сперматозоидами. Но если теперь доказано обособление линии половых клеток в онтогенезе животного, это вовсе не означает признания "непрерывности зародышевой плазмы" в ряду поколений, в филогенезе, признания ее потенциального бесометрии, как утверждал Вейсман.

Утверждая реальность существования линии половых клеток в онтогенезе, мы тем самым подчеркиваем незаменимость первичных половых клеток и невозможность трансформации их, например, из эпителиальных клеток, герминативного эпителия яичника взрослого животного.

Между тем, вопрос этот не так прост, и возможно, что его нельзя решить однозначно. Откуда, например, у рыб в каждый сезон берутся новые массы икринок? Из стволовых клеток, сохраняющихся как первичные половые клетки, в течение всей жизни, или из герминативного; "зачаткового" эпителия взрослой гонады? Возможно, что имеются два типа животных: животные с незаменимыми ранними гомоцитами и животные, у которых половые клетки возникают и вырабатываются в течение всей жизни. Тогда необходимо будет признать существование двух источников гомоцитов: эмбрионального и постэмбрионального.

... рассуждения подкрепляются наблюдениями массовой гибели (дегенерации) половых клеток, хорошо знакомыми эмбриологам. Например, у плода человека 5-ти месяцев в яичниках содержится около 7 млн. оогионов, к моменту рождения их остается 2 млн., а к 7 годам всего 300 тысяч. Аналогичное явление дегенерации половых клеток наблюдается у обезьян, крыс, морских свинок и пр. В яичниках у женщин к 50 годам не остается ни одной половой клетки.

Наиболее соответствующим современному состоянию эмбриологической науки является представление о том, что и в эмбриональном, и в постэмбриональном периоде половые клетки возникают из стволовых клеток, т.е. клеток зародышевой линии. Для человека твердо установлено, что у женщин жизнь стволовых клеток ограничена, так как число митотических делений в стадии размножения в оогенезе реализуется лишь в эмбриональном периоде, конечно. Напротив, в мужском организме стволовые клетки (сперматогонии) делятся митозом в течение всей жизни индивида и дают огромное количество сперматозоидов.

2.3. Локализация полового зачатка и способы миграции первичных гонцитов. Помимо проблемы, связанной со сроками обособления гонобласта, чрезвычайно важным является вопрос о месте их первоначального возникновения и способах миграции в гонады (половые железы).

Место возникновения гонцитов в организме зависит от уровня эволюционного развития животного. У губок, не имеющих настоящих тканей, клетки не обладают устойчивой детерминацией и могут взаимно превращаться друг в друга; здесь половые клетки могут возникать из амебоцитов и хоаноцитов. У турбеллярий гонциты возникают из необластов. У некоторых олигохет - среди клеток энто-или мезодермы. У бесхвостых амфибий и высших позвоночных они оказываются в составе энтодермы, где много питательных веществ, у птиц - в области, лежащей впереди от зародышевого диска ("зачатковый серп").

Место локализации гонобласта у зародка человека прослежено очень точно. Это было сделано с помощью обычных гистохимических методов. Так, Политцер (1926), Витши (1948), Эдемс, Роки и Данцигер (1953) на основе метода выявления активности щелочной фосфатазы, которой очень богаты первичные гонциты, обнаружили гонобласты в виде клеток черного цвета в области желточной энтодермы

у основания аллантоиса. Л.И.Фалин (1962) обнаружил первичные гонциты у человеческого зародыша с помощью окраски на гликоген, которым также очень богаты эти клетки.

В многочисленных исследованиях прослежен и процесс миграции первичных гонцитов из мест их первоначального возникновения в места постоянного пребывания, т.е. в дефинитивные гонады.

Миграция гонцитов наглядно прослеживается на примере мужского гонофора двухслойного животного из кишечнополостных — *Clava Squamata*. Гонциты возникают здесь в эктодерме медузоидной почки, а затем мигрируют по энтодерме и концентрируются между экто-энтодермой гонофора.

На рис.3 представлена схема происхождения и миграции первичных гонцитов у разных позвоночных животных.

У амфибий первичные гонциты, оставшиеся на дне первичной кишки до стадии нейрулы, по окончании нейруляции мигрируют в дорсальном направлении к половым складкам, образуя зачатки гонад. У птиц первичные гонциты мигрируют из серповидной области энтодермы к средней линии в область дна первичной кишки, примыкающей к желточному мешку. Они проникают в кровеносные сосуды, проходя между клетками эндотелия капилляров путем диапедеза и переносятся с током крови в места окончательной локализации. Механизм межклеточных взаимодействий, с помощью которого первичные гонциты узнают кровеносные сосуды и проникают сквозь эндотелий, неизвестен; установлено лишь, что он не видоспецифичен: гонциты зародыша мыши, введенные в куриный зародыш, мигрируют по тому же пути, что и собственные клетки хозяина, и достигают его гонад. На первичных гонцитах птиц, в культуре *in vitro* убедительно показано влияние хемоаттрактантической субстанции, выделяемой клетками половых валиков, которая привлекает гонциты и обеспечивает выход их из кровеносных сосудов в нужном месте. Предполагают, что это — вещества гликопротеидной природы, названные телоферонами.

У млекопитающих мигрирующие из задней области желточного мешка в половые складки первичные гонциты не используют кровеносные сосуды, а путем амебOIDных движений активно перемещаются по мезенхиме в направлении гонад. У человеческого эмбриона на 4 неделе развития гонциты мигрируют в соединительную ткань задней кишки, затем в кишечный мезентерий; у 30-дневного зародыша поступают

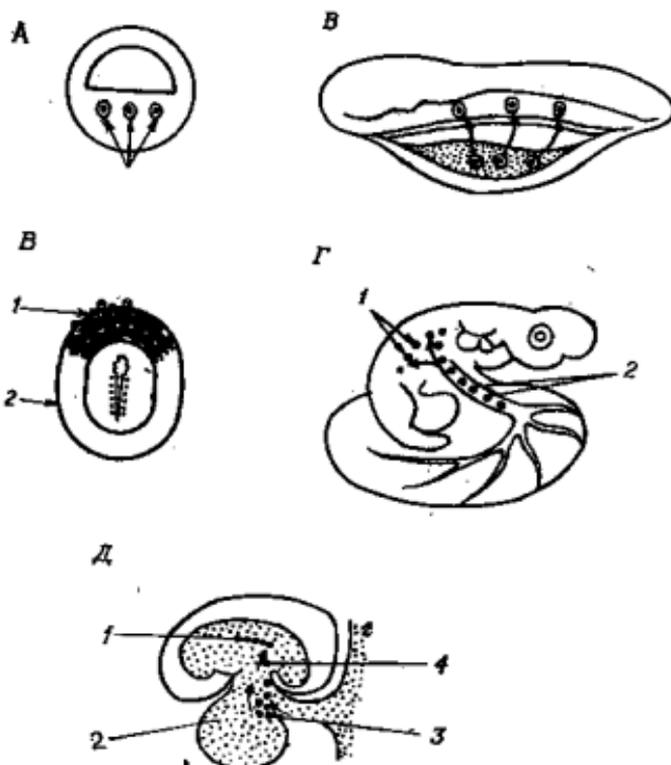


Рис.3. Схема, иллюстрирующая происхождение первичных гонцитов и их миграцию у амфибий (А и Б), птиц (В и Г) и млекопитающих (Д). А-поперечный разрез зародыша амфибии на стадии бластулы, стрелками показаны первичные гонциты в вентральной энтодерме. Б-зародыш амфибии на стадии хвостовой почки (вид сбоку); стрелки указывают миграцию клеток в дорсолатеральную мезодерму половых клеток. В-зародыш птицы 48 ч. инкубации. 1-первичные гонциты в области серого вещества; 2-сосудистое поле с капиллярами. Г-4-дневный зародыш цыпленка; 1-первичные гонциты, достигшие половой складки; 2-первичные гонциты в кровеносных сосудах. Д-зародыш млекопитающего: 1-половые складки; 2-желточный мешок; 3-появление первичных гонцитов; 4-их миграция. По Дьюкар, 1978.

в развивающийся мезонефрос (Вольфовы тела), а оттуда в половые валики, которые располагаются на медиальной поверхности каждого

Вольфова тела и являются в это время индифферентными и биопотенциальными.

Если индифферентная гонада развивается в яичник, первичные гонциты встраиваются в целомический эпителий, покрывающий гонаду, мельчают и становятся неотличимыми от эпителиальных клеток. Дальнейшее развитие ооцитов происходит в пределах кортикального слоя гонады.

Если индифферентная гонада развивается в семенник, первичные гонциты переходят в глубь ее, в мозговое вещество, где впоследствии начинают формироваться будущие семенные каналы. В этот ранний период пол будущего организма может быть определен только цитогенетически. Гонциты обоих полов — диплоидны.

Итак первичные гонциты имеют экстрагонадное происхождение; возникнув в отдаленных от тела раннего эмбриона местах, первичные гонциты мигрируют в гонады, стимулируя их к дальнейшей дифференцировке.

2.4. Оогенез. 2.4.1. Период размножения.

Яйцо или яйцеклетка животного представляет собой клетку, выросшую до больших или гигантских размеров. Когда первичные гонциты приобретают черты определенного пола, они интенсивно делятся митозом и называются в это время гониями (оогониями или сперматогониями). Это — период размножения. Общий вид оогенеза представлен на рис. 4. Оогонии размножаются, как правило, лишь во время эмбриогенеза, сперматогонии — в течение всей постэмбриональной жизни.

Число митотических делений оогоний бывает ограниченным или неопределенным. В связи с этим продолжительность всего периода размножения в оогенезе значительно колеблется. Так, у мыши он длится 3-4 дня, у кролика и золотистого хомячка — 10-16 дней, у человека — 3-4 месяца.

По окончании периода размножения оогонии превращаются в ооциты I порядка, которые содержатся в массовом количестве во взрослом яичнике, например, млекопитающего.

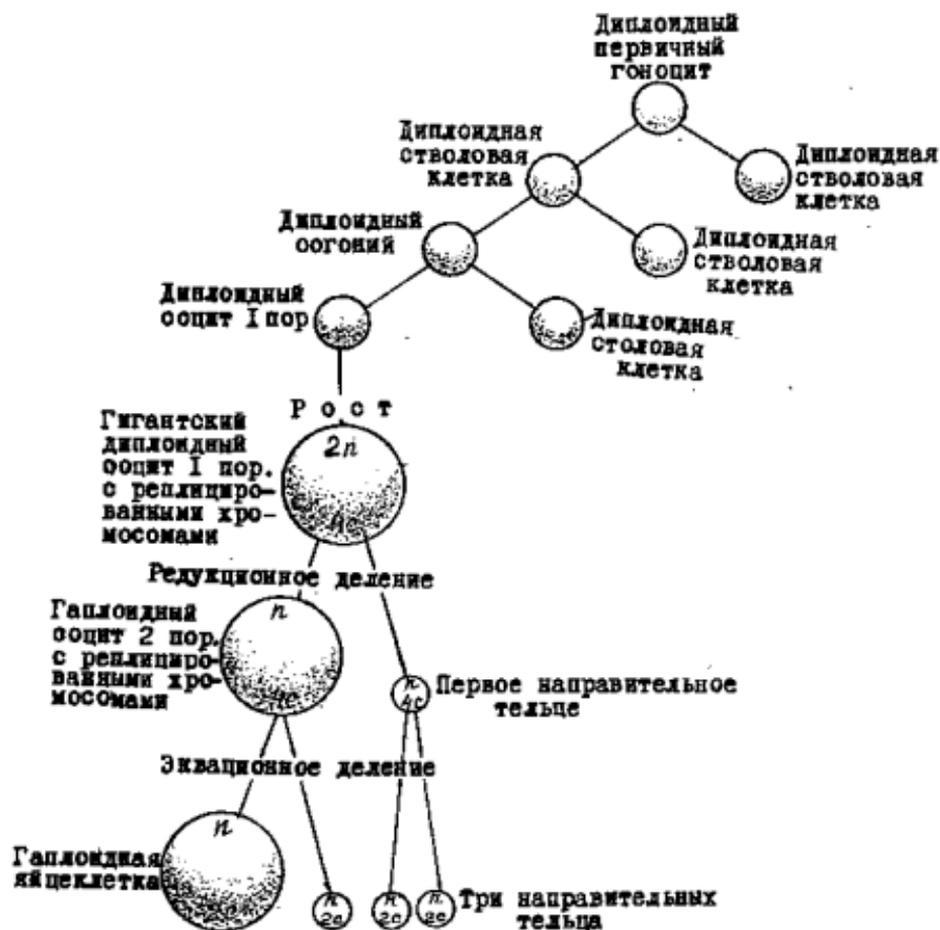


Рис.4. Схема оогенеза

2.4.2. Период роста

Ооциты I порядка вступают в период роста и достигают к концу периода больших или гигантских размеров. Так, у лягушки в течение трех лет становления ее половой зрелости ооцит увеличивается в 27 тысяч раз, ооцит курицы за 10 дней роста - в 200 раз, а ооцит мухи - дрозофилы на 78 часов роста - в 200 тысяч раз. У млекопитаю-

них рост ооцита не столь значителен, лишь в десятки раз. Размер яйцеклеток, закончивших свой рост, колеблется в диаметре от 80-100 мкм до нескольких сантиметров (яйцо птицы).

Развитие ооцита в периоде роста можно подразделить на 2 или 3 фазы.

Первая фаза, наступающая сразу за образованием ооцита из овогония, характеризуется тем, что ооцит вступает в стадию профазы мейоза и в его ядре происходят последовательные промейотические процессы. Эта фаза может длиться годами, и к концу ее ядро ооцита сильно набухает, принимая вид светлого пузырька, называемого зародышевым пузырьком.

Вторая фаза характеризуется непрерывным, но медленным ростом (также длится годами) за счет синтеза веществ в ооците, но желток в этой фазе еще не образуется и поэтому ее можно назвать фазой превителлогенеза.

Наконец, третья фаза - это фаза быстрого роста, когда ооцит за несколько недель или даже дней достигает своего окончательного размера. Это - фаза вителлогенеза, образования и накопления желтка.

Эти подразделения условны и не являются общепринятыми. Многие авторы различают в развитии ооцита только 2 периода: малого роста (I фаза или I и II фазы) и большого или гигантского роста (II и III фазы, или чаще, только III фаза). Подразделение на два периода более удобно. Целесообразно также рассмотреть сначала изменения, происходящие в периоды малого и большого роста в цитоплазме ооцита, а затем - ядерные преобразования, возникающие в эти же периоды.

Наибольший интерес представляет изучение процессов гигантского роста ооцита, когда в его цитоплазме накапливается огромное количество питательных веществ и РНК, главным образом, рРНК.

Между развивающимися ооцитами и другими прилегающими к ним клетками существуют особые "пищевые" отношения. Питание ооцита может происходить обычным осмотическим путем, т.е. всасыванием из окружающей среды солей, витаминов и пр. Но существуют и другие, более специальные, способы питания. У губок, например, одиночный ооцит, предоставленный самому себе, питается фагоцитарным путем, заглатывая любые клетки. У других бесчлениковых питание ооцита

осуществляется специализированными клетками - кормилицами или трофоцитами, которые связаны с каждым развивающимся ооцитом. При таком способе питания ооцит может не передвигаться; в скоплениях ооцитов возникает одна "счастливая" клетка, которая продолжает расти в то время, как все другие клетки превращаются в трофоциты. Ооцит не фагоцитирует трофоциты, а "перекачивает" в себя содержащиеся в их цитоплазме вещества. При этой причине в самом ооците процессов синтеза не происходит.

У различных групп животных процесс накопления в ооплазме питательных веществ в РНК совершается по-разному, в зависимости от положения половых клеток в гонадах и от взаимоотношений между ооцитами и окружающими клеточными элементами.

Различают несколько типов оогенеза в зависимости от способа питания ооцитов (рис.5).

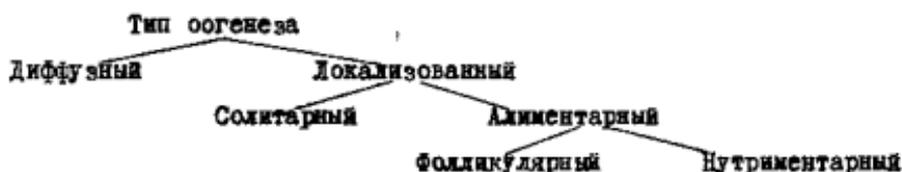


Рис.5. Типы оогенеза (типы питания ооцитов). Из Равена (1964). Несколько видоизменено

Диффузный тип характерен для губок, гидродных, бескишечных турбеллярий, некоторых видов немуртин, кольчатых червей. У губок, например, ооциты возникают поодиночке в мезоглее из амебодитов, которые, в свою очередь, развиваются из хоаноцитов (рис.6а).

Среди обоих типов различают далее: солитарный (без питающих клеток) и алиментарный при участии питающих клеток, а в последнем - фолликулярный (питание с помощью фолликулярных клеток) и нутриментарный (при участии специальных питающих клеток). Солитарный тип оогенеза, когда растущий ооцит получает питательные вещества от тканей матери без участия специальных фолликулярных или питающих клеток, наблюдается у червей, моллюсков, пауков, иглокожих (рис.6б). У одного из видов двухстворчатых моллюсков (*Sphaerium striatinum*) оогонии развиваются из клеток эпителия яичника, растут, выпячиваются в просвет, соединяясь с базальной мембраной лишь тонким стебельком. РНК, необходимая для ро-



Рис.6. Схематическое изображение разных типов оогенеза у животных: а-диффузный оогенез: подвижный ооцит обладает флагоцитатной активностью; б-солитарный тип оогенеза: фолликулярные клетки либо отсутствуют, либо существуют временно, на небольшом отрезке оогенеза; в-фолликулярный тип оогенеза: фолликулярные (эпителиальные) клетки образуют один или несколько слоев вокруг ооцита; г - нутриментарный тип оогенеза: ооцит соединен цитоплазматическими мостиками с питательными клетками и вместе с ними окружен фолликулярным эпителием (Koch e.a. 1967); оо-ооцит, пр-префолликулярная мезодерма, ск - стволовая клетка, фк - фолликулярная клетка, ц-цистоцит, цб-цистообласть; д-пространственные отношения между цистocyтaми в гермарии дрозофилы после четырех делений (Koch e.a.1967): 1,2 проооциты (цистоциты, имевшие по 4 цитоплазматических мостика), 3-16-протрофонтиты; е-яйцевая камера цекропии перед началом вителлогенеза (King, Agarwal, 1968); жк-интерфолликулярные клетки, оо-ооцит, пр-питательные клетки, фк-фолликулярный эпителий, я-ядро, ян-ядрышко, По - ясенитадт, 1977.

ста ооцита и для эмбриогенеза синтезируется в ядре самого ооцита, о чем говорит деспирализация хромосом и преобразование их в форму "ламповых веток" (см. ниже) и высокая активизация ядрышка. Развитие ооцита здесь совершается медленно.

Под алиментарным типом оогенеза имеет в виду развитие ооцита при участии питающих клеток. Последние могут быть фолликулярными, т.е. эпителиальными и окружать ооцит со всех сторон (фолликулярный тип, (рис.6в) или крупными клетками оогонияльного происхождения, прилежащими только к части ооцита (нутриментарный тип, (рис.6г). Между обоими типами есть переходные формы.

Фолликулярный тип развития встречается у губок, иглокожих, немуртин, пиявок, сипункулид, брюхоногих и головоногих моллюсков, пауков, насекомых, асцидий, пластинчатожабренных и костистых рыб, амфибий, рептилий, птиц, млекопитающих и человека.

Нутриментарный тип характерен для многих групп животных - губок, гидроидов, сцифоидных медуз, кольчатых червей, ракообразных, иглокожих, насекомых и др.

При нутриментарном типе оогенеза во время оогонияльных митозов, когда деформируется одна половая клетка и несколько трофоцитов, в результате неполной цитотомии, образуются цитоплазматические мостики (рис.6д); по ним в ооцит из питающих клеток и переходят рибосомы или их субъединицы с запасной рРНК.

Цитоплазматические мостики (кольцевидные каналы или фузоны) между половыми клетками представляют уникальное явление в цитологии. Возможно, что их возникновение препятствует дальнейшему осуществлению митозов и вызывает дегенерацию части ооцитов.

Движение по цитоплазматическим мостикам полярно - всегда от питающих клеток в ооцит. Это движение не следует понимать как перетекание цитоплазмы с ее желточным материалом. В ооцит из трофоцитов поступает рРНК в составе 80 S -моносом. Это - стабильные рибонуклеопротеидные частицы, которые можно представить как дено 28 S и 18 S - рРНК.

Что касается фолликулярного типа оогенеза, то фолликулярные соматические клетки, как правило, не участвуют в синтезе рРНК для ооцита. Исключение составляют некоторые рептилии и птицы. Сравнительно недавно было обнаружено, что фолликулярные клетки дают отростки, расширенные концы которых входят в ооплазму и несут в се-

бе рибосомоподобные гранулы. Эти отростки назвали трансосомами; в цитоплазме ооцита они очень многочисленны.

В отличие от фолликулярных, питающие клетки всегда овогонимального происхождения. У низших многоклеточных одна более крупная половая клетка фагоцитирует более мелкие. Рост ооцита всегда обгоняет рост питающих клеток: последние сморщиваются и из них в ооцит поступает рРНК (возможно, что поступает и иРНК, но это пока не доказано). У дрозофилы в результате четырех делений овогонии получается 16 клеток; из них развивается один ооцит и 15 питающих клеток. У одного вида улиток на один ооцит приходится 2000 питающих клеток. При интритментарном типе овогенеза в ядре ооцита происходит инактивация синтеза РНК, хромосомы находятся в спирализованном состоянии и не преобразуются в "ламповые четки". Вся РНК поступает в ооцит из питающих клеток; развитие ооцита идет очень быстро.

У пухляков образование ооцита происходит более сложно: там имеются и питающие и фолликулярные клетки.

Говоря о типах образования ооцитов, некоторые авторы полагают, что не следует допускать отождествления типа развития и "типа питания", как это делается в старых работах.

Авторы классификации типов овогенеза, Корнелит и Гайдер, стрекли ее лишь на основании гистологической структуры яичников у разных животных без учета функционального значения структур. Поэтому заслуживает внимания подразделение типов овогенеза, предлагаемое Б.Р.Гагинской (1975), на аутоτροφный и гетеротрофный. В первом случае питательные вещества синтезируются в самом ооците, во втором они поступают в ооцит из других клеток. Тогда в отношении синтеза РНК и морфологии ядра ооцита солитарный и фолликулярный типы будут отнесены к аутотрофному типу, а интритментарный - гетеротрофному.

2.4.3. Вителлогенез. Представления о синтезе и накоплении желтка в ооците, полученные с помощью светового микроскопа, ошибочны. Раверц указывает, что в образовании желтка играют роль так называемые желточные ядра - скопления клеточных органов в области клеточного центра. В настоящее время это представление отвергнуто. Желточное ядро не имеет отношения к вителлогенезу; перед началом вителлогенеза оно исчезает. Возможно, что оно является местом об-

разования органелл.

В настоящее время различают два способа образования желтка в ооците: эндогенное и экзогенное. В соответствии с этим макромолекулы желтка делят на аутосинтетические, синтезируемые самим ооцитом, и гетеросинтетические, синтезируемые вне ооцита и принимаемые в него питающими клетками. При этом надо иметь в виду, что под желтком понимается не только питательные вещества, — белки, жиры и углеводы, но и (это — главное) — РНК.

Различают желток белковый, углеводный, жировой. Белковый желток собирается из гетеросинтетического материала, поступающего в ооцит в виде макромолекул. Например, у насекомых белковый желток синтезируется в организме самки вне яичника и кровью переносится в гонады. С помощью электрофореза было установлено, что желточные белки ооцита насекомых идентичны белкам гемолимфы самок, но отсутствуют в гемолимфе самцов. Образование вителлогенина в печени у рыб и амфибий стимулируется гонадотропинами и эстрогенами.

В настоящее время четко показано, что желток, в том числе желточный белок, образующийся экзогенно, поступает в ооцит с помощью пиноцитоза. Так, за 1 час в ооцит *Xenopus laevis* проходит путем пиноцитоза 0,7 мкг желточного белка. Если посмотреть на ооцит в период активного желткообразования в электронный микроскоп, его поверхность будет усеяна микроворсинками и впячиваниями. При смыкании краев впячиваний в клетке образуется пузырек диаметром 100-200 нм, содержащий белковый желток (рис.7).

Желточный белок называется вителлогенином и представляет собой липофосфопротеин. Включаясь с ооцит, вителлогенин превращается в биокристаллы — фосфитин и липовителлин.

Две молекулы фосфитина с молекулярным весом 40000 соединяются с димером липовителлина (м.в.400000). В желтке лягушки содержится в виде кристаллов 91% липовителлина и 9% фосфитина. Механизм формирования кристаллического желтка неизвестен.

Синтез вителлогенина — гормонозависимый процесс. Так, образование в печени вителлогенина, идущего на построение желточных пластинок в ооцитах рыб и амфибий, стимулируется гонадотропинами и эстрогенами. Введение эстрадиола увеличивает скорость синтеза вителлогенина. Замечено, что клетки печени удивительно изменяются при этом: в клетке сильно развивается эндоплазматический ретикулум и она становится похожей на клетку поджелудочной железы.

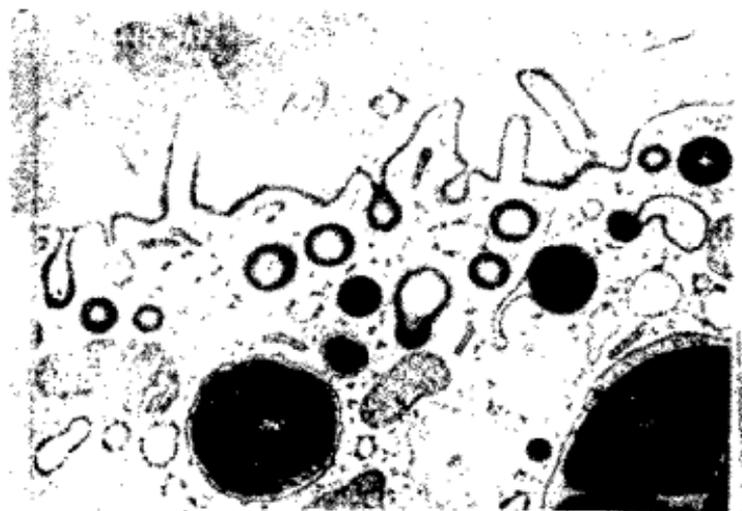


Рис.7. Поверхность ооцита комара в период активного пиноцитоза и формирования желточных гранул (Roth, Portez, 1964, схема). y-желточные гранулы, l-липидные включения, mv-микроворсинки, оп-окаймленные пузырьки, фк-фолликулярная клетка. По-Айзенштадт, 1977

Если эстрадиол ввести самцу, у него начнется синтез вителлогенина, но он не поглощается ооцитами, которых нет, а "застревает" в фолликулярном эпителии.

У млекопитающих поглощение ооцитом вителлогенина индуцирует выработку гонадотропина.

У насекомых синтез вителлогенина происходит под влиянием нейросекреторного гормона, выделяемого из *corpora allata* (около мозгового ганглия).

В случае солитарного типа оогенеза, в ооците происходит экзогенный синтез белка: процесс идет неактивно и не наблюдается пиноцитоза.

Процесс вителлогенеза нельзя увидеть в электронный микроскоп, так как вителлогенин при обработке материала вымывается. Но экспериментами установлено, что избирательность ооцита в ходе поглощения веществ обеспечивается фолликулярными клетками. Они секретируют какие-то вещества, которые подготавливают превращение вителлогени-

на в нерастворимую форму - гранулы примордиального желтка. Все это, однако, довольно проблематично.

Углеводный желток - гликоген и другие полисахариды, появляются на поздних стадиях оогенеза и диффузно распределяются по цитоплазме ооцита.

Жировой желток образуется, как правило, позднее углеводного, но раньше белкового. В виде жировых капель он отщипывается от ядрышка или непосредственно связан с митохондриями. Полагает, что у дрозофилы и собаки происходит превращение митохондрий в жировые капли. У дрозофилы наблюдается переход митохондрий из питающих клеток в ооцит, в цитоплазме которого они превращаются в жировой желток. Иногда в этом участвует комплекс Гольджи. Жировой желток зрелого ооцита состоит из насыщенных жиров и жирных кислот. У птиц жировой желток содержит довольно высокий процент свободного холестерина.

Белковый желток образуется, как правило, после образования углеводного и жирового желтка. В случае эндогенного вителлогенеза желток синтезируется, как любой белок на мембранах эндоплазматического ретикулума или на свободных рибосомах, при обязательном присутствии комплекса Гольджи. Эндогенный желток всегда соединен с углеводом, т.е. он является гликопротеидом.

Кристаллы желтка лежат в митохондриях, но не в матриксе, а в полости кристы; митохондрия при этом погибает.

Итак, в процессе гигантского роста ооцита он вступает в сложные взаимоотношения с окружающими клетками и со всем организмом. Представление о перетекании желточных белков по цитоплазматическим мостикам устарело. В ооцит "перекачивается" рибосомы с РНК или их предшественники. За некоторыми исключениями (головноногие моллюски, виш) фолликулярные клетки не принимают участия в вителлогенезе.

Основными функциями фолликулярного эпителия являются: синтез мукополисахаридного слоя в межклеточных пространствах, синтез РНК - положительного материала вторичных яичных оболочек и синтез веществ, индуцирующих созревание ооцита. Контроль за процессами вителлогенеза и созревания ооцита принадлежит гипоталамусу и гипофизу.

2.4.4. Типы яйцеклеток. Яйцевые оболочки. По количеству и расположению запасного желтка яйцеклетки классифицируются на полилецитальные или крайне телелецитальные, многожелтковые (членистоногие, рыбы, птицы), мезолецитальные или телелецитальные, среднежелтковые (амфибии, осетровые), олиголецитальные или маложелтковые (иглокожие, черви, моллюски, ланцетник) алецитальные или безжелтковые (млекопитающие, первичнотрахейные, человек). Особое место занимает центролецитальные яйца, характерные для членистоногих. Они содержат большое количество желтка, расположенного в центре яйца, а вся периферия яйца заполняется тонким слоем "чистой" не содержащей желтка цитоплазмы.

С поверхности яйцо покрывается несколькими защитными оболочками, среди которых различают первичные, вторичные и третичные. К числу первичных оболочек относится самая внутренняя тонкая оболочка, которая образуется в яичнике фолликулярными клетками и называется желточной. На основании электронномикроскопических наблюдений полагают, что у дрозофилы даже мембрана, непосредственно примыкающая к цитоплазме яйцеклетки, выделяется клетками фолликулярного эпителия. У млекопитающих фолликулярные клетки секретируют толстую желеобразную оболочку, называемую *Zona pellucida* (рис.6); имеются данные, что в ее образовании принимает участие также сама цитоплазма яйца (рис.9). *Zona pellucida* густо пронизана со стороны яйцеклетки микроворсинками, со стороны лучистого венца — отрезками фолликулярных клеток, достигаями плазмалеммы и входящими в цитоплазму яйцевой клетки. Эти расширенные концевые отделы отростков называют трансосомами; в их составе находятся гранулы по всей вероятности рибосомной природы.

Клетки лучистого венца служат дополнительной защитой яйцеклетки, когда она выбрасывается из яичника в воронку яйцевода. Помимо первичной (желточной) оболочки, яйцо может быть окружено вторичными оболочками, которые образуются также фолликулярными клетками. Сюда относится, например, хордон яиц насекомых.

Наконец, третичные оболочки выделяются железистыми клетками яйцевода. Это — студенистая оболочка яиц амфибий, белковая, подскорлуповая и скорлуповая оболочка яиц птиц, кокон червей и моллюсков. Когда яйцо курицы продвигается по яйцеводу, последовательные участки яйцевода секретируют белок, затем подскорлуповые оболочки и, наконец, скорлупу. Полагают, что успешное образование



Рис. 8. Строение полностью сформированной *Zona pellucida* (Zp) вокруг ооцита в граафовом пузырьке. Микровилли, отходящие от поверхности ооцита, соединяются с отростками фолликулярных клеток. Эти отростки прободают цитоплазму ооцита (С) и могут снабжать его питательными веществами.
По Austin & Short, 1973)



Рис. 9. Схематизированная электронограмма формирования (*Zona pellucida* (Z) между фолликулярными клетками (G). Первичный материал (P) находится и в фолликулярных клетках и в ооците. GV - пузырьки Гольджи. N и C - ядро и цитоплазма ооцита.
По Austin & Short, 1973

этих оболочек обусловлено взаимодействием между яйцом и клетками яйцевода, которое должно быть строго запрограммировано во времени.

Присутствие всех трех типов оболочек не обязательно для каждого вида яиц; яйцо может иметь только одну (первичную) или две из названных оболочек.

2.4.5. Период созревания. В любом учебнике по общей биологии или цитологии, где предметом описания является оогенез, привычно видеть подразделение этого процесса на три периода: размножения, роста и созревания. В схематическом изображении это удается сделать легко, в действительности же дело обстоит сложнее. Если можно свободно провести четкую границу между периодом размножения и периодом роста, то отграничить период роста от периода созревания невозможно, так как созревание яйца происходит в процессе его малого и большого роста. Сущность созревания яйцеклетки состоит в осуществлении ее двух последовательных делений мейоза, одно из которых (как правило, первое) является редукционным и влечет за собой уменьшение вдвое числа хромосом в ядре, а второе — эквационным (уравнительным), в результате которого обе дочерние клетки приобретают гаплоидный набор хромосом (n) с одинарными хроматидами. Сказанное наглядно иллюстрируется таблицей I.

Таблица I

Соотношение числа хромосом и количества хроматидна
в период созревания ооцита

Число хромосом и количество хроматидна	Ооцит I-го порядка	Профаза мейоза (S-фаза)	Редукционное деление-ооцит 2-го порядка	Эквационное деление-яйцеклетка
N	$2n$	$2n$	n	n
C	$2c$	$4c$	$4c$	$2c$

При рождении у крыс, морских свинок, овец, коров, обезьян и человека в яичниках содержатся ооциты в стадии диплотеи мейоза; у новорожденных кроликов, волков, золотистых хомячков — оогонии; профазы мейоза завершаются у этих животных в течение первой недели постнатальной жизни.

В профазе мейоза принято различать 6 основных стадий: прелептотену, лептотену, зиготену, пахитену, диplotену и диакинез. Первые четыре стадии и раннюю диplotену ооцит проходит, как правило, в период малого роста, средняя диplotена и диакинез совершаются в ооците в период быстро протекающего большого роста (Грузова, 1977, рис. 10).

Сущность каждой из стадий профазы мейоза хорошо известна из курса общей цитологии, но здесь уместно было бы кратко изложить мало известные сведения о так называемом синаптонемальном комплексе (СК), изучение которого значительно продвинуло понимание механизма конъюгации гомологичных хромосом в мейозе.

СК обнаружен в ооцитах всех исследованных представителей животных и растений, но не найден при соматической конъюгации хромосом. Недавно он описан в работах Moses (1968), Грузовой (1977) и других. По Грузовой, СК представляет собой лентоподобную структуру, возникающую между конъюгирующими гомологичными хромосомами ооцитов и сперматоцитов и отчетливо различимую под электронным микроскопом. Название происходит от слова "синаптонема", что означает "нить спаривания". СК состоит из двух боковых лент, вытянутых параллельно оси бивалента от теломера до теломера и центральной ленты (элемента), которая соединена с боковыми элементами при помощи тонких поперечных нитей (рис. 11). Параметры и тонкое строение СК видоспецифичны.

Однако существует ряд признаков, которые присущи СК всех исследованных видов. СК всегда трехчленная структура. Общая толщина СК у разных видов составляет 1600-2400 Å. Латеральные элементы на продольных срезах имеют толщину 300-600 Å, а центральный - 100-400 Å. Толщина поперечных нитей, соединяющих боковые элементы с центральным - 20-50 Å. Эти нити располагаются либо строго периодически, либо неравномерно.

Формирование СК происходит следующим образом: в лептотене между сестринскими хроматидами появляется осевой тяж, который затем станет боковым элементом. Теломерные участки вместе с концами осевых тяжей прикреплены к ядерной мембране. В зиготене теломерные участки гомологичных хромосом, скользя по мембране, сближаются, и когда расстояние между ними достигает 3000 Å, между осевыми тяжами возникает поперечные нити и образуется центральный элемент, а сами осевые тяжи становятся боковыми элементами возникшего СК.



Рис.10. Соотношение стадий мейоза и овогенеза: 1-3- период малого роста ооцитов (генеративная фаза); 4-7-период большого роста ооцитов (вегетативная фаза); 1-лептотена, 2-зиготена и пахитена, 3-ранняя диплотена, 4,5-средняя диплотена: 4-солитарный тип, 5-интриментарный тип, 6-диакинез, 7-метафаза I деления созревания; бб-белковое тело; к-кариосфера; ли-лианновые четки, я-ядрышки. По Грузовой, 1977.

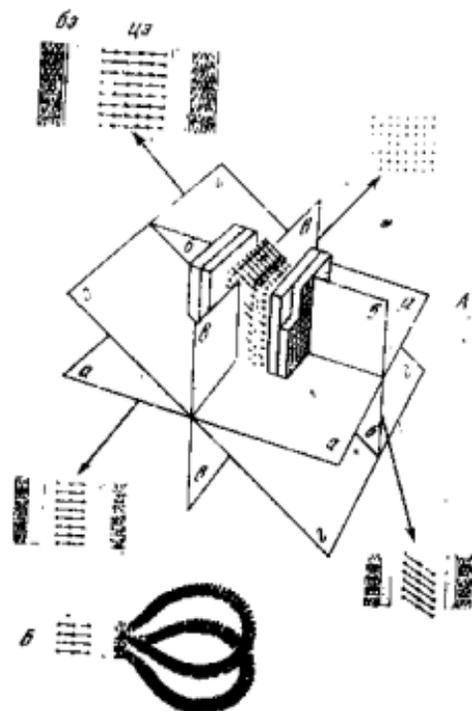


Рис.11. Схема строения синаптонемального комплекса (СК) в ооцитах комара *Aedes aegypti* (Roth 1966 из Грузовой); А-четыре сечения СК; Б-вид сверху части СК с петлями нитей хроматина; а-г-плоскости сечения; бз-боковой элемент; цз-центральный элемент.

в пахитене развитие СК достигает максимума, и конъюгация гомологов становится полной. При расхождении гомологов СК исчезает с хромосом, сохраняясь в местах хиазм в виде отдельных фрагментов. Фрагменты СК в виде поликомплексов в диплотене скапливаются в различных местах ядерной мембраны. Дальнейшая судьба фрагментов СК неизвестна.

Цитохимические исследования показали, что СК преимущественно состоит из белков основной природы. В составе центрального и боковых элементов обнаружено очень небольшое количество ДНК и РНК.

Образование СК генетически детерминировано, и для его формирования необходим синтез минорной фракции ДНК, составляющей 0,3% от всей ДНК, синтезированной в предмейотической интерфазе. Образование СК — необходимое, хотя и не достаточное, условие для протекания кроссинговера. Известно, что у самцов дрозофилы кроссинговер не происходит; исследования показали, что СК формируется у самок дрозофилы, но отсутствует у самцов.

СК необходим для достаточно длительного удержания гомологов, что облегчает процесс кроссинговера; кроме того, сложное трехмерное строение СК обеспечивает конъюгацию и препятствует сдвиганию хромосом. Парная конъюгация может происходить и без СК, но только при наличии СК возможно правильное расхождение хромосом.

Изучение судьбы СК в мейозе, изучение фрагментов СК, а также аномалий СК позволило понять, что СК — это не органическая составная часть хромосом, что он собирается на хромосомах при определенных условиях; материал СК при этом образуется в самих различных частях ядра. Предполагают, что одним из таких мест являются ядрышки.

Однако, вернемся к рассмотрению периода созревания. Профаза первого мейотического деления ооцита не переходит в метафазу, как это наблюдается в мейозе сперматоцитов (см. ниже), а прерывается, и ооциты переходят в диктиотену. Диктиотена длится дни, недели, месяцы, годы и десятилетия, в зависимости от вида животного, и только при наступлении половой зрелости, в предовуляторный период, прерванный процесс оогенеза возобновляется и ооцит быстро проходит все остальные стадии созревания, начиная с метафазы I.

Механизмы этой удивительной блокады мейоза, направленной на оптимизацию жизнедеятельности яйца при овуляции и оплодотворении мало изучены. Дыбан и Баранов (1977) приводят гипотезу *Олно*

согласно которой ингибция перехода профазы мейоза в метафазу определяется воздействием фолликулярных клеток, вырабатывающих эстроген. При этом вследствие определенных изменений гетерохроматинных районов ядра негомологичные хромосомы соединяются друг с другом своими концами, и, по-видимому, не позволяют ооциту вступать в метафазу мейоза.

При изучении профазы первого мейотического деления большой интерес представляют некоторые временные параметры этого процесса. (табл.2).

Таблица 2

Временная характеристика профазы мейоза у разных млекопитающих в зависимости от стадий онтогенеза (по Дибану и Баранову, 1977, с небольшим изменением)

Стадия	Мышь	Крыса	Кролик	Золотист. хомяк	Макак	Человек
Прелептотена	13дб	17дб	28-30дб	16,5-17дб	2	
Лептотена	13-14дб	17,5-18дб			2,5мб	2-7мб
Зиготена	14-15дб	19,5-20,5дб				
Пахитена	16-18дб	20,5-2дпр	3-20дпр	1,9дпр		
Диplotена	19-20дб	2-4дпр			4-7мб	6-9мб
Диактиотена	2-3дпр-1,5мпр	5дпр-1,5мпр	20дпр-45 мпр	10дпр-1,5мпр	5мб-23года	8-9мб 13,5-14-40лет

где дб - дни беременности, дпр - дни после рождения, мб-месяцы беременности, мпр - месяцы после рождения.

2.4.6. Ядерные преобразования в ооците во время его роста.

Вернемся к процессам, происходящим в ядерном аппарате ооцита во время его роста. Вспомним, что с самого начала малого роста ооцит вступает в стадию первого мейотического деления. Во время малого и большого роста в ооците наблюдается несколько видов ядерных преобразований, связанных с синтетической активностью ооцита. Основные из них - образование хромосом типа "ламповых цветков" и явление амплификации генов.

О первом из названных видов синтетической активности упомина-

налось выше, когда рассматривался солитарный тип оогенеза. Так как при этом РНК синтезируется в ядре самого ооцита (вспомогательные клетки отсутствуют), то в нем наблюдается деспирализация хромосом и преобразование их в форму "ламповых щеток".

Хромосомы начинают приобретать форму ламповых щеток на пахитенной стадии профазы мейоза (малый рост) и достигают максимального развития на средней диплотене (большой рост). Хромосомы типа ламповых щеток в ооцитах амфибий достигают визуально уловимых размеров (до 1 мм), а нить ДНК при этом гигантски удлиняется (до 1 метра!), образуя многочисленные петли; обычные петли достигают в длину 50 мкм, а гигантские — до 200 мкм (у тритона).

На ооцитах ксенопуса автораднографическим методом показано, что в этих петлях происходит активный синтез иРНК, обеспечивающий выработку основного количества этого вещества: 65% этой иРНК обнаруживается в зрелых яйцах; это — резерв для последующего эмбрионального развития.

Электронномикроскопическая картина ламповых щеток является по сути дела не чем иным, как визуализацией процесса транскрипции генов (рис. 12).



Рис. 12. Хромосомы типа ламповых щеток. Микрофотография
Из *Berrill & Kaye*, 1976

В поздней диплотене происходит спирализация хромосом, петли ламповых щеток претерпевают регрессивные превращения и хромосомы принимают вид, характерный для стадии диакинеза.

Амплификация (буквально - увеличение) генов - это редупликация отдельных генетических локусов (цистронов) с последующим их отделением от хромосомы. Локус хромосомы, в котором происходит амплификация, называют "ампликоном".

Первоначально явление, получившее затем название амплификации, было обнаружено при цитологическом изучении ооцитов амфибий: в ядре ооцита (главным образом на стадии пахитены мейоза) по периферии его, в определенный момент оогенеза появлялось огромное количество мелких ядрышек, природа и значение которых оставались не ясными. Затем цитохимическими и биохимическими методами было установлено, что эти ядрышки представляют собой скопления рРНК. Интенсивность синтеза рРНК оказалась здесь в сотни тысяч раз большей, чем в соматических клетках, и количество ядрышек, т.е. центров синтеза РНК, тоже было порядка тысячи. У ксенопуса, например, в ооците перед началом вителлогенеза насчитывается 1500 ядрышек, каждое из которых синтезирует рРНК. В конце оогенеза синтез всех РНК прекращается. Естественно, что избыточный синтез рРНК должен предполагать и избыток ДНК, кодирующей этот синтез. Эту ДНК обозначают как рДНК. Явление ампликации ДНК известно у широкого круга животных: кольчатых червей, моллюсков, насекомых, иглокожих, рыб, хвостатых и бесхвостых амфибий, но наиболее детально оно изучено на ооцитах амфибий и насекомых. Амплифицированная рДНК отделяется от хромосомы и образует в ядре ооцита экстрахромосомное тельце ("элиминационный" хроматин). Этот хроматин беден гистонами, но количество ДНК в нем у некоторых жуков составляет более 40 С; в ооцитах осетра содержание рДНК в 50 раз превышает гаплоидное.

Время ампликации различно у разных представителей животных, но чаще оно приходится на стадию пахитены (ксенопус) или диплотены (осетр). У некоторых беспозвоночных (жуки, сверчки, двукрылые) амплификация рДНК начинается с оогониев.

Несколько лет тому назад явление ампликации генов обнаружено в ранних ооцитах человека.

Казалось бы, что амплификация рДНК должна происходить в ооцитах, растущих по солитарному и фолликулярному типу, где РНК синтезируется самим ядром ооцита, а не привнесется в ооцит иначе; напротив, ампликации рДНК, не должно происходить в ооцитах, растущих по нутриментарному типу, в которые РНК "перекатывается" из-

клетками эогенального происхождения. Но такой закономерности в действительности не существует. Например, у морской звезды, ооциты которой не получают РНК извне, амплификации рДНК не обнаружено.

Говоря об амплификации генов, происходящей в ооцитах животных в период их роста, уместно вспомнить, что во время роста соматических клеток, когда они приобретает большие и гигантские размеры, наблюдается явление полиплоидизации ядер, т.е. многократного увеличения геномов. Так, в ядрах клеток пицеводных желез лошадиной аскариды, представленных всего тремя гигантскими макроскопическими клетками, полиплоидия достигает 2400 \times . В половых клетках животных, точнее в ооцитах, во время их малого и большого роста полиплоидизация ядер не происходит. Это и понятно: генетический материал, заключенный в ядре ооцита, остается неприкосновенным! Сначала рДНК вытаскивается из состава хромосом, а затем экстрахромосомное тело вместе с материалом ядрышек выбрасывается в цитоплазму ооцита, где продолжает сохраняться.

Каково же функциональное значение того избыточного количества РНК, которое накапливается в ооците в результате действия амплифицированных генов?

Установлено, что приблизительно 1/3 этих запасов идет сразу на матрицы для синтезов преимущественно мембран (мембран эндоплазматического ретикулума, желточной мембраны, плазмалеммы и др.), а 2/3 образует информосомы, в которых накопленная РНК остается до оплодотворения. Сразу после оплодотворения процессов репликации не происходит, и у зародка расходуются запасные матрицы. Об этом подробнее будет сказано в главе о дроблении.

Итак, мы проследили длинный и сложный путь возникновения и становления половой клетки от первичного гонциота до зрелого яйца, способного к оплодотворению.

У человека самые первые ооциты, начавшие созревание в эмбриональном периоде, заканчивают его лишь при наступлении половой зрелости, через 13-14 лет, а последняя яйцеклетка, вступающая в стадию созревания, может быть у женщины в 45-50 лет.

Такой длительный период задержки развития яйцеклетки иногда имеет пагубные последствия - может появиться эмбрион с мейотическими дефектами. Так, лишняя 21-я хромосома, возникающая в зиготе в результате нерасхождения гомологов в анафазе мейотических де-

лений, обуславливает возникновение болезни Дауна. Частота подобных заболеваний увеличивается с возрастом матери.

2.5. Сперматогенез. Семенник развивается, как и яичник, на медиальной поверхности вольфовых тел сначала в виде небольших валиков, являющихся индифферентными зачатками гонад. Валики с поверхности покрыты целомическим эпителием, под которым располагается мезенхима. В этот начальный период даже на гистологических срезах невозможно отличить зачаток семенника от зачатка яичника.

Первичные гонocytes, развивающиеся из стволовых клеток, мигрируют в зачатки гонад из желточной энтодермы (у основания развивающегося аллантоиса). В течение миграции количество первичных гонocytes быстро увеличивается. Вступая во взаимосвязь с клетками растущего целомического эпителия, они образуют в развивающейся гонаде структуры в виде шнура, врастающих в мезенхиму. У человека преобразование недифференцированных гонад в семенники или яичники начинается со второго месяца развития эмбриона, когда он имеет 18-25 мм теменно-копчиковой длины. В случае развития эмбриона мужского пола примитивные половые шнуры удлиняются и проникают в глубокие слои мезенхимы, теряя при этом связь с поверхностным эпителием. Такое модулярное расположение половых шнуров служит отличительным признаком развивающегося семенника от развивающегося яичника, где первичные гонocytes в составе Пфлюгеровских мешков занимают кортикальный слой молодой гонады.

В примитивных половых шнурах первичные гонocytes продолжают активно пролиферировать среди клеток целомического эпителия, которые являются предшественниками клеток Сертоли. Последние, в отличие от гонocytes, имеют малые размеры и уплощенное ядро. В период раннего эмбриогенеза множество первичных гонocytes дегенерирует. Во время полового созревания в половых шнурах образуется просвет и они превращаются в семенные каналцы; у человека это происходит на 7-8 году жизни. Первичные гонocytes, размножаясь, дают сперматогонии, а сопровождающие клетки прекращают деление и дифференцируются в клетки Сертоли. Между семенными каналцами развиваются клетки Лейдига.

В семеннике взрослого животного (или яичнике человека) основу семенного каналца составляет базальная мембрана, к которой снаружи примыкает тонкий слой соединительной ткани. На базальной мембране располагаются клетки Сертоли (сулентоциты), развивающиеся

из цитонического эпителия и выполняющие трофическую и фагоцитарную функции; они также вырабатывают белок - секрет, влияющий на выработку тестостерона, и возможно, стероидные гормоны, гликоген и липиды. Клетки Сертоли хорошо изучены электронмикроскопически (см. ниже).

Среди клеток Сертоли располагаются клетки "сперматогенного эпителия", т.е. половые (семенные) клетки, находящиеся на разных стадиях развития и лежащие более или менее правильными concentрическими рядами по зонам дифференциации, роста, созревания и формирования.

Сперматогенез, т.е. развитие мужских половых клеток-сперматозоидов, начинается с наступлением половой зрелости (у человека - в 13-15 лет) и продолжается в течение всей жизни мужского организма. В любом учебнике по эмбриологии или гистологии можно увидеть описание классических форм и стадий развития сперматогенных клеток и преобразования их в зрелую мужскую половую клетку-сперматозоид.

На десятом международном конгрессе анатомов в Токио (1975) один из энтузиастов изучения этой области науки - *Fawcett* сделал доклад на тему "300 лет изучения сперматозоида". Несмотря на такой длительный срок, строение сперматозоида было полностью выяснено лишь с помощью электронного микроскопа. На рис. 13, взятом из 10-го издания учебника гистологии *Bloom Fawcetta* (1975), представлена схема строения сперматозоида млекопитающего, составленная на основании электронной микроскопии.

Типичный зрелый сперматозоид состоит из головки, соединительной части (шейки) и хвоста. Головка человеческого сперматозоида имеет 4-5 мкм в длину и 2,5 - 3,5 мкм - в ширину. Большую часть объема головки составляет ядро, содержащее в сильно уплотженном виде хроматин с полным объемом наследственной информации. Передние 2/3 ядра покрыты акросомальной капочкой - органеллой, содержащей ферменты обуславливающие проникновение сперматозоида в яйцо при оплодотворении. Далее следует шейка, средний отдел, главный отдел и концевой отдел. Шейка является связующей частью, в которой располагаются две центриохлы, лежащие перпендикулярно друг другу - проксимальная, которая, возможно, играет важную роль в процессе слияния пронуклеусов, и дистальная, которая образует осевую нить хвоста. Средний отдел содержит осевую нить, состоящую

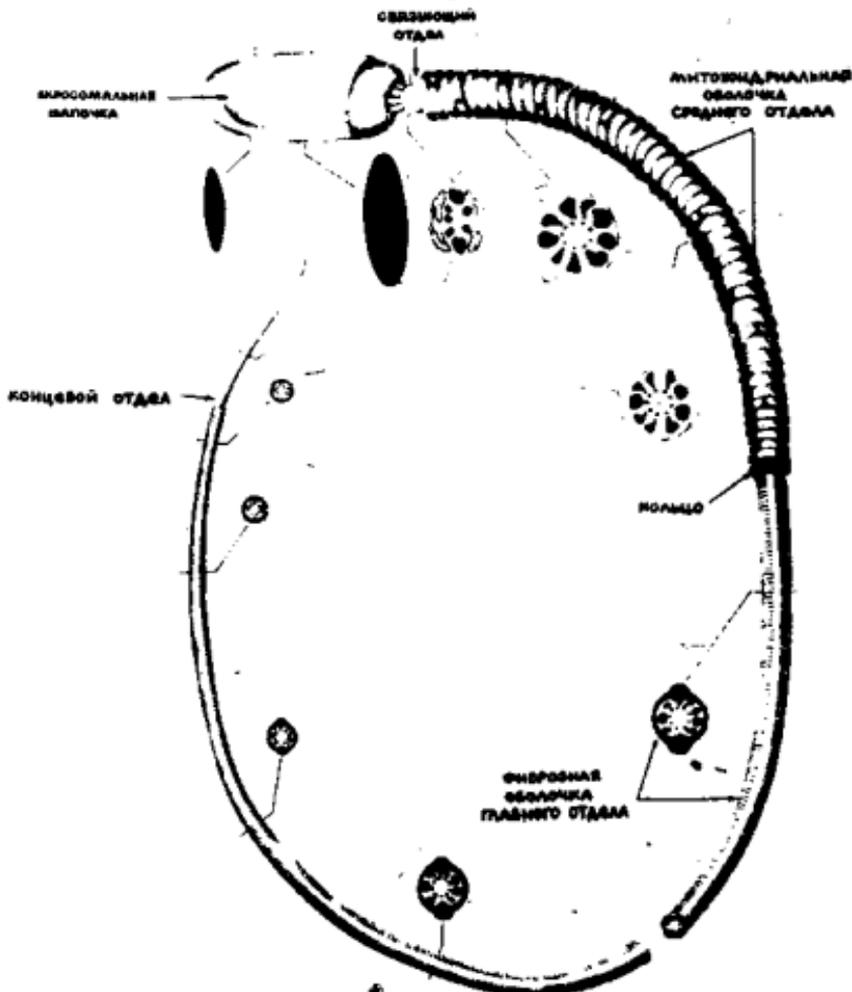


Рис.13. Схематизированная электронограмма строения сперматозоида плеконитарного. По Bloom & Fawcett 1975

из 9 пар периферических и пары центральных нитей и покрыт с по-
 верхности митохондриями; они генерируют энергию для движения
 сперматозоида. У человека средняя область имеет в длину от 5 до
 7 мкм, в толщину – 1 мкм. Митохондриальная оболочка заканчи-
 вается кольцом.

В главном отделе (рис.13 А) хвостовая нить покрыта фиброзной оболочкой, которая состоит из дорсальной и вентральной продольных колонн и семи плотных волокон, которые располагаются ассим-

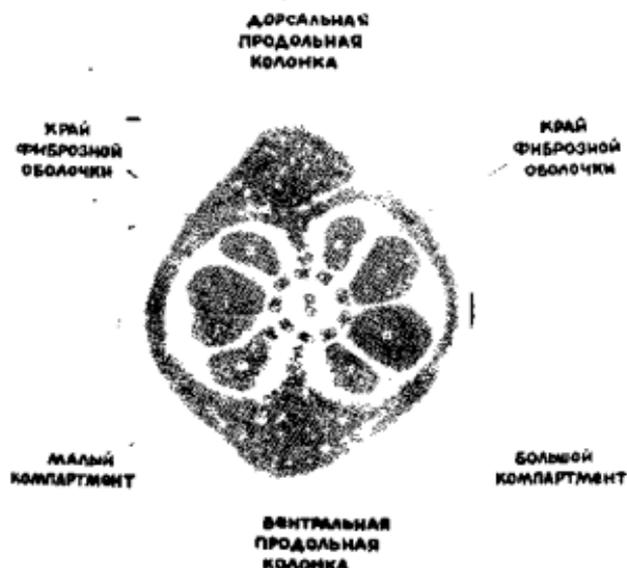


Рис.13 А.
Поперечный срез
главного отдела
сперматозоида
хонька.
По Bloom & Jancett
1975

метрично: малый компартимент содержит 3 плотных волокна, большой - 4.

Полагают, что эта асимметрия отражает движение хвоста. В концевой части фиброзная оболочка истончается и самый кончик хвоста покрывается только мембраной.

В настоящее время принято различать 3 фазы в процессе сперматогенеза: I- митотическое размножение, мейоз и спермиогенез. Такое подразделение почти совпадает с классическим; первая фаза соответствует периоду размножения, вторая - периоду созревания, третья - периоду формирования. Исключается лишь период роста, который в развитии сперматозоида очень незначителен. Схематически процесс сперматогенеза представлен на рис.14.

Jancett, обнаруживший в электронный микроскоп межклеточные молекулы у сперматид, приводит следующую схему сперматогенеза (рис. 15).

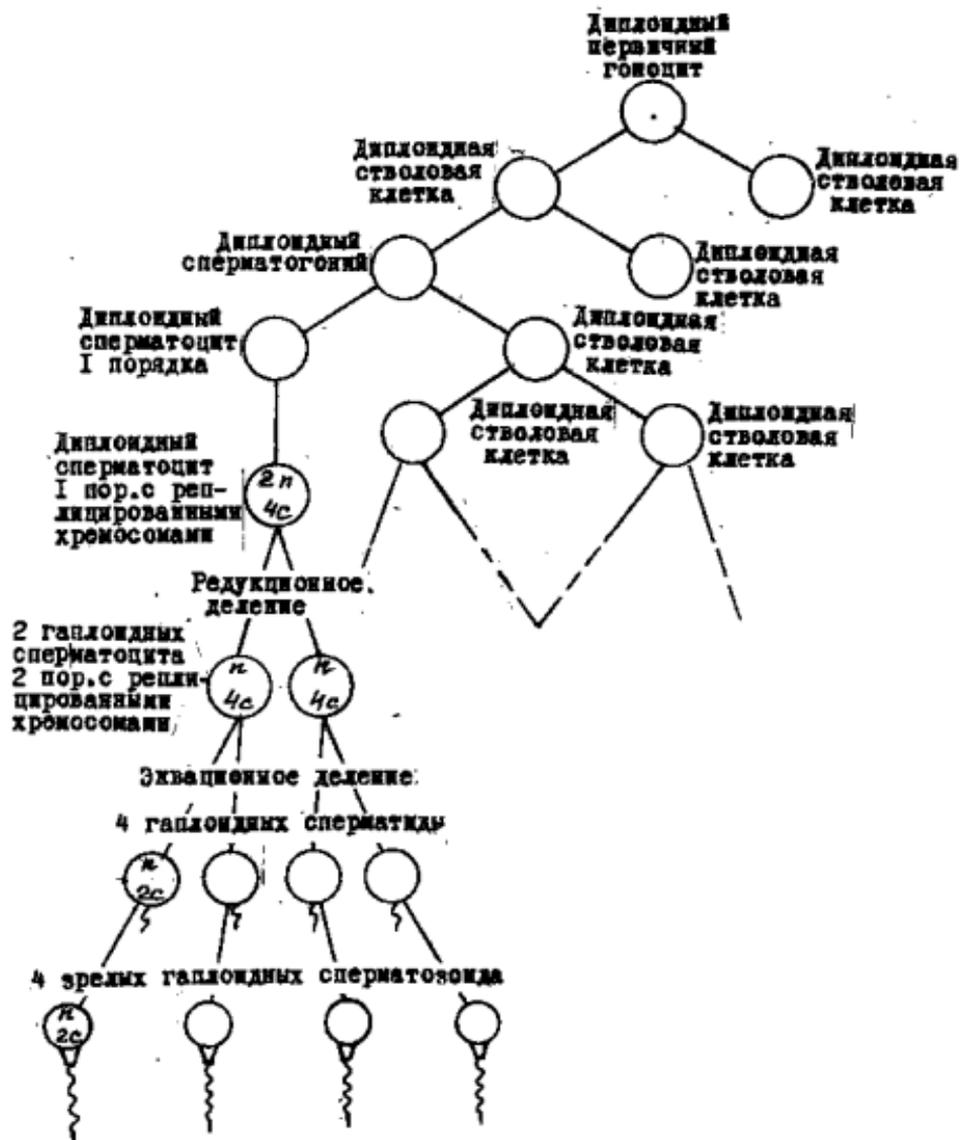


Рис. I4. Схема сперматогенеза. Ориг.

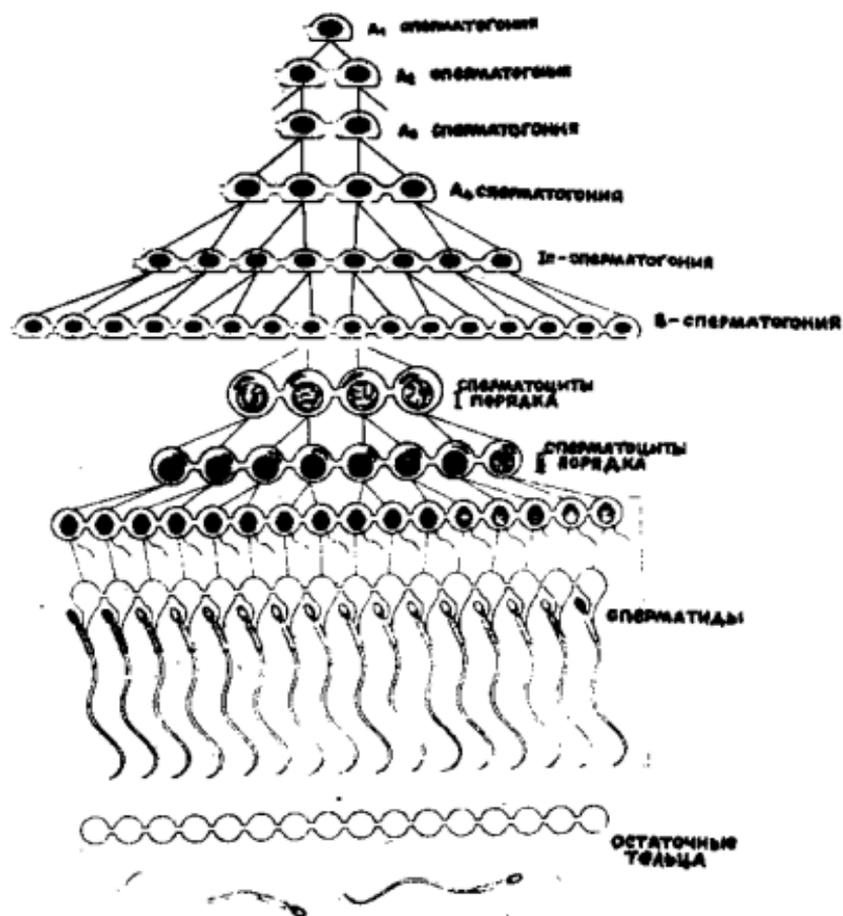


Рис.15. Диаграмма, показывающая клональную природу мужских половых клеток. Только наиболее примитивный сперматогоний, давший при делении начало популяции стволовых клеток, претерпевает полное деление цитоплазмы и дает начало отдельным дочерним клеткам. При дальнейшей дифференциации дочерние клетки от всех последующих делений сперматогониев и от двух мейотических делений остаются связанными межклеточными мостиками. Отдельный сперматозоид полностью отделяется от синцитиальных связей остаточных телец, которые остаются при этом связанными мостиками.

На основании электронномикроскопического и гистохимического изучения сперматогенеза у многих животных этот процесс наглядно представляется так (рис.16):

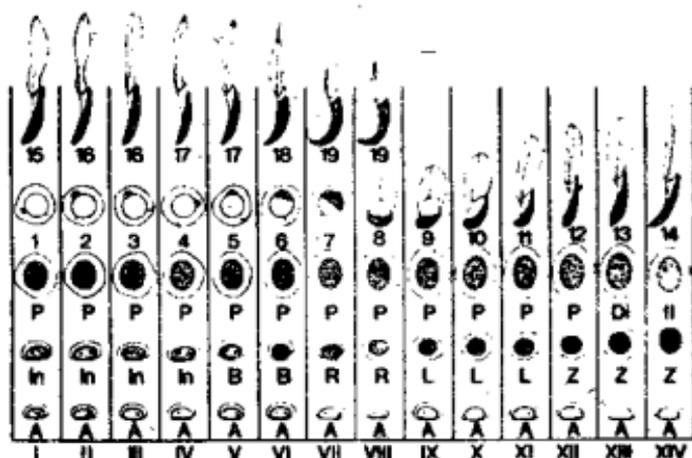


Рис.16. Состав четырнадцати клеточных ансамблей, обнаруживаемых в сперматогенном эпителии крысы. Каждый столбец состоит из различных типов клеток, составляющих клеточный ансамбль или стадию цикла (обозначено римскими цифрами под рисунком). Различные клеточные ансамбли переходят один в другой при прохождении стадий от I до 14-ой. Последовательная смена клеточных ансамблей при переходе от I к XIV стадии составляет цикл сперматогенного эпителия. Обозначения: А, I ~ В: сперматогонии типа А, промежуточного и типа В; R, L, Z, P, Di: первичные сперматоциты I порядка в прелетотене, летотене, зиготене, пахтене и диакенезе соответственно; П- сперматоциты II порядка, I-19 - последовательные стадии сперматогенеза. Из *Austin a. Short, 1975.*

Сперматогонии представляют собой гетерогенную по составу группу активно пролиферирующих клеток, обозначаемых как А и В. Среди клеток А теперь различают A_0 , считая их стволовыми клетками. Они характеризуются наличием диффузного хроматина в ядрах, слабой способностью синтеза РНК и устойчивостью к облучению. Эти стволовые клетки составляют примерно 1/5 всего типа А. Механизм, с помощью которого популяция сперматогониев A_0 поддерживается на определенном уровне, мало известен, но время от времени образуются клетки A_1, A_2, A_3 и т.д., затем клетки промежуточного типа (I_n) и типа В. В ходе этого процесса осуществляется постепенная гетерохроматизация (конденсация хроматина) у поверхности ядра. При де-

лении клеток типа В образуются пролептотенные сперматоциты, затем развивается профазы мейоза (клетки *L, Z, P*; в стадии пахиемы клетка незначительно растет) и возникает сперматоцит II порядка с гаплоидным числом хромосом.

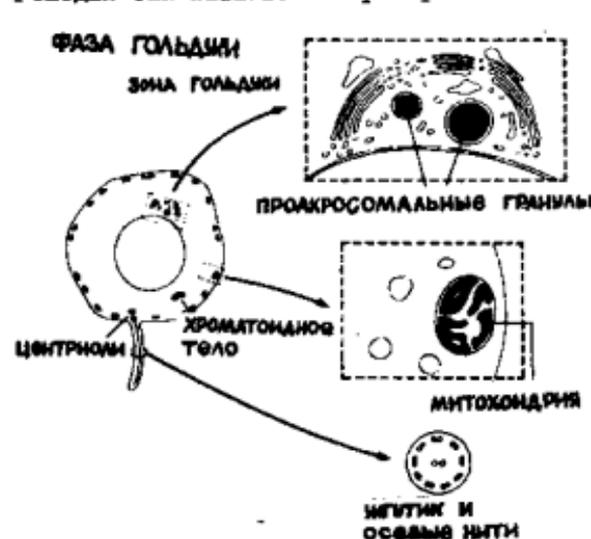
Поскольку в мужском организме мейоз не начинается до наступления половой зрелости, в процессе сперматогенеза, в отличие от оогенеза, никаких длительных задержек не наблюдается, и диакинез следует сразу за диплотеной.

Процесс развития сперматиды и сперматозоида теперь принято называть спермиогенезом.

Спермиогенез у крысы подразделяется на 19 этапов (рис.16, арабские цифры), которые группируются в 4 фазы: 1) фаза Гольджи; 2) фаза колпачка; 3) акросомальная фаза и 4) фаза созревания. Количество этапов варьирует у разных видов: у мыши их 16, у обезьяны 14, у морской свинки - 15.

Развитие сперматиды хорошо изучено в световом микроскопе с применением PAS-реакции (с реактивом Шиффа), при которой гликопротеиновый материал акросомальных структур окрашивается в красный цвет.

В фазе Гольджи (рис.16, 1-3, рис.17) появляются в комплексе Гольджи так называемые проакросомальные гранулы, каждая из которых



окружается мембраной гольджиева пузырька. Проакросомальные гранулы, объединяясь, дают единичные акросомальные гранулы, также в виде пузырьков. Дальнейшее увеличение акросомальных пузырьков происходит на участке поверхности ядерной оболочки, который и определяет будущий передний полюс ядра сперматозоида. В это же время одна из двух центриол, которые ра-

Рис.17. Фаза Гольджи

сположены на противоположном полюсе клетки, (а именно, дистальная) дает короткий жгутик, — будущую осевую нить хвоста. Здесь же возникает хроматинное тело.

Во второй фазе (рис. I, 4-8 и рис. I8) формируется акросома, покрывающая шапочкой поверхность передней половины или двух третей

ФАЗА КОЛПАЧКА



ЗОНА ГОЛЬДЖИ

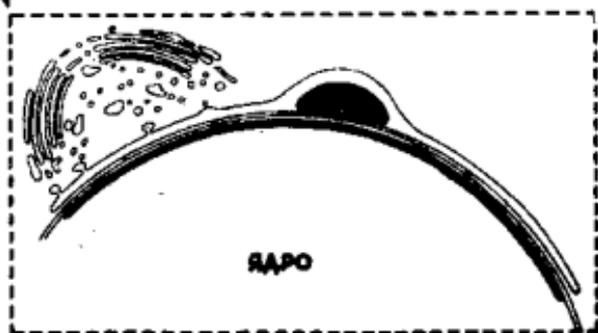


Рис. I8 Фаза колпачка

ядерной оболочки. На стадии 8 формируется аксиальный комплекс будущего хвоста, состоящий обычно из двух центральных и девяти пар периферических нитей (трубочек). Хроматинное тело приближается к месту формирования аксиального комплекса.

Акросомальная фаза (рис. I, 9 - 13 и рис. I9) характеризуется глубокими изменениями акросомы, ядра и жгутика. Ядро движется к центра к периферии клетки, удлиняется и претерпевает конденсацию хроматина. Сперматида поворачивается таким образом, что акросома становится "лицом" к стенке семенного канала. Цитоплазма клетки

спрიაает в направлении хвоста и вытягивается, окружая проксимальную часть ягутика. Хроматидное тело окружает и формирует кольцевидную структуру вокруг ягутика; оно интенсивно окрашивается гематоксилином, а в электронном микроскопе в нем видны нитчатые и зернистые структуры.

Митохондрии, которые до сих пор находились в периферических частях цитоплазмы сперматиды, мигрируют к ягутику и окружают его; позднее они дадут митохондриальную оболочку в среднем отделе спермия. В это же время цитоплазматические микротрубочки образуют цилиндрические структуры, называемые хвостовой оболочкой или манжетой, которая окружает начальную часть ягутика.

АКРОСОМАЛЬНАЯ ФАЗА

ФАЗА СОЗРЕВАНИЯ

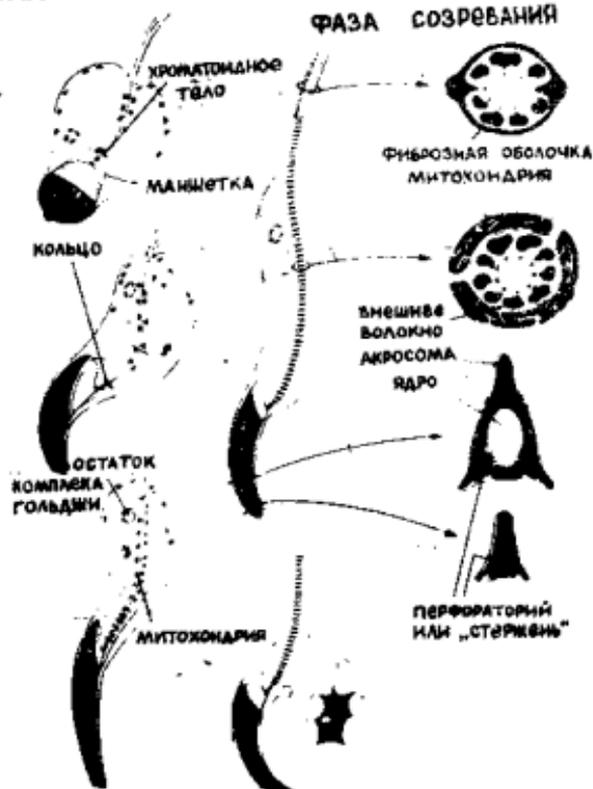


Рис.19. Акросомальная фаза и фаза созревания в развитии сперматозоида крысы. Из *Austin a Short, 1975*

В четвертой фазе - фазе зрелости (рис. I, I4-19 и рис. I9) сперматид превращается в сперматозоид.

Считают, что форма ядра и акросомы видоспецифична.

В течение всего процесса сперматогенеза развивающиеся семенные клетки находятся в тесной связи с клетками Сертоли (рис. 20). Поверхность ядра клетки Сертоли сильно извилиста, в ядрышке содержатся вакуоли; в цитоплазме хорошо развиты гладкий и шероховатый ретикулум, митохондрии, встречаются липидные включения. Апоикальные части клетки разветвлены в направлении к просвету канальца; базальные части расширены. Клетки не образуют, как это считалось ранее, синаптия. Множество тонких цитоплазматических отростков клеток Сертоли окружают все развивающиеся половые клетки, кроме сперматогониев и стволовых клеток, расположенных в непосредственной близости к базальной мембране канальца. Клетки Сертоли в зрелых семенниках никогда не делятся; они весьма резистентны к X-лучам и другой ионизирующей радиации, а также к различным токсическим веществам, разрушающим половые клетки.

Созревший сперматозоид высвобождается из цитоплазмы клетки Сертоли, в которую была погружена его головка, и, становясь свободным, выходит в просвет. Первые сперматозоиды у крысы появляются на 45-50-й день после рождения.

Большое значение имеет временная и пространственная организация процесса сперматогенеза. Каждая новая генерация половых клеток начинается тогда, когда закончилась предыдущая. В каждом участке семенного канальца всегда имеются определенные стадии развития половых клеток. Полная серия морфологических изменений, заключенная между образованием двух одинаковых сочетаний, называется циклом сперматогенного эпителия. Такие же сочетания наблюдаются и по длине семенного канальца; они называются волной сперматогенного эпителия. Одно сочетание в цикле называется стадией цикла, одно сочетание в волне - сегментом волны.

В литературе сегмент волны обозначается римскими цифрами (рис. I6).

Удалось вычислить продолжительность цикла: у крысы - 12 дней, у мыши - 8, у человека - 16 дней. Продолжительность же всего процесса сперматогенеза: у крысы - 48 дней, у мыши - 35 дней, у человека - 74 дня.

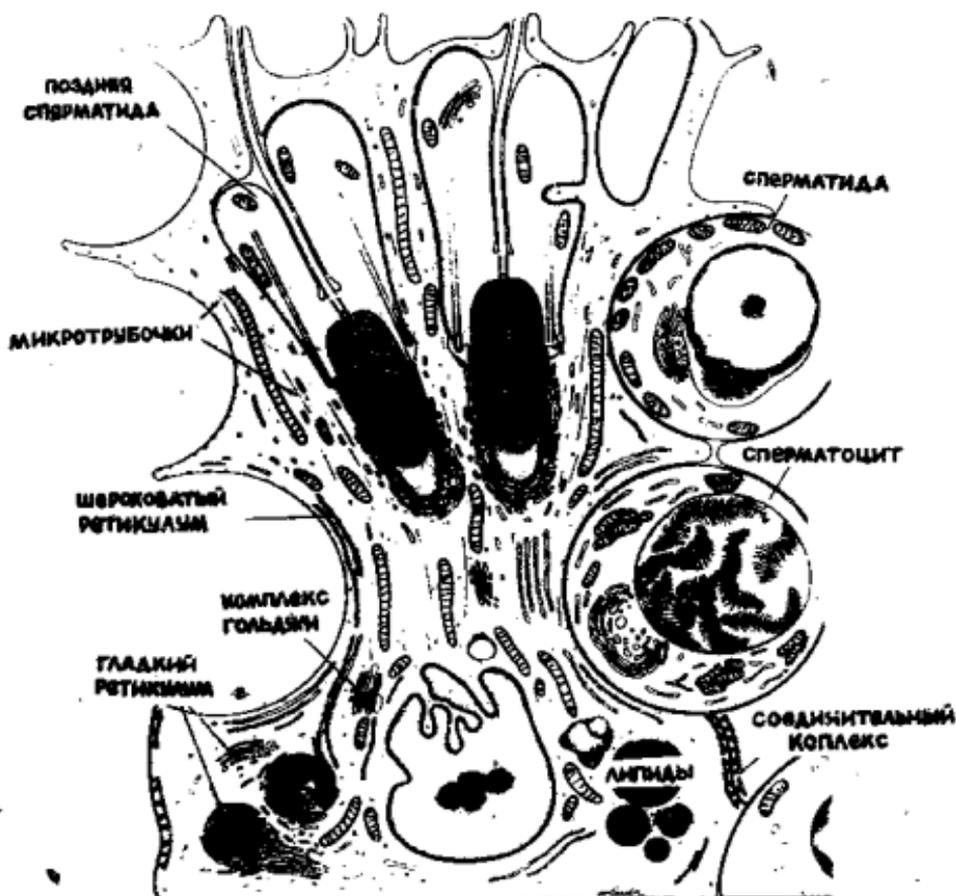


Рис.20. Ультраструктура клетки Сертоли и ее отношение к половым клеткам. По Fawcett, 1973

Процесс сперматогенеза характеризуется уникальными особенностями обмена. Очень важным фактором является постоянство температурного режима. У человека температура в семенных железах на 4-5 градусов ниже температуры тела. Это обеспечивается наличием сосудистого сплетения, где остывает кровь, идущая в яичникам. При небольшом запасе субстратов в семенной железе даже незначительное повышение температуры влечет за собой прекращение процессов синтеза

белка и в целом - сперматогенеза.

Число сперматозоидов, образовавшихся в течение жизни человека, огромно, и все они пригодны к репродукции.

В заключение следует подчеркнуть принципиальное сходство процессов оо- и сперматогенеза (ср. схемы на рис. 4 и 14), а также их отличительные черты: 1) Оогенез совершается в основном в период эмбриогенеза особи; сперматогенез - в течение всей жизни. 2) В оогенезе из одной оогонии развивается одна яйцеклетка, в сперматогенезе из одной сперматогонии - четыре полноценных сперматозоида.

3) В оогенезе ярко выражен период роста ооцита, в сперматогенезе рост сперматоцита I порядка незначителен.

4) В оогенезе отсутствует стадия формирования, имеющаяся в сперматогенезе (спермиогенез).

5) В сперматогенезе отсутствует стадия диктиотемы, столь характерная для оогенеза.

Глава 3. ОВУЛЯЦИЯ И ОПЛОДОТВОРЕНИЕ

3.1. Овуляция. Овуляцией называется процесс выхода яйцеклетки из яичника. Степень зрелости яйцеклетки в момент овуляции у разных животных различна (см. ниже); у млекопитающих, например, яйцо овулирует на стадии метафазы II. Но во всех случаях яйцо бывает гаплоидным и полностью обогащенным желтком.

Чтобы познакомиться с деталями процесса овуляции необходимо вспомнить строение яичника; удобнее это сделать на примере яичника млекопитающих.

Половая железа или яичник взрослого животного представляет собой динамическую структуру, в которой из первичных (примордиальных) фолликулов вырастают и развиваются так называемые вторичные и третичные фолликулы. Первичные фолликулы, располагающиеся в массовом количестве в корковом веществе яичника, непосредственно под белочной оболочкой, содержат по одному ооциту I порядка, окруженному однослойным сначала плоским, затем кубическим фолликулярным эпителием. Ооцит растет, накапливает желток, приобретает *Zona pellucida*, а фолликулярный эпителий становится все более многослойным. Третичный фолликул возникает в результате накопления жидкости в пространствах между клетками фолликулярного эпите-

лия. В конечном счете образуется Граафов пузырек, располагающийся у поверхности яичника. В Граафовом пузырьке у одной из его стенок располагается так называемый яичковый бугорок, в котором и находится ооцит, окруженный *Zona pellucida* и слоями фолликулярных клеток, называемых теперь лучистым венцом (*corona radiata*). *Zona pellucida* непроницаема для растворов высокомолекулярных веществ, например, полисахаридов и белков. Жидкость, скапливающаяся в полости граафова пузырька (*antrum*) давит на его стенки, он начинает флюктуировать (размеры его у женщин достигают 10-15 см) и в конце концов прорывается; яйцо вместе с *corona radiata* выпадает из состава яичника в полость тела и тотчас подхватывается фимбриями яйцевода, в верхней трети которого оно встречается со спермием (если произошло осеменение) и оплодотворяется. У некоторых животных например, у амфибий, яйцеклетка по выходе из яичника предельно значительно более длинный путь в полости тела прежде чем она попадает в воронку яйцевода. У многих животных, в частности у приматов, растущие фолликулы несут возникать до рождения. Однако, овуляции здесь не происходит; она начинается лишь с наступлением полового созревания. Большинство фолликулов в яичнике подвергается дегенерации на разных стадиях их роста и развития; этот процесс наз. атрезией.

Число фолликулов, достигавших овуляции, более или менее постоянно для каждого вида животного; так у женщин за 30 лет репродуктивного периода овулирует всего 360-390 яиц.

Перед овуляцией ооцит I порядка млекопитающего находится в стадии метафаза, какавшегося давно (см. выше) и остановившегося на стадии диактиотени. До времени всплеска II (дупликацирующего гермона) ооцит еще содержит хромосомы типа ламповых циток (если они вообще возникают у данного вида, например, у хвостатых амфибий), но синтез РНК, характерный для периода быстрого роста уже завершён.

Ооцит вступает в фазу диактиотени, т.е. максимального укорочения хромосом в бивалентах, и ядро в это время (конец профазы I) становится очень светлым (3 II). Затем быстро наступает метафаза I, анафаза I, веретено деления вращается, наступает телофаза I и от ооцита отделяется первое редукционное тельце. Получается ооцит II порядка. Деление цитоплазмы осуществляется крайне неравномерно: львиная доля ее оказывается в ооците, экономно сберегающем все

накопленные вещества. Большой биологический смысл этого явления общеизвестен. Ооцит II порядка, не переходя в интерфазу, приступает ко второму мейотическому делению (эквационному). Профаза здесь очень коротка, хромосомы конденсированы и образуют структуры серповидной формы на периферии ооцита II порядка. Образуется метафаза II, на которой возникает некоторая задержка и происходит овуляция.

В процессе овуляции ооцит II порядка, окруженный *corona radiata*, выпадает в полость тела, а затем - в воронку яйцевода. В женском организме за I мес. овулирует только I фолликул, а остальные (20 и больше) дегенерируют. Последующее мейотическое созревание ооцита зависит от проникновения в него сперматозоида при оплодотворении.

3.2. Гормональный контроль овуляции. Овуляция, происходящая синхронно со многими другими процессами репродуктивной системы самки, обуславливающими успешное оплодотворение и дальнейшее развитие зародыша, тонко регулируется у всех позвоночных животных и человека гонадотропными гормонами гипофиза и стероидными гормонами яичника.

Наиболее полно изучено действие двух групп гормонов гипофиза. Первая группа - фолликулостимулирующие гормоны (ФСГ), которые воздействуют на рост фолликулов в яичнике; вторая группа - лютеинизирующие гормоны (ЛГ), вызывающие вместе с ФСГ созревание фолликула, овуляцию и образование желтого тела. Поддержание секреции желтого тела и секреции молока обеспечивает лютеотропный гормон (ЛТГ). Количество выделяемых гипофизом гонадотропных гормонов регулируется по принципу обратной связи самими гонадами, в которых вырабатывается два основных гормона - эстроген и прогестерон.

Эстроген продуцируется клетками фолликулярного эпителия, накапливаясь в полости растущих фолликулов и граафовых пузырьков, а также, возможно, интерстициальными (соединительнотканными) клетками яичника. Прогестерон вырабатывается клетками желтого тела.

Влияние на организм овариальных гормонов велико. Удаление яичников влечет за собой прекращение полового цикла, атрофию матки и исчезновение вторичных половых признаков.

Механизм совместного и реципрокного действия гонадотропных гормонов гипофиза и собственных гормонов яичника пока до конца не

изучен. Некоторое представление об этом дает схема, изображенная на рис.21.

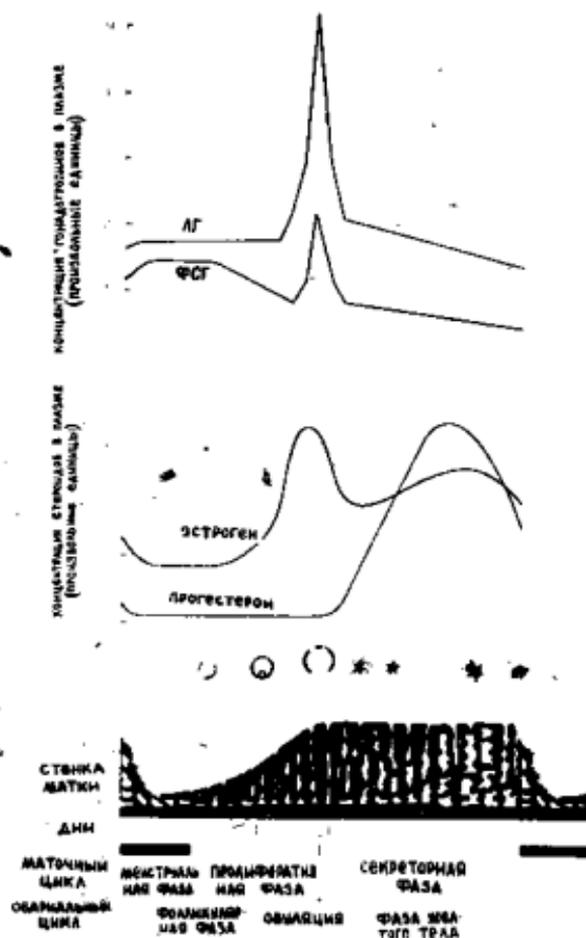


Рис.21. Диаграмма оварийного цикла, показывающая уровни четырех первичных гормонов (ЛГ, ФСГ, эстрогена и прогестерона) и состояние фолликулов и матки. Из *Vanderz e. a., 1974.*
По *Berxill a Katz, 1976*

ФСГ, попадая с кровью в яичник, стимулирует рост половых клеток и образование эстрогена. Эстроген действует на гипофиз, стимулируя повышенную секрецию ЛГ и понижая секрецию ФСГ. Под действием ЛГ повышается пролиферативность фолликулярных клеток; они активно поглощают жидкость из сыворотки крови. Это приводит к разрыву стенки граафова пузырька и овуляции. Когда в яичнике начинает функционировать желтое тело, клетки которого продуцируют прогестерон, его деятельность активизируется ЛГ (на рис.21 не изображено), в то же время выработка ЛГ и ФСГ значительно снижается. Уменьшение гормонов яичника вновь уси-

лишает продукцию ФСГ в гипофизе. Это приводит к росту очередного фолликула в яичнике, и цикл повторяется.

Следует отметить, что в организме самца ФСГ гипофиза, достигая семенника, стимулирует рост семенных клеток и вызывает разделение новых створочных клеток, дающих начало очередной генерации сперматозоидов, которые идут на смену уже выделенным. Под действием ЛГ сперматозоиды выходят из состава семенников в их протекти. Кроме того, ЛГ стимулирует секрецию тестостерона клетками Лейдига семенника.

Общей чертой гонадотропных гормонов гипофиза, как и всех гормонов позвоночных животных, является отсутствие у них видовой специфичности.

Выработка и выделение гонадотропных гормонов из клеток гипофиза в кровоток, в свою очередь, регулируется гипоталамической областью головного мозга.

3.3. Гормональная регуляция созревания ооцитов и овуляции у *Anatlia*. Основанием к выделению данного вопроса в отдельный параграф послужило интенсивное развитие исследований в этой области, проводимых в отечественных и зарубежных лабораториях. В первую очередь здесь следует отметить лабораторию экспериментальной эмбриологии института Биологии развития в Москве, руководимую Т.А.Детлаф.

В этой лаборатории в течение многих лет изучается биология развития рыб и амфибий, размножение которых происходит в воде.

Тот факт, что под влиянием гонадотропных гормонов гипофиза созревание ооцитов рыб и амфибий успешно происходит вне тела самки в солевом растворе, открыл широкие возможности для исследования процессов созревания ооцитов и овуляции, их гормональной регуляции и т.д.

Установлено, что стимуляция созревания ооцитов осетровых рыб (Детлаф и др. 1968) и амфибий (*Masui*, 1972) под влиянием гонадотропных гормонов гипофиза осуществляется в два этапа: гонадотропные гормоны действуют на фолликулярные клетки и индуцируют в них синтез прогестероноподобного вещества, которое затем стимулирует созревание ооцита. Таким образом, влияние гонадотропных гормонов на ооцит опосредовано клетками фолликулярного эпителия.

Прогестерон, напротив, влияет на ооциты осетровых рыб и амфибий непосредственно. Любопытно отметить, что прогестерон, введенный внутрь ооцита, не оказывает на него никакого действия; для получения эффекта необходимо воздействие прогестерона извне. Под влиянием гормонов наблюдаются сложные изменения в структуре и свойствах созревающих ооцитов. ЗП вплотную приближается к поверхности ооцита, сжимается под ней, и вскоре происходит дезинтеграция оболочки ЗП; кариоплазма выходит в цитоплазму (рис.22 и 23).

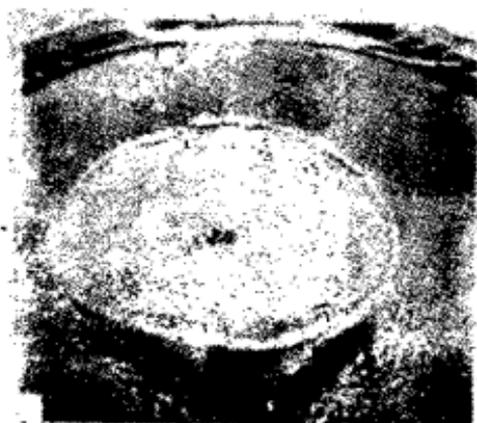


Рис.22.Разрез через анимальную область ооцита осетра, ЗП-зародышевый пузырек (ядро); ЛК-лагуна кариоплазмы. По Детлаф,1977



Рис.23.Разрез через анимальную область ооцита осетра. Дезинтеграция оболочки ЗП и переход карпоплазмы в цитоплазму. По Детлаф,1977

При этом кариоплазма постепенно распределяется по цитоплазме анимальной области ооцита; здесь появляются гранулы гликогена. В это время ооцит находится на стадии прометафазы с сильно конденсированными под влиянием цитоплазмы хромосомами.

В цитоплазме ооцита, в ее кортикальном слое, появляется сократимость, изменяется проницаемость поверхностного слоя и появляется способность к осуществлению кортикальной реакции и оплодотворению. Наблюдается оводнение цитоплазмы и, как следствие его, повышение тургора ооцитов, играющего важную роль в процессе овуляции. В овулировавших ооцитах лягушки содержание воды на 32% больше, чем в овариальных ооцитах.

В отношении гормонального контроля овуляции предполагается, что гонадотропные гормоны действуют на фолликулярные клетки опосредованно - через клетки перитонеального эпителия. Гормонезависимый период для овуляции у осетровых рыб

и амфибий более продолжителен, чем для созревания ооцитов. Изучение этого периода, еще далекое от завершения, имеет большое значение, поскольку он определяет особенности начального периода развития зародыша.

Ооциты лягушки овулируют за стадии метафазы I.

Роль гормонов в процессе овуляции и происходящего при этом созревания ооцита убедительно показана в работе Масуми (1972), на которой следует коротко остановиться. Автор изучал созревающие *in vitro* ооциты лягушки. По его данным, гонадотропные гормоны гипофиза, подобно тому, как это происходит у осетровых рыб, стимулируют секретцию фолликулярными клетками прогестероноподобного гормона, который в свою очередь вызывает созревание ооцита. Прогестерон, действуя не на ядро или цитоплазму ооцита, а только на его поверхность, где есть рецептор прогестерона, вызывает образование в цитоплазме ооцита "фактора, стимулирующего созревание" - ФСС. Этот фактор вызывает разрушение оболочки ядра (зародышевого пузырька) ооцита. Кроме этого, в цитоплазме созревающего ооцита образуется цитостатический фактор - ЦСФ, который вызывает остановку митоза и мейоза на стадии метафазы. После активации ооцита в процессе оплодотворения этот фактор исчезает и ооцит продолжает свое развитие. Опыты Масуми показывают, что все изменения цитоплазмы, ответственные за созревание ооцита, могут происходить без непосредственного участия генетического материала ядра, и, таким образом, контроль поведения ядра на этих стадиях является полностью эпигенетическим. Это подтверждается в экспериментах с облучением: если облучить ооцит рентгеновскими лучами в высоких дозах, убивающих ядерный материал, созревание его протекает нормально и при оплодотворении из него развивается гаплоидный головастик!

Что касается беспозвоночных животных, то полагают, что у них освобождение гамет находится под менее строгим гормональным контролем, чем у позвоночных, и более подвержено влиянию факторов внешней среды. Так, выделение гамет у насекомых можно вызвать путем воздействия на них слабым электрическим током.

3.4. Оплодотворение. Оплодотворение представляет собой процесс соединения женской и мужской гамет, происходящий с результатом слияния ядер обеих половых клеток. Процесс оплодотворения хорошо изучен у дрозофил, морских ежей и разных млекопитающих. Отметим,

что на молекулярном уровне процессы, происходящие при оплодотворении у всех названных животных очень сходны.

В ходе оплодотворения принято условно различать три фазы: фазу дистантных взаимодействий, фазу контактных взаимодействий и фазу сперматозоида внутри яйца.

В старых учебниках имеется указание на то, что универсальным механизмом дистантного взаимодействия является хемотаксис.

Позднее оказалось, что явление хемотаксиса встречается очень редко - у папоротникообразных, мхов и у двух представителей животных: рыб (сельдь) и кишечнополостных (гидроиды). У папоротникообразных выделяется вещество типа яблочной кислоты, и сперматозоиды движутся вверх по градиенту концентрации. В яйце сельди имеется микропиле, к которому прямолинейно устремляются сперматозоиды.

У ряда животных выделены из яйцеклеток и сперматозоидов вещества, среди которых особое внимание уделяется фертилизинам. Если в воду, содержащую сперматозоиды морского ежа, внести капли яичной воды, спермии устремляются к яйцеклеткам, студенистые оболочки которых содержат вещество, названное Дилли фертилизином. Фертилизин агглютинирует сперматозоиды и они прикрепляются к поверхности яиц. На поверхности же сперматозоидов имеется кислый белок - антифертилизин. Соединение его с фертилизином обеспечивает прикрепление сперматозоидов к яйцу. Полагают, что каждая молекула фертилизина может притягивать одного сперматозоида и каждый сперматозоид может быть привлечен более, чем одной молекулой фертилизина. Таким образом, молекула фертилизина служит мостиком между двумя спермиями (рис. 24). Особенностью фертилизина и антифертилизина является некоторая видоспецифичность. Фертилизин яйцеклетки определенного вида животного взаимодействует лучше всего с антифертилизином сперматозоида того же типа; реакция с другими видами оказывается значительно слабее, но наблюдается даже у не близкие родственные виды.

Реакция фертилизина - антифертилизина сходна с реакцией антигена и антитела.

Значение агглютинации сперматозоидов состоит в предохранении от полиспермии; однако, в самом процессе оплодотворения фертилизин роли не играет.

Огромное значение для оплодотворения имеет избыточное коли-

чество сперматозоидов. У крысы в одном эякуляте содержится около 70 млн спермиев, а через 12 часов в яйцеводе их всего 50. У человека в одном эякуляте насчитывается 350 млн сперматозоидов.

В воде или в генитальных путях самки происходит процесс сближения яйца и спермия, совершающего плазменные движения. Последние тщательно изучены при оплодотворении яиц морского ежа при помещении половых клеток в морскую воду. Движения сперматозоидов беспорядочны и сперматозоид сталкивается с яйцеклеткой чисто случайно.

Возможность случайной встречи обусловлена большими размерами яйца и огромным количеством сперматозоидов.

Спермий, вошедший в контакт с яйцом, должен проникнуть через его оболочку. Механизм проникновения спермия в яйцо имеет химическую природу. Показано, что вещества, экстрагируемые из спермиев, обладают ферментативной активностью и способны растворять яйцевые оболочки. Они называются сперматолитинами и локализованы в акросоме сперматозоида. У млекопитающих сперматозоид должен проникнуть сквозь лучистый венец, *Zona pellucida* и желточную оболочку. Обнаружено, что спермий выделяет фермент гиалуронидазу, которая растворяет гиалуроновую кислоту, цементирующую фолликулярные клетки лучистого венца. Последний существует еще некоторое время после проникновения спермия в яйцо, а позднее, перед имплантацией яйца он разрушается. Все рассмотренные вещества направлены на обеспечение оптимизации встречи, но непосредственно в оплодотворении они роли не играют.

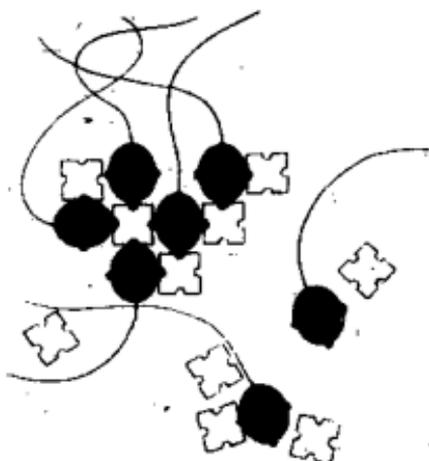


Рис. 24. Схема, показывающая связи сперматозоида морского ежа с молекулами фертилизина.
Из *Balinsky*, 1975

3.5. Акросомальная реакция. Оплодотворение требует тесного взаимодействия сперматозоида и яйца.

Первые работы по акросомальной реакции выполнены на беспозвоночных; позднее она была описана у многих животных, в том числе млекопитающих, но основные процессы при этом, оказались совершенно одинаковыми.

У полихеты *Hydroides* акросомальная реакция начинается тогда, когда сперматозоид касается наружной оболочки яйца. При этом наружная клеточная мембрана головки сперматозоида и передняя мембрана акросомального пузырька сливаются (рис.25в) и содержимое последнего, включая ее лизин, изливается на наружную оболочку яйца (рис.25с). В это время задняя стенка акросомального пузырька образует большое количество маленьких акросомальных трубочек (рис.25с,д), которые будут вытягиваться в длину и осуществлять первый метинный контакт с яйцеклеткой (рис.25е,ф). Акросомные трубочки способствуют проникновению спермия через внешнюю оболочку яйца и контактируют с плазмалеммой яйцеклетки, образуя навстречу акросомальным трубочкам микровилли (рис.25г). Плазмалемма растворяется и при этом образуется открытый вход, в который погружается головка сперматозоида с ядром и с компонентами среднего отдела (рис.25г,х,и). В ответ на контакт со сперматозоидом на поверхности яйцеклетки возникает небольшое возвышение, называемое холмиком оплодотворения.



Рис.25. Стадии слияния сперматозоида и яйцеклетки полихеты *Hydroides*. Из *Berrill & Katz, 1977*. Объяснения в тексте.

У представителей моллюсков, полухордовых, у речной миноги, у различных млекопитающих в ходе акросомальной реакции образуется не несколько коротких, а одна длинная акросомальная нить, достигающая в длину 75 мкм. Лизин мембраны яйца освобождаются перед образованием нити и по-видимому способствуют ее проникновению через оболочку яйцеклетки.

У млекопитающих выходящий из семенников сперматозоид проходит два этапа созревания прежде, чем стать фертильным (способным к оплодотворению). Один этап осуществляется в канальцах придатка, другой - в репродуктивных путях самки. Природа происходящих на этих этапах изменений мало известна, хотя эти процессы можно моделировать *in vitro*. Возможно, что созревание является следствием удаления из сперматозоида некоторых ингибирующих веществ. Проникновение сперматозоида млекопитающих *zona pellucida* яйца занимает несколько минут.

Одним из необычных способов достижения фертильности сперматозоидов млекопитающих является смешивание их с вирусом Сендаи, который агглютинирует спермии головкой к головке (рис.26). Вирус Сендаи применяется в экспериментах по гибридизации соматических клеток, где он обеспечивает растворение мембран у двух гибридизирующихся клеток. Подвергшиеся воздействию этого вируса сперматозоиды приобретают способность к проникновению в яйцо.

У многих животных сперматозоид не снабжен специальными структурами, обеспечивающими свободное прохождение его через оболочки яйца. Так, у морского ежа *Paracentrotus lividus* спермин входит прямо в яйцеклетку через микропиле, минуя все описанные выше процессы, происходящие на поверхности цитоплазмы.

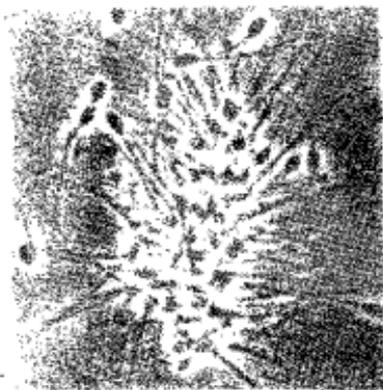


Рис.26. Слипание сперматозоидов. Объяснение в тексте. Из *Berrill a Katz, 1976*

3.6. Активация яйца. Реакция активации яйцеклетки при оплодотворении часто называют кортикальной реакцией, но надо иметь в виду, что она захватывает не только кортикальный слой, но и всю плазму яйца, влияя на весь его метаболизм. Кортикальная реакция и образование оболочки оплодотворения являются лишь одним из первых признаков активации яйца.

В неактивированных яйцеклетках большинства животных под тесно слипшимися желточной оболочкой и плазмалеммой располагаются частицы гликопротеинов, называемые кортикальными гранулами (рис.27).

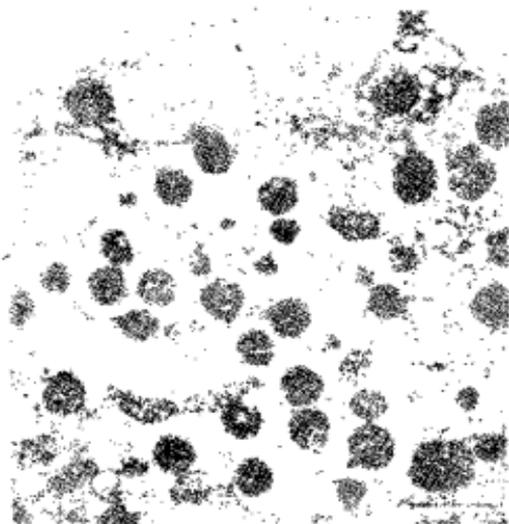


Рис.27. Электронограмма поверхности зрелого неоплодотворенного яйца лягушки, показывающая кортикальные гранулы (с). *pg* - пигментные гранулы; *M* - митохондрия; *pl* - плазмалемма. Поверхность цитоплазмы покрыта короткими отростками.

По *Balinsky*, 1975

В течение первой минуты после контакта со сперматозоидом морфология клеточной поверхности резко изменяется. В точке контакта начинается растворение мембран кортикальных гранул и лежащей над ними плазмалеммы. Желточная мембрана начинает отделяться от плазмалеммы и отходит от поверхности яйца, образуя оболочку оплодотворения и первичтеллинное пространство, в котором изливается содержимое разрушающих кортикальных гранул (рис.29).

У осетра кортикальная реакция длится 3-5 мин (50 мкм в сек).

Реакция яйцеклетки на оплодотворение хорошо изучена у морского ежа. Первой заметной реакцией на контакт со сперматозоидом является возникновение на поверхности яйца бугорка оплодотворения, в котором цитоплазма обильным слоем окружает головку сперматозоида. Если наблюдать яйцеклетку морского ежа сразу после оплодотворения в темном поле, можно отчетливо видеть изменение цвета вокруг яйца, начиная от точки проникновения спермия. Изменение это идет волной (рис.28), которая начинается через 30 сек после контакта яйца со спермием и длится 20сек, в зависимости от температуры. В течение первой

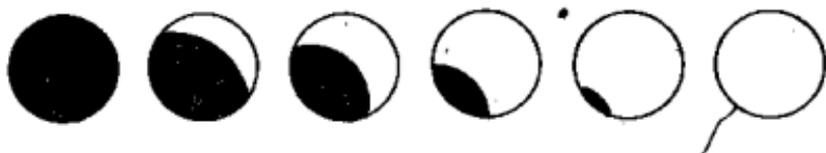


Рис.28. Кортикальные изменения (черные) в яйце морского ежа после оплодотворения. Слева - момент, когда сперматозоид вошел в контакт с поверхностью яйца. Из *Balinsky*, 1975

Содержимое кортикальных гранул используется различными путями. Кристаллическая часть сливается с нижней поверхностью оболочки оплодотворения, формируя ее; часть остается близко к поверхности яйца, набухает и образует глиалиновый слой. Он состоит из кислых мукополисахаридов и его образование у морского ежа требует присутствия кальция в воде. Остальная часть входит в состав жидкости перивителлинового пространства, содержащей несколько ферментов.

Выброс вещества кортикальных гранул

при оплодотворении обнаружен у многих групп животных - рыб, амфибий, млекопитающих. Но у многих животных это явление отсутствует. Если в яйце морского ежа ингибировать разрушение кортикальных гранул, может произойти нормальная реакция. Если это так, т.е. расплавление кортикальных гранул не является существенным, то активация яйца должна быть следствием каких-то более глубоких изменений. Некоторые видят причину в том, что при распространении волим контрольной реакции изме-

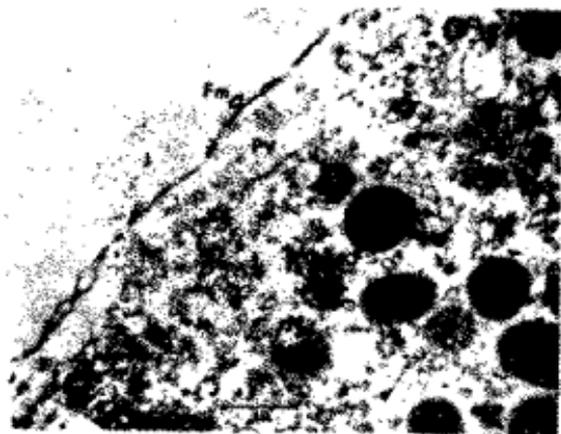


Рис.29. Электронограмма поверхности яйца морского ежа через 2 мин после оплодотворения, показывающая отсутствие кортикальных гранул и формирование оболочки оплодотворения. *Fm* - оболочка оплодотворения, *Y* - глиалиновая оболочка, *Y* - желток, *Fv* - перивителлиновое пространство. По *Balinsky*, 1975

няется распределение ионов по клеточной поверхности, т.е. происходит изменение электрического поля. Имеются данные об изменении проницаемости плазмалеммы, что сопровождается выходом калия и кальция в окружающую среду, снижением трансмембранного потенциала, а также изменением оптических свойств яйца. За период протекания кортикальной реакции она захватывает всю плазму оплодотворенного яйца, изменяются процессы метаболизма, в частности повышается активность протеолитических ферментов и дыхания. Информационная РНК выходит из состава информосома, и в течение нескольких коротких минут (у морского ежа — 7 мин) происходит резкая активация бежкового синтеза. Никаких синтезов новых химических связей здесь не происходит, осуществляется только перестройка клеточных мембран: разрывы или растворение наружной мембраны, выпячивание внутренней, отход мембраны оплодотворения и т.д. Все эти процессы требуют меньших затрат энергии, чем процессы, связанные с новыми химическими реакциями.

Через одну минуту после контакта весь сперматозоид морского ежа, за исключением своей мембраны, всасывается цитоплазмой бургомка оплодотворения. Хвост и дистальная часть спермия, хотя и проникает в яйцо, участия в оплодотворении не принимает. У других животных в яйцо проникает только головка и шейка (рис.30), или еще

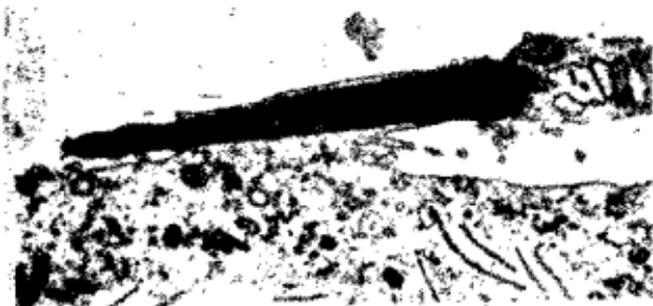


Рис.30. Электронграмма оплодотворения у хомьяка. Из *Berrill a Karp, 1976*

и средний отдел. Оказавшись внутри яйца, спермий поворачивается на 180° и начинает мигрировать к центральной части яйца: это обусловлено передвижением центриоли, которая теперь занимает положение

иногда впереди ядра и двигает спермий. Мембрана, окружающая плотно упакованное ядро, быстро исчезает, позволяя хроматину расширяться и превратиться из почти кристаллического в состояние обычного ти-

вичного хроматина. Нуклеолема, окружающая этот хроматин, образуется заново. Так возникает мужской пронуклеус. По мере его продвижения микротрубочки соединяются с центриолями спермия, образуя форму звезды; эта структура отвечает за образование аппарата первого веретена деления. Судьба центриолей яйца неизвестна; в зрелой яйцеклетке центриоли электронномикроскопически не обнаруживаются.

Одновременно с движением мужского пронуклеуса женское ядро также мигрирует в центральную часть яйца. Движение обоих пронуклеусов навстречу друг другу ("танец пронуклеусов") явление загадочное. При приближении сторон пронуклеусов, обращенные друг к другу, уплощаются, дают выросты и сливаются, образуя одно светлое ядро заготы (рис. 31). Это происходит приблизительно в то же самое время или несколько раньше, чем реплицируется ДНК хромосом обоих пронуклеусов, подготавливая первое митотическое деление.

У многих животных пронуклеусы только приближаются друг к другу, оставаясь интактными. Ядерные мембраны каждого из них разрушаются, когда наступает первое деление дробления и хромосомы, предварительно реплицировавшись, расходятся в два

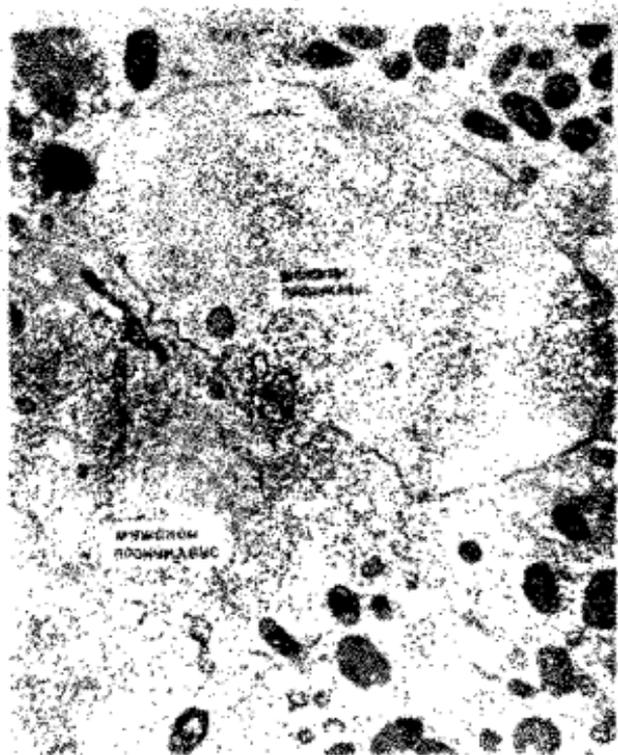


Рис. 31. Встреча мужского и женского пронуклеусов при оплодотворении у морского ежа.
По *Balinsky, 1975*

первых blastomera. Сперматозоид проникает в яйцеклетку в разные периоды оогенеза (табл.3).

Таблица 3

Стадии созревания яйца, на которых происходит проникновение спермий у разных животных. Из *Berrill & Carp, 1976*

Молодой ооцит I пер.	Выросший ооцит I пер.	Стадия метафазы I	Стадия метафазы II	Стадия женского пронуклеуса
<i>Brachyocoelum</i>	<i>Ascaris</i>	<i>Aphrytrocho</i>	<i>Amphioxus</i>	<i>Coelenterates</i>
<i>Dinophilus</i>	<i>Dicyema</i>	<i>Cerebratulus</i>	Большинство	<i>Echinoids</i>
<i>Histiobdella</i>	Собака и лиса	<i>Chaetopterus</i>	ство млекопитающих	
<i>Homosostoma</i>	<i>Giantia</i>	<i>Dentalium</i>	питающихся	
<i>Peripatopsis</i>	<i>Myzostoma</i>	Многие на	<i>Siredon</i>	
<i>Saccosyrinx</i>	<i>Nereis</i>	скал		
	<i>Spisula</i>	<i>Pectinaria</i>		
	<i>Thalassema</i>	<i>Ascidians</i>		

На этом основании различают несколько типов оплодотворения: тип аскариды, тип моллюсков, тип морского ежа, тип млекопитающих.

3.7. Блокирование полиспермии. У большинства животных при оплодотворении в яйцо попадает только один сперматозоид; тотчас после образования оболочки оплодотворения доступ других сперматозоидов становится невозможным. При экспериментальной полиспермии у осетровых рыб по наблюдениям Гинзбург (1967) происходит уродливое развитие зародышей. Механизм блокирования полиспермии изучался на яйцах морских ежей. Ранние исследования показали, что полиспермия блокируется в два этапа. Первый происходит быстро, в течение I сек, и приводит к неполному блокированию, когда яйцо становится в 20 раз менее чувствительным для входа второго спермия. Механизм этого этапа не ясен. Второй этап блокирования изучен лучше — он является следствием кортикальной реакции и образования оболочки оплодотворения.

Если ингибировать разрушение кортикальных гранул при нормальной концентрации сперматозоидов, яйцо быстро становится полиспер-

мичным. Если же удалить оболочку оплодотворения после того, как она полностью отошла, добавочные спермии легко проникают через поверхность яйца. На сканирующей электронограмме можно видеть, что когда желточная мембрана отходит от поверхности яйца, все сперматозоиды, ранее прикрепленные к ней, отходят (рис.32).

Отталкивание сперматозоидов происходит благодаря воздействию протеолитических ферментов кортикальных гранул. Если произвести оплодотворение яйцеклеток в присутствии *SBTI* (соевый ингибитор трипсина), который ингибирует протеазы кортикальных гранул, сперматозоиды не отторгаются и происходит полиспермия (Verrill & Katz, 1976). Механизм полиспермии хорошо изучен при оплодотворении яиц рыб, амфибий и млекопитающих.



Рис.32. Сканирующая электронограмма оплодотворения у морского ежа. Поверхность яйца через 30 сек. после оплодотворения. Желточная мембрана отошла от части поверхности, отталкивая сперматозоиды. Остальная часть клеточной поверхности уже потеряла прикрепленные сперматозоиды, хвосты которых хорошо видны.
Из Verrill & Katz, 1976

Глава 4. ДРОБЛЕНИЕ И БЛАСТУЛЯЦИЯ

4.1. Оплазматическая сегрегация. Прежде, чем приступить к рассмотрению процессов дробления зиготы, следует кратко остановиться на структурных изменениях, происходящих в оолазме сразу после оплодотворения. Под оплазматической сегрегацией понимают

распределение компонентов ооплазмы, которое оказывает определенное влияние на последующее расположение эмбриональных зачатков.

Еще до оплодотворения в яйцах некоторых животных можно наблюдать участки цитоплазмы, отличающиеся друг от друга. Так, в яйцах насекомых (*Mastor*), а также в икринках амфибий в вегетативном полюсе отмечается зернистая "зародышевая плазма".

Но ооплазматическая сегрегация особенно ярко выражена в яйцеклетке после ее оплодотворения, которое стимулирует перераспределение участков ооплазмы. Примеров этому много. Так, у морского ежа после оплодотворения в вегетативном полюсе яйца, субэкваториально, образуется серый поясок зернистой цитоплазмы (см. ниже). У асцидии сперматозоид проникает в яйцо в любом месте, но ближе к вегетативному полюсу. Тотчас после оплодотворения происходит перемещение богатой желточными включениями ооплазмы сначала вниз, в вегетативную область яйца, затем, следуя движению мужского проуклеуса — вверх. Вскоре после первого деления зиготы зернистая цитоплазма располагается под экватором яйца, образуя область полумесяца, который впоследствии даст мезодерму (мезодермальный серп). В это же время серп светлосерой цитоплазмы возникает субэкваториально на противоположной стороне яйца; впоследствии он даст начало нотохорду (нотохордальный серп). В связи с таким перераспределением ооплазмы яйцо приобретает отчетливое билатеральное строение.

У ланцетника сперматозоид проникает в яйцо в заднем (по отношению к будущему зародышу) нижнем квадранте яйца. По пути продвижения его ядра происходит концентрация поверхностной зернистой ооплазмы, которая располагается в виде клина, направленного острием к центру яйца, а при рассматривании яйца с поверхности — в виде полумесяца, занимающего область непосредственно под экватором. Этот задний зернистый полумесяц определяет билатеральную симметрию яйца и задний ковец зародыша. Впоследствии при нормальном развитии зародыша материал заднего полумесяца пойдет на построение мезодермы. В яйце лагушки на стороне, противоположной месту вхождения сперматозоида, в области экватора, вследствие перемещения пигментных включений, возникает участок светлой цитоплазмы, называемый серым серпом. Этот серый серп соответствует приблизительно тому месту, из которого впоследствии разовьются нервная система и хорда (Заварзин, 1935).

В яйцах всех других животных при оплодотворении происходят специфические для каждого вида изменения ооплазмы. Следует заметить, что процессы ооплазматической сегрегации явились основой для создания теорий неопреформизма. Но эти процессы изучены еще недостаточно. Описательные данные не вполне надежны, и ищется данные, что эмбриональные зачатки могут располагаться иначе.

4.2. Дробление и клеточный цикл. Дробление - хорошо очерченный начальный этап эмбрионального развития животного, характерный для всех *Metazoa*.

Оплодотворенная яйцеклетка (зигота) проходит серии делений, при которых объем цитоплазмы последовательно уменьшается, не успевая дорастать до объема материнской клетки. Такая последовательность клеточных делений называется дроблением, а клетки, возникающие в результате этих делений наз. бластомерами. Деления совершаются путем митоза, но все же дробление имеет специфические черты, отличающие его от обычного деления. Бластомеры, не успевая дорастать до объема материнской клетки, после каждого нового деления мельчают; бластомеры принимают сразу шаровидную форму; их межклеточные взаимодействия развиты слабо. Во время дробления морфология цитоплазмы и ядра имеет свои особенности. Цитоплазма выглядит гомогенной, органеллы малочисленны и слабо развиты; митохондрий, в частности, очень мало, кристы в них развиты слабо, рибосомы свободные. Ядро не содержит ядрышка, в нем слабо выражены циклические изменения хромосом, не имеется четкой границы между телофазой предыдущего деления и началом профазы последующего. Метафазные хромосомы во время дробления значительно длиннее хромосом на стадии гаструлы.

На первых этапах дробления наблюдается явление гономерии, установленное Прокофьевой-Бельговской, при котором отчетливо сохраняются обособленные родительские наборы хромосом. Следует четко иметь в виду, что в ходе дробления уменьшается лишь объем цитоплазмы. Ядро же сохраняет свой постоянный объем. Поэтому в ходе дробления последовательно увеличивается ядерно-плазменное отношение. Например, ядерно-плазменное отношение в надробящемся яйце морского ежа равно 1:400 (в ооците с его ЗП - 1:7). На стадии 4 бластомеров оно составляет 1:18, на стадии 64 бластомеров - 1:12, на стадии бластулы - 1:7.

В процессе дробления должны достраиваться клеточные мембраны, обеспечивающие увеличивающуюся клеточную поверхность; при каждом новом очередном дроблении должен создаваться материал для компонентов митотического аппарата и т.д. Поскольку дробящийся зародок не получает никакого внешнего питания, эти синтетические процессы осуществляются на основе предшествующих веществ, накопленных в оогенезе. В цитоплазме ооцита количество накоплений ДНК в 1000-10000 раз больше, чем в ядре. Если в дробящийся зародок инъецировать сильный ингибитор ДНК (фтордезоксисуридин), подавляющий синтез ДНК во взрослых клетках, то он здесь не окажет никакого действия: бластомеры будут продолжать дробиться. Нечувствительность синтеза ДНК к ингибиторам может быть объяснена также наличием большого количества предшественников.

В бластомерах также много предшественников РНК, и синтез новых РНК отсутствует. Активный синтез белка идет за счет заготовленных в оогенезе матриц!

Скорость дробления определяется генотипом животного, но зависит также и от внешних условий, например от температур и. В быстро делящихся соматических клетках млекопитающих время одной генерации при 27°C составляет 15-20 часов; в противоположность этому, яйцо морского ежа достигает стадии бластулы, состоящей приблизительно из 1000 клеток (10 поколений) всего за несколько часов при значительно более низкой температуре. Однако, не все яйца дробятся так быстро. Например, у типичных млекопитающих первое дробление занимает 12 часов, а у человеческого зародыша - около суток. В то же время некоторые животные могут дать личинку за пару дней. У коловраток, ракообразных, насекомых клеточный цикл очень короткий - от 7,5 до 120 мин.

Одним из показателей скорости дробления эмбриона является уровень синтеза ДНК. У морского ежа репликация начинается даже перед или во время слияния пронуклеусов, при подготовке к первому делению дробления. Этот S - период у морского ежа *Strongylocentrotus* длится приблизительно 10 мин. Второй S - период при подготовке второго дробления начинается в телофазе первого митоза даже до полного оформления ядер; этот период длится приблизительно 13 мин (при 15°C). При 37°C S - период должен длиться 3 мин. В противоположность иглокожим, быстро делящиеся клетки млекопитающих требуют для репликации ДНК нескольких часов.

По-видимому эмбриональное дробление представляет собой уникальный случай по времени синтеза ДНК. Скорость осуществления всего клеточного цикла определяется также выпадением пресинтетического периода. Если в соматических клетках $T = G_1 + S + G_2 + M$, то у бластомеров $T = S + G_2 + M$. Это связано со слабой деспирализацией хромосом; в противном случае требовалось бы слишком много времени для их деспирализации.

Для клеточного цикла эмбрионов характерно постоянство относительной продолжительности митоза. Так, автораддиографические исследования с применением 3Н-тимидина показали следующее (табл.4).

Таблица 4

Продолжительность фаз клеточного цикла у зародышей

Вид животных	t°	Время в минутах				
		T	G_1	S	G_2	M
Морской ех	5°C	110	0	55	0	55
Моллюски	25	83	0	22	21	40
Рыбы	4	366	0	120	100	146
Амфибии	20	80	0	15	25	40

Итак, колоссальная скорость репликации состоит, несомненно, в том, что у зародка заготовлено огромное количество всевозможных предшественников. Показано, что все локусы хромосом в это время генератически неактивны.

Скорость синтеза белка резко возрастает в периоде раннего дробления и падает на стадии бластулы; второй подъем начинается перед гаструляцией. В конце митотического цикла первого дробления скорость биосинтеза белка в 10-70 раз выше, чем у неоплодотворенного яйца.

Что касается механизмов регуляции синтетических процессов при дроблении, то можно уверенно сказать, что ни ядерно-плазменное отношение, ни межклеточные взаимодействия не являются регуляторами клеточных делений.

Таким образом специфическими уникальными особенностями процессов репликации ДНК в ранних зародках являются: необычная окорость репликации;

стабильность суммарного количества ДНК на зародки и нечувствительность синтеза ДНК и дробления к ингибиторам.

Если в дробящихся клетках за периодом первого митоза следует сразу S - период и происходит процесс репликации ДНК, то количество хроматина составит 4C (табл.5)

Таблица 5

Соотношение числа хромосом и количества хроматина при дроблении

Число хромосом и количество хроматина	Зрелое яйцо	Оплодотворение	Карิโอгамия	Дробление
N	n	$n + n$	$2n$	$2n$
C	$2C$	$2C \rightarrow 4C$	$4C$	$2C \rightarrow 4C$

Наличие в бластомерах 4C показано прямыми цитоспектрофотометрическими исследованиями.

В связи с наличием огромного запаса предшественников ДНК в ооците находится и то обстоятельство, что бластомеры делятся сначала синхронно (это - подпериод синхронных делений дробления), а затем наступает десинхронизация делений (подпериод асинхронных делений).

Подпериод синхронных делений называется просто дроблением, подпериод асинхронных делений - бластуляцией. Прохождение борозды дробления по цитоплазме (цитокinesis) тесно связано с ориентацией митотического веретена. Борозда дробления всегда перпендикулярна оси веретена, т.е. она проходит в той плоскости, в которой ранее располагались метафазные хромосомы. Поэтому ход дробления определяется расположением митотического аппарата, а ориентация последнего зависит в свою очередь от организации цитоплазмы и от программы, определяемой оогенезом.

4.3. Типы дробления. Существует несколько типов дробления, которые обуславливаются разными факторами, действующими на разных уровнях.

Общепризнано, что тип дробления зависит от типа яйцеклетки, точнее, от количества и характера расположения желтка в ней. В зависимости от этого, дробление бывает полным и неполным (частичным), равномерным и неравномерным, а также поверхностным.

Яйца с полным дроблением называются голобластическими, с частичным (дискоидальным или поверхностным) – меробластическими. Типы дробления, их зависимость от типа яйцеклетки и виды животных, которым свойствен определенный тип дробления, нагляднее представить в следующей таблице (табл.6).

Типы дробления

Таблица 6

Типы дробления	Равномерное		Поверхностное	
	Голобластическое	Неравномерное	Меробластическое	
Типы яиц	олиголецитальные (изолецитальные) и алецитальные	мезолецитальные (телолецитальные)	полилецитальные крайнетелолецитальные	центролецитальные
Виды животных	Многие морские беспозвоночные, плоские черви, ланцетник, человек	Амфибии Осетровые	Головоногие моллюски акуловые и костистые рыбы	Членистоногие

Ход дробления голобластических яиц большинства животных грубо подразделяется на три типа: радиальное, спиральное и билатеральное. При радиальном дроблении веретена ориентируются длинными осями (от центриоли к центриоле) либо перпендикулярно, либо параллельно полярным осям яйца (рис.33); полюс яйца, где находится направительное тельце называется анимальным, противоположный – вегетативных.

В противоположность радиальному, спиральному дробление резко отличается от других тем, что веретена здесь ложатся под косыми

углами друг к другу, а не под углом 90° или 180° . Образующийся в результате этого ряд бластомеров отходит спиральным образом справа налево (или наоборот) и располагается не над верхушками бластомеров, как это происходит при радиальном дроблении, а над бороздами нижележащих бластомеров. (рис. 34).

Последовательность спирального дробления позволяет легко идентифицировать каждую клетку; пользуясь этим, эмбриологи проследили судьбу каждой клетки в ходе дробления и дальнейшего развития у многих животных. Установлено, что у большой группы животных, именуемой *spiralia*, которая включает моллюсков, аннелид и плоских червей, судьба определенных клеточных линий совершенно идентична, т. е. они дают одни и те же зачатки.

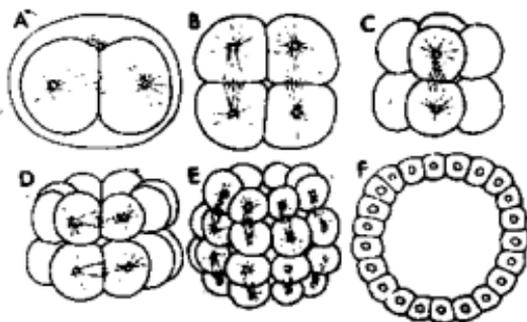


Рис. 33. Радиальное дробление с почти одинаковыми бластомерами у морского огурца *Synapta digitata*. А-стадия двух клеток; В-стадия четырех клеток (вид с животного полюса), С-стадия восьми клеток (вид сбоку), Д-16-клеточная стадия, Е-32-клеточная стадия F-бластула (вертикальный срез). Из *Balinsky*, 1975.

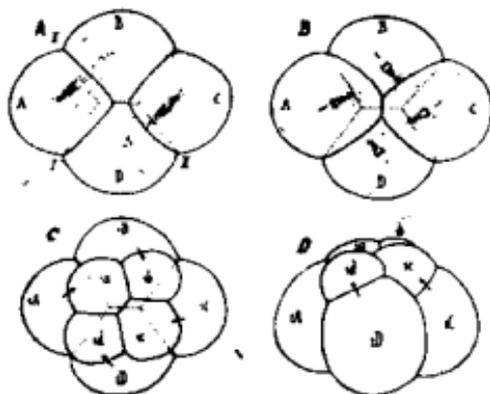


Рис. 34. Спиральное дробление у моллюска *Trochus*. А-4-клеточная стадия сразу после второго деления (еще видны веретена второго деления), В-4-клеточная стадия, но в ходе подготовки к третьему делению (метафаза), С-8-клеточная стадия (вид с животного полюса), Д-8-клеточная стадия (вид сбоку). Из *Balinsky*, 1975

Интересно отметить, что эти группы животных отделились друг от друга более 500 млн лет назад, но до сих пор их сложное раннее развитие осталось одним и тем же; это подчеркивает консервативную природу эмбрионального развития в его начальных этапах. Очень незначительные отклонения в этих ранних эмбриональных стадиях видны даже у тех видов животных, взрослые стадии которых оказались совершенно различными.

Ориентацию плоскостей при спиральном дроблении определяет цитоплазматическая организация яйца. Дробление будет правосторонним (декстроотропным), когда веретена ориентируются так, что микромеры ложатся справа от макромера, и левосторонним (леотропным) — когда слева. Все митозы совершаются одновременно при правом и при левом дроблении.

Билатеральное дробление характерно для яиц аскариды (рис.35). Подробное описание дробления у аскариды можно найти в любом учебнике.

Уд дробления меробластических яиц отличается рядом специфических черт. У птиц, акул и костистых рыб, а также головоногих моллюсков дробление дискоидальное. В ходе дискоидального дробления дробится только зародышевый диск на анимальном полюсе яйца, имеющий ничтожные размеры поверхности и объема по сравнению с недробящейся массой желтка. Первые три борозды проходят радиально (соответствуют меридиональным бороздам в голобластических яйцах), затем возникают широтные и тангенциальные борозды. На край бластодиска постоянно имеется бластомеры, неполностью отделенные друг от друга и от желтка (рис.36).

Поверхностное дробление характерно для членистоногих (рис. 37). Здесь дробление начинается с деления ядра лежащего в центре яйца. Многочисленные ядра, возникающие в результате митотических делений, мигрируют к поверхности яйца и располагаются в тонком слое цитоплазмы, лишенной желточных включений.



Рис.35. Дробление аскариды до
4-клеточной стадии.

Из *Valinsky, 1975*

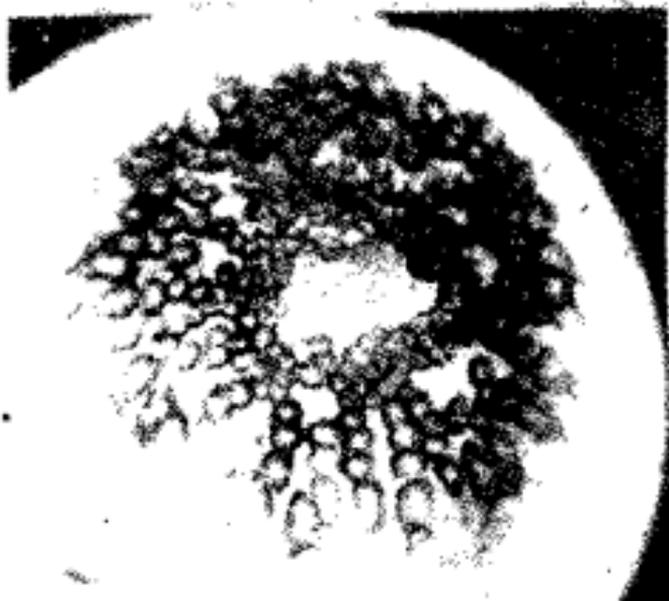


Рис. 36. Дискондальное дробление головоногого моллюска *Sepiella owstoni*.
 Микромеры на анимальном полюсе лежат на этой стадии свободно, не образуя сплошного слоя. Крупные клетки на краях бластодиска не полностью отделены друг от друга и от недробящегося желтка.
 Из *Balinsky*, 1975

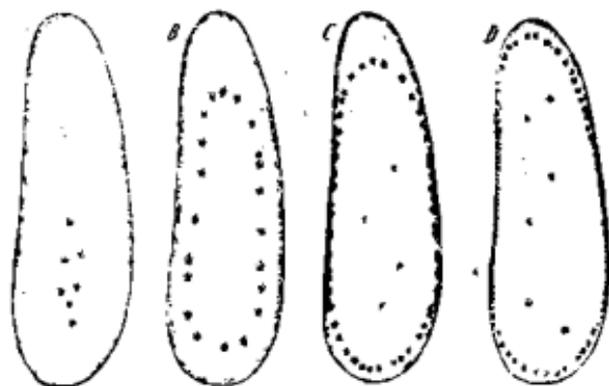


Рис. 37. Поверхностное дробление у жука *Hydrophilus*
Из *Balinsky*,
1975

4.4. Бластуляция. Типы бластул. Последние этапы дробления характеризуются снижением скорости клеточного деления и образованием бластулы, которая существует короткое время перед началом гастрюляции. Процесс бластуляции очень различен у разных животных.

У голобластических яиц по мере увеличения количества бластомеров они начинают расходиться от центра зародыша к периферии, образуя в центре все большую полость. В конечном счете возникает пузырек, образованный однослойной или многослойной стенкой, называемой бластодермой, и содержащий полость, заполненную жидкостью и называемую бластоцелем. Такая бластула называется целобластулой. У ланцетника, морского ежа и других животных с изолецитальными яйцами возникает равномерная целобластула (рис. 38а, в), у амфибий, имеющих телобластические яйца – неравномерная бластула.

На наружной поверхности клеток бластодермы у морского ежа обнаружены длинные одиночные выросты (рис. 38 с, d).

Дробление меробластических яиц с дискоидальным типом приводит к образованию дискобластулы, с поверхностным – перибластулы. У некоторых низших беспозвоночных (например, кишечнорастных) бластула не имеет полости и называется стерробластулой. Сравнение различных бластул представлено на рис. 39.

Рис. 38. Ранняя (а) и поздняя (б) бластулы морского ежа, показывающие бластоцель, однослойную стенку бластулы и наружный неклеточный гиалиновый слой. С, а - сканирующая электронная электронная микрофотография поверхности бластулы морского ежа, с-разрез бластулы, показывающий стенку бластулы и бластоцель; а - небольшая часть наружной поверхности, клетки которой несут единичные ворсинки. Из *Vexill & Katz, 1976.*

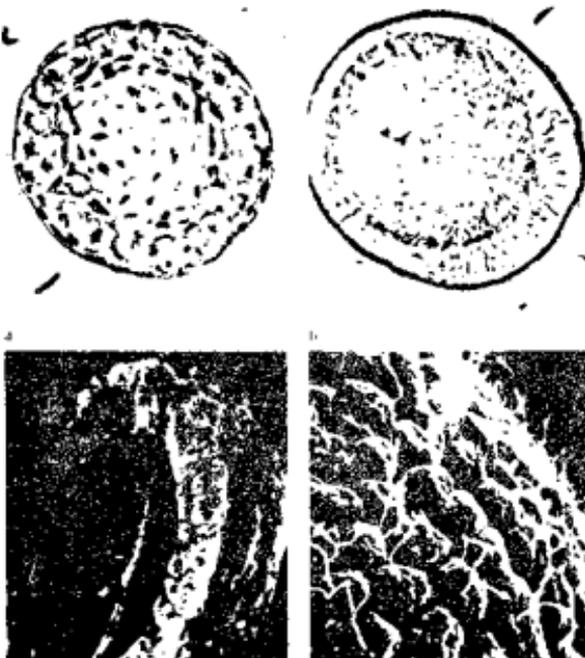
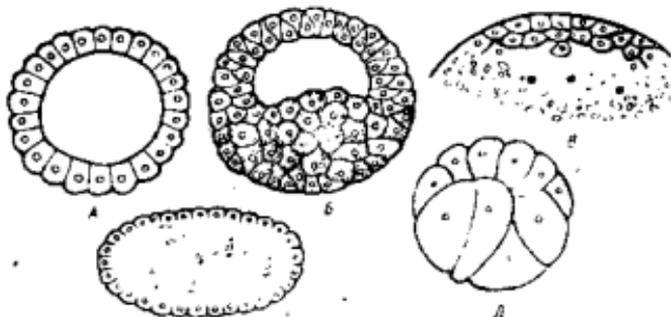


Рис. 39. Типы бластул: А-равномерная целобластула (ланцетник); Б-неравномерная целобластула (лягушка); В-дискобластула (скат); Г-перибластула (насекомое); Д-стерробластула (кишечнополостные). По *Кноффе 1967.*



5.1. Определение понятия гастрюляция; типы гастрюляции. Гастрюляция является первым наиболее решающим этапом превращения дробящегося яйца в некоторое подобие зародыша. Как морфогенетический процесс гастрюляция представляет собой высокоинтегрированную активную деятельность зародыша, охватывающую весь эмбрион в целом.

Гастрюляция — процесс очень сложный, различно протекающий у разных животных и далеко не полно изученный. Возможно, что этим объясняется отсутствие общепринятого четкого определения самого понятия гастрюляции.

А.Г.Кнорре понимает сущность гастрюляции у всех многоклеточных как превращение однослойного зародыша — бластулы, в двухслойный, а у позвоночных затем и в трехслойный — гастрюлу, состоящую из наружного зародышевого листка — эктодермы, внутреннего зародышевого листка — энтодермы и среднего зародышевого листка — мезодермы (Кнорре, 1967).

Зародышевые листки — это не ткани, а лишь источники развития тканей. Один и тот же орган у разных взрослых животных развивается из одних и тех же зародышевых листков. Зародышевые листки являются гомологичными образованиями. Это составляет сущность теории зародышевых листков, созданной трудами И.И.Мечникова, А.О.Ковалевского и Э.Геккеля. Теория зародышевых листков является самым крупным морфологическим обобщением в эмбриологии, сыгравшим большую роль в развитии эволюционной эмбриологии. Существование зародышевых листков у всех *Metazoa* свидетельствует в пользу единства животного мира.

При изучении процесса дробления отмечалось, что на разные синтезы, совершающиеся в раннем зародыше, используются запасы предшественников; к концу дробления геном зародыша включает в процесс образования собственных матриц и начинается процесс трансляции. Начало активности ренома самого зародыша служит предпосылкой, на основе которой начинают осуществляться процессы гастрюляции.

В обоих чертах тип гастрюляции зависит от типа бластулы (рис. 40). Гастрюляция путем инвагинации свойственна животным с изолецитальными яйцами и равномерной целобластудой (иглокожие,

подухордовые), гастрюляция путем эпиголии (**обрастанка**) - животным с мезо- или телобластическими яйцами и неравномерной целобластулой (**амфибии**). Иммиграция может быть униполярной (клетки мигрируют в бластоцель из одного участка бластодермы) и мультиполярной (миграция по всей внутренней поверхности бластулы); иммиграция типична для целобластулы кишечнополостных. Наконец, **деляминация** свойственна дискобластуле, возникающей при дроблении полилецитальных яиц рыб, птиц и др. животных.

У одного и того же вида животных могут быть разные типы гастрюляции (*Amelica aurita*). Бывает смешанная гастрюляция (амфибии).

У губок и кишечнополостных возникает 2 зародышевых листка: экто- и энтодерма.

Начиная с гребневиков и далее, закладывается 3-й листок - мезодерма. Это - клеточные элементы, залегающие между экто- и энтодермой, т.е. средний зародышевый листок. У высших позвоночных мезодерма закладывается в ходе гастрюляции, у низших - после нее.

Имеется два способа образования мезодермы: телобластический, свойственный первичноротым, и энтероцельный, характерный для вторичноротых. Телобласти все время остаются на заднем конце зародыша, отсюда название (*telos* - конец); они являются производными 4d-бластомера при спиральном дроблении. При энтероцельном способе мезодермальные карманы выпячиваются из состава архентерона. Остатки последнего дают, целом, т.е. вторичную полость тела.

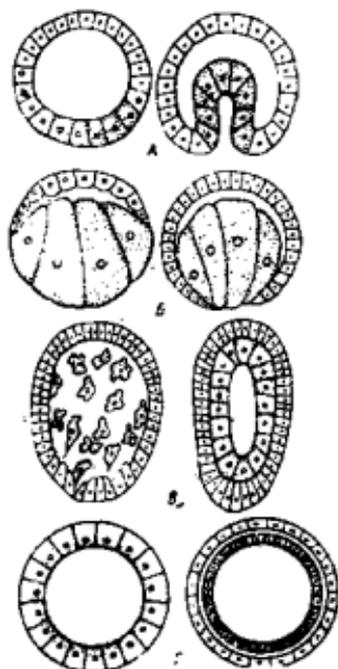


Рис. 40. Способы гастрюляции: А-инвагинация; Б-эпиголия; В-иммиграция; Г-деляминация. Из Клоппе, 1967

Более подробное рассмотрение процесса гастрюляции удобнее сделать применительно к конкретным типам яиц, дробления и бластуляции.

5.2. Гастрюляция у животных с голобластическими яйцами. Голобластические яйца дробятся полно, но либо равномерно, либо неравномерно. Примером голобластического яйца с полным дроблением может служить яйцо морского ежа. В соответствии с высказанным во введении методическим принципом мы приводим схему полного эмбриогенеза морского ежа, начиная с дробления зиготы и кончая гастрюляцией (рис. 41) с тем, чтобы ниже остановиться подробнее лишь на особенностях гастрюляции этого животного. При дроблении здесь клеточные деления идут регулярно, число бластомеров увеличивается в геометрической прогрессии, после 32 бластомеров начинает образовываться бластула, а после десятого деления клетки бластулы приобретают на наружной поверхности ворсинки. Бластула поворачивается внутри оболочке оплодотворения и вскоре под действием особого фермента (фермент "выдупления") переходит в свободно плавающее состояние. Через 24 часа после этого одна сторона сферической бластулы в области, соответствующей вегетативному полюсу яйца, уплотняется, что свидетельствует о начале гастрюляции. В центре уплотненного участка появляется небольшое выпячивание, где клетки движутся от поверхности в бластоцель; это — первичные мезенхимные клетки. В ходе инвагинации гастрюла растет в длину, принимая более цилиндрическую форму (рис. 42а, в, с).

Механизм инвагинации окончательно не изучен. Наиболее ранняя точка зрения основывалась на том, что инвагинация является следствием давления делящихся клеток, направленного в плоскости полярной оси зародыша. Но если срезать вегетативную пластинку, она продолжает инвагинировать; выпячивание углубляется, срезы краев сходятся над ней и образуется маленькая гастрюла. Этот эксперимент показывает, что силы, вызывающие гастрюляцию, направлены не по вертикали, а в плоскости вегетативной пластинки. Большую роль при этом играет сцепление клеточных поверхностей.

Химическая проба показала, что в ходе первой фазы инвагинации клетки вегетативной пластинки округляются в апикальных частях, пульсируют, а снизу между ними в этих местах ослабляется, но при этом сохраняется полный контакт базальных частей клеток с наруж-

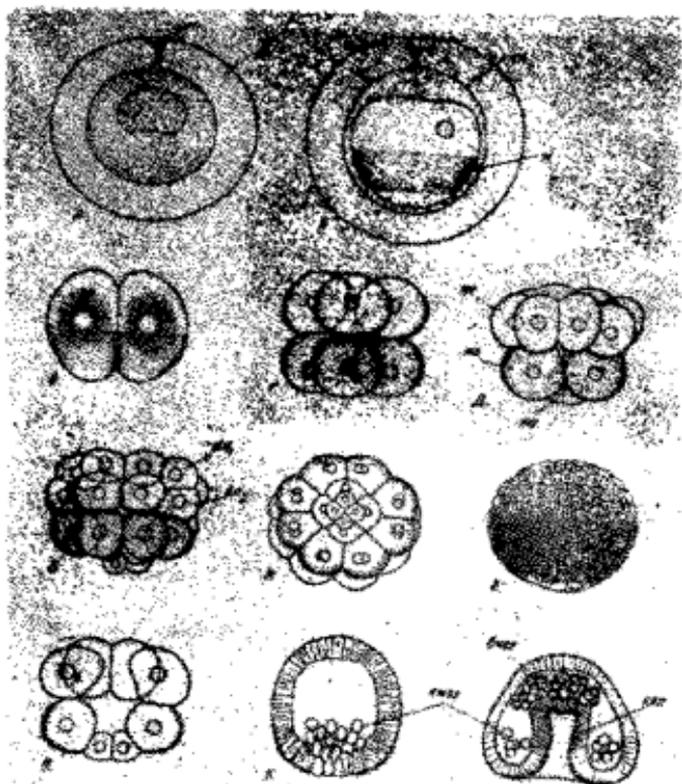


Рис. 41. Ранние стадии развития *Paracentrotus lividus* (по Boveri, 1901):

А-ооцит в конце роста; Б-ядро сразу после оплодотворения; В-стадия 2 бластомеров; Г-стадия 8 бластомеров; Д-стадия 16 бластомеров; Е-стадия 32 бластомеров (сбоку); Ж-стадия 32 бластомеров (с вегетативного полюса); З-бластула; И-стадия 16 бластомеров в оптическом разрезе; К-выселение первичной мезенхимы; Л-конец гастрюляции: *ан*₁ и *ан*₂ - два венца анимальных клеток, арх-архентерон, мез-вторичная мезенхима, м-микропиле, ма-макромеры, ме-мезомеры, ми-микромеры, *оо* - оболочка оплодотворения, п-пигментный пояс, пмез-первичная мезенхима, ст-студенистая оболочка.

Из Ивановой-Дзас, 1978



Рис. 42. Микрофотографии живых эмбрионов морского ежа (*Sytechinus pictus*) от ранней до поздней гаструляции:

а-с - контрольные эмбрионы, помещенные в морскую воду, спустя 29, 38 и 68 часов после оплодотворения;

д-з - эмбрионы, помещенные еще до оплодотворения в морскую воду без сульфатов, спустя 29, 38 и 68 часов после оплодотворения. Уб 400. Из *Berwill a.*

Лазарь 1976.

ной гладкой оболочкой на поверхности зародыша. В инвагинационных движениях придается большое значение микротрубочкам первичных мезенхимных клеток; при действии колхицина, дезинтегрирующего микротрубочки, первичные мезенхимные клетки округляются.

Помогают также, что большое значение для гастрюляции имеет наличие в воде сульфатных ионов. Если эмбрионы морского ежа поместить в воду, лишенную сульфатов, развитие идет нормально только до начала гастрюляции; первичные мезенхимные клетки нагромождаются в бластоцеле и не мигрируют вдоль его стенок (рис. 42, *a, e, f*). Эти мезенхимные клетки имеют гладкую поверхность, тогда как у контрольных зародышей мезенхимные клетки имеют неровную поверхность, что обусловлено наличием в ней сульфатированных мукополисахаридов, необходимых для миграции клеток. Гастрюляция при развитии голобластических яиц с полным неравномерным дроблением хорошо изучена у амфибий.

Созревший и выросший ооцит лягушки богат желтком, сосредоточенным в вегетативной сфере яйца. Ядро находится ближе к анимальному пигментированному полюсу. Дробление начинается меридиальной бороздой, которая не сразу "прорезает" все яйцо, а продвигается от анимального полюса к вегетативному постепенно. Вторая борозда дробления тоже меридиональная, дает 4 бластомера. Третья борозда - широтная, проходящая ближе к анимальному полюсу (в вегетативном полушарии ее прохождении препятствует желток). Возникает 8 бластомеров, но верхние будут заметно мельче нижних. Теперь дробление анимальной половины зародыша пойдет быстрее, чем вегетативной, и общее число бластомеров составит 12; только после дробления вегетативного полушария их будет 16.

В результате такого дробления крыша бластулы будет состоять из мелких пигментированных, а дно - из крупных светлых богатых желтком бластомеров (рис. 43). Бластоцель будет маленьким и смещенным к анимальному полюсу. Это - неравномерная целобластула, типичная для амфибий. Благодаря методу маркировки икринок амфибий витальными красками, введенному Фогтом, удалось проследить распределение презумптивных зачатков в яйце и бластуле амфибий (рис. 44) и дальнейшую их судьбу при гастрюляции (рис. 45).

Гастрюляция у амфибий осуществляется по типу эпиволии. Поскольку маленький бластоцель не вмещает вегетативную половину бластулы, инвагинация здесь выражена слабо, лишь в области серповид-

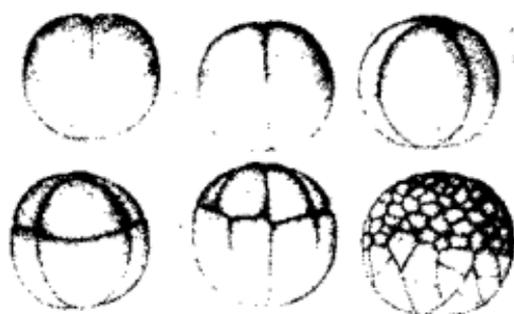


Рис.43. Дробление лягушки. Полуспекматично. По Токину, 1977

ной бороздки, которая возникает на границе энтодермального и хордального презумптивных зачатков и является дорсальной губой бластопора. Клетки будущей хорды подворачиваются в области дорсальной губы бластопора, увлекая за собой внутрь зачаток мезодермы. Этому спо-

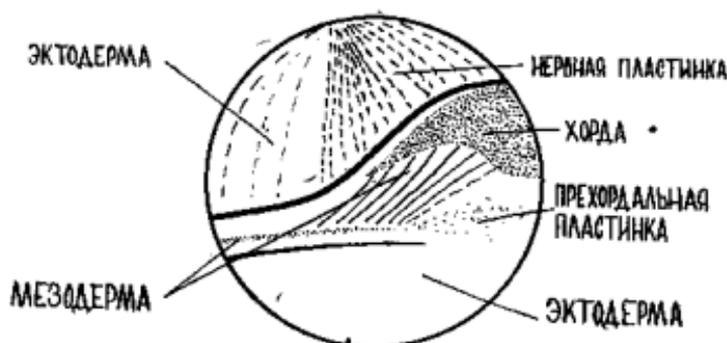


Рис.44. Карта презумптивных зачатков в бластуле амфибий. Из Заварзина, 1935

собствует эпидолия, т.е. обрастание мелкими клетками анимальной половины, инертной крупноклеточной вегетативной половины.

Серповидная бороздка углубляется и удлиняется и опоясывает вегетативную полюсферу бластулы, завершая образование бластопора. Теперь клетки анимальной половины лавинообразно напозавают на вегетативную по всей окружности бластопора, но клетки будущей энтодермы еще долго видны со стороны вегетативной части, выдаваясь наружу в виде заметной простым глазом клеточной пробки (рис.46).

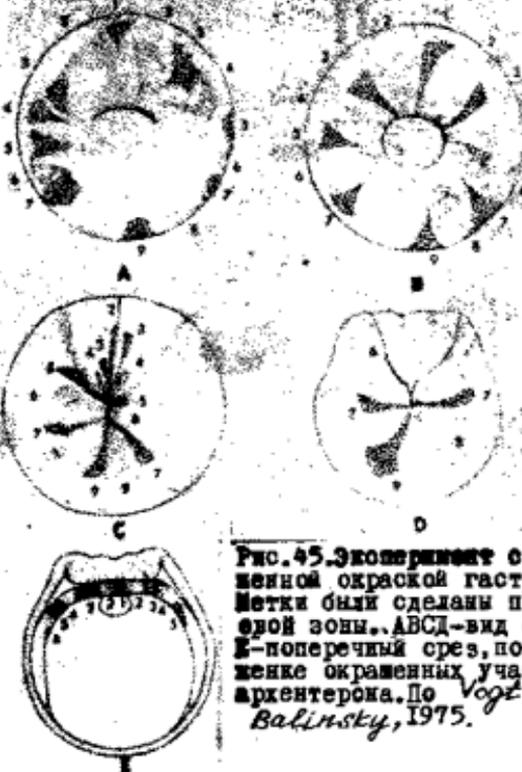


Рис. 45. Эксперимент с местной прижизненной окраской гастролы тритона. Метки были сделаны по окружности краевой зоны. АВСД-вид с поверхности. Е-поперечный срез, показывающий положение окрашенных участков в крыше архентерона. По *Vogt*, 1929. Из *Balinsky*, 1975.

В ходе эпителии хордальный материал, уходящий внутрь в области дорзальной губы бластопора и мезодермальный материал, располагающийся по обеим сторонам хордального зачатка и уходящий внутрь в области боковых губ бластопора рано, в начале гаструдляции, отрываются от тяжелого крупноклеточного энтодермального дна бластулы и образуют, двигаясь к дорзальной стороне зародыша, средний зародышевый листок, называемый у лягушки хордо-мезодермальным пластком.

Таким образом, в самом начале гаструдляции зародок лягушки становится трехслойным. В этом — большое прогрессивное значение эмбриогенеза амфибий по сравнению с эмбриональным развитием ланцетника.



Рис. 46. Сканирующая электронограмма поздней гаструляции (стадия желточной пробки) африканской когтистой лягушки с вегетативного полюса:

а- смыкание бластопорного ободка вокруг сужающихся границ желточной пробки;

б- эпизольческое окружение крупных богатых желтком вегетативных клеток пигментированным эктодермальным клеточным слоем.

Из *Berrill o. Karp*, 1976.

В наружном зародышном листке остаются два зачатка - нервной пластинки и эктодермы. Клетки эктодермы полностью втянувшись, наконец, внутрь гастрюлы, располагаются в виде желоба (несомкнутая кишечная трубка) под хордомезодермальным плащом. Так возникает осевой комплекс зачатков у зародыша лягушки.

5.3. Гастрюляция у животных с меробластическими яйцами. Лучшим примером здесь будет развитие куриного яйца, подробно описанное во всех учебниках. Дробление яйца - дискоидальное. В зародышном диске различают центральную зону - *Area pellucida* и периферическую - *Area opaca*.

В центральной части *Area pellucida* образуется утолщение - зародышный щиток.

Гастрюляция у птиц идет в две фазы. Первая фаза гастрюляции заключается в делеминации (отщеплении) эктодермы от бластодермы зародышного щитка. Как правило, на этой стадии развития яйцо снахитается. Чтобы понять ход второй фазы гастрюляции, которая продолжается при насиживании яйца (или в инкубаторе), необходимо рассмотреть карту распределения презумптивных зачатков в первичном наружном зародышном листке (в бластодерме). Здесь, благодаря своеобразному передвижению клеточного материала, в средней части зародышного щитка образуется утолщение, называемое первичной полоской. На переднем конце ее, в связи со встречным движением клеточного материала, образуется бугорок, называемый первичным или гензеновским узелком.

По всей длине первичной полоски вскоре появляется первичная бороздка, а в первичном бугорке - первичная ямка. Передний край этой ямки гомологичен дорзальной губе бластопора амфибий, а правая и левая половины первичной полоски - боковым губам бластопора.

Вскоре в области первичной ямки, затем по всей длине первичной полоски клетки наружного листка начнут погружаться внутрь, образуя средний зародышный листок. В области гензеновского узелка мигрируют клетки, которые войдут в состав дорзального эпителия переднего отдела кишки, двух пар головных мезодермальных сомитов и хорды. В области первичной бороздки мигрируют клетки осевой и боковой мезодермы (рис. 47).

Процесс гастрюляции у птиц, характеризующийся своеобразными специфическими чертами, приведет однако к тому же результату, что



Рис. 47. Гастрюляция у эмбриона цыпленка. Часть 24-часового эмбриона (от 3 до 4 сомитов), показывающая головной конец эмбриона с открытой нервной трубкой, нервным валиком, сомитами и первичной бороздкой. Бластодерма пересечена приблизительно по середине первичной бороздки, чтобы показать клеточный состав *area pellucida* и *area opaca*.

На вставке показаны увеличенные клетки первичной бороздки; видно, что клетки эпибласта инвагинируют и мигрируют латерально как в мезобласт.

Гипобласт виден как тонкий лежащий под ним слой эпителия. Эпибласт, мезобласт и гипобласт соответствуют трем первичным зародышевым листкам: эктодерме, мезодерме и энтодерме.

Из *Berrill & Katz*, 1976

и гастрюляция у амфибии - образование трехслойного зародыша. Эти три зародышевых слоя цыпленка принципиально не отличаются от состава трех слоев эмбриона лягушки: наружный слой после завершения процесса гастрюляции и тут, и там включает эктодерму и нейроэктодерму, внутренний - энтодерму, средний - материал хорды и мезодермы.

Знание хода гастрюляции у зародыша цыпленка значительно облегчает понимание процесса гастрюляции у млекопитающих.

ЛИТЕРАТУРА

1. Боденер Ч. Современная эмбриология. М., "Мир", 1971.
2. Токин Б.П. Общая эмбриология. М., "Высшая школа", 1977.
3. Кнорре А.Г. Краткий очерк эмбриологии человека. Л., "Медицина", 1967.
4. Современные проблемы оогенеза. М., "Наука", 1977. - В этой книге - статьи: Т.Б. Айзенштадт, М.Н. Грузовой, Т.А. Детлаф, Б.Ф. Гончарова, А.П. Дыбана и В.С. Баракова.
5. Гагинская Е.Р. О классификации типов оогенеза. Ж. "Онтогенез", т.6, № 6, 1975, с. 539-553.
6. Масун И. Гормональный и цитоплазматический контроль созревания ооцитов лягушки. Ж. "Онтогенез", т.3, № 6, 1972, с. 574-587.
7. Детлаф Т.А. Определение продолжительности митотического цикла в период синхронных делений дробления. В книге "Методы биологии развития". М., "Наука", 1974, с. 136-139.
8. Равен Х. Оогенез. М., "Мир", 1964.
9. Происхождение и развитие половых клеток в онтогенезе позвоночных и некоторых групп беспозвоночных (Труды международного семинара под руководством Э. Вольфа). Пер. с французского. Под ред. П.Г. Светлова Л. 1968 - В этой книге статьи: Л. Бумур, Э. Вольф.
10. Дьркар Э. Клеточные взаимодействия в развитии животных. М., "Мир", 1978.
11. Зусман М. Биология развития. М., "Мир", 1977.
12. Ивалова-Казас О.М. Сравнительная эмбриология беспозвоночных животных. М., 1978, кн. 3.
13. Заварзин А.А. Краткое руководство по эмбриологии человека и позвоночных животных. ОГИЗ. 1935.
14. Balinsky *An introduction to Embryology* London, 1975.
15. Berrill a. *Karpe Development*. New-York, 1976.
16. Austin (edit) *Reproduction in mammalian*. v.1. London, 1975.
17. Bloom a. *Fawcett, "Textbook of Histology"* London, 1975.
18. Joblex H.e. *al Molecular aspects of chromatin elimination in Ascaris lumbricoides*. *Developm. Biol.*, 27, 2, 1972, p. 190-203

ОГЛАВЛЕНИЕ

Глава I. ВМЕСТО ВВЕДЕНИЯ	4
Глава 2. ГАМЕТОГЕНЕЗ.	
2.1. Половые и соматические клетки	7
2.2. Происхождение первичных половых клеток в онтогенезе	8
2.3. Локализация полового зачатка и способы миграции первичных гоноцитов	13
2.4. Оогенез	17
2.4.1. Период размножения	17
2.4.2. Период роста	18
2.4.3. Вителлогенез	23
2.4.4. Типы яйцеклеток. Яйцевые оболочки	27
2.4.5. Период созревания	29
2.4.6. Ядерные преобразования в ооците во время его роста	33
2.5. Сперматогенез	37
Глава 3. ОВУЛЯЦИЯ И ОПЛОДОТВОРЕНИЕ	
3.1. Овуляция	49
3.2. Гормональный контроль овуляции	51
3.3. Гормональная регуляция созревания ооци- тов и овуляции у <i>кнатиля</i>	53
3.4. Оплодотворение	55
3.5. Акросомальная реакция	58
3.6. Активация яйца	59
3.7. Блокирование полиспермии	64
Глава 4. ДРОБЛЕНИЕ И БЛАСТУЛЯЦИЯ	
4.1. Осплазматическая сегрегация	65
4.2. Дробление и клеточный цикл	67
4.3. Типы дробления	70
4.4. Бластуляция. Типы бластул	74
Глава 5. ГАСТРУЛЯЦИЯ	
5.1. Определение понятия гастрюляции; типы гастрюляции	76
5.2. Гастрюляция у животных с голобластичес- кими яйцами	78
5.3. Гастрюляция у животных с меробластичес- кими яйцами	85
Литература	87