

## ЛЕКЦИЯ 15

### МОЛЕКУЛЯРНО–ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ОНТОГЕНЕЗА

- 1 Роль деления клеток в процессах онтогенеза. Способы клеточной миграции
- 2 Межклеточные взаимодействия. Избирательная сортировка клеток
- 3 Значение процессов гибели клеток в развитии зародышей
- 4 Дифференцировка клеток.
- 5 Явления эмбриональной индукции в механизмах онтогенеза
- 6 Генетические механизмы детерминации и дифференцировки
- 7 Генетический контроль развития

#### **1 Роль деления клеток в процессах онтогенеза. Способы клеточной миграции**

Роль деления клеток в процессах онтогенеза:

1. Благодаря делению из зиготы, которая соответствует одноклеточной стадии развития, возникает многоклеточный организм.
2. Пролиферация клеток, происходящая после стадии дробления, обеспечивает рост организма и отдельных его органов и тканей.
3. Избирательное размножение клеток обеспечивает морфогенетические процессы, реализацию программы развития.
4. В процессе жизнедеятельности организма происходит обновление тканей, а также восстановление утраченных органов, заживление ран в постнатальном периоде.
5. В процессе созревания происходят количественные изменения структур клеток, ведущие к формированию зрелых функционирующих форм (изменение морфологии ядра, накопление специфических цитоплазматических структур, изменение размеров клеток).

В процессе развития особи происходят неоднократные перемещения (миграции) отдельных клеток, их групп, клеточных пластов. Особое значение миграция клеток приобретает на стадии гастрюляции, приводя к формированию зародышевых листков. В ходе органогенеза этот механизм важен, например, при формировании крупных пищеварительных желез, производных нервного гребня. Не менее значима его роль и в постэмбриональном развитии. Амебоидное движение макрофагов обеспечивает реализацию реакций иммунитета, перемещения сперматозоидов необходимы для осуществления оплодотворения, миграции клеток эпидермиса приводят к закрытию раневой поверхности при повреждениях кожи и т.д. В целом, миграция обеспечивает доставку клеточного материала в нужную область организма.

Миграция клеток – центральный процесс в развитии и обслуживании многоклеточных организмов. У ошибок во время этого процесса есть серьезные последствия, включая интеллектуальную нетрудоспособность, сосудистое заболевание, формирование опухоли и метастаз. Понимание механизма, которым мигрируют клетки, может привести к развитию новых терапевтических стратегий управления, например, клеток пролиферирующей опухоли. миграция клетка соединительный ткань

Клетки часто мигрируют в ответ на определенные внешние сигналы, включая химические сигналы и механические сигналы. Клетки мезенхимного типа мигрируют одиночно и группами, а клетки эпителиев обычно согласованно, пластом. Мезенхима – это скопление веретеновидных или звездчатых клеток, погруженных в межклеточный матрикс. Эпителий – группы клеток, плотно прилежащих друг к другу боковыми стенками и имеющих апикальную и базальную поверхности. Как мезенхима, так и эпителии могут быть образованы из любого из трех зародышевых листков. Клетки

мезенхимного типа наиболее подвижны, так как не образуют между собой стойких контактов.

Для объяснения сложного и изменчивого характера клеточной миграции необходимо учитывать множество влияющих на него факторов. К ним относятся:

- тип мигрирующих клеток и характер их активации (т.е. активированы ли клетки антигеном, цитокинами или межклеточными взаимодействиями);
- тип молекул адгезии, экспрессируемых сосудистым эндотелием;
- присутствие специфических хемотаксических молекул и цитокинов в тканях (у каждой популяции лейкоцитов свои специализированные рецепторы, поэтому каждый хемотаксический агент избирательно привлекает только определенный тип клеток).

Наиболее яркий пример миграции мезенхимных клеток связан с нервным гребнем. При смыкании нервной трубки клетки нервных валиков выходят из ее состава и располагаются между ее дорсальной частью и эктодермой. Затем они мигрируют в разных направлениях, проявляя очень широкие формообразовательные потенции. Группа клеток нервного гребня в туловищной части зародыша мигрирует в эктодерму и там превращается в первичные пигментные клетки – меланоциты. Другие, двигаясь в центральном направлении, образуют нейроны спинальных ганглиев, еще дальше ганглиев симпатической и парасимпатической систем. Третьи – превращаются в клетки шванновских оболочек нервов, четвертые – в хромаффинные клетки мозгового вещества надпочечников. Вообще клетки нервного гребня туловищного отдела дифференцируются в зависимости от того, куда попадут.

Клетки нервного гребня в головной части зародыша мигрируют в сторону лица, превращаясь в хрящевые, мышечные, соединительнотканые. Они строят хрящи висцерального скелета, мышцы кожи, соединительную ткань лица, языка и нижней челюсти, входят в состав аденогипофиза, паращитовидных желез и мякоти зуба. Если клетки головного отдела нервного гребня пересадить в туловищную область, то они все равно дифференцируются затем в хрящевые, мышечные и соединительнотканые. Еще одним убедительным примером выраженных миграций является перемещение первичных половых клеток из желточной энтодермы в зачаток половой железы.

## **2 Межклеточные взаимодействия. Избирательная сортировка клеток**

**Межклеточные взаимодействия** – адгезия (склеивание клеток) и сегрегация – (сортировка клеток) – играют важную роль в процессе миграции, благодаря чему зародыш существует как единое целое.

Взаимодействие между клеточными поверхностями. Существует три класса молекул клеточной мембраны, участвующих в обеспечении специфических взаимодействий с другими клетками.

1. Молекулы клеточной адгезии (МКА) – белковые молекулы, участвующие в адгезии «клетка–клетка». Молекулы объединяют клетки в эпителиальные слои. Кадгерины – отвечают за пространственную сегрегацию (сортировку) клеток и объединение клеток в ткани и организацию формы тела. Мембранные ферменты – гликозилтрансферазы – соединяются с углеводными субстратами по типу «ключ–замок» и осуществляют прочное сцепление клеток. Иммуноглобулины МКА (N–МКА, L–МКА) – МКА, структура которых напоминает структуру антител, и выполняют различные функции в зависимости от содержания в них сиаловой кислоты: при низком содержании клеточная адгезия стимулируется, при высоком – подавляется.

2. Молекулы адгезии молекул к субстрату – внеклеточный матрикс содержит волокна, гликозаминогликаны и гликопротеины. Компоненты внеклеточного матрикса синтезируются самими клетками. Он разделяет соседние группы клеток и препятствует взаимодействию между ними, но также служит субстратом миграции. Существуют молекулы адгезии: коллаген (образует волокна во внеклеточном матриксе), ламинин, фибронектин (связывающие молекулы между мигрирующей клеткой и другими компонентами внеклеточного матрикса). Для молекул внеклеточного матрикса мигрирующие клетки формируют рецепторы: синдекан, соединяющийся с фибронектином и коллагеном, необходим для установления и поддержания структуры эпителиальных клеточных пластов, интегрины пронизывают клеточную мембрану насквозь и связывают молекулы внеклеточного матрикса снаружи, а также белки цитоскелета внутри. Интегрины объединяют (интегрируют) внутри– и внеклеточные конструкции и обуславливают движение клетки путем сокращения актиновых микрофибрилл.

3. Молекулы клеточных контактов обеспечивают пути сообщения цитоплазмы соседних клеток (щелевые контакты), а также обеспечивают непроницаемость и механическую прочность эпителиальных слоев (десмосомы, плотные контакты).

Все межклеточные взаимодействия в процессе морфогенеза обусловлены комбинациями МКА, которые способны как объединять клетки разных типов, так и создавать и поддерживать между ними границы.

В эмбриогенезе для образования тканей необходимо, чтобы клетки зачатка сначала мигрировали, а затем образовали клеточные ансамбли. Для осуществления миграции необходимо, чтобы клетки зачатка потеряли МКА: это инициирует начало миграции. В дальнейшем МКА контролируют миграцию клеток и обеспечивают ее целенаправленность. В клетках, завершивших миграцию, вновь появляются МКА, между клетками устанавливается взаимодействие и начинается формирование нужных клеточных ансамблей. Эти процессы можно сформулировать следующим образом: конец адгезии – начало миграции – конец миграции – начало адгезии.

Сегрегация клеток, или избирательная сортировка, благодаря которой, в частности, образуются зародышевые листки. Если в эксперименте смешать клетки различных зародышевых листков, то клетки, смешанные в беспорядке, вступают в контакт только с клетками этого же листка, то есть клетки сами сортируются и сами разделяются на соответствующие зародышевые листки.

Влияние факторов роста. С помощью взаимодействия клеток друг на друга является секреция клетками, способных к диффузии веществ, изменяющих поведение других клеток. Это гормоны и факторы роста. Факторы роста – вещества, влияющие на деление клеток и рост органа или ткани. К ним относятся факторы роста, полученные из тромбоцитов, эпидермальный фактор роста, факторы роста фибробластов. Гормоны – соматотропин (гормон роста, который начинает синтезироваться плодом уже через 70 дней после оплодотворения), инсулин, лактоген плаценты.

Кроме факторов, стимулирующих рост, существуют белки, подавляющие его: В–интерферон и трансформирующий фактор роста.

Таким образом, деление клеток и рост органов и тканей контролируется взаимодействием стимулирующих и подавляющих рост гормонов, что в свою

очередь регулирует клеточный рост, и митоз может быть остановлен прежде, чем клетки перейдут границы дифференцировки, определенные для них генетически.

### **3 Значение процессов гибели клеток в развитии зародышей**

**Апоптоз** – генетически запрограммированная гибель клеток, благодаря которой в ходе эмбриогенеза происходит исчезновение ненужных органов или частей органов.

В целом эмбриональное развитие происходит с образованием большого избытка клеток, которые своевременно подвергаются апоптозу. Это создает запас клеточного материала и возможность последовательного развития. В эмбриогенезе одновременно с ростом тканей происходит регрессия частей эмбриональных зачатков, тканей и органов, инволюция провизорных (временных) органов, появление просвета в полых органах.

Механизм апоптоза заключается в том, что в отличие от некроза – патологической массивной гибели клеток, расположенных в одном участке ткани, при апоптозе гибнут единичные клетки, расположенные в ткани мозаично, их гибель происходит запрограммированно в результате воздействия специально синтезируемых белков апоптоза.

Под действием белков апоптоза происходит упорядоченное расщепление ДНК, в отличие от некроза, где расщепление ДНК незакономерное, случайное. Таким образом, апоптоз представляет собой регуляцию числа клеток в развивающихся тканях, участвует в перестройке тканей, в исчезновении рудиментальных зачатков, в элиминации дефектных клеток. Наиболее выражены процессы апоптоза в нервной системе, где в ходе гистогенеза гибнет до 85 % всех нейронов.

Все морфологические процессы находятся под контролем семейства генов, которые называются гомеозисными генами. В геноме млекопитающих их 38. Они сгруппированы в четыре комплекса и расположены в определенных хромосомах. Гомеозисные гены содержат гомеобокс (участок ДНК, содержащий определенное количество пар нуклеотидов), который обуславливает одинаковую функцию генов, поэтому гомеозисные гены обеспечивают развитие признаков, общих для всех видов животных (образование зародышевых листков, осей, нервной системы и т. д.).

### **4 Дифференцировка клеток.**

В многоклеточном организме все клетки приспособлены для выполнения определенных функций. Нервные клетки, клетки крови, кости, эпителия, хрусталика – все они совершенно разные. При этом геном всех этих клеток одинаков, за редкими исключениями (например, эритроциты человека не имеют ядра, а в иммунных клетках происходят генетические перестройки). В каждой клетке работают далеко не все гены, а только их определенный набор. В зависимости от того, какой набор генов включен в той или иной клетке (или, как говорят, **экспрессируется** в данной клетке), она принадлежит к тому или иному **клеточному типу**. Все клетки многоклеточного организма появляются в результате деления одной–единственной клетки – оплодотворенной яйцеклетки, или **зиготы**.

По мере формирования многоклеточного организма происходит **дифференцировка клеток** (англ. to differ – различаться) – включение и выключение

определенных генов и специализация клетки для выполнения тех или иных функций, приобретение ею черт того или иного клеточного типа. В некоторых случаях этот процесс обратим, и клетка может вернуться в менее дифференцированное состояние (дедифференцироваться), после чего возможно превращение в другой клеточный тип, но по мере дальнейшей дифференцировки она, как правило, становится необратимой.

Выделяют **терминально дифференцированные клетки** – те, которые уже не могут дедифференцироваться, например, поперечно-полосатые мышечные волокна, большинство нейронов.

Как правило, дифференцированные клетки не могут делиться (представьте, как смог бы поделиться нейрон со всеми его отростками и синапсами, или мышечное волокно с его сократимым скелетом). По мере дифференцировки способность клетки к делению угасает. То есть в организме делятся в основном клетки, еще не приобретшие специфических черт определенного клеточного типа. Исключение составляют, например, гепатоциты (клетки печени), способные делиться в дифференцированном состоянии. С этим связывают высокую способность к регенерации, характерную для печени.

В основном делятся в многоклеточном организме так называемые **стволовые клетки** – это недифференцированные предшественники одного или нескольких клеточных типов. При делении стволовой клетки образуется две дочерних клетки, одна из которых становится снова стволовой (за счет чего не уменьшается общее число стволовых клеток), а вторая вступает на путь дифференцировки и в конце концов превращается в терминально дифференцированную клетку того или иного типа.

За исследования стволовых клеток Гёрдону и Яманаке в 2012 году присуждена Нобелевская премия. Их изучение крайне важно для регенеративной медицины, прежде всего, для выращивания искусственных органов. Ученые уже существенно продвинулись по этому пути и научились получать из стволовых клеток различные искусственные органы и ткани.

## **5 Явления эмбриональной индукции в механизмах онтогенеза**

**Эмбриональная индукция** – это направление гистогенетического процесса в нужное русло путем выделения одним зачатком веществ – индукторов, действующих на другой зачаток ткани. В качестве индукторов могут быть различные факторы – питательные вещества, кислород, уровень pH, концентрация солей, гормоны, медиаторы. При этом клеточный материал, на который воздействует индуктор, не индифферентен, то есть имеет место не односторонняя индукция, а взаимодействие частей развивающегося зародыша. Способность эмбрионального материала реагировать на различные индукционные влияния называется *компетентностью* (эмбрионального материала). Иными словами, индукция – это влияние микроокружения, которое приводит к экспрессии генов, компетентных реагировать на данные факторы.

Поведение клеток в процессе развития не является только их собственной функцией, оно обусловлено интеграционными связями между клетками, которые возникают в определенных условиях существования и в определенное время индивидуального развития. Как только в результате дробления возникли два первых бластомера, каждый из них становится неразрывной частью новой биологической системы; эта система и определяет его дальнейшее поведение.

При нормальном развитии направление дифференцировки строго определено окружением. Если на ранних стадиях развития клетки слабо детерминированы и мало дифференцированы – в ходе развития происходят изменения в самих клетках и формируется биосистема с установившимися внутренними связями, саморегуляцией, относительной автономностью. Чем выше дифференцировка системы, тем меньше вероятность передетерминации.

В эксперименте можно произвести передетерминацию клеток зародыша, поместив их в другие условия развития. При трансплантации участка зародыша на ранних стадиях развития его клетки легко адаптируются к новым условиям, передетерминируются и развиваются уже в новом окружении. В эксперименте таким образом можно передетерминировать закладку органа. Но чем выше дифференцировка ткани, тем меньше вероятность передетерминации.

## **6 Генетические механизмы детерминации и дифференцировки**

Самые важные понятия в экспериментальной эмбриологии – понятия дифференциация и детерминации, отражающие основные явления преемственности, последовательности процессов развития организма. В онтогенезе непрерывно происходят процессы дифференциации, то есть появляются новые и новые изменения между разными участками зародыша, между клетками и тканями, возникают разные органы. По сравнению с исходной в развитии яйцеклеткой организм кажется необычайно сложным. Дифференцировка – это такое структурное, биохимическое или иное изменение развития организма, при котором относительно однородное превращается во всё более различное, касается ли это клеток (цитологическая дифференциация), тканей (гистологическая дифференциация) или органов и организма в целом, идёт речь о морфологических или о физиологических изменениях. При выявлении причинного механизма тех или иных дифференцировок употребляется термин детерминация. Детерминированной называют часть зародыша с того момента, когда она несёт в себе специфические причины своего дальнейшего развития, когда она может развиваться путём самодифференцировки в соответствии со своим перспективным развитием. Согласно Б.И. Балинскому детерминацией надо называть устойчивость начавшихся процессов дифференциации, их тенденцию развиваться в намеченном направлении, не смотря на изменение условий, необратимость прошедших изменений.

Тело животного построено из сравнительно небольшого количества легкоразличимых типов клеток – примерно из 200. Различия между ними столь ясны потому что, в дополнение к многочисленным белкам, необходимым любой клетке организма, клетки разных типов синтезируют свой собственный набор специализированных белков. В клетках эпидермиса образуется кератин, в эритроцитах – гемоглобин, в клетках кишечника – пищеварительные ферменты и т.д. Может возникнуть вопрос: не объясняется ли это просто тем, что клетки обладают разными наборами генов? Клетки хрусталика могли бы, например, утратить гены кератина, гемоглобина и т.д., но сохранить гены кристаллинов; или, же в них могло бы избирательно увеличиваться число копий кристаллиновых генов путём амплификаций. Однако это не так, целый ряд исследований показывает, что клетки почти всех типов содержат один и тот же полный геном, который был в оплодотворённом яйце. По-видимому, клетки различаются не потому, что содержат различные гены, а потому что они экспрессируют разные гены. Активность генов

подвержена регуляции: они могут включаться и выключаться. Наиболее убедительные данные о том, что несмотря на видимое изменение клеток при их дифференцировке, сам геном остаётся у них неизменным, были получены в опытах с пересадкой ядер в яйца амфибий. Ядро яйца предварительно разрушают, облучая ультрафиолетом, и микропипеткой пересаживают ядро дифференцированной клетки, например, из кишечника, в оплодотворённое яйцо. Таким образом, можно проверить, содержит ли ядро дифференцированной клетки полный геном, равноценный геному оплодотворённого яйца и способный обеспечить нормальное развитие зародыша. Ответ оказался положительным; в этих опытах удавалось вырастить нормальную лягушку, способную производить потомство.

## 7 Генетический контроль развития

Раздел генетики, который занимается изучением наследственных основ онтогенеза человека, называется *онтогенетикой*.

Основой генетического исследования онтогенеза является анализ действия гена на формирование признака. В онтогенезе растений, животных и человека осуществляется ряд основных процессов: рост, дифференцировка тканей, морфогенез (формирование органов и признаков).

Все клетки конкретного организма содержат одну и ту же информацию, закодированную в ДНК, которую получила зигота при оплодотворении. В ходе развития зиготы формируется огромное разнообразие различных типов клеток, у позвоночных животных – это несколько сот типов.

Основной вопрос, на который должна ответить онтогенетика, состоит в том, *как при наличии одинакового комплекта генов во всех соматических клетках многоклеточного организма получается разнообразие его тканей и органов*.

### Экспрессия генов в процессе онтогенеза

В 1961 г. Франсуа Жакоб, Жак Люсьен Моно и Андре Мишель Львов открыли принцип регуляции активности генов во времени у бактерий (за что удостоены Нобелевской премии). Суть принципа состоит в том, что в каждый момент бактерия использует лишь часть своих генов для образования разных молекул. Эти экспрессирующиеся гены *включаются* посредством продуктов питания, получаемых клеткой из внешней среды. Не нужные в данный момент гены *выключены* и могут быть включены последовательно по мере надобности с помощью тех продуктов, которые нарабатаны в связи с экспрессией предыдущих генов.

Этот же принцип действует и в клетках эукариот. В разное время в разных типах клеток «работают» разные гены, действие которых необходимо для синтеза белков данного типа ткани. Только в клетках поджелудочной железы человека работают гены, необходимые для синтеза белка – гормона инсулина, в эритроцитах – гены, контролирующие синтез гемоглобина, в клетках гипофиза – контролирующие синтез гормона роста соматотропина и т. д.

Небольшая часть генов постоянно сохраняет активность в клетках всех типов. Иногда их называют генами «домашнего хозяйства». Это гены, контролирующие синтез рибосомальной, транспортной РНК, белков–гистонов, входящих в состав хромосом, протекание процессов митоза и ряд других функций клетки.

Подготовка к онтогенезу у позвоночных животных начинается задолго до оплодотворения и зависит от генотипа матери. В формировании яйцеклетки принимает участие весь набор генов диплоидного материнского организма (еще до мейоза) за счет

активного синтеза иРНК. Эта запасная иРНК обеспечивает начальные фазы развития зиготы после оплодотворения (безъядерные яйца беспозвоночных и амфибий после их активации сохраняют способность развиваться до стадии поздней бластулы). Кроме того, еще до мейоза формируется цитоплазма яйцеклетки с находящимися в ней плазмогенами. Мужские клетки содержат настолько мало цитоплазмы и плазмогенов, что практически не оказывают влияния на зиготу. К моменту оплодотворения цитоплазма яйцеклетки локально неоднородна, т. е. яйцеклетка дифференцирована еще до оплодотворения. Сразу после оплодотворения гены *репрессированы* (неактивны), затем происходит их *дерепрессия* – активация. Неодинаковое пространственное распределение различных веществ в цитоплазме яйцеклетки является причиной того, что при дроблении зиготы в бластомеры попадает разное количество тех или иных веществ цитоплазмы (рис. 43). Разные участки цитоплазмы активируют разные гены.

*Итак, «вступление» в действие в разных клетках разных генов реализуется взаимодействием между ядром и разнородной цитоплазмой, а затем по мере дифференцировки, взаимодействием между разными тканями – через гормоны.*

Продукты этих взаимодействий и «включают» в работу соответствующие гены.

Гормоны – биологически активные вещества, которые выделяются железами внутренней секреции или скоплениями специализированных клеток организма, в онтогенезе эукариот имеют огромное значение.

Они оказывают целенаправленное действие на другие органы и ткани. Каждый гормон активизирует свою группу генов: адреналин включает синтез ферментов, расщепляющих гликоген мышц до глюкозы, инсулин влияет на образование гликогена из глюкозы в печени и т. д.

В основе развития лежит каскадный принцип: вещества, синтезированные на предыдущей или более ранних стадиях, дерепрессируют гены последующей стадии.

На этапе *ген (ДНК) → иРНК → белок* действие генов во многом хорошо изучено. На этапе *белок → орган → признак* до сих пор остается больше загадок, чем достоверных фактов.