

Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский
университет имени академика И.П. Павлова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Кафедра медицинской биологии и генетики

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ И ПАТОЛОГИЯ КЛЕТКИ

Часть III

**КЛЕТОЧНЫЕ ДЕЛЕНИЯ.
МИТОЗ, МЕЙОЗ, АПОПТОЗ,
КАНЦЕРОГЕНЕЗ, ГАМЕТОГЕНЕЗ**

Курс лекций для студентов-медиков

Подписано в печать 04.12.19. Усл. печ. л. 3,25.
Формат 60×84 1/16. Электронная библиотека. Заказ № 301/19.
197022, Санкт-Петербург, улица Льва Толстого, 6-8.
РИЦ ПСПбГМУ



**Санкт-Петербург
РИЦ ПСПбГМУ
2019**

УДК 576.3
ББК 28.05
М75

Авторы:

**М.А. Корженевская, Л.Е. Анисимова, В.П. Болонина, Е.В. Карпова,
С.В. Розенфельд, Е.Ф. Того, Н.Н. Степанов**

Рецензент:

д.м.н., профессор кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии ПСПбГМУ
им. И.П. Павлова **В.Л. Быков**

Утверждено на заседании ЦМК морфологических дисциплин. Протокол №2
от 24.09.2019 г.

Молекулярная биология и патология клетки : курс лекций для
М75 студентов медицинского вузов. В 4-х ч. / М.А. Корженевская [и др.]. —
Часть III. Клеточные деления. Митоз, мейоз, апоптоз, канцерогенез, гаме-
тогенез. — СПб.: РИЦ ПСПбГМУ, 2019. — 52 с.

Данное пособие представляет собой дополненное и исправленное издание курса лекций по молекулярной биологии клетки, который читают студентам-первокурсникам в первом семестре на кафедре медицинской биологии и генетики. В нем освещен круг вопросов, касающихся молекулярных основ клеточной биологии и молекулярных причин патогенеза некоторых заболеваний человека. С учетом новейших достижений в области молекулярной биологии в пособии изложены современные представления о строении и функциях поверхностного аппарата клетки, клеточных органоидов и ядра, матричных процессах. В пособии дана характеристика генома человека, описаны структура и уровни регуляции работы генов, клеточный цикл и способы деления клеток, апоптоз, молекулярные основы канцерогенеза, а также ранние этапы эмбрионального развития и его генетический контроль. Особое внимание уделено описанию на клеточном и молекулярном уровнях причин некоторых заболеваний человека, таких как – лизосомальные болезни накопления, митохондриальную патологию, инсулинзависимый и независимый диабет, синдром тестикулярной феминизации, серповидно-клеточную анемию, различные формы талассемий и др.

Разделы и главы пособия составлены в соответствии с учебной программой, логично и последовательно, знакомство с ними является необходимым условием для последующего освоения специальных профильных клинических дисциплин.

Оглавление

Список сокращений	4
1. Рост и деление клеток	5
1.1. Клеточный цикл	5
1.2. Интерфаза	7
1.2.1. G ₁ -период	8
1.2.2. S-период	10
1.2.3. G ₂ -период	10
1.3. Факторы роста клеток	11
2. Митоз	13
2.1. Профаза	13
2.2. Метафаза	15
2.3. Анафаза	17
2.4. Телофаза и цитокinesis	19
2.5. Биологическое значение митоза	20
3. Апоптоз	21
4. Молекулярные основы канцерогенеза	25
5. Мейоз	33
5.1. Первое деление мейоза	33
5.1.1. Профаза I	33
5.1.2. Метафаза I	37
5.1.3. Анафаза I	37
5.1.4. Телофаза I	37
5.2. Второе деление мейоза	38
5.3. Биологическое значение мейоза	38
5.4. Генетический контроль мейоза	40
6. Гаметогенез	41
6.1. Сперматогенез	41
6.1.1. Спермиогенез	43
6.2. Овогенез	44
6.2.1. Фолликулогенез	46
Литература	51

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ГСГ	— гены стабильности генома
ГХКЦ	— гены хранители клеточного цикла
ДНК	— дезоксирибонуклеиновая кислота
КАМ	— клеточные поверхностные адгезивные молекулы
КГ	— комплекс Гольджи
КЦ	— клеточный цикл
ОСС	— опорно-сократительная система
ПАК	— поверхностный аппарат клетки
ПК	— протеинкиназа
ППК	— первичные половые клетки
РС	— рибосомы
САМ	— субстратные адгезивные молекулы
СК	— синаптические контакты
СОСА	— субмембранный опорно-сократительный аппарат
ТФ	— тонкие фибриллы
ФР	— факторы роста
ЭПС	— эндоплазматическая сеть
cdk	— циклинзависимые протеинкиназы (cyclin-dependent kinases)

1. РОСТ И ДЕЛЕНИЕ КЛЕТОК

Клетка является единицей всего живого: она обладает способностью размножаться, видоизменяться и реагировать на поступающие извне сигналы. В 1838–1939 гг. немецкие ученые — ботаник М. Шлейден и зоолог Т. Шванн обобщили результаты наблюдений о строении организмов в единую теорию, утверждавшую, что клетки, содержащие ядра, представляют собой структурную и функциональную основу всех живых существ. Другой немецкий ученый врач Р. Вирхов постулировал еще одно положение клеточной теории: каждая новая клетка может возникнуть только путем деления предшествующей клетки.

Организм взрослого человека включает в себя примерно $5 \cdot 10^{13}$ клеток. Для поддержания нормального состояния многоклеточности каждую секунду должны образовываться миллионы клеток. В случае прекращения деления всех клеток организма человек погибает через несколько дней, как это и происходит после радиационного облучения. Изучение процессов клеточного деления представляет собой несомненный научный и практический интерес, поскольку деление обеспечивает биологическое бессмертие клеток путем непрерывного обновления цитоплазмы и безошибочного воспроизведения генетического материала.

1.1. Клеточный цикл

Время жизни клетки от одного деления до другого называется клеточным циклом. Длительность клеточных циклов в разных тканях человеческого организма различна. Эмбриональные клетки, к примеру, делятся каждый час, клетки эпителия кишки — один-два раза в сутки, клетки печени — один раз в год, а нервные клетки практически не делятся. Графически клеточный цикл представлен на рисунке 1.

На М-фазу (митоз) приходится примерно 10 % времени клеточного цикла эукариотической клетки, а на интерфазу — 90 % времени.

Интерфаза состоит из трех периодов:

- пресинтетического, длительностью до нескольких суток;
- синтетического, обычно продолжается 3–5 часов;
- постсинтетического, длится 6–8 часов.

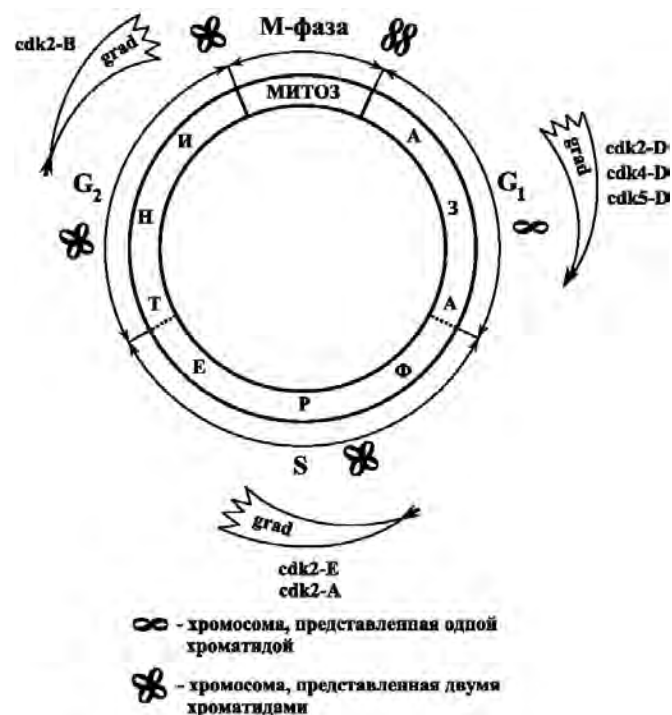


Рис. 1. Клеточный цикл.
cdk — циклинзависимые протеинкиназы;
стрелками указаны градиенты их концентраций.

На варианте обычного чередования интерфазы и деления клетки основано формирование многоклеточного организма, именно так происходит при дроблении бластомеров. Однако по мере роста и развития организма возникает необходимость в специализации и дифференцировке клеток.

В организме человека можно обнаружить популяции клеток, различающихся по времени их нахождения в периодах клеточного цикла. Существует, например, популяция клеток, постоянно находящихся в клеточном цикле. Это стволовые клетки крови, кишки или семенных канальцев. Они жизненно необходимы для постоянного обновления тканей. Другие клетки имеют более сложный клеточный цикл, который включает период дифференцировки с сохранением способности к делению. Такие клетки могут уходить из клеточного цикла в состояние, называемое покоем или

R-периодом (от англ. rest — отдых), на неопределенно долгое время, которое может длиться годами. В случае изменения обычных условий в организме, например, при хирургическом вмешательстве, такие клетки могут вернуться обратно в клеточный цикл. Покоящиеся клетки имеются среди гепатоцитов, клеток эпителия кровеносных сосудов и клеток раковых опухолей. Установлено, что покоящиеся клетки устойчивы к радиации, химическому воздействию и недостатку питательных веществ.

Кроме того, существуют популяции долгоживущих клеток, которые могут уходить из клеточного цикла на терминальную дифференцировку и терять способность к делению. Для таких клеток характерна фаза старения, а их клеточный цикл завершается гибелью. Примером терминально дифференцированных клеток являются нейроны, кардиомиоциты, эритроциты, палочки и колбочки сетчатки глаза

1.2. Интерфаза

Обратимся теперь к более подробному рассмотрению интерфазы. В световой микроскоп интерфаза выглядит как период покоя, или как антракт на сцене. На самом деле, в этот момент клетка активно готовится к делению. Она увеличивается в размере, и в ней в строгой последовательности происходит ряд важных событий.

Для нормального протекания интерфазы необходима работа специфических ферментов — циклинзависимых протеинкиназ (cdk — cyclin-dependent kinases), которые могут быть активны только в комплексе с белками-циклинами (E, D, A, B). Последние постоянно синтезируются на протяжении клеточного цикла и внезапно разрушаются в начале анафазы. Некоторые циклины могут входить в состав транскрипционных факторов, например, циклин H является транскрипционным фактором РНК-полимеразы II. Циклинзависимые протеинкиназы фосфорилируют белки ядерной оболочки, цитоскелета и транскрипционные факторы, что приводит к разборке ядерной оболочки, перестройке цитоскелета и включению генов, ответственных за репликацию ДНК.

Основными задачами, решаемыми клеткой в интерфазе, являются подготовка к делению и обеспечение надежной и корректной передачи генетического материала дочерним клеткам.

1.2.1. G_1 -период

В пресинтетическом, или G_1 , периоде происходит синтез циклина Д, который активирует циклинзависимые протеинкиназы (cdk 2/4/6). Функция cdk сводится к фосфорилированию белков, что вызывает их активацию, необходимую для перехода в S-период. Например, ингибитором транскрипционного фактора E2F является белок RB. Фосфорилирование последнего приводит к высвобождению E2F, который включает гены, отвечающие за синтез ферментов репликации (рис. 2, А и Б). Освобожденный от связи с RB фактор транскрипции E2F функционирует на протяжении всего S-периода и подвергается убиквитинзависимому протеолизу по окончании репликации ДНК.

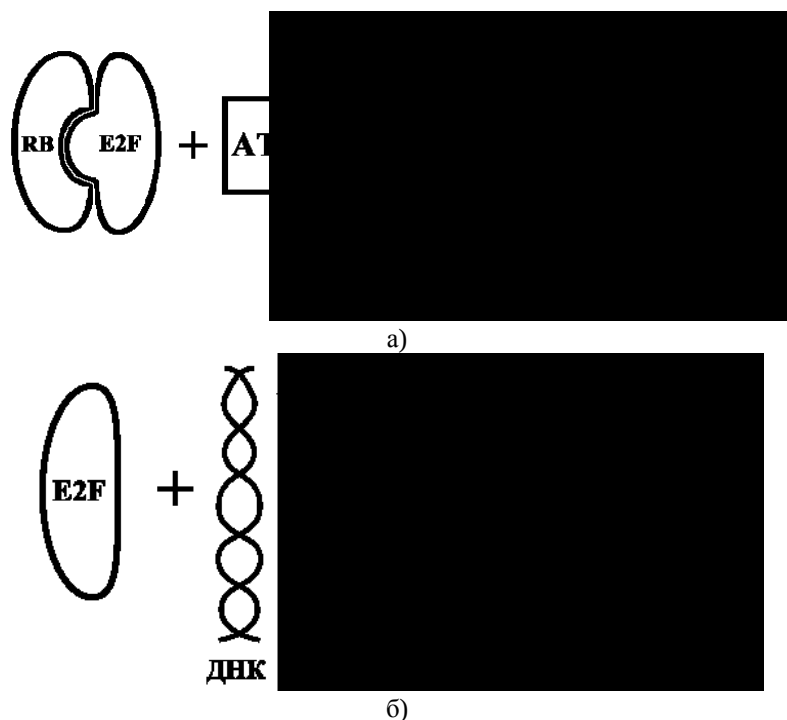


Рис. 2. регуляция перехода клетки из G_1 в S переход:

а — фосфорилирование белков, необходимых для перехода в S-период;

б — включение генов репликации

В G_1 -периоде выделяют рестрикционную точку, проходя через которую клетка становится безразличной к внешним сигналам, активирующим или ингибирующим клеточный цикл. При этом происходит проверка ДНК на наличие повреждений, обнаружение которых приводит к задержке клетки в G_1 -периоде.

Ключевую роль в остановке клеточного цикла играет белок P53, который в ответ на любые неспецифические, повреждающие ДНК воздействия (ионизирующая радиация, свободные радикалы, действие эндонуклеаз), останавливает клеточный цикл, подавляет репликацию ДНК и стимулирует ее репарацию. При этом активируются гены p21 и p27, продукты которых ингибируют cdk. Cdk-связывающий белок p21 работает в стареющих клетках, при этом он может блокировать не только cdk, но и ДНК-полимеразу и другие важные клеточные белки, а белок p27, взаимодействуя с комплексами циклин-cdk, вызывает подавление клеточного роста и выход клетки из клеточного цикла (рис. 3).

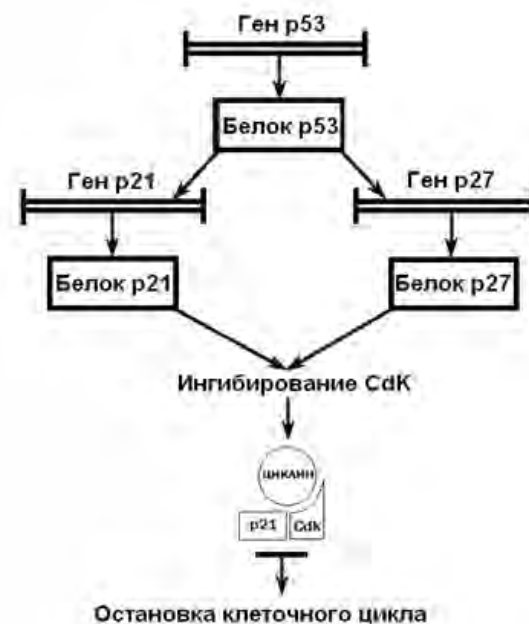


Рис. 3. Генетический контроль остановки клеточного деления

Клетка задерживается в G_1 -периоде до тех пор, пока повреждения ДНК не будут восстановлены ферментами репарации. Повреждения обязательно должны быть исправлены, прежде чем произойдет репликация ДНК. Накопления нарушений в последовательности нуклеотидов приводят к появлению мутаций и, как следствие, к возникновению опухолей. Например, доминантные мутации гена, кодирующего белок RB, могут приводить к стимуляции клеточных делений, в результате чего происходит образование злокачественной опухоли сетчатки — ретинобластомы.

К стимуляции клеточного деления и образованию опухоли могут приводить мутации гена p53, вызывающие нарушения связывания белка p53 с ДНК; репликация при этом не блокируется и клетка продолжает клеточный цикл без остановки.

В конце G_1 -периода циклин Д разрушается, и начинается синтез циклинов А и Е, концентрация которых будет максимальной в S-периоде.

1.2.2. S-период

В синтетическом, или S-периоде, происходит репликация ДНК, синтез белков-гистонов и удвоение клеточного центра, а также наступает вторая контрольная точка проверки правильности репликации.

Начало синтетического периода связано с включением генов, контролирующих появление S-фактора. В S-периоде каждая хромосома содержит две сестринские хроматиды. Если при репликации ДНК происходят ошибки, то они также должны быть отрепарированы, иначе клетка не сможет выйти из S-периода. К болезням, обусловленным дефектами генов, отвечающих за репарацию ДНК, относят весьма внушительный список серьезных состояний человека: синдром атаксии–телеангиоэктазии, анемию Фанкони, пигментную ксеродерму, прогерия Гетчинсона — Гилфорда, синдром Вернера, синдром Луи-Бар, синдром Блума.

1.2.3. G_2 -период

В постсинтетическом, или G_2 -периоде, синтезируются белки-тубулины и MPF (митозстимулирующий/митозпродвигающий фактор). Кроме того, происходит дезорганизация центриолярных сателлитов, формирование гало в клеточном центре и включается пострепликативная репарация, представляющая собой третью проверочную точку повреждений ДНК.

Митозстимулирующий фактор MPF представляет собой комплекс из субъединиц, включающих белок циклин В и протеинкиназу Р34. Эти субъединицы обладают киназной и регуляторной активностью. Появление MPF в клетке вызывает конденсацию хромосом и фосфорилирование трех основных субстратов: 1) белков А, В и С ламины (что приводит к разборке ламины); 2) гистонов H1, в результате чего происходит конденсация хромосом; 3) белков субмембранного опорно-сократительного аппарата (СОСА), что вызывает разрушение интерфазных микрофибрилл и микротрубочек и далее построение новых, необходимых для деления.

Существуют несколько причин, вызывающих клеточное деление. Наиболее важной причиной является увеличение размера или объема клетки, то есть клеточный рост. Размер клетки определяется соотношением объема ядра и цитоплазмы в период интерфазы. Так, в G_1 -период соотношение объема ядра и цитоплазмы меньше 1, так как больше растет объем цитоплазмы ($Y/CП < 1$). В S-периоде больше растет ядро и соотношение объема последнего к объему цитоплазмы больше 1 ($Y/CП > 1$). В G_2 -периоде объем ядра и цитоплазмы изменяются пропорционально и соотношение их объемов примерно равно 1 ($Y/CП = 1$).

1.3. Факторы роста клеток

Для прохождения клеточного цикла клетки нуждаются в сигналах от организма или соседних клеток. К таким внутри- и внеклеточным сигналам относят факторы роста (ФР), или митогены, которые активируют циклины и циклинзависимые киназы. Высокоспецифичные белки — факторы роста — синтезируются в G_2 -периоде и присутствуют в клетке в малых количествах — 10^{-9} – 10^{-11} моля. Они действуют в разных комбинациях и при этом избирательно активируют пролиферацию клеток, а также контролируют их размер. На клеточных мембранах к факторам роста имеются рецепторы. Примерами факторов роста являются: ТФР, или PDGF (тромбоцитарный фактор роста), ФРЭ, или EGF (фактор роста эпидермиса), ИЛ2, или IL2 (интерлейкин 2), ИФР, или IGF (инсулиноподобный фактор роста) (табл. 1).

Избыточная секреция факторов роста может стать одной из причин возникновения злокачественных опухолей.

Вступления клеток в деление стимулируется, помимо прочего, и образованием белка MPF. В отсутствие факторов роста, клетка прекращает прохождение клеточного цикла и переходит в состояние покоя. Важную роль в состоянии покоя играет белок-репрессор RB, который дефосфорили-

лирован и поэтому прочно связан с транскрипционным фактором E2F, что препятствует транскрипции ДНК и запрещает клеточное деление.

Таблица 1. Основные полипептидные факторы роста, участвующие в регуляции размножения клеток

PDGF	Фактор роста из тромбоцитов
EGF	Эпидермальный фактор роста
FGF	Фактор роста фибробластов
IGF-I (SmC)	Инсулиноподобный фактор роста I (соматомедин C)
IGF-I (SmA)	Инсулиноподобный фактор роста II (соматомедин A)
TGF- α , TGF- β	Трансформирующие факторы роста
IL-(1, 2, 3)	Интерлейкины (1, 2, 3 и т.д.)
CSF-(1, 2)	Факторы, стимулирующие рост клеточных колоний

В результате подготовки клетки к делению происходит реорганизация цитоскелета, при этом аппарат Гольджи и эндоплазматическая сеть (ЭПС) разбираются на фрагменты, чтобы затем равномерно распределиться между двумя дочерними клетками. Итогами клеточного цикла являются: репликация ДНК, репарация ДНК, осуществляемая в трех проверочных точках и обеспечивающая выбор между продолжением клеточного цикла или апоптозом. Гены белков-циклинов и cdk-ПК являются главными кандидатами на роль генов злокачественной трансформации

В дальнейшем клетка вступает в клеточное деление, называемое митозом (от греч. mitos — нить).

2. МИТОЗ

Митоз — это не прямое деление клетки с образованием фигур деления, при котором из одной диплоидной материнской клетки образуются две дочерние диплоидные клетки, идентичные материнской (рис. 4). Митотическое деление характерно только для эукариотических клеток.

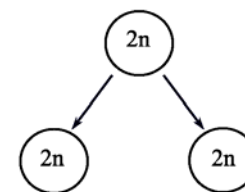


Рис. 4. Образование двух дочерних диплоидных клеток, идентичных материнской

Диплоидной называют клетку, имеющую двойной набор хромосом, в котором каждая хромосома имеет себе пару или гомолога. Гомологами, или гомологичными хромосомами, называют хромосомы одинаковой формы и размера, несущие гены, отвечающие за одни и те же признаки. В каждой паре гомологов один получен от отца, а другой — от матери. В митозе обычно выделяют пять стадий, различающихся фигурами деления, которые можно наблюдать в световой микроскоп.

2.1. Профаза

Первая стадия митоза называется профазой (рис. 5).

В профазе последовательно происходят: 1) разборка поровых комплексов ядра; 2) конденсация хроматина за счет фосфорилирования гистона H1; 3) фосфорилирование белков ламины A и C, разборка ламины до мембранных пузырьков, в составе которых остается белок B (рис. 6); формирование вокруг центромеры хромосом особых белковых комплексов — кинетохоров, к которым далее будут прикрепляться нити веретена деления. На этом этапе каждая хромосома состоит из двух сестринских хроматид, которые имеют хромомерный уровень организации и объединены когериновым белковым комплексом.

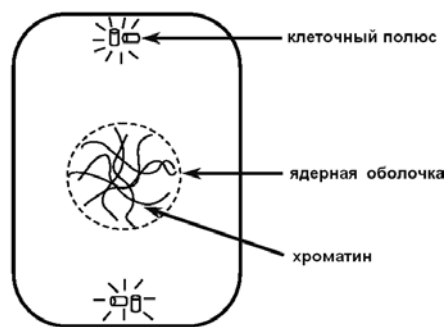


Рис. 5. Профаза митоза

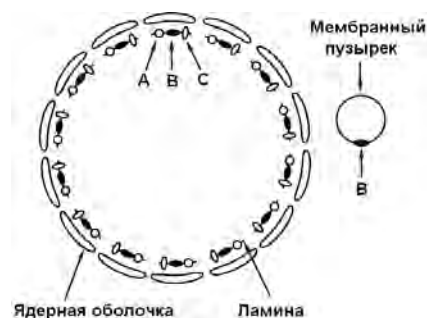


Рис. 6. Разборка ламины и ядерной оболочки до мембранных пузырьков с белком В

Кинетохор представляет собой два трехслойных полудиска, состоящих из фибрилл ДНК, обеспечивающих связь с центромерой, белков механохимической системы — кинезина, динеина и транслокаторных белков, имеющих родство к тубулину (рис. 7).

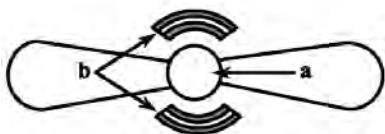


Рис. 7. Строение кинетохора:
а — центромера; b — два трехслойных полудиска кинетохора

Динеин и кинезин — это белковые комплексы с АТФазной активностью, которая при взаимодействии с микротрубочками усиливается в 6 раз. Энергия гидролиза АТФ используется этими ферментами для продвижения кинетохора по поверхности микротрубочки, причем динеин продвигает кинетохор от «плюс»- к «минус»-концу микротрубочки, а кинезин — наоборот. Оба белка способны прочно присоединяться к хромосомам и перемещать их к полюсам клетки в анафазе.

В завершение профазы происходит расхождение удвоенного клеточного центра и обозначение полюсов клетки.

От центриолей клеточного центра начинают формироваться микротрубочки, образующие астральные, кинетохорные и полюсные нити веретена деления (рис. 8).



Рис. 8. Виды нитей веретена деления

Рост микротрубочек инициируется в случайных направлениях и происходит путем достраивания тубулина к «плюс»-концу микротрубочки, а «минус»-конец фиксируется в веществе цитоплазмы. Правильное функционирование веретена деления поддерживается тонким равновесием между сборкой и разборкой микротрубочек.

2.2. Метафаза

Кинетохорные микротрубочки приводят каждую хромосому в экваториальную область клетки, где хромосомы образуют метафазную пластинку (рис. 9).

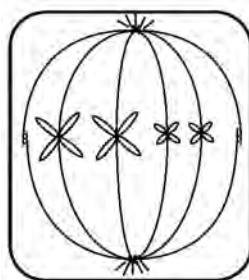


Рис. 9. Метафаза митоза

Хромосомы удерживаются на экваторе натяжением нитей веретена деления. Постоянство длины нитей натяжения, а, следовательно, и удержание хромосом в метафазной пластинке, обеспечиваются процессом непрерывного присоединения тубулинов к «плюс»-концу микротрубочки и отсоединением их же от ее «минус»-конца (рис. 10).

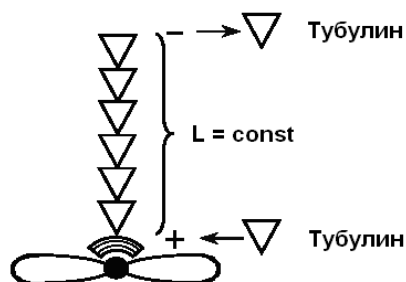


Рис. 10. Строение нитей натяжения

Метафазные хромосомы имеют петельное строение и максимально спирализованы. Фактически хромосома уменьшается в размере в 10^5 раз, для того чтобы предотвратить спутывание или разрыв молекулы ДНК при дальнейшем делении. Отметим еще раз, что в метафазе каждая хромосома представлена двумя сестринскими хроматидами, а каждая хроматида образована одной молекулой ДНК в комплексе с белками.

Метафазные хромосомы имеют свой матрикс (вещество, окружающее хромосому), который состоит из рибонуклеопротеидов, распределившихся между хромосомами после растворения ядрышка.

Соматические клетки каждого вида живых организмов имеют диплоидный набор хромосом, который характеризуется числом, размером и формой. Такой набор хромосом называется кариотип. Форма хромосом определяется расположением центромер: метацентрические — равноплечие, субметацентрические — неравноплечие и акроцентрические — одноплечие. Кроме того, существуют спутниковые хромосомы со вторичной перетяжкой, называемой областью ядрышкового организатора. Она содержит копии генов р-РНК (рис. 11).

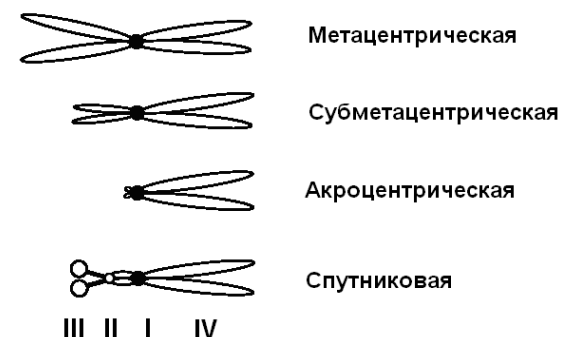


Рис. 11. Форма метафазных хромосом:

I – первичная перетяжка, или центромера;
II – вторичная перетяжка, или ядрышковый организатор;
III – спутник; IV – плечи хромосомы

2.3. Анафаза

В анафазе происходит синхронное расщепление центромеры и хромосом на сестринские хроматиды. Пусковым механизмом этого процесса является увеличение концентрации ионов Ca^{+2} в цитоплазме. Выброс ионов кальция происходит из мембранных пузырьков, скопившихся у полюсов клетки.

В результате осуществления нескольких независимых процессов на веретене деления сестринские хроматиды начинают расходиться к противоположным полюсам клетки (рис. 12).

При этом:

1. Происходит перемещение хроматид и укорочение кинетохорных микротрубочек, связанное с отсоединением тубулина (рис. 13).

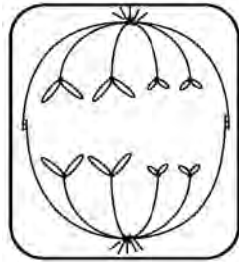


Рис. 12. Анафаза митоза

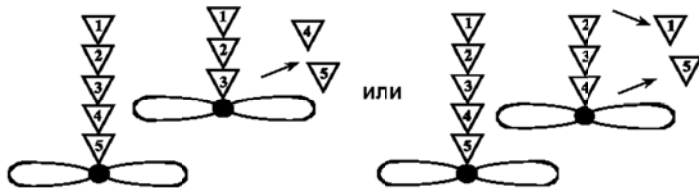


Рис. 13. Механизмы укорочения кинетохорных микротрубочек (цифрами обозначены тубулиновые димеры)

2. Происходит движение кинетохора как скользящего кольца, поддерживающего боковую связь с полимеризованными тубулинами (рис. 14).

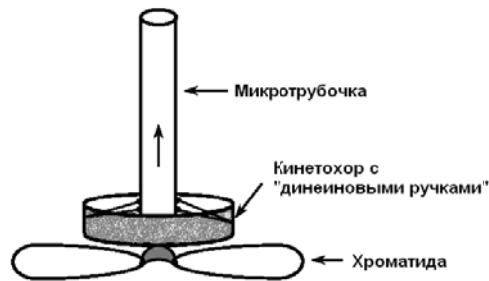


Рис. 14. Движение кинетохора по микротрубочке

3. Происходит раздвижение самих полюсов клетки за счет взаимного антипараллельного скольжения пар полюсных нитей, объединенных транслокаторами, а также за счет укорочения астральных нитей, прикрепленных к поверхностному аппарату клетки (ПАК).

2.4. Телофаза и цитокinesis

Переход от анафазы к телофазе запускается дефосфорилированием белков: гистона H1 и белков ламина А и С. Пузырьки ядерной мембраны с ламиной В связываются с теломерами отдельных хромосом, которые начинают при этом деспирализироваться. Далее пузырьки сливаются между собой и восстанавливают ядерную оболочку.

В клетке возобновляется синтез РНК, восстанавливается ядрышко, и начинается деление цитоплазмы, или цитокinesis (рис. 15).

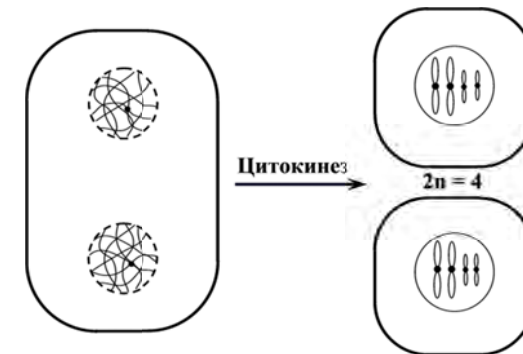


Рис. 15. Телофаза митоза

Важную роль в определении плоскости прохождения цитокinesis играет митотическое веретено. В плоскости метафазной пластинки под прямым углом к длинной оси веретена образуется небольшая складка цитоплазматической мембраны, которую называют бороздой деления. В животных клетках цитокinesis происходит путем образования перетяжки в результате сокращения актиновых и миозиновых филаментов, прикрепленных к внутренней стороне мембраны в области складки. В растительных клетках цитокinesis происходит путем образования перегородки за счет мембранных пузырьков комплекса Гольджи. Значение цитокinesis заключается в обеспечении правильного распределения цитоплазматических органелл. В особых случаях, как, например, при дроблении зиготы, в разные бластомеры попадают разные участки цитоплазмы, содержащие разные виды РНК и белков. Это явление называют овоплазматической сегрегацией. Она играет определяющую роль в дальнейшей судьбе бластомеров.

2.5. Биологическое значение митоза

Биологическое значение митоза состоит в том, что он обеспечивает равномерное распределение генетической информации между двумя дочерними клетками. Благодаря митозу происходит рост и развитие организмов, бесполое размножение и регенерация органов и тканей.

3. АПОПТОЗ

Все клетки могут делиться ограниченное число раз. Это явление называется феноменом Хейфлика, суть которого заключается в том, что клетки запрограммированы на определенное число делений, после чего прекращают деление. Фибробласты человеческого плода способны делиться 50 раз, а фибробласты взрослого человека — 30–40 раз. Очевидно, что для нормального функционирования любого многоклеточного организма должен существовать баланс между обновлением и гибелью клеток. В организме взрослого человека ежедневно погибает порядка 50–70 млрд клеток, а ребёнка до 14 лет — 20–30 млрд.

Суммарная масса клеток, которые на протяжении 1 года жизни подвергаются разрушению, эквивалентна массе тела человека.

В настоящее время принято выделять два типа клеточной гибели: апоптоз и некроз (рис. 16).

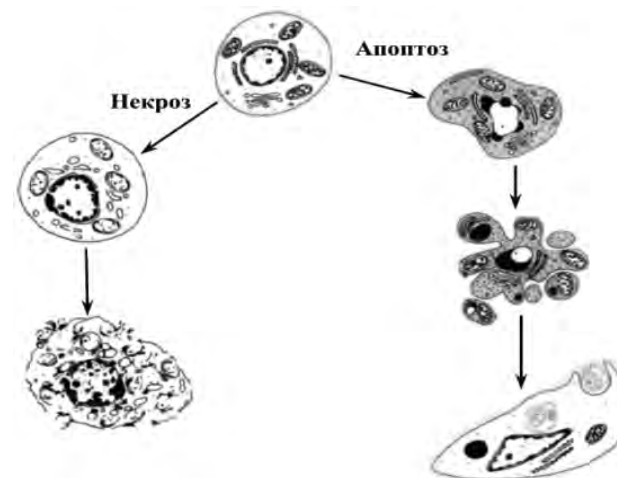


Рис. 16. Различия процессов апоптоза и некроза

Апоптоз — это каскад определенных, запрограммированных метаболических событий, приводящих к самоуничтожению клетки. При апоптозе происходят: 1) конденсация хроматина; 2) фрагментация ядра и цитоплазмы.

мы на мембранные тельца; 3) выпячивания клеточной мембраны; 4) фрагментация клетки с образованием дискретных апоптозных тел, которые в дальнейшем фагоцитируются соседними клетками. Совокупность вышеперечисленных процессов называют запрограммированной клеточной гибелью.

Некроз — это катастрофическое разрушение клеточной целостности в результате повреждающего воздействия. По сравнению с апоптозом некроз характеризуется ранним разрушением клеточной мембраны, сморщиванием митохондрий, отсутствием фагоцитоза соседними клетками продуктов распада.

Апоптоз играет важную роль в следующих процессах.

1. В эмбриональном развитии он участвует в реализации морфогенетических процессов (например, в регрессе личиночных органов).
2. Уравновешивает результаты митоза и способствует физиологическому обновлению клеток.
3. Участвует в элиминации (уничтожении) мутантных клеток или клеток, пораженных вирусом.

Различают 2 основных клеточных пути апоптоза (рецепторно-сигнальный и митохондриальный) и 4 фазы апоптоза: 1) рецепторно-сигнальная (передача сигнала в клетку); 2) адаптерная (активация прокаспаз); 3) эффекторная (активация каспаз и нуклеаз); 4) деградационная — гибель клетки.

Механизм активации апоптоза определяется передачей сигнала клеточной гибели от специфических рецепторов в ядро. Сигналы клеточной гибели продуцируются клетками иммунной системы. Такими сигналами могут быть гормоны или белки целого семейства — TNF (факторы некроза опухолей), которые являются лигандами соответствующих рецепторов клеточной гибели TNFR (рецепторы факторов некроза опухолей): FAS-рецептор (Apo-1/CD-95), TRAILR (DR4, DR5). В результате взаимодействия лигандов с рецепторами в клетке запускается процесс передачи сигналов, активирующих летальные гены (p53, BAX), и синтезируются апоптозные белки (рис. 17).

FAS-рецептор идентичен поверхностному антигену Apo1 и имеет цистеин-богатый экстрацеллюлярный домен. FAS-рецептор активирует целый ряд адаптерных белков — цистеиновых протеиназ, которых называют прокаспазы, они образуют белковые агрегаты, или апоптосомы, таким образом передавая сигнал в клетке. Далее происходит активация эффекторных каспаз, расщепляющих необходимые для нормальной жизне-

деятельности клеточные белки: факторы транскрипции, белки цитоскелета, полимеразы. Расщепление клеточных белков вызывает каскадное развитие апоптоза.



Рис. 17. Схема активации апоптоза

Причинами апоптоза являются внутриклеточные стрессорные факторы, к которым можно отнести гипоксию, онкопротеины, вирусные частицы, бактериальные клетки, прямое повреждение ДНК.

Главным индуктором апоптоза является ген-супрессор опухолей — p53. Усиленное образование белка p53 вызывает апоптоз целого ряда клеточных типов. В клетках белок p53 достаточно быстро подвергается дегградации, поэтому его уровень в них чрезвычайно низок. При получении клеткой стресс-сигнала происходит активация белка p53 и его уровень повышается. Белок p53 присоединяется к поврежденной ДНК и при этом запускается целый ряд событий, приводящих либо к остановке клеточного цикла, либо к апоптозу. Если повреждения ДНК существенны и необратимы, то белок p53 направляет клетку по митохондриальному пути апоптоза. Геном-мишенью белка p53 является ген BAX. Белок BAX стимулирует выход из митохондрий цитохрома C и протеаз, активирующих каспазы и эндонуклеазы, способные резко усилить апоптоз (рис. 18).

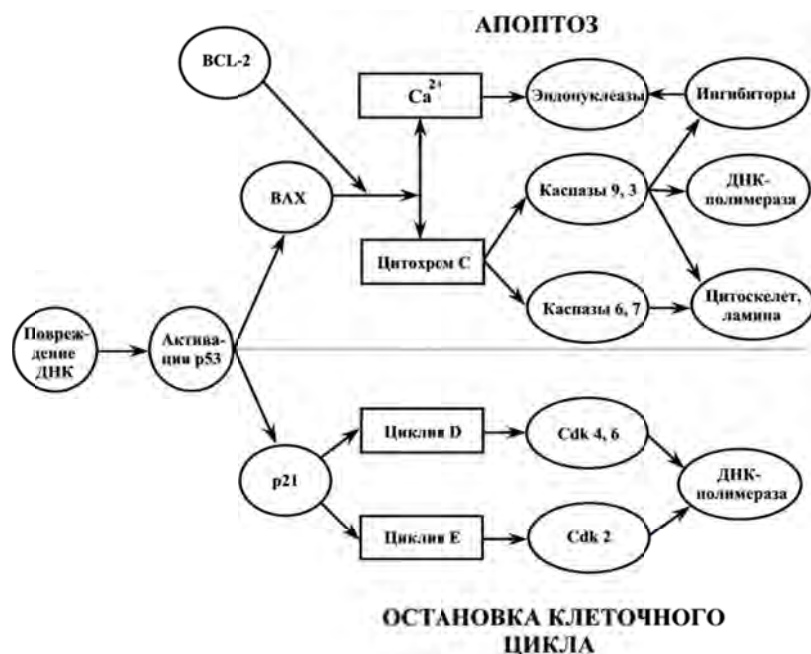


Рис. 18. Схема апоптозного каскада

Кроме индукторов апоптоза, существуют и ингибиторы клеточной гибели, к ним, к примеру, относится продукт гена *bcl-2*, обнаруживаемый в мембранах митохондрий, ядра и ЭПС. Усиленное образование белка *bcl-2* ингибирует апоптоз. Активность гена *bcl-2* регулируется белком *BAX*, который связывается с белком *bcl-2* и инактивирует его, при этом апоптоз вновь запускается. Другими ингибиторами апоптоза являются белки *FLIP*, *FAP* и *SENT*. Все они блокируют активность каспаз.

Механизмы апоптоза, связанные с его ингибированием или усилением, лежат в основе некоторых заболеваний человека. Неспособность клеток претерпевать апоптоз может являться основой патогенеза многих заболеваний человека, включая рак (фолликулярные лимфомы, опухоли молочной железы, яичников и простаты.), вирусные инфекции (герпес, аденовирус) и аутоиммунные заболевания (системная красная волчанка, гломерулонефрит). Аномально ускоренная гибель клеток может привести к синдрому приобретенного иммунодефицита и нейродегенеративным заболеваниям, таким как болезнь Альцгеймера и болезнь Гентингтона.

4. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ КАНЦЕРОГЕНЕЗА

Любой здоровый организм представляет собой сложное сообщество клеток, вынужденных сотрудничать между собой и регулировать свое размножение, рост и даже собственную гибель. Если, положим, даже очень маленькая часть клеток отклониться от такого поведения-сотрудничества, то это поставит под угрозу существование всего многоклеточного организма. Именно такой тип клеточной патологии имеет место при образовании раковых опухолей. При этом отдельные клетки организма оказываются способны причинять вред окружающим соседним клеткам.

Раковые клетки отличаются от нормальных здоровых клеток по набору важнейших злокачественных свойств, которые помогают им наносить окружающим тканям непосредственный ущерб, вызывая боль и гибель целого организма. К таким свойствам следует отнести:

- 1) изменение поверхностного аппарата клеток, приводящее к усилению транспорта метаболитов, нарушению рецепторной функции и механических контактов, вследствие чего возникает способность опухоли к метастазированию;
- 2) изменение роста и деления клеток, сопровождающееся увеличением клеточных размеров и постоянным неограниченным размножением на фоне резкого снижения потребности в факторах роста и способности к запуску апоптоза. Неподчинение клеточных делений регуляторным сигналам приводит к аналогу биологического бессмертия, или иммортализации клеток, которые формируют опухоль;
- 3) изменение адгезивных свойств раковых клеток способствует их инвазивности или прорастанию злокачественных клеток в окружающие нормальные ткани;
- 4) раковые клетки способны дедифференцироваться, в них обнаруживаются белковые компоненты, характерные для эмбриональных клеток;
- 5) раковые клетки характеризуются генетической нестабильностью, как на уровне хромосом, так и отдельных генов.

Способность к неограниченному размножению и генетическая нестабильность являются наиболее важными свойствами раковых клеток, что свидетельствует о тесной связи канцерогенеза с генетическим контролем клеточных делений и контролем стабильности генома (рис. 19).



Рис. 19. Система генетического контроля клеточных делений

В развитие опухолей вовлекается огромное количество разнообразных генов, регулирующих механизмы клеточной пролиферации, репарации ДНК, стабильности хромосом, межклеточных взаимодействий, клеточного старения и апоптоза. Ключевую роль в возникновении и развитии трансформированных клеток играют гены контроля клеточного цикла (КЦ), условно подразделяемые на два семейства.

Гены 1-го семейства обеспечивают стимуляцию клеточных делений; их нормальные аллели называют протоонкогенами. Гены 2-го семейства подавляют клеточные деления; их нормальные аллели называют антионкогенами, или супрессорами опухолевого роста. Исследования последних лет позволили идентифицировать продукты многих генов, которые контролируют сложные пути передачи сигнала и целые сигнальные каскады в клетках, регулируя клеточную пролиферацию, дифференцировку, апоптоз, репликацию и репарацию ДНК. Продуктами протоонкогенов являются, например, белки факторы роста, рецепторы факторов роста, транскрипционные факторы, G-белки, мембранные протеинкиназы. Продуктами же антионкогенов могут быть белки факторы ингибиторы деления.

Так, прямым ингибитором опухолевого роста является белок RB, а апоптозными промоторами гибели дефектных клеток являются белки — продукты генов p53, p21 и p16.

Мутации генов 1-го и 2-го семейства способствуют гиперактивности клеточных делений или возникновению дефектов в ферментах репарации и репликации, которые приводят к накоплению неисправляемых повреждений ДНК, к хромосомным разрывам и нарушению стабильности клеточного генома (MSH, MLH, BRCA).

Мутантные аллели генов из всех семейств принято называть онкогенами, поскольку они усиливают клеточный рост и деление, препятствуют апоптозу и приводят к разрывам ДНК и хромосом.

Процесс возникновения злокачественных опухолей можно рассматривать как генетическое заболевание, развивающееся в результате множества мутаций, возникающих либо спорадически в соматических клетках, либо наследуемых от родителей. В 1971 году Альфред Кнудсен сформулировал «двухударную» теорию развития опухолей, согласно которой одна соматическая мутация гена-супрессора опухолевого роста в клетке только повышает риск ее трансформации в раковую, а мутационное повреждение второго аллеля того же гена приведет к безостановочному росту клетки и образованию опухоли. Другими словами, спорадическое возникновение опухоли требует 2-х независимых мутационных событий в гены хранители клеточного цикла (ГХКЦ) ($AA \rightarrow Aa \rightarrow aa \rightarrow \text{опухоль}$). При наследственных формах опухолей одна герминальная мутация наследуется пациентом от родителей, но для злокачественной трансформации клетки необходимо еще 1 мутационное событие во втором аллеле того же гена ($Aa \rightarrow aa \rightarrow \text{опухоль}$). Если же спонтанное мутационное событие затрагивает гены стабильности генома (ГСГ), то повышается вероятность мутирования ГХКЦ за счет нарушения работы системы репарации, а накопление мутаций в других ГСГ приведет к быстрому росту опухоли. При наследовании одной мутации ГСГ от родителей для развития опухоли будут необходимы 3 независимых мутационных события: вторая мутация ГСГ и две мутации ГХКЦ ($AaBV \rightarrow aaBV \rightarrow aaBv \rightarrow aaav \rightarrow \text{опухоль}$). При этом риск развития опухоли для носителя мутации ГСГ окажется на порядок ниже, чем у носителя мутации ГХКЦ.

Следует заметить, что многие из белков опухолевых супрессоров являются продуктами генов, нарушение функции которых увеличивает темп мутирования, в том числе в онкогенах. Действительно, врожденные мутации даже в одном из аллелей генов опухолевых супрессоров делают

вероятным возникновение определенных форм новообразований: сарком, лейкозов, опухолей мозга или рака молочной железы и яичников, даже в молодом возрасте. Для проявления трансформирующего эффекта одного рецессивного онкогена необходима инактивация его обоих гомологичных аллелей. Такое явление получило название «потеря гетерозиготности» (loss of heterozygosity). Инактивация второго гомологичного аллеля, как правило, достигается либо за счет мутаций, либо эпигенетических модификаций соответствующего гена-супрессора опухолевого роста

В настоящее время можно с уверенностью утверждать, что генетические нарушения в работе антионкогенов, участвующих в контроле клеточного цикла и репарации ДНК, являются ведущими в этиологии подавляющего большинства злокачественных новообразований человека. Для возникновения трансформированного клеточного клона необходимо как минимум 5–10 и более мутаций в разных прото- и антионкогенах. Учитывая скорость мутационных процессов, подобное накопление мутаций в одной и той же клетке представляется событием маловероятным. Очевидно, что на каком-то из промежуточных этапов трансформации клон опухолевых клеток приобретает «мутаторный фенотип» или способность к ускоренному мутагенезу за счет повышенной частоты возникновения спонтанных соматических мутаций.

Помимо генных мутаций, возникающих по разным причинам, существуют и другие генетические изменения, приводящие к развитию раковых опухолей. Такие изменения могут вызывать ДНК- и РНК-содержащие вирусы. ДНК-содержащий папиллома-вирус, вызывающий бородавки, может приводить к раку шейки матки, вирус гепатита В — к раку печени, РНК-содержащий вирус Т-лейкоза приводит к лимфомам, вирус СПИДА — к раку эпителия кровеносных сосудов (саркома Капоши).

Известно, что вирусная ДНК встраивается в хромосомы клетки-хозяина, при этом она может иметь в своем составе онкоген, который способен превратить нормальную клетку в злокачественную.

Вирусная ДНК может не иметь онкогена в своем составе, но встраивание такой ДНК в хромосому рядом с протоонкогеном может привести к его активации и превращению в онкоген. Такое превращение может быть следствием следующих событий: клеточный протоонкоген попадает под контроль вирусных промоторов или энхансеров, в результате чего произойдет избыточное образование продуктов — белков факторов роста. Или же при встраивании вирусной ДНК может произойти фрагментация протоонкогена и он станет работать как онкоген.

Опыты по молекулярной гибридизации ДНК показали, что последовательности нуклеотидов вирусных онкогенов и клеточных протоонкогенов имеют области гомологии. Кроме того, оказалось, что онкогены имеют интрон-экзонное строение. Следовательно, вирусные онкогены имеют клеточное происхождение и являются видоизмененной копией нормального клеточного протоонкогена. В настоящее время в геноме человека выявлено примерно 150 таких протоонкогенов (среди них *HER2/neu*, *ER*, *PgR*, *EGFR*, *VEGFR*, *Bcl-2*, гены семейства *RAS*, *RAF* и др.). Онкогенное действие мутантных аллелей протоонкогенов может приводить к гиперактивности клеточных делений, либо за счет производства аномального продукта с новой функцией, либо за счет гиперэкспрессии этого продукта с агрессивными для клетки последствиями.

Оказалось, что основные семейства онкогенов связаны с рецепторно-сигнальной системой регуляции клеточного деления (рис. 20).

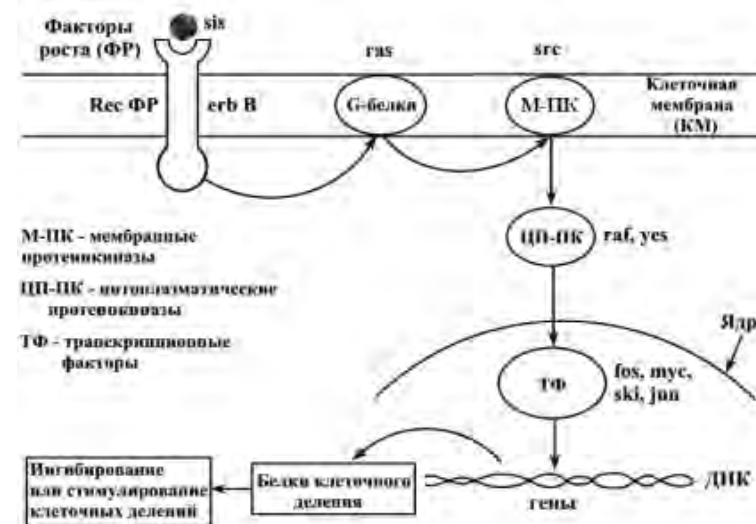


Рис. 20. Участие онкогенов в осуществлении рецепторно-сигнальной функции клетки

Семейство онкогенов *sis* кодирует белок, который по структуре близок к тромбоцитарному ФР. Его онкогенное действие связано с тем, что ФР образуется постоянно и в больших количествах, что стимулирует клеточные деления. Белки *sis* часто обнаруживаются в опухолевых тканях при раке молочной железы и желудка.

Семейства онкогенов *erb* и *neu* кодируют дефектные рецепторы ФР эпидермиса. Эти рецепторы дают постоянный сигнал о клеточном делении, независимо от того, взаимодействует ли рецептор с ФР или нет. Амплификация гена *neu* наблюдается в 30 % случаев при раке молочной железы и раке яичников, а также при множественной миеломе.

Семейства онкогенов *ras* и *rab* кодируют ГТФ-связывающие белки (G-белки), отличающиеся от нормальных G-белков только одной аминокислотной заменой. Однако такая замена приводит к нарушению ГТФ-азной активности и повышению концентрации внутриклеточных медиаторов ц-АМФ, ДАГ и И₃Ф, что делает клетку сверхчувствительной к ФР. Мутированные продукты семейства *ras* обнаруживаются в 90 % случаев при раке поджелудочной железы и в 50 % случаев при раке легких.

Семейства онкогенов *src*, *raf* и *yes* кодируют мембранные или цитоплазматические ПК, фосфорилирующие субстраты по тирозину. Они отличаются от нормальных ПК нерегулируемой активностью. Продукты этого семейства обнаруживаются в 100 % случаев при кишечной карциноме, при доброкачественных и злокачественных полипах кишечника и при раке желудка.

Семейства *fos*, *myc* и *ski* кодируют транскрипционные факторы или ядерные белки, которые взаимодействуют с ДНК на уровне регуляторных последовательностей. Гиперэкспрессия этих продуктов обнаруживается в клетках опухолей мозга, яичника и при лейкемии.

Продукты мутантных протоонкогенов являются биологическими маркерами, определяемыми непосредственно в опухолевой ткани, они характеризуют индивидуальные особенности опухоли: склонность к инвазии, метастазированию, гормональную чувствительность и т.д. Гиперэкспрессия онкогенов в опухолевых клетках часто достигается за счет амплификации или избирательного увеличения числа копий генов, что характерно, например, для генов белков-ФР и их рецепторов. Амплификация различных онкогенов в опухолевых клетках является важным прогностическим фактором развития рака, а также может изменить подход к лекарственной терапии опухолей определенных локализаций.

Исходя из вышеизложенного, можно заключить, что в основе образования злокачественных опухолей лежат молекулярные механизмы контроля клеточного роста и деления. Однако каждый конкретный случай возникновения рака невозможно свести к одной причине: как правило, появление опухоли является результатом совпадения нескольких независимых случайных событий, последствия которых имеют кумулятивный

эффект. Формирование опухоли является многостадийным процессом, который можно разделить на этап инициации и промоции. Факторами инициации могут быть: воздействие химических канцерогенов, ультрафиолетовое и радиационное облучение, внедрение вирусов.

Действие химических канцерогенов связано с наличием в них положительно заряженных нуклеофильных групп или с образованием ими указанных групп, которые взаимодействуют с отрицательно заряженными нуклеофильными компонентами. Канцерогенным эффектом обладают полициклические ароматические углеводороды, бензопирен (каменноугольный деготь), афлатоксин, образуемый плесенью — аспергиллом, 2-нафтиламин, никотин, тяжелые металлы и др.

Иницирующие факторы могут привести к повреждению ДНК в одной клетке и нарушению деления этой клетки, которая на фоне воспаления или гормонального дисбаланса в организме может дать клон аномальных клеток с неконтролируемым ростом. Следствием образования клона аномальных клеток является возникновение опухоли. Необходимо отметить, что фоновыми факторами, влияющими на пусковой механизм опухолеобразования, являются экологическая обстановка, возраст, вредные привычки, особенности питания и генотип каждого конкретного больного (рис. 21).

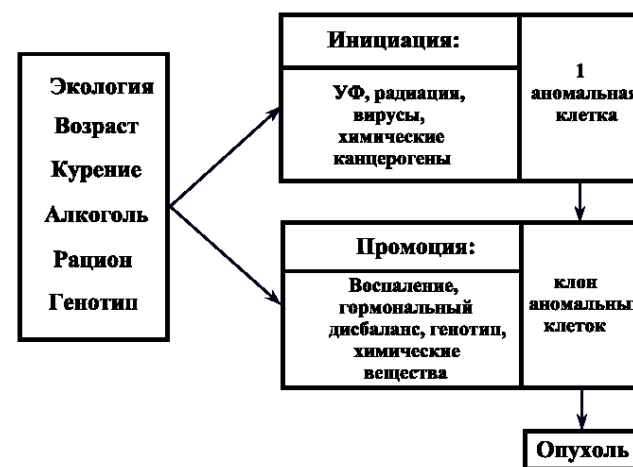


Рис. 21. Этапы формирования раковой опухоли

В настоящее время не вызывает сомнений ключевая роль генетических нарушений в полиэтиологическом процессе канцерогенеза, или возникновения злокачественных новообразований. Согласно мутационной теории канцерогенеза, впервые сформулированной Т. Boveri и К.Н. Bauer еще в начале XX столетия, существует наследственная «склонность тканей образовывать опухоли при определенных внешних условиях». Эта склонность проявляется вследствие постепенного накопления в генотипе разнообразных «соматических мутаций», которые возникают под воздействием многих физических, химических и биологических факторов среды и, как правило, становятся триггером неопластического процесса. Мутации генов и/или аномалии кариотипа обнаруживаются в опухолевых тканях пациентов с онкологическими заболеваниями и в многочисленных культивируемых линиях трансформированных клеток.

Сегодня принято рассматривать канцерогенез как многоступенчатый процесс, включающий этапы инициации, промоции и опухолевой прогрессии. На всех его этапах в исходно нормальной единственной клетке происходит постепенное накопление генетических изменений, приводящее к нарушению ее биологических характеристик. При этом последовательно возникает сначала одна мутантная злокачественная клетка, затем целый клон подобных клеток, из которого в последующем формируется клинически выявляемая опухоль, имеющая обычно моноклональное происхождение.

Многоступенчатость развития раковых заболеваний обусловлена прохождением нормальной клеткой нескольких последовательных биохимических этапов, изменяющих клеточный гомеостаз и способствующих приобретению клеткой новых злокачественных свойств. Неопластическая трансформация может приводить к более чем 100 разновидностям опухолевых новообразований различных органов и тканей, однако опухолевые клетки приобретают общие черты, к которым можно отнести уменьшение потребности в ФР, нечувствительность к антипролиферативным сигналам, нарушение запуска механизмов апоптоза, приобретение ангиогенной активности, способность к инвазивному росту и метастазированию, а также появление геномной нестабильности.

5. МЕЙОЗ

Мейоз — это деление клеток, при котором происходит уменьшение числа хромосом, и из диплоидной материнской клетки образуются гаплоидные дочерние клетки. Мейоз состоит из двух последовательных делений: первое — редукционное, или уменьшительное, в котором число хромосом уменьшается в два раза, и второе — эквационное, или уравнительное, в котором сохраняется число хромосом (рис. 22).

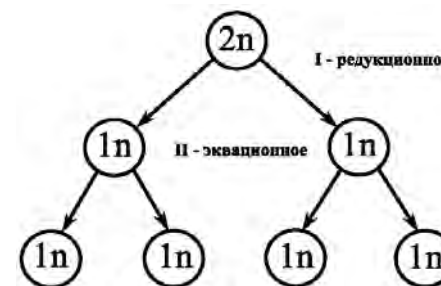


Рис. 22. Деления мейоза

5.1. Первое деление мейоза

5.1.1. Профаза I

Деление мейоза I начинается с длительной профазы, в которой можно выделить пять стадий: 1) лептонема; 2) зигонема; 3) пахинема; 4) диплонема; 5) диакинез.

Лептонема — это стадия тонких нитей. На этой стадии хромосомы, состоящие из двух сестринских хроматид, еще тесно сближены и визуально неразличимы. В световой микроскоп могут быть видны только наиболее конденсированные участки хромосом — хромеры, которые имеют вид утолщений на тонких нитях. Хромосомы прикреплены к ламине с помощью прикрепительных дисков. Если увеличить разрешение микроскопа, то можно обнаружить, что хромосома связана по всей длине с осевым белковым тяжем из белков-гистонов и когезинов (рис. 23).

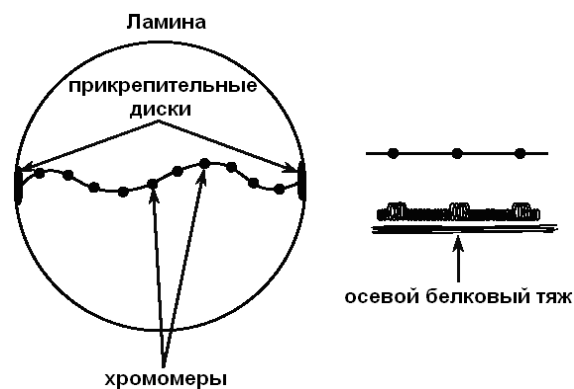


Рис. 23. Спирализация хромосом и формирование осевого белкового тяжа

Зигонема — стадия сопряженных нитей. На этой стадии происходит конъюгация или процесс узнавания и соединения гомологичных хромосом с помощью белкового комплекса, который называется синаптонемальный. Механизм синапсиса до сих не известен, однако согласно одной из версий некоторые участки ДНК в предмейотический период не реплицируются, и поэтому хромосомы в этих участках могут гибридизоваться за счет комплементарных азотистых оснований. Обычно эти участки находятся в области теломер. Указанные области удерживают гомологичные хромосомы у ядерной оболочки, где наблюдается инициация конъюгации. Конъюгация происходит с высокой точностью, начиная с концов хромосом и продвигаясь к центру по принципу застёжки-молнии. При этом осевые белковые тяжи гомологов сближаются и образуют два боковых элемента. Следом формируется центральный белковый элемент, который сшивается с боковыми элементами с помощью филаментов (поперечных сшивок). Конъюгирующие гомологи называются тетрадой, или бивалентом, так как каждый гомолог состоит из двух сестринских хроматид (рис. 24).

Конъюгация половых хромосом X и Y идет конец в конец, так как они практически не имеют гомологичных участков, за исключением небольшого «псевдоаутосомного участка».

Пахинема — стадия толстых нитей. В этой стадии происходит дальнейшая спирализация и компактизация хромосом: они укорачиваются и утолщаются, при этом между гомологами происходит кроссинговер. Механизм кроссинговера связан с появлением в синаптонемальной щели рекомбинационных узелков, которые состоят из ферментов рекомбинации.

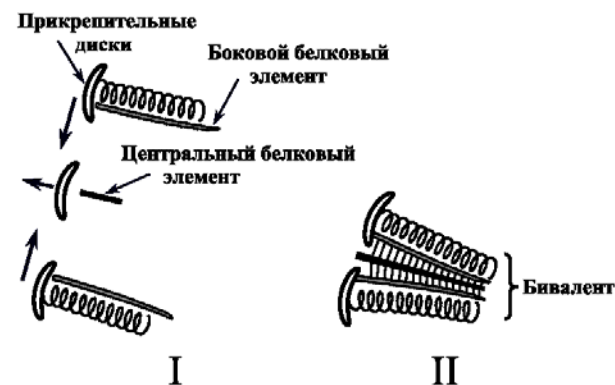


Рис. 24. Схема конъюгации гомологов:

I — сближение гомологов с помощью центрального белкового элемента;
II — сшивание боковых и центральных белковых элементов при конъюгации

Узелки подтягивают друг к другу локальные фрагменты ДНК, и в них происходит обмен участками. В области рекомбинационных узелков наблюдается некоторый синтез ДНК, который связан с репарацией в случае неточности кроссинговера. Рекомбинационные узелки наблюдаются только в тех участках хромосом, где есть гены. На стадии пахинемы происходит амплификация ДНК — процесс многократного копирования генов р-РНК и белков-гистонов (рис. 25, 26).

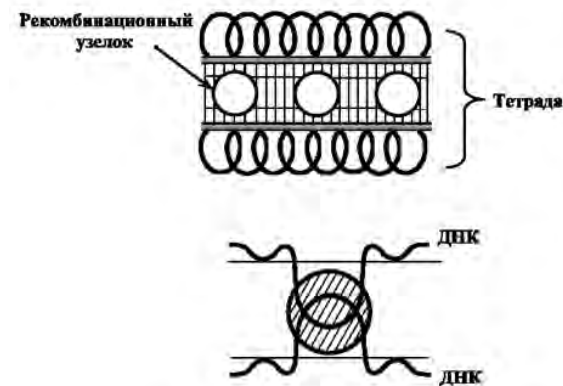


Рис. 25. Молекулярный механизм кроссинговера

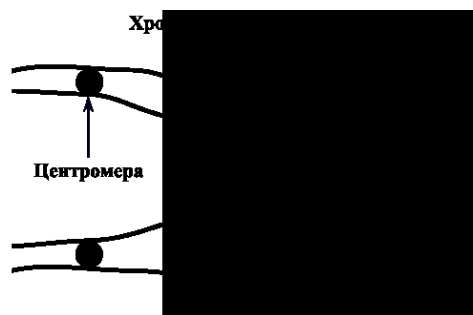


Рис. 26. Хиазмы (X-образные фигуры)

Диплонема — это стадия двойных нитей. В окуляр светового микроскопа хорошо видно, что каждая хромосома состоит из двух сестринских хроматид. Синаптонемальный комплекс начинает разрушаться, а гомологичные хромосомы отталкиваются друг от друга в области центромеры. Области теломер же остаются соединенными и при этом могут наблюдаться фигуры перекреста, называемые хиазмы.

Считается, что именно в этих местах происходит кроссинговер. Для диплонымы характерен высокий уровень транскрипции генов. Так, в ооцитах лягушки *Xenopus laevis* хромосомы принимают форму «ламповых щеток». В таких хромосомах происходит локальная деспирализация ДНК, с этих участков считывается генетическая информация, и в процессе транскрипции образуется большое количество РНК. У мутантов с малым количеством рекомбинационных узелков наблюдается уменьшение частоты кроссинговера и, соответственно, количества хиазм. Это может приводить к нарушению расхождения гомологов.

Диакинез — стадия обособленных двойных нитей. На этой стадии синтез РНК прекращается, гомологичные хромосомы отталкиваются еще сильнее и удерживаются только концами плеч (рис. 27).



Рис. 27. Пара гомологичных хромосом, или бивалент

Поверхностный аппарат ядра начинает разбираться, и хромосомы перестают быть фиксированными на ламине, а также строится ахроматиновое веретено деления.

5.1.2. Метафаза I

Биваленты из гомологов сталкиваются нитями веретена деления в плоскость экватора, и к каждой хромосоме присоединяется одна кинетохорная нить веретена деления от ближайшего полюса (рис. 28).

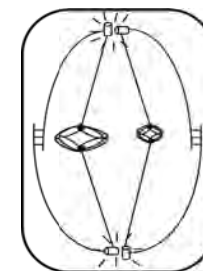


Рис. 28. Метафаза I

5.1.3. Анафаза I

Нити веретена деления укорачиваются и к полюсам клетки начинают расходиться по одной хромосоме из каждой пары гомологов, состоящей из двух сестринских хроматид (рис. 29).

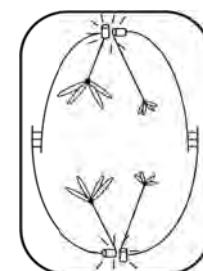


Рис. 29. Анафаза I

5.1.4. Телофаза I

Хромосомы деспирализуются. Восстанавливается ядерная оболочка и ядрышко, затем происходит цитокинез. Образуются две дочерние клетки, ядра которых содержат число хромосом, уменьшенное в два раза по сравнению с материнской клеткой. Каждая дочерняя клетка при этом содержит один гомолог из пары. Такую клетку называют гаплоидной (рис. 30).

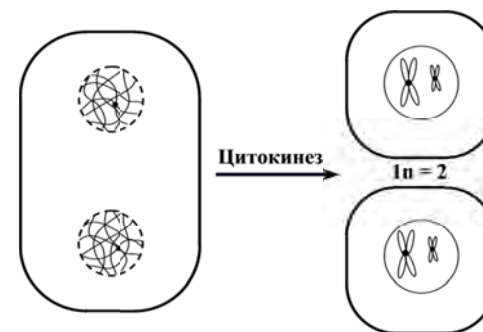


Рис. 30. Телофаза I и цитокинез с образованием двух гаплоидных клеток

5.2. Второе деление мейоза

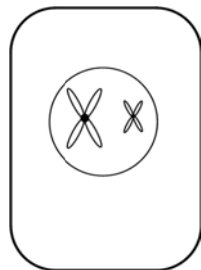


Рис. 31. Условная гаплоидная клетка $1n = 2$

Далее каждая дочерняя клетка вступает во второе деление мейоза. Обычно интерфаза между первым и вторым делением короткая, в ней не происходит репликация ДНК, и каждая хромосома остается состоящей из двух сестринских хроматид (рис. 31).

Второе деление мейоза протекает как митоз (см. выше). Однако клетки, образующиеся после второго деления мейоза, имеют гаплоидный набор хромосом, причем каждая хромосома представлена только одной сестринской хроматидой и, следовательно, количество ДНК в ней в два раза меньше (рис. 32).

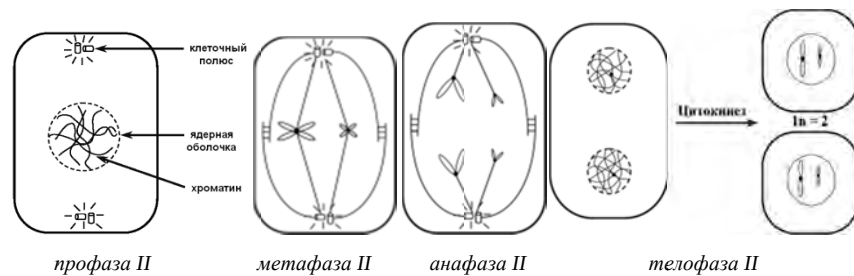


Рис. 32. Второе деление мейоза

5.3. Биологическое значение мейоза

Мейоз характерен только для незрелых половых клеток. Мейоз обеспечивает поддержание постоянного числа хромосом у особей одного вида, благодаря тому, что гаплоидные половые клетки (гаметы) сливаются и образуют диплоидную зиготу, из которой развивается диплоидный организм (рис. 33).

Кроме того, мейоз является источником генотипической изменчивости, которая обеспечивается результатами кроссинговера и независимым расхождением негомологичных хромосом.



Рис. 33. Восстановление диплоидного набора хромосом при оплодотворении

Следствием кроссинговера является возникновение новых комбинаций генов Ab и aB (рис. 34).



Рис. 34. Кроссинговер

Независимое поведение негомологичных хромосом приводит к возникновению всех возможных комбинаций негомологичных хромосом — DE, de или De и dE (рис. 35).

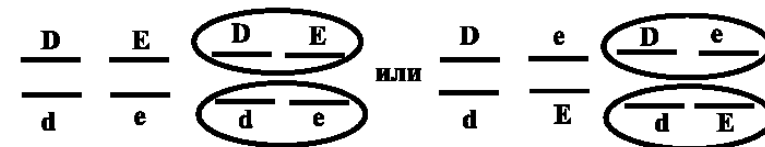


Рис. 35. Независимое поведение негомологичных хромосом

В результате одного деления мейоза образуются четыре гаплоидные клетки. В гаметах человека имеется 23 хромосомы из 46, поэтому у одной особи может образоваться 2^{23} разнообразных гамет, а кроссинговер дополнительно увеличивает генетическое разнообразие.

5.4. Генетический контроль мейоза

Известно, что на разных этапах мейоз контролируется большой группой генов. Существуют гены, включающие и выключающие мейоз, гены, контролирующие конъюгацию и процесс кроссинговера, а также гены, отвечающие за образование веретена деления. Мутации в этих генах приводят к нарушению нормального хода мейоза, которое имеет самые серьезные последствия. Например, у человека могут образовываться несбалансированные гаметы, которые могут стать причиной бесплодия или привычной невынашиваемости беременности. Нарушение расхождения хромосом могут приводить к хромосомным болезням, таким как трисомия по 21-й хромосоме — синдром Дауна, трисомия по 13-й хромосоме — синдром Патау и трисомия по 18-й хромосоме — синдром Эдвардса.

6. ГАМЕТОГЕНЕЗ

Гаметогенез — это процесс образования половых клеток, или гамет, который протекает в половых железах, называемых у самок яичники, у самцов семенники.

Через 20 дней после начала развития зародыша первичные половые клетки (ППК) обособляются от клеток эпибласта на заднем конце первичной полоски, затем они мигрируют в желточный мешок зародыша. Пока в процессе гастрюляции образуются туловище и голова (см. главу 4), клетки зародышевой линии находятся в верхней части желточного мешка. Там они и остаются, пока продолжается формирование тела эмбриона и его частей и структур: нервной трубки, сомитов, кровеносной системы и т.д. Когда основной план строения уже намечен, зародышевые клетки возвращаются обратно, в тело эмбриона, как за счет морфогенетических движений, связанных с формированием кишечника, так и за счет активной миграции. На 27-й день ППК мигрируют в зачаток гонады, причем последний дифференцируется в семенник или яичник только на 46-й день развития. ППК, включившиеся в состав гонад, остаются в них до периода созревания.

6.1. Сперматогенез

Сперматогенез — это процесс образования мужских половых клеток — сперматозоидов (спермиев). В будущей мужской гонаде формируются полости, которые превращаются в извитые семенные канальцы, располагающиеся в дольках семенника и сливающиеся в семявыносящий проток (рис. 36).

Стенка семенного канальца образована двумя видами клеток:

- 1) клетки Сертоли, которые выполняют функции опоры, защиты и питания половых клеток;
- 2) собственно половые клетки, находящиеся на разных стадиях развития и располагающиеся в многочисленных впячиваниях боковой поверхности клеток Сертоли.

Зрелые сперматозоиды формируются на поверхности, обращенной в просвет семенного канальца (рис. 37).

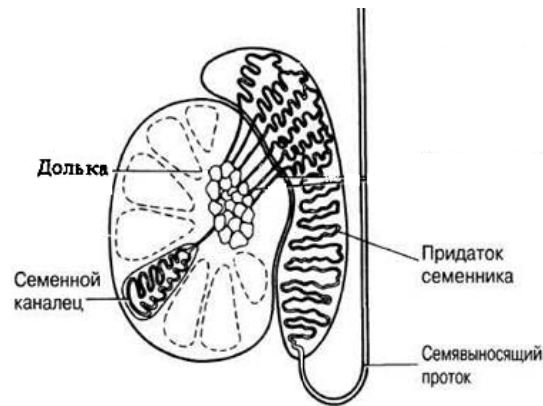


Рис. 36. Строение семенника

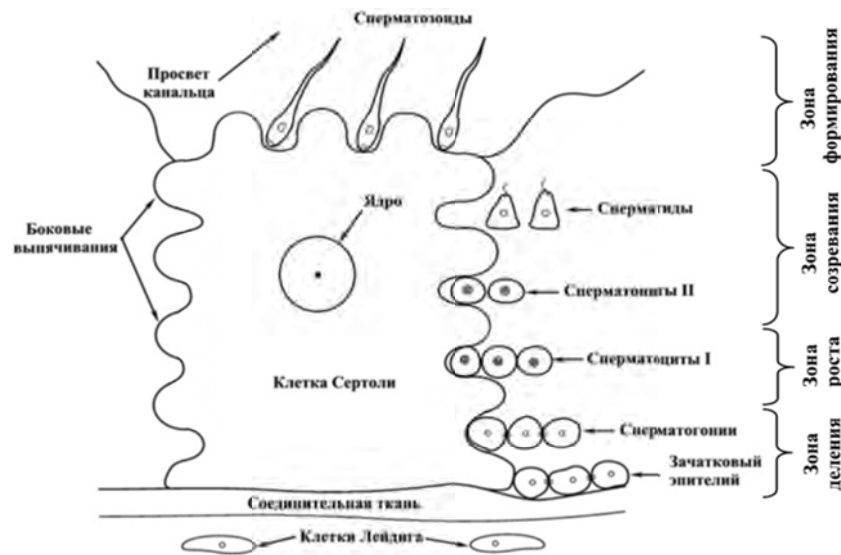


Рис. 37. Схема строения стенки семенного канальца

Между семенными канальцами располагаются клетки Лейдига, которые синтезируют мужской половой гормон тестостерон, стимулирующий сперматогенез. Созревание спермиев начинается только в пубертатный период (12–14 лет) и непрерывно продолжается всю жизнь. Время образо-

вания спермиев составляет 70 дней. В среднем за жизнь индивида мужского пола образуется ~50 млрд спермиев.

Первичные половые клетки дают начало сперматогониям еще во внутриутробный период. Сперматогонии остаются в состоянии покоя, между ними возникают цитоплазматические мостики, через которые клетки обмениваются сигналами и питательными веществами. В период полового созревания сперматогонии начинают расти и увеличиваться в размерах, достигая при этом четырехкратного увеличения объема. На этом этапе увеличившиеся половые клетки называют сперматоцитами I порядка. Затем сперматоциты I вступают в два последовательных деления мейоза, которые заканчиваются образованием гаплоидных клеток — сперматид. Сперматиды, в свою очередь, претерпевают процесс формирования, который называется спермиогенез.

6.1.1. Спермиогенез

При спермиогенезе в клетках происходят некоторые цитологические изменения: 1) удлинняется клеточное тело; 2) ядро сдвигается к одному из полюсов клетки; 3) хроматин уплотняется, гистоны замещаются на белки-протамины, которые способствуют большей компактизации ДНК и полностью подавляют транскрипцию; 4) видоизменяются центриоли, формируя две базальные пластинки, от которых отходит тонкое волокно, в дальнейшем образующее осевую нить хвоста — аксонему; 5) формируется акросома; 6) митохондрии образуют кольцо вокруг основания жгутика; 7) большая часть цитоплазмы элиминируется за счет отделения ее кусков (рис. 38).



Рис. 38. Спермиогенез

Хвост и centrioles представляют собой локомоторный аппарат сперматозоида. Хвост совершает волнообразные движения винтового характера и головка спермия, вращаясь вокруг собственной оси, движется вперед. Скорость движения спермия составляет 1–2 мм/с. При щелочных значениях pH среды скорость движения увеличивается, а при кислых значениях — замедляется. Эта особенность движения используется при создании контрацептивных препаратов. Время жизни спермия в половых путях самки составляет 2–3 дня.

Всем позвоночным свойственны жгутиковые спермии, так как они обеспечивают поступательное движение в жидкой среде. Сперматозоид, таким образом, представляет собой мелкую гаплоидную клетку, основное назначение которой состоит в донесении отцовских генов до яйцеклетки.

6.2. Овогенез

Овогенез — это процесс образования женских половых клеток, называемых яйцеклетками. Выход зрелых яйцеклеток из яичника называют процессом овуляции. Созревание и овуляция яйцеклеток у млекопитающих следуют по одному из двух основных путей, в зависимости от вида. Первый путь связан с тем, что овуляция стимулируется самим физическим актом спаривания, которое вызывает активацию гипофиза и выделение им гонадотропных гормонов. Эти гормоны являются сигналом о вступлении яйцеклеток в мейоз и овуляцию. Такой путь характерен для кроликов и морских свинок. Второй путь встречается у большинства млекопитающих, он имеет периодичность и происходит только в определенное время года. Этот период называют эструс, или охота. Такие факторы внешней среды, как интенсивность и длительность светового дня, служат сигналом для гипоталамуса, который выделяет релизинг-фактор для активации гипофиза (рис. 39). В свою очередь, гипофиз секретирует свои гонадотропные гормоны ФСГ (фолликулостимулирующий гормон) и ЛГ (лютеинизирующий гормон), которые стимулируют овуляцию.

Гормоны гипофиза воздействуют также на определенные нейроны головного мозга, и это вызывает комплекс реакций брачного поведения у животных, то есть эструс и овуляция у них происходит одновременно. У человека овуляция является одним из вариантов периодической, но без эструса, приуроченного к определенному сезону.

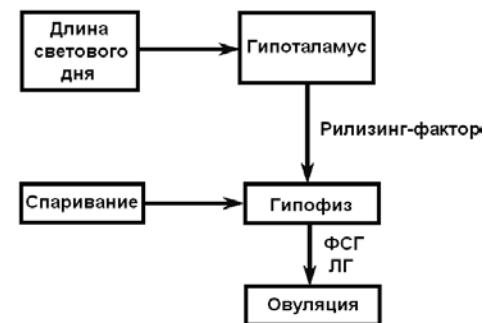


Рис. 39. Возможные пути овуляции у млекопитающих

Рассмотрим процесс овогенеза более подробно. В эмбриогенезе первичные половые клетки, закладывающиеся еще в желточном мешке, мигрируют в яичник, где проходят примерно 22 митотических деления, в результате образуются диплоидные половые клетки — овогонии. К пяти-семи месяцам развития плода женского пола число овогониев становится примерно равным семи миллионам. Однако к моменту рождения особи женского пола большая их часть погибает и остается около одного миллиона. Все овогонии соединены между собой цитоплазматическими мостиками, по которым происходит обмен цитоплазматическими компонентами, синхронизирующими процессы развития и деления овогониев. К третьему месяцу развития яичники начинают вырабатывать специальные сигналы: один вызывает остановку митоза, а другой стимулирует мейоз. Овогонии вступают в профазу первого деления мейоза, проходят стадии лептономы, зигонемы, пахинемы и диплонемы. На седьмом месяце развития мейоз вновь останавливается с помощью третьего специального сигнала, при этом овогонии становятся овоцитами I порядка. В их ядре происходят синтетические процессы: транскрипция и-РНК с хромосом типа «ламповых щеток» и амплификация генов белков-гистонов и генов р-РНК.

В большинстве случаев и-РНК не используется в процессе овогенеза, а сохраняется в комплексе со специальными цитоплазматическими белками, образуя так называемые информосомы. Трансляция этих и-РНК запускается только в зиготе, что обеспечивает развитие зародыша по материнскому пути на начальных этапах.

Стадию относительного покоя овоцита-I называют диктиотена, в ней овоцит может находиться много лет: до периода полового созревания (12–13 лет) и далее до менопаузы (50–55 лет).

6.2.1. Фолликулогенез

Фолликулогенез — это процесс образования зрелого фолликула в яичнике. Овоцит-I, находящийся в яичнике, постепенно окружается специальными клетками, которые называются фолликулярными. Этот процесс приводит к формированию первичного, или примордиального, фолликула (рис. 40).

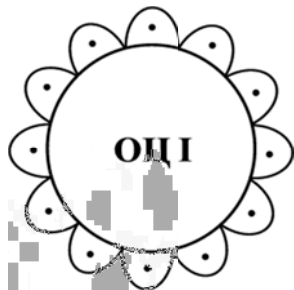


Рис. 40. Первичный, или примордиальный, фолликул

Далее происходит рост фолликула, число фолликулярных клеток при этом увеличивается, и, соответственно, возрастает до 500 раз объем овоцита-I. Такой фолликул называют вторичным (рис. 41).



Рис. 41. Строение вторичного фолликула

Фолликулярные клетки не имеют с яйцеклеткой прямых цитоплазматических мостиков, между ними устанавливаются щелевые коммуникационные контакты, через которые в яйцеклетку проникает вторичный сигнальный посредник — цикло-АМФ (ц-АМФ).

От фолликулярных клеток в овоцит-I отходят макроворсинки, а им навстречу от овоцита формируются многочисленные микроворсинки. По всем этим ворсинкам транспортируются питательные вещества, аминокислоты, ц-АМФ, АТФ, которые овоцит поглощает из перивовоцитарного пространства путем эндоцитоза.

По мере роста фолликула в овоците-I происходит отложение запаса питательных веществ: желтка, жира, гликогена, и формируется слой кортикальных гранул, которые представлены секреторными пузырьками с протеолитическими ферментами, мукополисахаридами и белком гиалинового слоя. Сократимый поверхностный слой с кортикальными гранулами запускает механизм защиты от полиспермии. Кроме того, вокруг овоцита формируется прозрачная оболочка или зона пеллюцида (zona pellucida)

В растущем фолликуле фолликулярные клетки начинают выделять особую жидкость, содержащую гормоны и ц-АМФ. В результате скопления жидкости происходит образование полости в фолликуле, который теперь называют антральным (рис. 42).



Рис. 42. Строение антрального фолликула

Фолликулярная (антральная) полость увеличивается в размере, фолликул становится зрелым и его называют граафов пузырек (рис. 43).

Одновременно с этим фолликулярные клетки выделяют эстроген, который воздействует на гипоталамус, а последний, в свою очередь, выделяет рилизиг-фактор, активирующий выброс гонадотропных гормонов гипофиза ФСГ и ЛГ.



Рис. 43. Зрелый фолликул или граафов пузырек

Указанные гормоны действуют на фолликулярные клетки, способствуя образованию ими гиалуроновой кислоты, которая вызывает физический разрыв контактов между макро- и микроворсинками. Помимо этого, прерываются и щелевые контакты между овоцитами и фолликулярными клетками. В результате нарушения контактов ц-АМФ перестает поступать в овоцит-I и в нем снижается активность ц-АМФ-зависимых протеинкиназ. Это приводит к нарушению фосфорилирования белков, блокирующих мейоз. Блок мейоза снимается, овоцит-I проходит последовательные фазы первого деления мейоза и вступает во второе деление, превращаясь в овоцит II порядка (овоцит-II). Второе деление мейоза останавливается на метафазе II за счет нового блока мейоза цитостатическими факторами. Образовавшийся овоцит-II теперь способен покинуть яичник, и этот процесс называется овуляцией (рис. 44, 45).



Рис. 44. Овуляция с образованием желтого тела

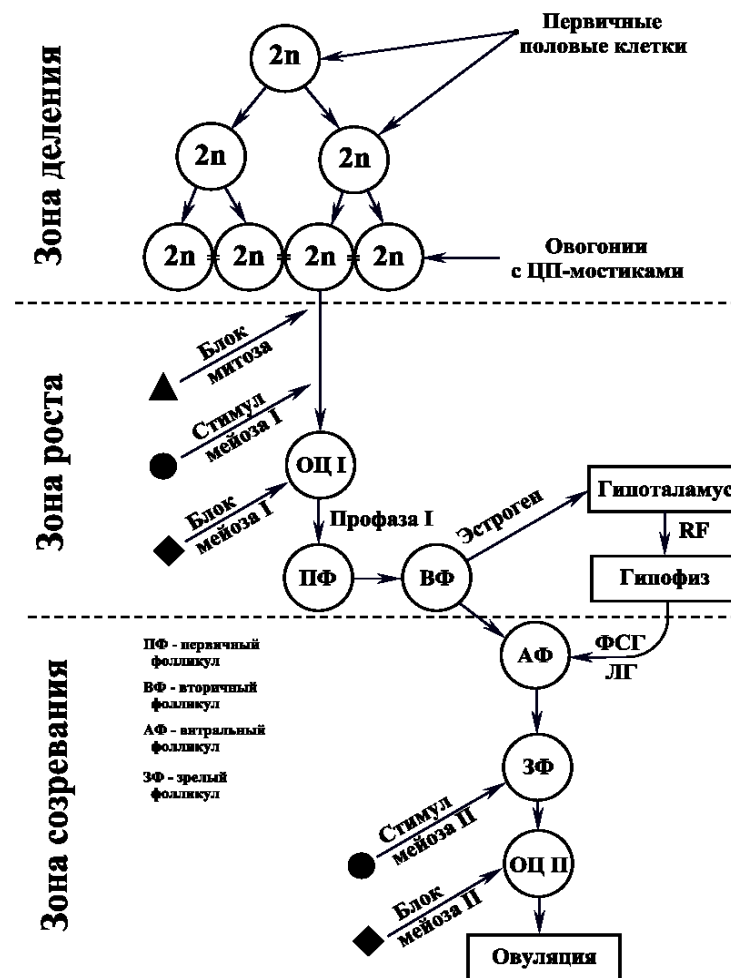


Рис. 45. Схема фолликулогенеза и овуляции

Механизм овуляции до настоящего времени изучен недостаточно, но можно полагать, что физическому выходу овоцита-II из граафова пузырька способствуют два фермента — коллагеназа и протеаза, разрыхляющие и расщепляющие внеклеточный матрикс фолликула. Кроме того, повышение концентрации простагландинов внутри фолликулярных клеток

способствует оттоку воды, что повышает давление в полости фолликула и вызывает его разрыв.

У человека судьба овоцита-II после овуляции зависит от его встречи со сперматозоидом: если оплодотворение произойдет, то в овоците-II сначала закончится мейоз, а затем произойдет слияние генетического материала. При этом в яичнике на месте лопнувшего фолликула образуется желтое тело, которое выделяет гормон прогестерон, подготавливающий слизистую матки к имплантации зародыша. Если оплодотворение не произойдет, овоцит-II погибает, так и не закончив мейоз. Желтое тело дегенерирует и слизистая поверхность матки отторгается. Концентрация прогестерона падает, что вызывает активацию гипофиза, который, выделяя ФСГ и ЛГ, запускает цикл созревания новой яйцеклетки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Генетика человека по Фогелю и Мотульски. Проблемы и подходы / Ред. М.Р. Спейчер и др. — 4-е изд. — СПб.: Изд-во Н-Л, 2013. — 1056 с.
2. Гилберт С. Биология развития / пер. с англ. под ред. А. П. Перевозчикова. — 7-е изд. — М., 2014. — 838 с.
3. Епифанова О.И. Лекции о клеточном цикле / О.И. Епифанова. — М.: КМК Scientific Press, 2003. — 160 с.
4. Киселев Ф.Л. Молекулярные основы канцерогенеза у человека / Ф.Л. Киселев, О.А. Павлиш, А.Г. Татосян. — М.: Медицина, 1990. — 320 с.
5. Корочкин Л.И. Введение в генетику развития / Л.И. Корочкин. — М.: Наука, 1999. — 253 с.: ил.
6. Молекулярная биология клетки : в 3-х т. / Б. Альбертс, А. Джонсон, Д. Льюис [и др.]. — М.-Ижевск: НИЦ «Регулярная и хаотическая динамика» Институт компьютерных исследований, 2013. — 808 с.
7. Наследственные болезни. Национальное руководство / под ред. Н.П. Бочкова, Е.К. Гинтера, В.П. Пузырева. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. — 936 с.
8. Программированная клеточная гибель / под ред. проф. В.С. Новикова. — СПб.: Наука, 1996. — 276 с.
9. Современная генетика : в 3-х тт. / Ф. Айала, Дж. Кайгер. — М.: Мир, 1988.
10. Фаллер Д.М. Молекулярная биология клетки. Руководство для врачей: пер. с англ. / Д.М. Фаллер, Д. Шилдс — М.: БИНOM-Пресс, 2003. — 272 с.: ил.
11. <http://medarticle36.moslek.ru/articles/40339.htm>
12. <http://bionet.nsc.ru>